



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

**TESIS DE DOCTOR EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE
LOS MATERIALES**

**Desarrollo, caracterización y optimización de nuevos sistemas
farmacoterapéuticos de praziquantel destinados a la
administración pediátrica**

María Alejandra González

Bahía Blanca

Argentina

2020

PREFACIO

Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Ciencia y Tecnología de los Materiales, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Planta Piloto de Ingeniería Química (dependiente del Departamento de Ingeniería Química y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) y en el Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, durante el período comprendido entre el 1 de abril de 2015 y el 1 de febrero de 2020, bajo la dirección de las Dras. María Verónica Ramírez Rigo y Noelia Gonzalez Vidal.

María Alejandra González



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/...../....., mereciendo la calificación de(.....)

Agradecimientos

Quisiera expresar mis agradecimientos a todas aquellas personas que de una u otra manera han ayudado a la realización de este trabajo de Tesis.

En primer lugar quiero agradecer a mis directoras, Noelia y Verónica, por haber confiado en mí, por haberme guiado en todo el desarrollo de esta Tesis, por sus consejos y aportes sobre mi trabajo, pero, sobre todo, por el cariño brindado todos estos años. Gracias Noe por haber compartido cada uno de los días de estos 5 años conmigo, en los que hubo esfuerzos, penas y alegrías, gracias por tu tiempo y dedicación. Gracias Vero por tu paciencia y ayuda brindada estos años, y por tus palabras alentadoras en los momentos justos.

Gracias a la Universidad Nacional del Sur, a CONICET y a PLAPIQUI, por brindarme la beca, el financiamiento y el espacio para desarrollar este trabajo

También quiero agradecer a Fer, Agus y Tati por la buena predisposición y por el apoyo profesional que me han brindado durante todos estos años.

A mis compañeros de la cátedra de Farmacotecnia II, porque con ellos dí mis primeros pasos en el mundo de la docencia, y su calidez, paciencia y cariño hicieron que todo fuera más fácil.

A mi amor, Gonza, por su paciencia, su amor y por su incondicional apoyo en todo.

A mis amigas de la vida, por todas las risas y momentos compartidos, gracias por tantos años de amistad, y por los que vendrán.

Sin duda alguna, quiero agradecerle a mi familia, mi cable a tierra, por todo el amor que me dan, por su ánimo y confianza en mí. Gracias por mostrarme dónde está lo más importante de la vida.

Y, por último, a todos aquellos que pasaron por estos años de mi vida, formando parte de esta Tesis Doctoral.

A todos, infinitas gracias.

RESUMEN

Las enfermedades infecciosas desatendidas constituyen un serio problema de salud pública que afecta principalmente a las zonas geográficas de menores recursos. Los pacientes pediátricos son considerados un grupo muy vulnerable, siendo más susceptible a las infecciones parasitarias que la población adulta. El praziquantel es un antihelmíntico ampliamente utilizado para el tratamiento y prevención de varias parasitosis, principalmente aquellas causadas por el parásito *Schistosoma*. En la actualidad, el praziquantel se administra únicamente por vía oral, y no existen formulaciones adecuadas destinadas a la población pediátrica. Dada su baja solubilidad acuosa y alta permeabilidad, se lo enmarca en la Clase II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica. Esta baja solubilidad condiciona fuertemente la disolución del fármaco, convirtiendo a ésta en la etapa limitante para su posterior absorción. En consecuencia, se requiere la administración de dosis elevadas, lo que ocasiona una mayor probabilidad de reacciones adversas y dificultad para la administración del fármaco en pacientes pediátricos, ya que se requiere la utilización de comprimidos de gran tamaño. Por ello, el praziquantel resulta un buen candidato para mejorar su perfil biofarmacéutico mediante herramientas tecnológicas que aumenten su solubilidad acuosa y velocidad de disolución.

Entre la vasta cantidad de estrategias disponibles para superar tales limitaciones, en esta Tesis se utilizó particularmente la reducción del tamaño de partículas. Concretamente, la aplicación de Homogeneización de Alta Presión fue la técnica seleccionada para obtener las nanosuspensiones de praziquantel. Además, la incorporación de los sistemas desarrollados en formas farmacéuticas aptas para la población pediátrica también fue abordada.

En el Capítulo 1 se describe la relevancia de las enfermedades infecciosas desatendidas, así como el desarrollo de formulaciones destinadas a la población pediátrica. También se describen las principales características de las nanosuspensiones como posible alternativa para superar problemas de solubilidad de los fármacos.

En el Capítulo 2 se presentan todos los materiales utilizados en las distintas etapas de desarrollo y las técnicas implementadas para caracterizar las materias primas y los productos obtenidos.

En el Capítulo 3 se presenta el diseño de las nanosuspensiones de praziquantel mediante la metodología de homogeneización de alta presión, así como la selección de los excipientes más adecuados para su elaboración. Posteriormente, se aborda la caracterización realizada sobre las nanosuspensiones más promisorias, en términos fisicoquímicos y biofarmacéuticos.

En el Capítulo 4 se expone la optimización, mediante secado por atomización, de una de las nanosuspensiones elaboradas en el Capítulo 3, seleccionada en base al mejor desempeño obtenido en su disolución in vitro. Además se incluye el desarrollo de una forma farmacéutica extemporánea, que consiste en el polvo secado por atomización y posteriormente redispersado en un vehículo adecuado. Asimismo, se llevó a cabo la caracterización tanto del polvo como del producto redispersado, en términos fisicoquímicos y biofarmacéuticos.

En el Capítulo 5 se presenta el desarrollo de gomas masticables conteniendo praziquantel nanoparticulado, incorporado tanto en forma de nanosuspensión como de polvo resuspendido. Asimismo, se realizó una caracterización que incluyó propiedades fisicoquímicas, farmacéuticas y mecánicas.

Por último, en el Capítulo 6 se presentan las conclusiones generales de esta Tesis, junto a los principales aspectos a considerar en trabajos futuros.

De esta forma, se logró aplicar exitosamente una combinación de procesos tecnológicos a fin de mejorar propiedades biofarmacéuticas desfavorables del praziquantel, y obtener formas farmacéuticas aptas para la administración pediátrica, actualmente no disponibles en el mercado.

ABSTRACT

Neglected infectious diseases constitute a serious public health problem that mainly affects geographical areas of lower resources. Pediatric patients are considered a very vulnerable group, being more susceptible to parasitic infections than the adult population. Praziquantel is an anthelmintic widely used for the treatment and prevention of several parasitosis, mainly those caused by the *Schistosoma* parasite. Currently, praziquantel is administered merely by oral route and there are no suitable formulations intended for the pediatric population. Due to its low aqueous solubility and high permeability, praziquantel belongs to Class II in the Biopharmaceutical Classification System. This low solubility strongly affects the drug dissolution, becoming the limiting step for its subsequent absorption. Consequently, the administration of high doses is required, which causes a greater probability of adverse reactions and difficulty for the drug administration to pediatric patients, since the use of large tablets is required. Therefore, praziquantel is an interesting candidate for the improvement of its biopharmaceutical profile through the application of technological tools that increase its aqueous solubility and dissolution rate.

Among the large number of strategies available to overcome such limitations, in this Thesis particle size reduction was particularly used. Specifically, High Pressure Homogenization was the selected technique to obtain praziquantel nanosuspensions. In addition, the incorporation of the developed systems into pharmaceutical forms suitable for pediatric population was also addressed.

In Chapter 1, it is described the importance of neglected infectious diseases, as well as the development of formulations for the pediatric population. In addition, the main characteristics of nanosuspensions, as a possible alternative to overcome drug solubility problems, are also described.

In Chapter 2, it is presented all the materials that have been used at the different development stages, and the techniques implemented to characterize the raw materials and the obtained products.

In Chapter 3, it is presented the design of praziquantel nanosuspensions by the application of High Pressure Homogenization, as well as the selection of the most suitable excipients for its development. Subsequently, the characterization of the most promising nanosuspensions is addressed, in physicochemical and biopharmaceutical terms.

In Chapter 4, it is described the optimization, by spray drying, of a nanosuspension described in Chapter 3, and selected based on the obtained in vitro dissolution performance. In addition, it is also included the development of an extemporaneous pharmaceutical form, which consists of the spray-dried powder and subsequently redispersed in a suitable vehicle. Likewise, the characterization of the powder as well as the redispersed product was carried out, in physicochemical and biopharmaceutical terms.

In Chapter 5, it is presented the development of chewable gels containing nanoparticulate praziquantel, incorporated as nanosuspension or redispersed powder. Furthermore, the characterization of these products was carried out, including physicochemical, pharmaceutical and mechanical properties.

In Chapter 6, the general conclusions of this Thesis are presented, as well as the main aspects to be considered for future works.

In this sense, a combination of technological processes was successfully applied to improve unfavorable biopharmaceutical properties of praziquantel and obtain suitable pharmaceutical forms for pediatric administration, currently not available in the pharmaceutical market.

Índice

CAPÍTULO 1. Introducción y objetivos	1
1.1. Aspectos generales sobre las enfermedades infecciosas desatendidas.....	2
1.1.1. Desarrollo de medicamentos para el tratamiento de EID	3
1.2. Formulaciones huérfanas en pediatría	4
1.3. Aspectos tecnológicos para el diseño de formulaciones pediátricas	6
1.4. Praziquantel	11
1.4.1. Mecanismo de acción	12
1.4.2. Indicaciones terapéuticas y posología	13
1.4.3. Perfil farmacocinético.....	14
1.4.4. PZQ en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica	16
1.5. Estrategias para mejorar la solubilidad y la velocidad de disolución de los fármacos ...	17
1.5.1. Formación de complejos con ciclodextrinas	17
1.5.2. Formulación de dispersiones sólidas	18
1.5.3. Formulación de nanopartículas sólidas lipídicas	18
1.5.4. Formulación de co-cristales	18
1.5.5. Modificaciones de la cristalinidad	19
1.5.6. Aplicación de procesos de granulación.....	19
1.5.7. Formulación de liposomas	20
1.5.8. Uso de vías de administración alternativas	20
1.5.9. Disminución del tamaño de partícula.....	21
1.6. Nanosuspensiones.....	22
1.6.1. Características distintivas de las nanopartículas que influyen en la biodisponibilidad oral.....	23
1.6.2. Métodos de producción de nanopartículas	27
1.6.3. Estabilidad y procesamiento post-producción.....	30
1.6.4. Aspectos regulatorios de la nanotecnología.....	32
1.7. Formas farmacéuticas presentes en el mercado conteniendo PZQ.....	34
1.8. Hipótesis y objetivos de la Tesis.....	35
1.9. Bibliografía	37

CAPÍTULO 2. Materiales y métodos 47

2.1. Materiales	48
2.2. Métodos.....	49
2.2.1. Efecto de las soluciones estabilizantes sobre propiedades de PZQ	49
2.2.1.1. Solubilidad.....	49
2.2.1.2. Ángulo de contacto.....	50
2.2.2. Preparación de los sistemas nanoparticulados y sus respectivas mezclas físicas.....	51
2.2.3. Secado por atomización de las NS.....	53
2.2.3.1. Reconstitución extemporánea del polvo obtenido por SA	54
2.2.4. Ensayos de caracterización de NS y polvos obtenidos por SA	55
2.2.4.1. Distribución de tamaño de partículas.....	55
2.2.4.2. Potencial Z.....	57
2.2.4.3. Morfología.....	58
2.2.4.4. Análisis térmico	59
2.2.4.5. Análisis cristalográfico mediante difracción de rayos X.....	60
2.2.4.6. Espectroscopía infrarroja asociada a Transformación de Fourier (FT-IR)	61
2.2.4.7. Determinación del contenido de fármaco	61
2.2.4.8. Disolución <i>in vitro</i>	62
2.2.4.9. Contenido de humedad	64
2.2.4.10. Solubilidad.....	64
2.2.4.11. Sedimentación y redispersabilidad.....	64
2.2.5. Formulación de gomas masticables	65
2.2.5.1. Proceso de formulación	65
2.2.5.2. Caracterización de las gomas masticables	68
2.2.5.2.1. Contenido de humedad.....	68
2.2.5.2.2. pH.....	69
2.2.5.2.3. Textura	69
2.2.5.2.4. Desintegración.....	72
2.2.5.2.5. Actividad acuosa	73
2.2.5.2.6. Control microbiológico.....	74
2.2.5.2.7. Contenido de fármaco.....	75
2.2.6. Análisis estadístico.....	75

2.3. Bibliografía	76
-------------------------	----

CAPÍTULO 3. Desarrollo y caracterización de nanosuspensiones de Praziquantel

80

3.1. Introducción	81
3.2. Formulaciones	87
3.3. Resultados	88
3.3.1. Efecto de las soluciones estabilizantes sobre propiedades de PZQ, críticas para el desarrollo de NS	88
3.3.1.1. Efecto sobre la solubilidad de PZQ	88
3.3.1.2. Efecto sobre el mojado de PZQ	88
3.3.1.3. Efecto sobre el tamaño de partícula de PZQ	89
3.3.2. Caracterización de las NS seleccionadas	91
3.3.2.1. Morfología de las partículas	91
3.3.2.2. Potencial Zeta	95
3.3.2.3. Caracterización por FT-IR	95
3.3.2.4. Análisis Térmico	97
3.3.2.5. Caracterización cristalográfica	100
3.3.2.6. Disolución <i>in vitro</i>	102
3.4. Conclusiones	104
3.5. Bibliografía	106

CAPÍTULO 4. Desarrollo y caracterización de polvos nanocompuestos obtenidos mediante Secado por Atomización

112

4.1. Introducción	113
4.2. Formulaciones	117
4.3. Resultados	118
4.3.1. Proceso de secado por atomización	118
4.3.2. Caracterización del producto sólido y del polvo redispersado	118
4.3.2.1. Contenido de humedad del polvo	119
4.3.2.2. Distribución de tamaño de partículas	119
4.3.2.3. Morfología de las partículas	120

4.3.2.4.	Caracterización por FT-IR	123
4.3.2.5.	Análisis térmico	124
4.3.2.6.	Caracterización cristalográfica	126
4.3.2.7.	Estudios de solubilidad	128
4.3.2.8.	Contenido de fármaco	129
4.3.2.9.	Disolución <i>in vitro</i>	129
4.3.2.10.	Estudios de sedimentación y redispersabilidad	133
4.3.3.	Evaluación de propiedades críticas del producto redispersado durante el período de utilización propuesto	135
4.3.3.1.	Análisis de la distribución de tamaño de partículas	136
4.3.3.2.	Caracterización cristalográfica	136
4.3.3.3.	Contenido de fármaco y disolución <i>in vitro</i>	137
4.3.4.	Comparación de la disolución <i>in vitro</i> de los sistemas formulados a partir de un comprimido comercial de PZQ.....	138
4.4.	Conclusiones	140
4.5.	Bibliografía	141

CAPÍTULO 5. Desarrollo y caracterización de gomas masticables para administración pediátrica..... 145

5.1.	Introducción	146
5.2.	Formulaciones.....	153
5.3.	Resultados.....	154
5.3.1.	Procesamiento y estabilización	154
5.3.2.	Caracterización fisicoquímica, mecánica y farmacéutica de las formulaciones estabilizadas.....	158
5.3.2.1.	Contenido de humedad	158
5.3.2.2.	Determinación de pH.....	159
5.3.2.3.	Análisis de Textura.....	159
5.3.2.4.	Ensayo de desintegración	163
5.3.2.5.	Actividad acuosa (a_w)	164
5.3.2.6.	Control microbiológico.....	165
5.3.2.7.	Determinación de contenido de PZQ.....	168
5.4.	Conclusiones	169
5.5.	Bibliografía	170

CAPÍTULO 6. Conclusiones y perspectivas futuras	173
6.1. Conclusiones	174
6.2. Perspectivas futuras	175
Abreviaturas	177
Tablas.....	179
Figuras	181
Producción científica.....	184

CAPÍTULO 1

Introducción y objetivos

1.1. Aspectos generales sobre las enfermedades infecciosas desatendidas

De acuerdo al Programa Especial de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para Investigación y Capacitación en Enfermedades Tropicales, las enfermedades de la pobreza son aquellas que afectan principalmente a los habitantes de países en desarrollo, los cuales se encuentran en una clara desventaja social y con un limitado acceso a los servicios públicos y de salud [1]. Dentro de estas patologías, se encuentran las **enfermedades infecciosas desatendidas (EID)**. Las EID son principalmente de origen parasitario y su denominación está asociada a la pobreza y la marginalidad de quienes las padecen, sumado a que no han recibido atención del ámbito nacional ni internacional, lo que se traduce en una escasez de recursos para su abordaje integral. Además de provocar dolor y sufrimiento, estas enfermedades causan estigma y discriminación asociados a sus secuelas, que muchas veces resultan irreversibles [2]. La OMS estima que más de 1000 millones de personas en el mundo sufren una o más de estas enfermedades y viven en zonas con elevado riesgo de contraerlas [2].

De acuerdo a la OMS, dentro de las EID se incluyen el dengue, la rabia, el tracoma causante de ceguera, la úlcera de Buruli, las treponematosis endémicas, la lepra, la enfermedad de Chagas, la tripanosomiasis africana humana, la leishmaniasis, la cisticercosis, la dracunculosis, la equinococosis, las infecciones por trematodos transmitidas por los alimentos, la filariasis linfática, la oncocercosis, la esquistosomiasis y las helmintiasis transmitidas por el suelo [3].

La mayoría de estas enfermedades son crónicas y los efectos sobre la salud son perdurables, afectando el crecimiento, el desarrollo físico e intelectual y la capacidad de aprendizaje, lo cual a su vez disminuye la productividad laboral y, por lo tanto, la capacidad de generar ingresos familiares adecuados. Todo esto contribuye a obstaculizar el progreso y desarrollo de las comunidades, poblaciones y países afectados y a deteriorar aún más su ya precario nivel de vida, perpetuando así el círculo vicioso de la pobreza, pues son a la vez consecuencia y causa de ella [2].

De acuerdo a reportes de la OMS, en América Latina y el Caribe viven unas 200 millones de personas bajo condiciones de pobreza. Estos datos indican la vulnerabilidad de estas poblaciones para contraer alguna de las enfermedades infecciosas. Además, varias de estas enfermedades también están estrechamente relacionadas con la falta de acceso a agua potable y saneamiento básico. En el año 2012, el 12 % de la población del continente americano que vivía en zonas rurales no tenía acceso a agua segura y el 25 % no contaba con saneamiento

básico adecuado. Esas carencias contribuyen a que la población americana en general represente el 8,8 % de la carga global de las EID [2].

Cabe destacar que estas enfermedades se pueden prevenir, controlar e incluso eliminar con un fuerte compromiso gubernamental [4]. En tal sentido, la OMS junto con la Organización Panamericana de la Salud han considerado necesaria la implementación de siete estrategias integradas de salud pública con el fin de combatir las EID. Estas estrategias incluyen el suministro de agua potable, el saneamiento y mejora de la higiene, la atención de la salud pública veterinaria, la educación sanitaria de las comunidades, el manejo integrado de los vectores, el manejo intensivo de los casos y el acceso a medicamentos para la prevención y tratamiento [2]. Finalmente, es importante remarcar que la solución para prevenir y controlar las EID debe darse en un contexto de lucha contra la pobreza y la inequidad.

1.1.1. Desarrollo de medicamentos para el tratamiento de EID

Con respecto al tratamiento de estas enfermedades, sólo un ínfimo porcentaje de los nuevos medicamentos que logran llegar al mercado cada año se destina a las EID. Un estudio publicado en *The Lancet Infectious Diseases* muestra que de 256 nuevos productos terapéuticos que llegaron al mercado entre enero de 2012 y septiembre de 2018, sólo ocho estuvieron dirigidos a enfermedades infecciosas [5].

Estos resultados indican la existencia de una profunda brecha entre los impactos de esas enfermedades, sobre la salud pública y la economía del país o región, y el desarrollo de tratamientos adecuados. De los ocho productos aprobados en ese período, ninguno fue específicamente para las EID sino para la malaria y la tuberculosis, y de hecho, únicamente dos fueron nuevos compuestos químicos: bedaquilina, para tuberculosis, y tafenoquina, para malaria. Los demás constituyeron medicamentos conteniendo fármacos aplicados en el tratamiento de otras enfermedades que fueron aprobados para uso clínico en EID, o que se diseñaron vehiculizando un fármaco ya aprobado en forma de nuevas formulaciones [5].

La falta de nuevas tecnologías para enfermedades desatendidas se debe principalmente a la escasez de fondos destinados a innovación. Si bien las inversiones en investigación para combatir enfermedades infecciosas alcanzaron el valor récord de US\$ 3.600 millones en 2017, detrás de esa cifra hay algunas disparidades. El 70 % de ese total se destinó al desarrollo de nuevos tratamientos para el HIV, la malaria y la tuberculosis, donde se ha observado la mayor innovación farmacéutica en las últimas décadas. Sin embargo, no se observaron grandes

inversiones ni desarrollos en enfermedades tropicales que realmente están desatendidas como dengue, chikungunya, leishmaniasis y esquistosomiasis, entre otras [5].

Como es sabido, el desarrollo de un nuevo medicamento para cualquier enfermedad es un proceso extenso y complejo. Es necesario llevar a cabo estudios clínicos con un gran número de pacientes, lo que requiere infraestructura y personal capacitado. En el caso de las EID, conducir un ensayo clínico en una región de bajos recursos, carente de electricidad y otros servicios básicos, sería muy dificultoso. Por último, luego de superar estas dificultades y aprobar un nuevo medicamento, que puede tardar en promedio 10 a 12 años, los productores deben lograr que los tratamientos lleguen a los pacientes y que sean accesibles [5]. Especialmente esto impacta en el desarrollo de especialidades medicinales orientadas a pacientes pediátricos. Por ello, el desarrollo de nuevos materiales y/o especialidades medicinales que optimizan las terapias utilizando fármacos, reconocidos como seguros y eficaces para las EID, es una estrategia atractiva. Se reducen los ensayos requeridos por las agencias regulatorias para su aprobación y se brindan soluciones a problemas de salud pública.

1.2. Formulaciones huérfanas en pediatría

Las formas farmacéuticas pediátricas deben estar adaptadas a las necesidades del niño en función de la edad, el peso, las condiciones fisiológicas y los requisitos del tratamiento [6]. Todos estos criterios deben ser tenidos en cuenta para lograr una administración de dosis segura y precisa, reduciendo así el riesgo de errores de medicación y mejorando tanto la adherencia al tratamiento, como los resultados terapéuticos alcanzados [7].

Sin embargo, conseguir esto en el ámbito pediátrico se vuelve muy difícil, dado que en la mayoría de las ocasiones los pacientes son tratados con las mismas formas farmacéuticas que los adultos. En general, las compañías farmacéuticas encuentran poco atractivo y redituable el desarrollo de medicamentos y dosificaciones para niños, por diversos motivos. En primer lugar, la población mundial pediátrica es mucho menor que la adulta, considerando que los seres humanos viven aproximadamente 16 años como niños, y entre 60 y 80 años como adultos. Por otro lado, se encuentran cuestiones inherentes a la investigación en pacientes pediátricos, entre las que se pueden mencionar problemas éticos, científicos y prácticos. Asimismo, como los niños crecen, su tamaño corporal y la composición, la fisiología, los cambios cognitivos y motores son permanentes. Por todo ello, y debido a la falta de estudios de investigación específicos, en pediatría se utilizan fármacos extrapolando los datos provenientes de los adultos [8].

Históricamente, el hecho de no apreciar los cambios en el desarrollo de los niños ha llevado a muchos resultados adversos en la práctica clínica. Los ejemplos incluyen muertes infantiles por ahogamiento con comprimidos de albendazol, el uso letal de alcohol bencílico o dietilenglicol en elixires de sulfanilamida, y desequilibrios de electrolitos causados por altos contenidos de sodio o potasio en formulaciones parenterales [9-11]. Para prevenir tales tragedias y asegurar el tratamiento adecuado de niños de todas las edades, a menudo se necesitan diferentes vías de administración, formas de dosificación y/o concentraciones para el mismo principio activo.

La falta de alternativas terapéuticas en la población pediátrica se refleja en el enorme uso *off-label* de medicamentos, que se define como la utilización de un medicamento por fuera de las especificaciones autorizadas, tales como el uso para otra indicación, dosificación o grupo etario diferente, pero con eficacia y seguridad claramente contrastadas [12]. De esta manera, el farmacéutico es el encargado de adaptar, en forma galénica, una determinada formulación diseñada para adultos para que sea útil en los niños, por medio del fraccionamiento y pulverizado de comprimidos, apertura de cápsulas y administración en vehículos de suspensión o conjuntamente con alimentos, entre otros. Estas estrategias son útiles para abordar la falta de acceso al medicamento pediátrico. Sin embargo, esto debe motivar el desarrollo del correspondiente medicamento pediátrico.

A aquellos medicamentos que no están disponibles en formas farmacéuticas adecuadas para la población pediátrica se los conoce como “**formulaciones huérfanas**”. Éstas constituyen formulaciones cuya dosis del ingrediente farmacéutico activo (IFA) o forma farmacéutica no se encuentra disponible como especialidad medicinal apropiada [8]. A diferencia de un “medicamento huérfano”, la formulación huérfana no es destinada exclusivamente a pacientes con enfermedades raras, sino que pueden ser enfermedades totalmente comunes [8]. Es decir, en una formulación huérfana el IFA existe, tiene indicación para la enfermedad a tratar y se presenta en otras formulaciones comerciales, pero lo que falla es la forma farmacéutica específicamente necesaria para la población pediátrica [8].

Para superar los desafíos mencionados anteriormente, se creó un nuevo entorno regulador pediátrico entre Estados Unidos y la Unión Europea, para estimular el desarrollo y la disponibilidad de medicamentos apropiados para esta población. El objetivo previsto a largo plazo consiste en integrar las necesidades pediátricas al desarrollo general de medicamentos, de modo que cada nuevo componente se evalúe sistemáticamente para su uso potencial en niños. El progreso inicial se logró combinando los requisitos legales con incentivos para que las empresas prueben, autoricen y formulen medicamentos para uso en niños [6].

No obstante, las áreas terapéuticas que aborda la industria parecen estar más alineadas con el desarrollo de medicamentos para adultos que con las necesidades de salud pública no satisfechas en pediatría. Para orientar los esfuerzos hacia beneficios terapéuticos significativos para los niños, las agencias gubernamentales de los Estados Unidos y la Unión Europea han establecido listas de medicamentos prioritarias, destacando áreas con un uso *off label* sustancial [13-15]. Sin embargo, estos listados no se adaptan completamente a las problemáticas de países en desarrollo.

Debido a ello, la OMS presentó la iniciativa “*Make Medicines Child Size*” que se focaliza en el diseño de formas farmacéuticas adecuadas para el tratamiento de enfermedades con alta prevalencia en niños, que residen en países en desarrollo [16]. Esta contribución podría reducir en gran medida la morbilidad y mortalidad infantil. En el caso particular de los medicamentos antiparasitarios, más precisamente antihelmínticos intestinales para uso en niños, la OMS recomienda como esenciales a los siguientes IFAs: albendazol, levamisol, mebendazol, niclosamida, pirantel y praziquantel, en formulaciones adecuadas para administración pediátrica [17].

1.3. Aspectos tecnológicos para el diseño de formulaciones pediátricas

La administración oral de medicamentos sigue siendo la vía de administración preferida y mayormente aceptada, tanto en poblaciones pediátricas y adultas por igual [18].

Durante el diseño y el desarrollo de una nueva formulación destinada a pacientes pediátricos se deberá considerar que ésta sea estable, segura, eficaz y fácil de administrar. Para ello, se requiere considerar las propiedades físicas, químicas y biofarmacéuticas del IFA y la funcionalidad y compatibilidad de los excipientes que formarán parte del medicamento [19]. Se debe lograr que la forma farmacéutica presente flexibilidad de dosificación, permitiendo el ajuste de dosis en función del peso del paciente, y procurar enmascarar el sabor desagradable de los IFAs, para minimizar la pérdida por derrames intencionales. La importancia de estos aspectos radica en la aceptabilidad de la formulación por parte del paciente, la cual facilitaría la adherencia al tratamiento [20].

La solubilidad, la estabilidad química y el sabor del IFA, junto con la dosis prevista y la edad del paciente, contribuyen a determinar el tipo de formulación factible de desarrollar. Para los niños menores de 5 años, las fórmulas líquidas son preferidas y se administran mediante cuchara,

jeringa o gotero. A medida que se avanza en edad, los niños desarrollan gradualmente sus habilidades cognitivas y motoras, y mejoran su capacidad para deglutir medicamentos. Por lo que el conjunto de tecnologías alternativas se amplía, incluyendo a las formulaciones semisólidas o sólidas. Actualmente, en el mercado, existen numerosas variantes de formulaciones orales pediátricas (Figura 1.1). Entre ellas se pueden encontrar las formulaciones listas para usar (soluciones, suspensiones, comprimidos convencionales, masticables y de desintegración oral u orodispersables) y también formulaciones que requieren una manipulación previa a su administración (polvos o comprimidos para reconstituir en forma de suspensión, comprimidos efervescentes, gránulos o polvos a granel o contenidos en una cápsula para espolvorear en los alimentos o bebidas) [21]. Además hay una tendencia creciente a utilizar formas farmacéuticas cada vez más atractivas para la población pediátrica, como son los caramelos y las gomas masticables.

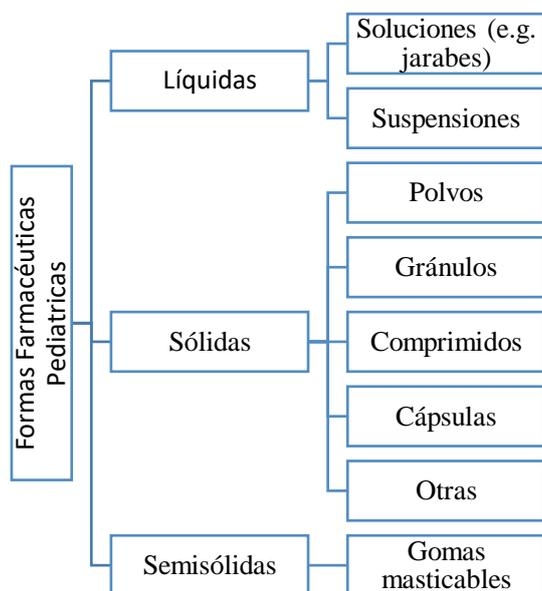


Figura 1.1. Esquema de formas farmacéuticas pediátricas para administrar principios activos por vía oral

Cabe destacar que si bien estas formulaciones han sido desarrolladas para el uso pediátrico, no son exclusivas de estos pacientes. Así, pacientes adultos que requieran ajustar la dosis, o presenten inconvenientes para deglutir los comprimidos convencionales, o requieran un efecto farmacocinético deseado, pueden también utilizarlas [22].

A continuación se describirán brevemente algunas de las formulaciones mencionadas.

Formas farmacéuticas líquidas orales

Las formulaciones líquidas orales constituyen la forma farmacéutica preferida, o indicada, para muchos pacientes en pediatría. En estas formulaciones se requiere que el IFA esté disuelto o suspendido en un vehículo, y que además cumpla con requisitos de biodisponibilidad, estabilidad y sabor agradable [23]. Las formas líquidas orales suelen presentar algunas ventajas respecto a las formulaciones sólidas, como una mayor biodisponibilidad, un menor efecto irritante sobre la mucosa gástrica, mayor flexibilidad de dosificación y una mayor facilidad de ingestión. Entre los inconvenientes, cabe destacar el mayor riesgo de contaminación y la posible inestabilidad química de los fármacos en solución [19]. Como se mencionó previamente, dentro de este grupo puede hacerse una diferenciación entre aquellas formas listas para su uso y las que requieren una manipulación previa por parte del usuario.

Es importante considerar que las formas líquidas deben estar acompañadas por un dispositivo de medición de volumen apropiado, para asegurar la exactitud de la dosis a administrar. El dispositivo debe ser adecuado para medir todas las dosis recomendadas posibles, y la idoneidad debe validarse en relación con la preparación líquida real. Esto es particularmente crítico para líquidos orales viscosos. Por otra parte, el prospecto debe incluir instrucciones claras sobre el uso correcto del dispositivo, para garantizar que el niño tome la dosis recomendada [24].

Entre las formas farmacéuticas líquidas más comúnmente utilizadas en farmacoterapia pediátrica podemos citar:

- Soluciones

Son formas farmacéuticas que contienen uno o más IFAs disueltos en un medio líquido apropiado. Las concentraciones de fármaco que vehiculizan generalmente varían de 1 µg/ml a 500 mg/ml, y los volúmenes de dosis pueden ir desde tan sólo 0,1 ml hasta decenas de mililitros, siendo el volumen ideal de 5 ml [21].

- Suspensiones

Son sistemas heterogéneos que contienen partículas de fármaco finamente divididas y distribuidas de manera uniforme en un vehículo, en el cual el IFA es insoluble o presenta un grado de solubilidad mínimo. La mayoría de las suspensiones son de base acuosa con cierta viscosidad, que incluyen agentes aromatizantes y edulcorantes. Las suspensiones orales permiten la administración de fármacos que son inestables en solución, pero químicamente estables cuando se formulan en forma de suspensión. El sistema fisicoquímico suspensión puede

considerarse inicialmente como una forma de dosificación palatable, dado que el sabor desagradable de ciertos fármacos es superado o minimizado al formularlos como partículas no disueltas [21].

Algunos de los atributos críticos de calidad de las suspensiones orales incluyen características físicoquímicas tales como la viscosidad, la capacidad de formación de espuma, la sedimentación y la adherencia del IFA suspendido al envase primario y/o dispositivo de medición. Cuando no puede evitarse la sedimentación resulta indispensable que la suspensión se redisperse completamente con una simple agitación manual, para asegurar una correcta uniformidad de dosis [21].

- Sólidos para reconstituir en forma de suspensión

Si el fármaco no es químicamente estable a largo plazo cuando se presenta en forma líquida, se puede formular como un sólido que es necesario reconstituir en forma de suspensión, al momento de ser utilizado [21]. El componente sólido puede estar constituido por polvos, comprimidos, gránulos o microcápsulas, siendo los polvos los más comúnmente utilizados. Las características particulares de este tipo de formulación se abordarán en detalle en el Capítulo 4.

- Preparaciones efervescentes

Las formas farmacéuticas efervescentes incluyen comprimidos, gránulos y polvos, que se disuelven en agua antes de la administración, y constituyen una alternativa interesante para vehicular IFAs con estabilidad insuficiente en medios acuosos. Además, se pueden transportar con mayor facilidad que las formulaciones líquidas convencionales [24,25]. Sin embargo, las preparaciones efervescentes para uso en pediatría pueden estar restringidas por el alto contenido de electrolitos y el volumen relativamente grande de líquido necesario para la disolución [25].

Formas farmacéuticas sólidas y semisólidas orales

Si bien es ampliamente conocido que las formas farmacéuticas sólidas (e.g. comprimidos y cápsulas) son las más utilizadas para administrar fármacos, su uso en la población pediátrica se ve limitado por la incapacidad de los niños para deglutirlas, especialmente las de mayor dosis como antiparasitarios y antibióticos [18].

Actualmente, existen alternativas a las formulaciones convencionales, tales como los sistemas multiparticulados, los comprimidos orodispersables y masticables y las gomas masticables. Su utilización es cada vez mayor debido a que superan ciertas limitaciones de las formulaciones

líquidas, tales como problemas de estabilidad, de uniformidad de dosis y de facilidad de administración. Por otro lado, utilizando formulaciones sólidas es posible desarrollar sistemas de liberación modificada y asegurar una ingesta de dosis completa, especialmente en niños muy pequeños que pueden rechazar el medicamento. Sin embargo, esto puede significar una desventaja, ya que no es posible adecuar las dosis según el peso del niño. Cuando esto ocurra, se podrán prever formulaciones a diferentes concentraciones. Además, aprovechando los atributos de las formas sólidas, como el tamaño, la forma y el color, se podrán lograr formas farmacéuticas amenas para esta población particular [18].

A continuación, se describen las formas farmacéuticas sólidas y semisólidas más relevantes para administración de fármacos en niños.

- Comprimidos masticables

Estas formulaciones están destinadas a ser masticadas antes de ser ingeridas. Los desafíos en el desarrollo farmacéutico incluyen asegurar las propiedades organolépticas aceptables, así como garantizar que los comprimidos se trituren fácilmente durante el proceso de masticación. Estas formulaciones son consideradas seguras y bien toleradas para los niños a partir de los 2 años, dado que el conjunto completo de los dientes de leche está generalmente desarrollado a esa edad. De hecho, la masticación antes de deglutir es un mecanismo innato, aunque esta población puede no entender completamente la instrucción de masticar o retener en la boca. Por ello, se deben investigar especialmente las consecuencias de consumir intactos los comprimidos masticables; incluso puede ser preferible que éstos se formulen de manera tal que ambos métodos de administración sean posibles [18].

- Comprimidos orodispersables (también llamados ODT, por sus siglas en inglés)

Estas formas farmacéuticas están destinadas a colocarse directamente en la boca, donde se desintegran rápidamente con la saliva previo a la deglución, evitando la necesidad de utilizar agua para su administración. Estas formulaciones generalmente vehiculizan fármacos en dosis baja y, como en otros casos, se debe prestar atención en garantizar que las propiedades organolépticas, incluida la textura y la palatabilidad, sean aceptables [26].

Este tipo particular de comprimidos pueden ser utilizados en toda la población pediátrica, aunque, al igual que en comprimidos masticables, se deben considerar los riesgos asociados a ser deglutidos intactos. La mayor velocidad de acción y la mejorada biodisponibilidad de estas formas farmacéuticas pueden ser ventajosas, aunque también se ha informado acerca de

posibles riesgos por una mayor absorción del fármaco, que podría llevar a la intoxicación en niños [18].

- Sistemas multiparticulados

Estas formas farmacéuticas incluyen polvos y gránulos, que pueden considerarse formulaciones en sí mismas (para administrar espolvoreados sobre alimentos y bebidas) o constituir el producto intermedio de otra formulación final (cápsulas, comprimidos, etc.). La provisión de diferentes tamaños y dosis permite una dosificación precisa y confiable de manera individualizada, requerida en la población pediátrica. Para garantizar una sensación adecuada en la boca y reducir el riesgo de masticación involuntaria, el tamaño de partícula de los polvos destinados a espolvorearse debe ser entre 2,5 y 2,8 mm [27].

A partir de los 6 meses de edad los bebés pueden comenzar a tragar alimentos semisólidos, y esto podría incluir la administración de sistemas multiparticulados en los mismos. Es importante destacar que se requerirán estudios de compatibilidad apropiados para asegurar que el IFA y la formulación no provoquen interacciones físicas o químicas con los alimentos o bebidas con los que se pueden mezclar [18].

- Gomas masticables

Las gomas masticables, también conocidas como geles masticables [28], son consideradas otra alternativa interesante para la administración de fármacos en niños. El componente principal de estas formulaciones es el hidrocoloide o agente gelificante, especialmente gelatina. Estas formas farmacéuticas se describirán en forma exhaustiva en el capítulo 5.

En conclusión, existen diversas tecnologías capaces de ser utilizadas para vehicular fármacos a ser administrados a la población pediátrica y, aunque las formas líquidas son muy utilizadas, existe una marcada tendencia a desarrollar formas sólidas y semisólidas, principalmente por consideraciones de estabilidad, tanto química como física.

1.4. Praziquantel

El fármaco seleccionado para el desarrollo de nuevos sistemas farmacoterapéuticos para administración pediátrica, objeto de este trabajo de Tesis, es el Praziquantel, dado que es un principio activo de amplio uso y particular importancia en la población pediátrica, tanto en el

tratamiento como en la prevención de determinadas parasitosis, principalmente esquistosomiasis.

El Praziquantel (PZQ) es un principio activo perteneciente al grupo de los antihelmínticos, de uso tanto en medicina humana como veterinaria. Es efectivo contra diversos trematodos y cestodos, especialmente los esquistosomas [29].

El PZQ es un derivado isoquinolínico, que posee en su estructura química un núcleo de pirazina, otro de isoquinolina y un radical cíclico hexil-carbonilo (Figura 1.2). Se conoce que el grupo oxo en la posición 4 es esencial para la actividad del fármaco y que cualquier modificación del anillo esqueleto suprime la actividad [30].

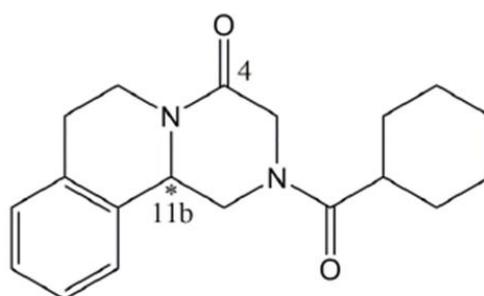


Figura 1.2. Estructura química de Praziquantel

Es de destacar que el PZQ posee un centro quiral en la posición 11b (*) (Figura 1.2.). Actualmente, el producto registrado y utilizado en terapéutica es un racemato formado por R-(-)-PZQ (L-PZQ levorotatorio) y S-(+)-PZQ (D-PZQ dextrorotatorio), en partes iguales. Sin embargo, únicamente el isómero levorotatorio es biológicamente activo, mientras que el dextrorotatorio (inactivo) es el que contribuye al sabor amargo y duplica innecesariamente el tamaño de los comprimidos [31].

1.4.1. Mecanismo de acción

Tras la administración de PZQ, el principal daño que puede observarse en los esquistosomas es la parálisis espástica de la musculatura del gusano. Esta contracción es causada por un rápido flujo de iones Ca^{2+} dentro del esquistosoma. De esta manera, se altera la homeostasis de calcio y se induce el desprendimiento de las ventosas del parásito de la pared vascular del huésped [32]. Como consecuencia, se produce un desplazamiento de los esquistosomas desde las venas mesentéricas hacia el hígado, pudiendo el hospedador eliminarlos posteriormente [31]. Otro efecto observado luego de la administración de PZQ es la alteración del tegumento del agente infectante, que depende de la dosis y del tiempo de tratamiento [33]. Las principales

alteraciones morfológicas que puede sufrir el tegumento son la vacuolización en la base del sincitio tegumental y la vesiculación de la superficie, afectando las funciones de absorción, excreción y secreción del parásito [33].

El PZQ puede actuar sobre las distintas etapas de desarrollo de los esquistosomas, siendo eficaz contra los parásitos adultos, miracidios y cercarias, pero presenta poco o ningún efecto sobre las fases juveniles, i.e., huevos, esporoquistes o esquistosómulos [34].

El ciclo biológico de *Schistosoma*, en cuyos estadios puede ejercer efecto el PZQ, se muestra en la Figura 1.3.

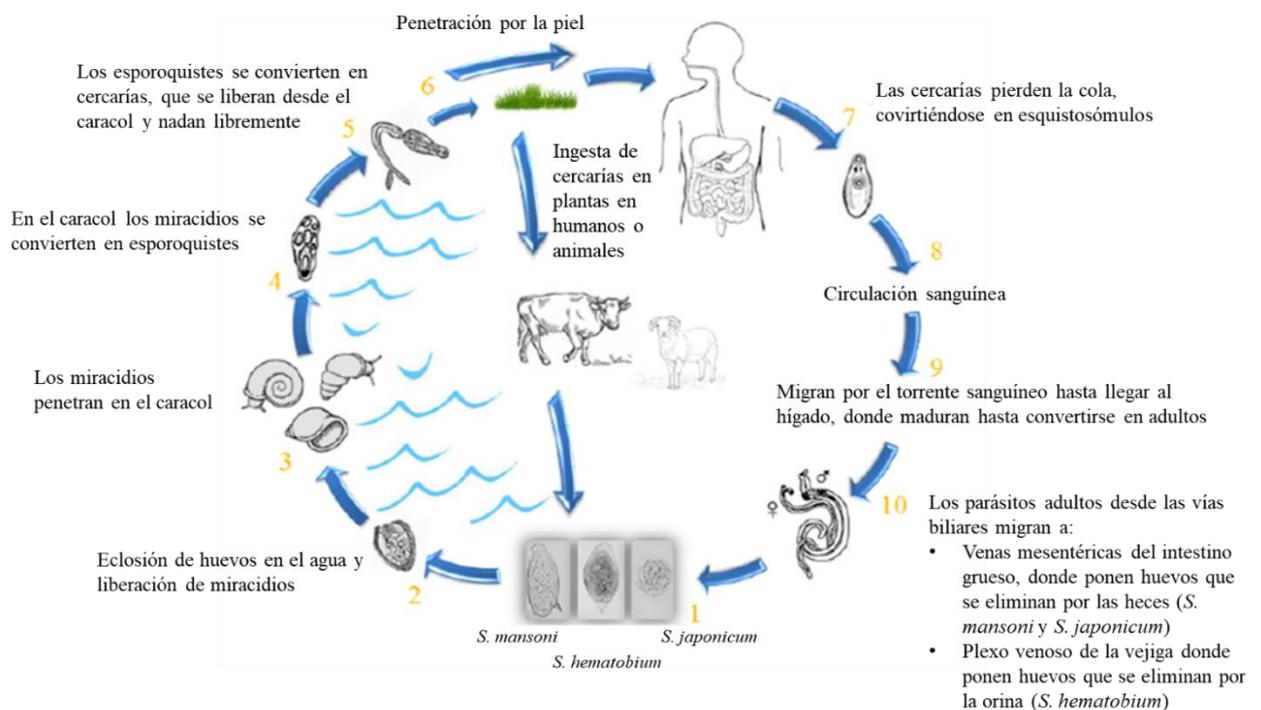


Figura 1.3. Ciclo biológico de *Schistosoma*. Adaptado de Referencia [30].

1.4.2. Indicaciones terapéuticas y posología

El PZQ se utiliza como fármaco antiparasitario (antihelmíntico) en humanos y se administra exclusivamente por vía oral como comprimidos. Constituye el tratamiento de elección para la esquistosomiasis y una alternativa terapéutica en otras patologías producidas por trematodos y cestodos [35].

Este fármaco está indicado principalmente para el tratamiento de parasitosis causadas por especies de *Schistosoma* patógenos para el humano, tales como son *S. mansoni*, *S. intercalatum*,

S. haematobium, *S. japonicum* y *S. mekongi*. El PZQ también es altamente efectivo en el tratamiento de infecciones intestinales, hepáticas y pulmonares, incluyendo las causadas por *Fasciolopsis buski*, *Metagonimus yokogawai*, *Heterophyes heterophyes*, *Echinostoma spp*, *Clonorchis sinensis*, *Opisthorchis viverrini*, *Opisthorchis felineus* y varias especies de *Paragonimus*, así como en infecciones causadas por tenias y otros cestodos, tales como *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Diphyllobothrium latum* y *Hymenolepis nana* [35].

Con respecto a las dosis y posologías habitualmente utilizadas, algunas de ellas se indican en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Dosis y posología habitualmente utilizadas para distintas parasitosis

Parasitosis	Dosis y Posología
Esquistosomiasis	40-60 mg/kg en dosis única o 3 dosis de 20 mg/kg, en intervalos de 4 a 6 h, por un día [36]
Himenolepiasis	15-25 mg/kg en dosis única [37]
Teniasis intestinal	5-10 mg/kg en dosis única [35]
Cisticercosis	50 mg/kg/día en 3 dosis durante 14 días [35]
Difilobotriosis	10-25 mg/kg en dosis única [37]

1.4.3. Perfil farmacocinético

Un resumen de los principales procesos farmacocinéticos que ocurren tras la administración oral de PZQ se puede observar en la Figura 1.4. Es importante destacar que los estudios farmacocinéticos de PZQ llevados a cabo en humanos resultan escasos y ningún estudio ha sido realizado en la población pediátrica. Por otra parte, debido a que no existe una formulación parenteral para uso humano, la biodisponibilidad absoluta de PZQ no se conoce.

El PZQ es un compuesto hidrófobo y de baja solubilidad acuosa, que presenta una absorción rápida y casi completa (mayor al 80 %) [31]. Sin embargo, su biodisponibilidad sistémica es baja y posee alta variabilidad interindividual. De acuerdo a lo que se ha observado en distintos estudios, la biodisponibilidad de PZQ aumenta cuando se administra junto con alimentos, siendo este aumento mayor cuando se trata de una dieta rica en carbohidratos [38]. Este efecto puede deberse a cambios en el flujo sanguíneo hepático, así como a la expresión alterada del citocromo P450 en respuesta a la dieta o a cambios en el metabolismo de primer paso [39]. Además, la

variabilidad en la biodisponibilidad oral se ha asociado a diferencias en los procesos de disolución de diferentes especialidades medicinales [40]. En la población pediátrica, el desarrollo de los cambios en la motilidad intestinal entre niños de muy corta edad y niños más grandes hacen que alcanzar la máxima concentración plasmática demore más tiempo. Es por eso que se esperan velocidades de absorción más lentas en los niños más pequeños. Este comportamiento se hace más relevante al tratarse de un fármaco de baja solubilidad acuosa [41]. Las características mencionadas convierten a PZQ en un candidato para explorar mejoras en la velocidad de disolución, enfoque que se retomará en secciones subsiguientes.

Una vez en el torrente sanguíneo, el PZQ se distribuye a través de todo el organismo, concentrándose especialmente en el hígado y los riñones [42]. En cuanto al volumen de distribución, éste aún no ha sido reportado. Aproximadamente el 80 % de PZQ se une a proteínas, principalmente albúmina, haciendo que los niveles de fármaco libre estén sujetos a factores tales como la nutrición y la inflamación [43]. En niños menores a 1 año de edad, la fracción de fármaco libre será mayor, dado que presentan menor cantidad de proteínas en plasma.

Tal como se ha reportado en la literatura, el PZQ sufre un extenso efecto de primer paso hepático, llevado a cabo por el sistema citocromo (situación que también compromete la biodisponibilidad oral). Los principales metabolitos inactivos en el humano son derivados de PZQ mono- y di-hidroxilados [39]. Dado que los procesos metabólicos del hígado son más lentos en los bebés que en los niños mayores y adultos, se podría esperar una vida media más prolongada en el primer grupo etario mencionado, aunque se requieren estudios adicionales para llegar a una información concluyente [39].

La eliminación de PZQ es principalmente renal. Dado que el fármaco es altamente metabolizado en el circuito hepático, menos del 0,01 % del fármaco intacto se encuentra en la orina. En el caso de los niños pequeños, generalmente lleva de 6 a 12 meses alcanzar las funciones renales de los adultos. Por lo tanto, la eliminación de PZQ debe ser similar en niños en edad preescolar y en adultos [39].

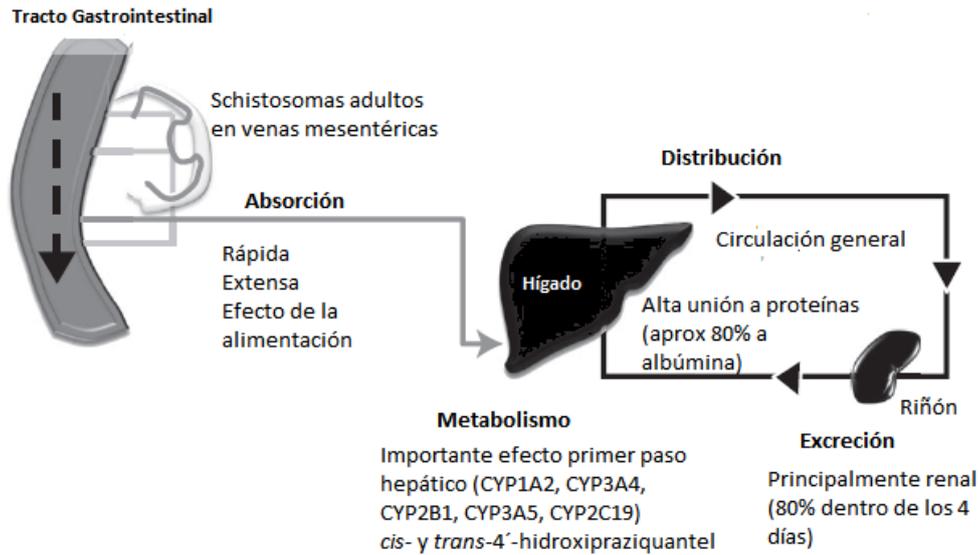


Figura 1.4. Esquema de las principales características farmacocinéticas de PZQ. Adaptado de Referencia [39]

En síntesis, la biodisponibilidad oral de PZQ se ve afectada por los procesos de disolución y metabolismo hepático.

1.4.4. PZQ en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) permite agrupar a los distintos principios activos de acuerdo a su solubilidad acuosa y permeabilidad intestinal (Figura 1.5). En el desarrollo de nuevas formulaciones, el SCB permite identificar rápidamente el conjunto de estrategias de formulación o procesamiento, útiles para mejorar las propiedades limitantes del fármaco [44].

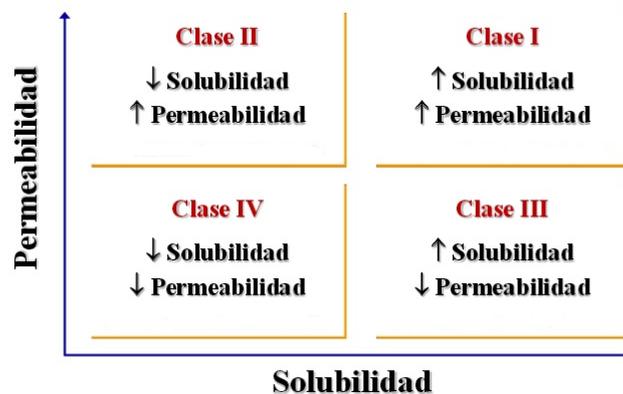


Figura 1.5. Sistema de clasificación Biofarmacéutica

En base a este sistema, el PZQ se clasifica como un fármaco clase II [42, 45, 46]. Esto significa que posee baja solubilidad acuosa y alta permeabilidad, lo cual hace que la velocidad de disolución sea el factor limitante del proceso de absorción y biodisponibilidad. Si el proceso de disolución se encuentra bloqueado, es lento o incompleto, el efecto terapéutico buscado resultará ineficiente o nulo, es decir, la biodisponibilidad se verá seriamente comprometida. Cabe destacar que dentro del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica basado en el grado de metabolización del fármaco (BDDCS, por sus siglas en inglés), el PZQ conserva su clasificación como clase II, dada su baja solubilidad y extenso metabolismo [39].

Esta clasificación se conserva en pacientes pediátricos [47,48]. De acuerdo a lo mencionado, toda mejora en la velocidad de disolución del PZQ conforma un aspecto de especial interés tecnológico y de aplicación en medicamentos pediátricos.

1.5. Estrategias para mejorar la solubilidad y la velocidad de disolución de los fármacos

Como se mencionó, la velocidad de disolución *in vitro* constituye un parámetro importante a tener en cuenta durante el desarrollo de medicamentos conteniendo principios activos clase II. De esta manera, la aplicación de estrategias tecnológicas para modificar características fisicoquímicas del principio activo, a fin de aumentar la velocidad de disolución de fármacos poco solubles, permitiría mejorar su biodisponibilidad [49, 50].

En el caso particular de PZQ se han llevado a cabo numerosos trabajos de investigación, a través de la aplicación de diferentes herramientas tecnológicas, que serán discutidas a continuación.

1.5.1. Formación de complejos con ciclodextrinas

Las ciclodextrinas constituyen una familia de oligosacáridos cíclicos derivados del almidón. Los anillos formados poseen un exterior hidrofílico y un núcleo lipofílico en el que las moléculas orgánicas de tamaño apropiado pueden acomodarse, formando complejos de inclusión no covalentes, que resultan en una mayor solubilidad acuosa y estabilidad química. De esta manera, se ha mejorado la solubilidad de PZQ mediante su incorporación en α -, β - y γ -ciclodextrinas, así como también en ciclodextrinas modificadas tales como la metil- β -ciclodextrina, la hidroxipropil- β -ciclodextrina, la hidroxipropil- β -ciclodextrina amorfa, la β -ciclodextrina metilada aleatoriamente, la sulfobutil éter- β -ciclodextrina [51-58].

1.5.2. Formulación de dispersiones sólidas

Las dispersiones sólidas (DS) se pueden definir como una dispersión de uno o más principios activos en un vehículo o matriz inerte, en estado sólido, que se preparan principalmente por el método de disolución en solvente orgánico, el de fusión o una combinación de ambos [59].

La preparación de DS conteniendo PZQ y diversos excipientes está descrita en numerosos trabajos científicos. La polivinilpirrolidona es un excipiente que ha sido ampliamente utilizado para la preparación de estos sistemas, debido a que la molécula de fármaco queda homogéneamente dispersa en estado molecular entre las cadenas de polímero, favoreciendo así el mejoramiento de la solubilidad [60-64]. Otros excipientes descritos en literatura, de aplicación exitosa en la formulación de DS de PZQ, incluyen el glicolato sódico de almidón, el alginato sódico, la carboximetilcelulosa, la combinación Gelucire®- manitol y el aceite de castor hidrogenado [65-70]. De esta manera, en todos los casos, se logró incrementar la solubilidad de PZQ, con un consiguiente aumento en la velocidad de disolución y biodisponibilidad.

Aunque las DS de PZQ han sido ampliamente estudiadas, los procesos de producción puestos a punto generalmente utilizan solventes orgánicos o son de difícil escalado, lo cual podría ser una desventaja para su adopción por parte del sector industrial [71].

1.5.3. Formulación de nanopartículas sólidas lipídicas

Las nanopartículas sólidas lipídicas (NSL) se formulan intercambiando el lípido en estado líquido de las emulsiones por uno en estado sólido, tales como glicéridos o ceras con un alto punto de fusión. De esta manera, las NSL son sólidas tanto a temperatura ambiente como a la temperatura corporal. Esta tecnología ha sido utilizada para aumentar tanto la biodisponibilidad del PZQ como su eficacia contra la tenia [72-75]. No obstante, entre las principales desventajas de estos sistemas se pueden mencionar los problemas de estabilidad durante el almacenamiento o la administración inherentes a los materiales que constituyen la matriz [76].

1.5.4. Formulación de co-cristales

Los co-cristales farmacéuticos son materiales cristalinos constituidos por un principio activo y uno o más agentes formadores de co-cristales, los cuales son sólidos a temperatura ambiente. Estos materiales representan una forma de modificar las propiedades biofarmacéuticas y farmacotécnicas de un fármaco, permitiendo obtener nuevos sólidos farmacéuticos con propiedades distintas de solubilidad, velocidad de disolución, estabilidad fisicoquímica, higroscopicidad, entre otras [77].

Se encuentra descrita en la literatura la combinación de PZQ con ácidos di-carboxílicos alifáticos y análogos insaturados de ácido succínico para la formación de co-cristales, con propiedades particulares que han permitido superar algunas de las limitaciones del uso de este fármaco, tanto en humanos como en animales [78]. Sin embargo, el empleo de solventes orgánicos puede considerarse una desventaja de esta metodología.

1.5.5. Modificaciones de la cristalinidad

Muchos compuestos orgánicos son capaces de adoptar una forma amorfa y/o una o más estructuras cristalinas, con diferentes disposiciones espaciales de las moléculas en la red (polimorfos). Dos polimorfos de un mismo compuesto pueden ser tan diferentes en estructura y propiedades como dos compuestos químicamente diferentes. Los puntos de fusión, densidades, solubilidades, forma de los cristales, propiedades eléctricas, y los espectros de difracción de rayos X son características que pueden variar con la forma polimórfica de un mismo IFA [79].

Teniendo en cuenta consideraciones teóricas, las formas amorfas presentan una velocidad de disolución mayor que las formas cristalinas de un mismo fármaco y, por lo tanto, son más biodisponibles. Estas consideraciones se basan en las energías relativas involucradas en el proceso de disolución. Un sólido amorfo carece de fuertes uniones entre sus moléculas, las cuales se distribuyen espacialmente en el sólido de forma aleatoria, por lo que se requiere menos energía que en el sólido cristalino para separarlas durante el proceso de disolución [80].

En este sentido, existen antecedentes de la obtención de una nueva forma polimórfica de PZQ, por empleo de un proceso de molienda [81]. Además, la co-molienda de PZQ con diferentes polímeros ha sido utilizada para la amorfización de este fármaco, con el fin de aumentar su solubilidad [82]. Por otra parte, se formularon DS de PZQ utilizando carbonato cálcico como excipiente, obteniéndose una estructura cristalina modificada, con una mejorada velocidad de disolución y mayor cantidad disuelta del fármaco total [30].

1.5.6. Aplicación de procesos de granulación

La granulación es un proceso de aglomeración de partículas primarias de polvo para formar estructuras mayores denominadas gránulos. Se utiliza en la prevención de la segregación de componentes de una formulación y en el mejoramiento de las propiedades de flujo y las características de compactación de sistemas multiparticulados. Con una adecuada formulación del producto también se puede incidir en la velocidad de disolución. La preparación de un granulado se puede realizar por vía seca o vía húmeda, según se adicione o no un solvente a la

mezcla de polvos, respectivamente. La granulación por fusión en un solo paso es una técnica alternativa, basada en la utilización de un agente aglutinante sólido que funde a temperaturas entre 50-80 °C, en lugar de solventes acuosos u orgánicos [83].

La granulación por fusión, en particular, ha sido empleada para aumentar la velocidad de disolución de PZQ, cuando se lo formula con Poloxamer 188 [84]. Por otro lado, también se han desarrollado gránulos dispersables de PZQ mediante granulación húmeda en lecho fluido, destinados al tratamiento de esquistosomiasis en niños en edad preescolar [85]. Es decir, utilizando granulación y una adecuada formulación de producto se han desarrollado sistemas particulados de PZQ. Sin embargo, en este último caso, la velocidad de disolución de los productos desarrollados no superó el 50 % de fármaco disuelto.

1.5.7. Formulación de liposomas

Los liposomas constituyen vesículas esféricas y cerradas, creadas por la combinación de proporciones específicas de sustancias anfífilas (como fosfolípidos y colesterol), que se autoensamblan en membranas concéntricas cuando son hidratadas en soluciones acuosas. En su composición presentan una membrana compuesta de una bicapa lipídica, que consta de partes hidrosolubles y liposolubles. Por lo tanto, el interior y el exterior de un liposoma son hidrosolubles, mientras que el interior de la membrana es liposoluble. Las ventajas de estos sistemas de liberación incluyen la reducción de la toxicidad, la acumulación del IFA en el sitio blanco y la posibilidad de administrar una amplia gama de fármacos, con mayor seguridad y eficacia [86].

En este sentido, se ha estudiado la incorporación de PZQ en liposomas de fosfatidilcolina, mejorando significativamente la actividad antiesquistosomal del fármaco [87, 88]. Sin embargo, al tratarse de un sistema que tiene una baja capacidad de carga, dificulta la administración de las dosis recomendadas de PZQ.

1.5.8. Uso de vías de administración alternativas

Alternativamente, se puede plantear el diseño de diferentes vías de administración para mejorar la absorción y biodisponibilidad de un fármaco. Como se mencionó anteriormente, en la actualidad el PZQ se administra únicamente por la vía oral. Esto ha dado lugar a la exploración de vías de administración alternativas. De esta manera, se han desarrollado implantes para administración subcutánea combinando PZQ con distintos excipientes, como poli-ε-caprolactona, o con mezclas de este polímero y etilenglicol-monofenileter o polietilenglicol [89-91]. También se han desarrollado sistemas transdérmicos conteniendo PZQ [92, 93]. Aunque

son productos finales interesantes porque se evita el primer paso hepático, el cambio de vía de administración implica la necesidad de realizar nuevos ensayos clínicos. Además, en el caso de los sistemas transdérmicos el uso de solventes orgánicos limita su aplicación en la población pediátrica.

1.5.9. Disminución del tamaño de partícula

La disminución de tamaño de partícula como herramienta tecnológica para mejorar la solubilidad y velocidad de disolución de principios activos poco solubles ha sido intensamente estudiada en numerosos fármacos y se aplica en la industria farmacéutica. La reducción del tamaño puede ser lograda por procesos de micronización o nanometrización. En ambos casos, la velocidad de disolución se ve mejorada por un aumento de la superficie expuesta de las partículas al medio que las rodea. Además, el aumento de la solubilidad resulta relevante cuando se obtienen partículas de tamaño submicrométrico, mientras que con tamaños mayores no se tendría un efecto significativo sobre esta propiedad particular del fármaco [94].

Con el objetivo de mejorar la velocidad de disolución de PZQ, se han obtenido nanopartículas de PZQ mediante el método de evaporación de solvente, logrando una mejora en la solubilidad, velocidad de disolución y comportamiento *in vivo* del fármaco [95, 96].

Cabe destacar que la reducción en el tamaño de partícula a escala nanométrica constituye la estrategia tecnológica seleccionada para el presente trabajo de Tesis, por lo que será abordado con mayor profundidad en el siguiente punto del presente capítulo.

Por lo expuesto, es reconocida la necesidad de mejorar las propiedades desfavorables de PZQ, sin embargo actualmente este fármaco se continúa administrando bajo la forma farmacéutica de comprimidos convencionales, sin la aplicación de ninguna mejora tecnológica, por lo cual se observan problemas de variable eficacia [40]. De hecho, una disminución del 30% en la biodisponibilidad oral de PZQ lleva a que el tratamiento fracase, con el consiguiente riesgo de desarrollar resistencia [40]. En este sentido, el diseño y desarrollo de formas farmacéuticas que mejoren su velocidad de disolución y que, a la vez, sean adecuadas para la población pediátrica, continúa siendo un desafío de especial interés. Los procesos de producción debieran ser escalables y en lo posible se debiera evitar el uso de solventes orgánicos, para facilitar su adopción por parte de la industria.

1.6. Nanosuspensiones

Como se mencionó anteriormente, una de las estrategias para mejorar la velocidad de disolución de fármacos pobremente solubles en medios acuosos consiste en la micronización de las partículas. La influencia del tamaño de partícula sobre la solubilidad acuosa toma especial relevancia cuando el mismo es inferior a la micra [97]. Para aquellos principios activos que presentan una solubilidad en agua muy baja, este aumento en el área de superficie expuesta podría no conducir a una biodisponibilidad oral suficientemente mejorada [94]. Por lo tanto, el siguiente paso consiste en la nanometrización de las partículas del fármaco.

Los sistemas nanoparticulados pueden dividirse en dos grandes grupos. Por un lado, se encuentran los sistemas que están constituidos por una matriz en la cual el fármaco está distribuido, tales como las nanopartículas poliméricas o lipídicas (nanoemulsiones, liposomas o NSL). Por otro lado se ubican los nanocristales, que están compuestos únicamente por fármaco, finamente dividido y generalmente disperso en un vehículo líquido (Figura 1.6). Por ser este último un sistema libre de excipientes matriciales, se recomienda para fármacos de dosis alta, como antibióticos y antiparasitarios. Estos sistemas son de especial interés dado que constituyen un enfoque universal que puede ser aplicado a todos los fármacos poco solubles, ya que todas las sustancias pueden desintegrarse en partículas de tamaño nanométrico [94, 98].

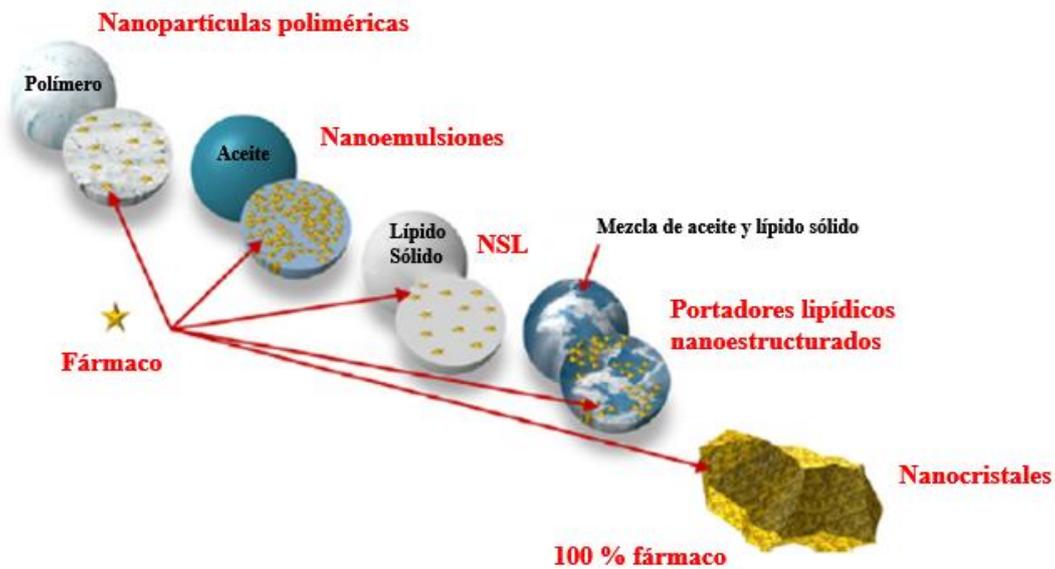


Figura 1.6. Esquema simplificado de la estructura básica de nanopartículas poliméricas, nanoemulsiones, NSL, portadores lipídicos nanoestructurados. Adaptado de Referencia [98].

Las ventajas de los nanocristales en la administración oral de fármacos han sido demostradas en estudios *in vitro* e *in vivo*, tanto en estudios preclínicos como en ensayos clínicos. Estas ventajas incluyen un aumento significativo en la solubilidad y la velocidad de disolución del fármaco, mejoras en la biodisponibilidad, menor variabilidad en la absorción y menor efecto relacionado con la administración conjunta de alimentos [99].

La suma de estas ventajas, junto con la relativa simplicidad de desarrollo de estos sistemas, contribuyó a que los nanocristales farmacéuticos ingresaran rápidamente al mercado. Mientras que los liposomas demoraron cerca de 25 años en aparecer en los productos farmacéuticos comerciales, los nanocristales lo hicieron en menos de 10 años. De esta manera, las primeras solicitudes de patente se presentaron a principios de la década de 1990, y el primer producto en encontrarse disponible comercialmente fue Emend®, en el año 2000. Este corto tiempo confirma que estos sistemas de administración son industrialmente factibles [100].

Típicamente, los nanocristales se producen en un medio líquido, en el cual se encuentran dispersos, denominándose al sistema nanosuspensiones (NS) [98]. Por definición, las NS son dispersiones coloidales de partículas nanométricas de fármaco (entre 10 y 1000 nm) estabilizadas por polímeros, surfactantes o una mezcla de ambos, que resultan muy útiles para vehicular IFAs que son insolubles tanto en agua como en medios oleosos. La administración de un fármaco con tamaño de partícula en el rango nanométrico trae variadas consecuencias fisicoquímicas, biofarmacéuticas y farmacoterapéuticas, que incluyen aumento del área superficial, mejoramiento de la solubilidad y velocidad de disolución, mayor adhesividad de las nanopartículas a la pared intestinal, aumento de la biodisponibilidad oral, disminución de la dosis necesaria, disminución de la variabilidad inter e intraindividual (entre condiciones de ayuno y post-prandiales) y mejoramiento del perfil de efectos adversos [99].

1.6.1. Características distintivas de las nanopartículas que influyen en la biodisponibilidad oral

A continuación, se expondrán en detalle las características más relevantes de las nanopartículas, que tienen potencial efecto en la mejora de la biodisponibilidad oral de medicamentos.

Aumento de la solubilidad de saturación

La solubilidad de saturación de una sustancia, en un solvente determinado, es definida como una constante específica del compuesto que depende de la temperatura, la estructura cristalina o energía reticular y del tamaño de partícula. En general, la solubilidad es mayor en el polimorfo más inestable, que se caracteriza además por poseer la energía más alta y el punto de fusión

más bajo. Por otro lado, la fracción amorfa del mismo compuesto conduce también a una mayor solubilidad, debido a la alta energía interna de la sustancia en este estado [101].

La razón por la cual la solubilidad es también función del tamaño de partícula puede explicarse mediante la ecuación de Kelvin (Ec. 1) y la de Ostwald-Freundlich (Ec. 2).

Inicialmente, la ecuación de Kelvin describe la variación de la presión de vapor con la curvatura de la superficie de una gota. Una disminución en el tamaño de la gota del líquido provoca un aumento en la curvatura, aumentando entonces la presión de vapor. La transferencia de moléculas de una fase líquida a una fase gaseosa es, en principio, idéntica a la transferencia de moléculas desde una fase sólida (nanopartícula) a una fase líquida (medio de dispersión). Por lo tanto, la presión de vapor puede considerarse equivalente a la presión de disolución. En consecuencia, la ecuación de Kelvin también es aplicable para explicar la relación entre la presión de disolución y la curvatura de las partículas sólidas en un medio líquido. La presión de disolución puede aumentar con el incremento de la curvatura o, lo que es igual, con la disminución del tamaño de partícula. Cuando el tamaño de partícula se encuentra en el rango nanométrico, la curvatura alcanza valores muy altos. Por lo tanto, el equilibrio es desplazado hacia la disolución, aumentando así la solubilidad de saturación [94, 99, 102]. En este sentido, la ecuación de Kelvin se describe de la siguiente manera:

$$\ln \frac{P_r}{P_\infty} = \frac{2\gamma M_r}{rRT\rho} \quad \text{Ec. 1}$$

donde P_r indica la presión de disolución de una partícula con radio r , P_∞ es la presión de disolución de una partícula de tamaño infinito, γ es la tensión superficial, M_r es el peso molecular, r corresponde al radio de la partícula, R representa la constante de los gases, T es la temperatura absoluta y ρ la densidad de la partícula [94, 103].

Por su parte, la ecuación de Ostwald-Freundlich, que es equivalente a la ecuación de Kelvin, describe directamente la relación entre la solubilidad del fármaco y el tamaño de partícula:

$$\log \frac{C_s}{C_\alpha} = \frac{2\theta V}{2,303 RT\rho r} \quad \text{Ec. 2}$$

donde C_s es la solubilidad de saturación, C_α es la solubilidad de un sólido en forma de partículas grandes, θ es la tensión superficial del sólido, V es el volumen molar de la partícula, R es la constante de los gases, T es la temperatura absoluta, ρ y r corresponden a la densidad y el radio de la partícula, respectivamente [103]. En esta ecuación, se muestra claramente que la solubilidad de saturación (C_s) de un fármaco aumenta con una disminución en el tamaño de

partícula (r). Sin embargo, este efecto sólo resulta sustancial para partículas con tamaños menores a 1-2 μm [94, 97, 104].

Aumento de la velocidad de disolución

Las ecuaciones de Noyes-Whitney y Nernst y Brünner (Ec. 3) explican la relación entre en la velocidad de disolución y el tamaño de las partículas de fármaco:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{DA}{Vh_D} \times (C_s - C_t) \quad \text{Ec. 3}$$

donde dx/dt representa la velocidad de disolución, D es el coeficiente de difusión, A el área superficial, V el volumen de medio de disolución, h_D es la distancia difusional, C_s es la solubilidad de saturación y C_t la concentración de soluto en el medio líquido [105].

De acuerdo a esta ecuación se denota claramente que la velocidad de disolución aumenta con el incremento del área superficial, dado por la disminución del tamaño de la partícula. Además, esta reducción del tamaño también conduce a un aumento en la solubilidad de saturación, como se enunció en el punto anterior, que da lugar a dos ventajas. En primer lugar, la velocidad de disolución se mejora aún más debido a un mayor gradiente de concentración ($C_s - C_t$). En segundo lugar, un aumento en la solubilidad de saturación contribuye a un aumento en el gradiente de concentración entre la luz intestinal y el torrente sanguíneo, por lo que se promovería también la absorción por mecanismos de difusión pasiva [94, 102, 106].

Otro factor relevante es la distancia difusional h_D , la cual, como parte de la capa límite h_H , también depende fuertemente del tamaño de partícula, tal como lo indica la ecuación de Prandtl (Ec. 4):

$$h_H = k(\sqrt{L} \div \sqrt{V}) \quad \text{Ec. 4}$$

donde h_H es la capa límite hidrodinámica, k denota una constante, L es la longitud de la superficie de la partícula y V es la velocidad relativa del líquido que fluye rodeando los perímetros de las partículas [105]. Se encuentra descrito en literatura específica que una diferencia en los diámetros de las partículas podría corresponderse con diferencias en el parámetro L de la citada ecuación. Bisrat y Nyström demostraron que, para sólidos dispersos en un medio líquido bajo agitación, una disminución en el tamaño de partícula ocasionaría una capa hidrodinámica de menor espesor alrededor de las partículas y, en consecuencia, un aumento de la velocidad de

disolución en la superficie de las mismas. Este fenómeno resulta particularmente significativo en el caso de materiales con tamaños de partícula por debajo de las 5 μm [105].

Aumento de la adhesividad

Otra de las características de las nanopartículas que favorecen la mejorada biodisponibilidad oral es la mayor adhesividad que presentan. Esto se debe al gran área superficial expuesta, lo que proporciona mayores fuerzas interactivas entre las partículas y la superficie. La incrementada mucoadhesión de las nanopartículas a la mucosa gastrointestinal, en conjunción con el aumento de la solubilidad de saturación, provoca un mayor gradiente de concentración y prolonga el tiempo de residencia y de contacto entre el fármaco y el tejido gastrointestinal [94, 104, 106].

Las teorías que explican este mecanismo de mucoadhesión son variadas e incluyen la teoría electrónica (fuerzas de atracción electrostáticas entre la superficie de las partículas y la mucosa), la teoría de adsorción (puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals entre la superficie de las partículas y la mucosa), la teoría de difusión (entrecruzamiento entre la mucosa y las cadenas de polímeros) y la teoría de atrapamiento (retención de las nanopartículas por la superficie irregular de la mucosa) [107].

Reducción del efecto de la alimentación sobre la biodisponibilidad

En la mayoría de los casos, los alimentos mejoran la biodisponibilidad de los fármacos por un aumento en la secreción biliar y un incremento en el tiempo de vaciado gástrico. La presencia de sales biliares en el entorno gástrico también tiene un impacto en el comportamiento de disolución de la molécula. Diferentes estudios han demostrado una fuerte relación entre la biodisponibilidad de un fármaco administrado en forma micronizada con el estado de ayuno/postprandial del paciente. Sin embargo, esta relación fue despreciable cuando el principio activo estudiado presentó un tamaño de partícula en el rango nanométrico [108].

La secreción de sales biliares generalmente aumenta en el estado postprandial [109]. Un cambio en la concentración de sales biliares en el estómago conduce a un cambio en el comportamiento de disolución, pudiendo incluso también ralentizar o mejorar la absorción del fármaco (Figura 1.7). Este fenómeno es el responsable de la gran variabilidad inter e intraindividual de numerosos fármacos. Se ha observado que las partículas micronizadas, o de tamaño aún superior, muestran una mayor absorción en el estado postprandial, debido a la posible formación de micelas. En el caso de los nanocristales, la mejora en la velocidad de disolución es inherente al tamaño nanométrico de la partícula, sin aporte significativo de la presencia de sales

biliares. Esto lleva a una mayor absorción, lo que se traduce a una mejora en la biodisponibilidad general, independientemente de que el paciente haya consumido algún alimento o no, indicando que la concentración de sales biliares tiene un efecto significativamente menor sobre la absorción de nanopartículas [108, 110].

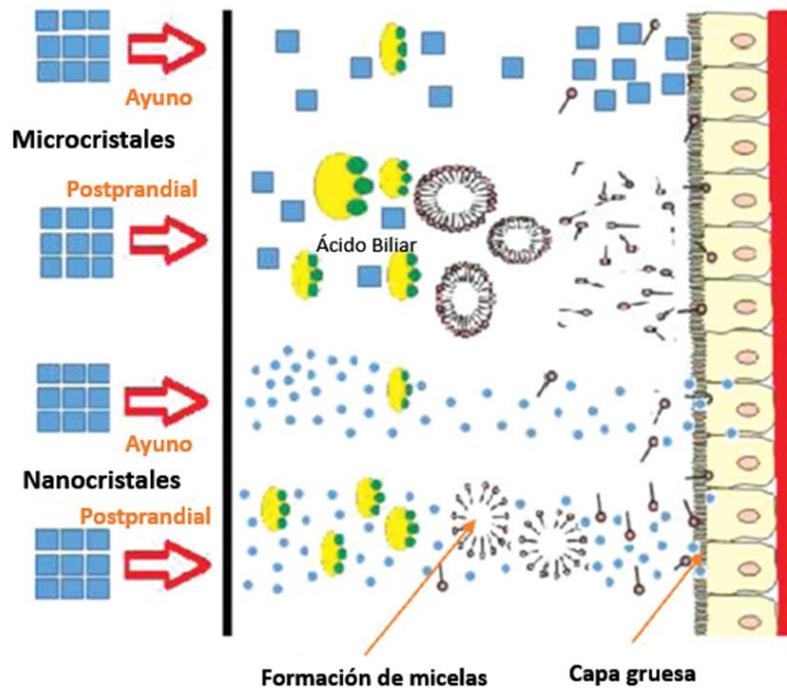


Figura 1.7. Efecto de los alimentos en la disolución de micropartículas y nanopartículas. Adaptado de Referencia [108]

Esto reviste particular importancia en el caso de PZQ ya que, como se mencionó anteriormente, este fármaco presenta una gran variabilidad interindividual y su biodisponibilidad se ve aumentada en presencia de alimentos [38], por lo que resulta lógico suponer que la administración del fármaco en forma de nanopartículas podría superar este inconveniente.

1.6.2. Métodos de producción de nanopartículas

Existen diferentes técnicas descritas e implementadas para la producción de nanopartículas, las cuales pueden agruparse en dos grandes grupos: las técnicas *bottom-up* y las técnicas *top-down*, siendo estas últimas las más utilizadas [111]. Además, es posible combinar de manera secuenciada ambos tipos de técnicas para optimizar los resultados. Al momento de seleccionar el método de preparación de nanopartículas se debe tener en cuenta la simplicidad, reproducibilidad y eficiencia de la técnica, así como también la capacidad de escalado y de

incorporación de diferentes cantidades de principio activo. Las principales ventajas y desventajas de cada técnica se indican en la Tabla 1.2.

Las tecnologías *bottom-up* comprenden la aplicación de una técnica de precipitación controlada/cristalización, por adición de un antisolvente. En estas técnicas se parte de moléculas en solución, que se agregan para formar partículas. Brevemente, la solución del IFA se mezcla en forma rápida con un antisolvente miscible, en presencia de surfactantes, conduciendo a una sobresaturación repentina y formación de nanopartículas (cristalinas o amorfas) de fármaco [112]. Las grandes ventajas de este tipo de técnicas incluyen la simplicidad y rapidez de la operación, la menor demanda de energía y el menor costo en cuanto equipamiento. Entre las principales desventajas se pueden mencionar la necesidad de que el fármaco sea soluble en al menos un solvente, el propio uso de solventes orgánicos y la dificultad en la eliminación de sus residuos, lo que hace que se incrementen fundamentalmente los costos de producción. Además, dentro de este grupo de técnicas *bottom up* se incluyen la utilización de fluidos supercríticos y el secado por atomización, que evitan los problemas antes mencionados [98].

En el caso de las técnicas *top down*, el material de partida consiste en partículas gruesas que se someten a la reducción del tamaño hasta alcanzar el rango nanométrico. La molienda y la homogeneización a alta presión (HAP) son las técnicas más relevantes de este grupo [98, 108].

La molienda es la técnica de mayor trayectoria en la producción de nanocristales. Existen dos tipos de molienda, en seco y en húmedo. Sin embargo, se ha reportado que la primera no es eficiente para obtener tamaño de partículas en el rango nanométrico. La molienda en húmedo significa que las partículas de fármaco están dispersas en una solución estabilizante, que luego se incorpora en a la cámara de molienda [98]. Existen especialidades medicinales, disponibles actualmente en el mercado, para las que se emplearon este método de elaboración, como por ejemplo Rapamune® (Sirolimus, Lab. Wyeth), Invega® (Paliperidona, Lab. Janssen Cilag), Tricor® (Fenofibrato, Abbott Laboratories), Ritalin® LA (Metilfenidato HCl, Novartis) y Emend® (Aprepitant, Lab. Merck Sharp & Dohm). Las ventajas de esta técnica incluyen la simplicidad de la tecnología, la flexibilidad para manipular grandes cantidades de fármaco y posibilidad de escalado. Entre las desventajas se encuentran la potencial erosión proveniente del material de molienda (que puede ocasionar una contaminación del producto), la duración del proceso (que puede ser de varios días), el potencial crecimiento de gérmenes cuando la molienda se lleva a cabo por largos períodos de tiempo, y los tiempos y costos asociados con el proceso de separación del material de molienda y la suspensión que contiene al fármaco [113].

En el caso de la HAP, los procesos básicos usados son el sistema Microfluidizer (IDD-P™), basado en el principio de corriente en chorro, y la homogeneización mediante un sistema pistón-ranura, ya sea en un medio acuoso (Dissocubes®, SkyePharma) o bien en un medio de baja proporción acuosa o no acuoso (Nanopure®, previamente PharmaSol GmbH, actualmente Abbott). Las fuerzas de cavitación generadas a las altas presiones desarrolladas y la colisión entre partículas dan como resultado la disminución del tamaño de partícula [114]. Cabe mencionar que para el desarrollo de NS en este trabajo de Tesis se utilizó esta técnica en particular, razón por la cual se abordará con mayor detalle en el capítulo 3.

Por último, cabe consignar que para implementar alguna de las variantes de técnicas *top-down* descriptas es necesario partir de un material con tamaños de partícula en el orden de los micrones, lo cual requiere un pre-tratamiento de la muestra, resultando en un mayor tiempo de procesamiento. Con el fin de superar este inconveniente, fue desarrollado un enfoque combinatorio, aplicando en forma secuenciada técnicas *bottom up* y *top down*. Este enfoque fue desarrollado e introducido por primera vez por Baxter Inc., en una tecnología conocida como Nanoedge™ [98].

Tabla 1.2. Ventajas y desventajas de las distintas tecnologías para la producción de nanopartículas [115]

TÉCNICA	VENTAJAS	DESVENTAJAS
MOLIENDA	No utiliza solventes orgánicos; técnica fácil y económica.	Largos tiempos de procesamiento; erosión de los materiales de molienda; potencial alteración de la cristalinidad de las partículas
HOMOGENEIZACIÓN DE ALTA PRESIÓN	Aplicable a la mayoría de los IFA; permite la elaboración de formas concentradas y diluidas; no induce la transformación de la forma cristalina; puede proteger los fármacos químicamente lábiles de la degradación	Contaminación por metales pesados; mayor consumo de energía; mayor tiempo de operación.
PRECIPITACION	Fácil y rápido de operar; se requieren instrumentos simples y de bajo costo	No es aplicable universalmente; residuos de solventes orgánicos; generación de partículas amorfas
FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	Eliminación rápida del fluido supercrítico	Requiere bombas de alta presión, temperaturas y boquillas finas especialmente diseñadas; largo tiempo de producción; solvente residual potencial
SECADO POR ATOMIZACIÓN	Buen control del el tamaño de partícula; escalamiento fácil; aplicabilidad industrial	Rendimiento limitado; los polvos secados por atomización tienden a ser amorfos

1.6.3. Estabilidad y procesamiento post-producción

Las nanopartículas pueden evidenciar problemas de estabilidad, tanto física como química.

Estabilidad química

Dado que los nanocristales se encuentran dispersos en un medio en el cual presentan limitada solubilidad, la posibilidad de que ocurran reacciones químicas de degradación no es tan factible como en el caso de las formulaciones basadas en soluciones. Por tanto, en general, podría considerarse que la estabilidad química de las NS es superior a la de las soluciones. Además, las NS representan un enfoque potencial para mejorar la estabilidad química de los fármacos químicamente lábiles, ya que el estado sólido y concentrado podría proteger al fármaco de la fotooxidación / fotólisis, la hidrólisis y la oxidación [116].

Estabilidad física

En cambio, la estabilidad física constituye el principal inconveniente de las nanopartículas, durante su procesamiento y almacenamiento, e incluye fenómenos de sedimentación, aglomeración, maduración de Ostwald y cambios en el estado cristalino [117].

Sedimentación: La velocidad de sedimentación de las partículas depende de su tamaño, la viscosidad del medio en el que estén dispersas y la diferencia de densidad entre la fase dispersada y el medio, tal como lo describe la ley de Stokes [118]. En el caso de NS de base acuosa, la incidencia de la sedimentación es baja debido a la adición de surfactantes que actúan como estabilizantes y, al mismo tiempo, a la disminución del tamaño de partícula, que también actúa como un método para inhibir este fenómeno [117].

Aglomeración: La disminución del tamaño de partícula conduce a un importante incremento del área y la energía superficial, situación termodinámicamente desfavorable para este tipo de sistemas. Para minimizar esa gran energía superficial las partículas tienden a aglomerarse. Esto puede causar varios problemas, tales como una rápida sedimentación/cremado, el crecimiento de cristales y una probable inexactitud de dosis. La estrategia más común para evitar estos problemas es la incorporación de estabilizantes a la formulación, cuya selección se basa en su capacidad para proporcionar humectación a la superficie de las partículas y ofrecer una barrera para prevenir su aglomeración [117].

Maduración de Ostwald: El crecimiento cristalino ocurre principalmente en suspensiones coloidales y se lo conoce con el nombre de maduración de Ostwald. Este fenómeno se da cuando la solubilidad del principio activo depende del tamaño de la partícula. Según la teoría de

Ostwald, las partículas pequeñas tienen una mayor solubilidad de saturación, en comparación con las mayores, lo que conduce a un gradiente de concentración del fármaco entre las partículas pequeñas y grandes. Las moléculas del fármaco se transfieren desde las partículas pequeñas (alta concentración) a las partículas de mayor tamaño (baja concentración). En este punto las partículas grandes están sobresaturadas, lo que aumenta su tendencia a la cristalización [118] (Figura 1.8). Este problema podría evitarse si la distribución de tamaños de partícula en la formulación es estrecha. Es decir, si la NS contiene una distribución de tamaños de partícula uniforme, la maduración de Ostwald no será un problema durante la formulación, dado que no habrá coexistencia de partículas con diferencias sustanciales en su tamaño [119]. De lo contrario, el agregado de estabilizantes puede ayudar a resolver el problema del crecimiento de cristales, al disminuir la tensión superficial entre el soluto y el medio circundante, causando la inhibición del proceso [117]. Por su parte, el tiempo y la temperatura de almacenamiento también pueden afectar la maduración de Ostwald [117].

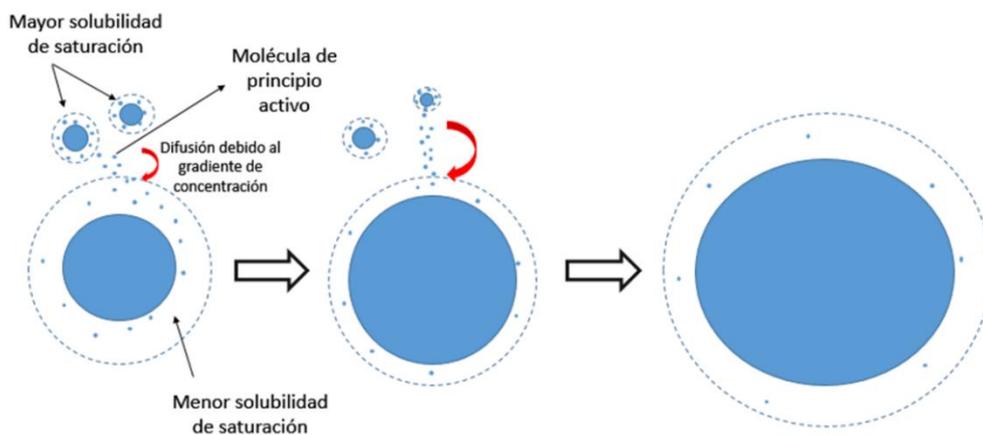


Figura 1.8. Ilustración esquemática de la maduración de Ostwald. Adaptado de Referencia [117]

Cambios en el estado cristalino: El estado cristalino es uno de los parámetros más importantes que afectan la estabilidad, la solubilidad, la disolución y la eficacia del IFA. El principal problema en este aspecto es la posible transformación entre el estado amorfo y cristalino durante el procesamiento y/o almacenamiento. La alta energía aplicada durante los procesos de manufactura de las técnicas *top-down* tienden a crear NS parcialmente amorfas, y algunas técnicas *bottom-up* pueden, incluso, amorfizar por completo a las partículas de fármaco. Dado que para una dada molécula el estado cristalino es más estable que el amorfo, este último puede transformarse, con el tiempo, en una forma cristalina más estable, de menor energía y solubilidad. Factores tales como la temperatura, el tipo de estabilizante utilizado y la presencia de la forma cristalina favorecen esta conversión. Lindfors y col. prepararon nanopartículas de

felodipina utilizando el método de precipitación antisolvente bajo sonicated, y observaron que las nanopartículas amorfas resultan inestables en presencia de una pequeña cantidad de partículas cristalinas del mismo IFA. Esto se debió a la diferencia en la solubilidad de saturación entre los estados amorfo y cristalino, que llevaron a un proceso de maduración de Ostwald y al cambio de estado de cristalización [117].

Como puede apreciarse, en todos estos fenómenos de inestabilidad física, la adición de agentes estabilizantes se torna crucial para su control o supresión. Esto destaca el importante papel que juega la correcta selección de los estabilizantes en la formulación de una nanosuspensión, lo cual se abordará con mayor profundidad en el capítulo 3 de la presente Tesis.

Procesamiento post-producción

Debido a los posibles procesos de inestabilidad física mencionados anteriormente, que pueden afectar notoriamente la calidad de las NS, la transformación en una forma farmacéutica sólida es una alternativa promisoría para evitar o minimizar tales inconvenientes [102]. En base a ello, se pueden emplear técnicas de secado, tales como la liofilización o el secado por atomización, para producir un polvo seco de partículas de IFA. Posteriormente, el polvo obtenido constituirá un producto intermedio versátil, con el cual podrán formularse comprimidos, cápsulas, gránulos, entre otras formas farmacéuticas. O bien, el mismo polvo podrá ser reconstituido para utilizarse en forma extemporánea, particularmente en ámbitos hospitalarios. En este sentido es importante destacar que los polvos obtenidos deberán estar adecuadamente diseñados para que al redispersarse retomen el tamaño nanométrico inicial. Esta capacidad de redispersión es crítica para el desarrollo de una forma farmacéutica sólida estable, que mantenga los beneficios de la aplicación de esta tecnología de administración de fármacos.

La aplicación de procesos de secado post-producción sobre las NS de PZQ será presentado con más detalle en el capítulo 4 del presente trabajo, y la posterior utilización del polvo seco como intermediario para el desarrollo de una forma farmacéutica final, apta para administración pediátrica, será expuesta en profundidad en el capítulo 5.

1.6.4. Aspectos regulatorios de la nanotecnología

Toda tecnología emergente trae aparejadas incertidumbres y preocupaciones a la hora de vislumbrar como deben ser reguladas; para lo cual se requiere fundamentalmente comprensión y experticia de las propias agencias regulatorias [120-121].

Una de las principales agencias regulatorias en el mundo, la americana *Food and Drug Administration* (FDA), se ha esforzado en gestionar aspectos relativos a la regulación de la nanotecnología, desde principios de los años 90. En los primeros pasos dados al respecto, la FDA consideraba, en general, a los nanoingredientes como bioequivalentes con sus homólogos de mayor tamaño, por lo que no se requería declaración específica en los rótulos ni una aprobación particular para los nanoproductos [120]. Sin embargo, esa presunción de bioequivalencia dista, en primera instancia, de ser correcta, dado que los productos en escala nanométrica exhiben propiedades que le son inherentemente características y distintas de sus materiales originales, las cuales tienen potencial impacto sobre la calidad, eficacia y seguridad de tales productos [121, 122].

Asimismo, la propia definición del término “nanotecnología” se halla bajo discusión, el cual es ampliamente utilizado, aunque sin una definición homologada internacionalmente [120, 121]. Una de las definiciones que ha sido ampliamente utilizada en los últimos años es la propuesta por la *U.S. National Nanotechnology Initiative* (NNI), que la define como “el entendimiento y control de la materia a nanoescala, en dimensiones entre 1 y 100 nm, donde ocurren fenómenos singulares que permiten aplicaciones novedosas”. Diversas entidades internacionales y agencias regulatorias toman esta definición, aunque con ciertos reparos. Uno de ellos es el límite superior establecido para considerar una materia como “nano” (100 nm), que si bien resulta muy importante en ámbitos como el de la nanoelectrónica o la nanofotónica, carece bastante de sentido en el ámbito farmacéutico, donde las propiedades fisicoquímicas novedosas u originales pueden incluso ser observadas a tamaños mayores que el indicado [120, 122].

Es evidente que la regulación de los nanoproductos ha sido un desafío para la FDA, quien ha desarrollado vastos esfuerzos para acumular evidencia y formular criterios de evaluación que aseguren el desarrollo de productos seguros y eficaces, tales como [120, 121, 123]:

- la conformación del “*Nanotechnology Task Force*”, que se encarga de determinar los enfoques reglamentarios que fomentan el desarrollo continuo de productos innovadores, seguros y efectivos que utilizan materiales basados en nanotecnología
- el trabajo conjunto con el NCI (*National Cancer Institute*) y el NIST (*National Institute of Standards and Technology*) para crear el NCL (*Nanotechnology Characterization Laboratory*), orientado al desarrollo de protocolos de análisis adecuados para la caracterización de las propiedades peculiares de las nanopartículas. Esta disponibilidad de métodos de caracterización es esencial para la aplicabilidad del paradigma de los genéricos, tan exitosamente empleado en el campo de los fármacos convencionales. Pero esta extensión hacia el concepto de

nanosimilares no será viable sin la posibilidad de una caracterización farmacéutica completa de los nanoprodutos y el establecimiento de un estudio fiable de bioequivalencia

- la publicación de un borrador de documento guía, en el año 2011, donde presentó su visión de la nanotecnología, y en el cual toma de manera extraoficial el límite superior de 1000 nm para los nanoprodutos. A partir de este documento, luego surgieron otros cinco, de los cuales uno se halla en fase borrador [124-127]. De ellos, los más importantes en el ámbito farmacéutico son dos: uno que delinea las consideraciones que la industria debe tener para determinar cuándo un produto involucra la aplicación de nanotecnología; y otro que plantea un esquema de trabajo, basado en análisis de riesgos, para la ejecución de ensayos clínicos y no-clínicos y controles de atributos críticos de calidad y de manufactura, para produtos conteniendo nanomateriales [124, 127].

- la evaluación de nanoprodutos basada en su acción primaria (química, biológica o mecánica), de manera tal que si ésta es química, la FDA aplicará requerimientos concernientes a la categoría fármaco para su aprobación, en una modalidad de evaluación caso por caso

Por otro lado, en lo que respecta a la agencia regulatoria europea EMA, los documentos más significativos se enfocan en aspectos generales de la complejidad de ciertos nanosistemas, con información básica para su desarrollo farmacéutico [128-131].

Sin embargo, a pesar de ciertas incertidumbres regulatorias, un amplísimo número de nanoprodutos farmacéuticos han sido, y continúan siendo, aprobados por la FDA o la EMA. Los primeros han sido el Doxil® (por la FDA) y el AmBisome® (por la EMA), aunque ya existían produtos de este estilo en el mercado en forma previa, sin la utilización específica del término “nanomedicina” (Bawa 2016). Un estudio reciente ha evaluado estadísticamente el uso de nanomateriales en medicinas y produtos médicos, llegando a interesantes conclusiones [132]. En este estudio se destaca que el principal nanoproduto presente en el mercado americano son los liposomas (33 %), seguido de los nanocristales (23 %). En lo que concierne a aplicaciones terapéuticas, el tratamiento del cáncer ocupa el primer lugar (35 %), hallándose en tercer lugar el tratamiento de las infecciones (12 %); mientras que respecto a la vía de administración, la más usual resultó ser la inyección intravenosa (59 %), seguida de la vía oral (21 %) [132].

1.7. Formas farmacéuticas presentes en el mercado conteniendo PZQ

Actualmente, la única forma farmacéutica de PZQ disponible en el mercado, para uso en humanos, son los comprimidos convencionales de liberación inmediata. Si bien es posible

encontrarlos en dosis de 150 mg y 600 mg, en Argentina únicamente se comercializa la dosis de 600 mg.

De acuerdo a lo enunciado en la Tabla 1.1, el PZQ se administra actualmente en dosis altas. Esta situación, sumado a la falta de formulaciones pediátricas, dificulta seriamente el tratamiento en niños, principalmente en edad preescolar. En este sentido, en el año 2012 se fundó el *Pediatric Praziquantel Consortium*, con el objetivo de desarrollar y proporcionar una formulación pediátrica de PZQ, para tratar la esquistosomiasis en niños en edad preescolar. Los socios colaboradores incluyen a Merck KGaA, Astellas, Swiss TPH y Lygature, Farmanguinhos y Simcyp [133]. Poco después de su creación, el consorcio estableció un programa de desarrollo de medicamentos pediátricos, dividido en dos etapas principales: desarrollo preclínico y desarrollo clínico. El programa preclínico se completó en 2014 y se centró en el desarrollo de nuevas formulaciones de PZQ apropiadas para niños, seleccionándose finalmente los comprimidos orodispersables. Además, se aisló el enantiómero activo L-PZQ, con el que posteriormente se diseñaron las formulaciones [133].

Por otra parte, durante el desarrollo clínico, se realizaron estudios de biodisponibilidad y palatabilidad, comparando el racemato con el enantiómero L-PZQ. En estos estudios se evidenció que el uso del enantiómero L-PZQ aislado contribuye a mejorar el sabor de la forma farmacéutica final. Sin embargo, aún no está disponible para su utilización terapéutica, por encontrarse en fase clínica.

1.8. Hipótesis y objetivos de la Tesis

Como se comentó en el presente capítulo, el PZQ es un principio activo de comprobada actividad terapéutica que ve limitada su utilidad en virtud de sus propiedades fisicoquímicas y farmacotécnicas desfavorables, por lo que se podría transformar en un sistema terapéutico optimizado, como consecuencia de la aplicación de sencillas estrategias de diseño. En base a ello resulta viable el desarrollo de formulaciones de PZQ basadas en NS, como herramienta para la terapia de enfermedades parasitarias, mediante un adecuado análisis de la vinculación entre la formulación del IFA, el procesamiento *per se* y la caracterización del producto intermedio y final. La hipótesis de esta Tesis se asienta así en un esquema de Investigación, Desarrollo e Innovación, con dos niveles fundamentales interrelacionados:

- el diseño, desarrollo y caracterización de las plataformas tecnológicas propiamente dichas,

- la posibilidad de transferencia al sector productivo (hospitalario y/o industrial).

En este marco, la hipótesis primaria que se plantea es:

- El diseño de nuevas formas farmacéuticas pediátricas basadas en nanotecnología mejorará la velocidad de disolución de un IFA pobremente soluble en medios acuosos (PZQ) y, por ende, permitirá optimizar la farmacoterapia actual, cubriendo un vacío terapéutico en EID.

Con las siguientes hipótesis asociadas:

- Es posible aumentar la solubilidad y optimizar la velocidad de disolución de un IFA pobremente soluble en medios acuosos, mediante el uso de NS.
- Para la administración por vía oral, es posible transformar estas NS en formulaciones sólidas empleando metodologías de secado, sin modificar significativamente sus propiedades optimizadas.
- Las NS y polvos secos pueden ser usados como productos intermedios para la obtención de nuevas formas farmacéuticas pediátricas, adecuadas y necesarias para el tratamiento de afecciones en dicha población, mediante estrategias de formulación sencillas, y aplicables a diferentes escalas productivas.

En este contexto, el objetivo general de esta Tesis consiste en el desarrollo y caracterización de NS de PZQ con propiedades biofarmacéuticas optimizadas, y su posterior formulación en diferentes formas farmacéuticas que pretenden ser destinadas, principalmente, a la población pediátrica.

Por otra parte, los objetivos específicos perseguidos incluyen:

- Mejorar la velocidad de disolución de PZQ mediante aplicación de la técnica de HAP y la selección de excipientes apropiados para la producción de NS.
- Caracterizar las NS de PZQ obtenidas, desde el punto de vista fisicoquímico y farmacéutico.
- Desarrollar un producto en polvo para reconstituir mediante la evaluación del secado por atomización como proceso post-producción de las NS.
- Diseñar una formulación semisólida (gomas masticables) de PZQ, a partir de las NS originales y del producto intermedio (polvo seco), y evaluar sus propiedades críticas.

1.9. Bibliografía

1. World Health Organization. TDR at a Glance. 2010. Geneva, Switzerland
2. World Health Organization. Neglected infectious diseases in the Americas: Success stories and innovation to reach the neediest. 2016. Washington, DC, Estados Unidos
3. World Health Organization. Neglected Tropical Diseases. 2017. http://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/
4. World Health Organization. Working to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases: First WHO Report on Neglected Tropical Diseases. 2010. Geneva, Switzerland
5. Ferreira, LL, Andricopulo AD. "Drugs and vaccines in the 21st century for neglected diseases". *Lancet Infect. Dis.*, vol. 19, no. 2, pp. 125-127, 2019
6. Ivanovska V, Rademaker CM, van Dijk L, Mantel-Teeuwisse AK. "Pediatric drug formulations: a review of challenges and progress". *Pediatrics*, vol. 134, no. 2, pp. 361-372, 2014
7. Breitskreutz J, Boos J. "Paediatric and geriatric drug delivery". *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 4, no. 1, pp. 37-45, 2007
8. Buontempo F. "Desarrollo galénico de formulaciones huérfanas en pediatría". *Tesis Doctoral*. Universidad de Buenos Aires, 2010
9. Geiling EMK, Cannon PR. "Pathological effects of elixir of sulfanilamide (diethylene glycol) poisoning: a clinical and experimental correlation". *JAMA- J. Am. Med. Assoc.*, vol. 111, no. 10, pp. 919-926, 1938
10. Hiller JL, Benda GI, Rahatzad M, Allen JR, Culver DH, Carlson CV, Reynolds JW. "Benzyl alcohol toxicity: impact on mortality and intraventricular hemorrhage among very low birth weight infants". *Pediatrics*. vol. 77, no. 4, pp. 500-506, 1986
11. Brown WJ, Buist NR, Gipson HT, Huston RK, Kennaway NG. "Fatal benzyl alcohol poisoning in a neonatal intensive care unit". *Lancet*, vol. 1, p. 1250, 1982
12. Cuzzolin L, Atzei A, Fanos V. "Off-label and unlicensed prescribing for newborns and children in different settings: a review of the literature and a consideration about drug safety". *Expert Opin. Drug Saf.*, vol. 5, no. 5, pp. 703-718, 2006
13. Schirm E, Tobi H, de Vries TW, Choonara I, De Jong-van den Berg LT. "Lack of appropriate formulations of medicines for children in the community". *Acta Paediatr.*, vol. 92, no. 12, pp. 1486-1489, 2003
14. Boots I, Sukhai RN, Klein RH, Holl RA, Wit JM, Cohen AF. "Stimulation programs for pediatric drug research—do children really benefit?". *Eur. J. Pediatr.*, vol. 166, no. 8, pp. 849-855, 2007
15. European Medicines Agency. "General report on the experience acquired as a result of the application of the Paediatric Regulation. Summary of the replies to the public consultation". 2013. Disponible en: http://ec.europa.eu/health/files/paediatrics/2013_pc_paediatrics/2013_paediatric_report_summary.pdf
16. World Health Organization. Make medicines child size. 2013. Disponible en: www.who.int/childmedicines/en/

17. World Health Organization. "WHO Model list of essential medicines 20th Ed". World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2017. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/273826/EML-20-eng.pdf?ua=1>
18. Ranmal SR, Barker SA, Tuleu C. "Paediatric Solid Formulations", in *Pediatric Formulations: a roadmap*. Bar-Shalom D, Rose K. *AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series*, Springer, New York, 2014, pp. 153-170
19. Wells J. "Pharmaceutical preformulation: the physicochemical properties of drug substances," in *Pharmaceutics, the science of dosage form design, 2nd ed*. Aulton, M.E. Churchill Livingstone Elsevier Science Limited, 2002, pp. 113-138
20. Liu F, Ranmal S, Batchelor HK, Orlu-Gul M, Ernest TB, Thomas IW, Flanagan T, Tuleu, C. "Patient-centered pharmaceutical design to improve acceptability of medicines: similarities and differences in paediatric and geriatric populations". *Drugs*, vol. 74, no. 16, pp. 1871-1889, 2014
21. Strickley RG. "Pediatric oral formulations: an updated review of commercially available pediatric oral formulations since 2007". *J. Pharm. Sci.*, vol. 108, no. 4, pp. 1335-1365, 2019
22. Strickley RG, Iwata Q, Wu S, Dahl TC. "Pediatric drugs— A review of commercially available oral formulations". *J. Pharm. Sci.*, vol. 97, no. 5, pp. 1731–1774, 2008
23. Frey CR, Madsen JS. "Liquid Formulations", in *Pediatric Formulations: a roadmap*. Bar-Shalom D, Rose K. *AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series*, Springer, New York, 2014, pp. 141-151
24. European Medicines Agency. "Guideline on pharmaceutical development of medicines for paediatric use". 2011. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/06/WC500107908.pdf
25. European Medicines Agency. "Reflection paper: formulations of choice for the paediatric population". *EMA/CHMP/PEG/194810/2005*. 2006
26. Al-khattawi A and Mohammed AR. "Compressed orally disintegrating tablets: excipients evolution and formulation strategies". *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 10, no. 5, pp. 651-663, 2013
27. Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). "Guidance for industry: size of beads in drug products labeled for sprinkle". 2012. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM240243.pdf>
28. Davydova N. "USP Chewable Gels Monographs". 2018 <https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/stakeholder-forum/chewable-gels.pdf>
29. Cioli D, Pica-Mattoccia L. "Praziquantel". *Parasitol. Res.*, vol. 90, no. 1, pp. 3-9, 2003
30. Borrego Sanchez A. "Interacción de praziquantel con Excipientes inorgánicos micro- y Nanoestructurados". *Tesis Doctoral*. Universidad de Granada, 2018

31. Andrews P. "Praziquantel: mechanisms of anti-schistosomal activity". *Pharmacol. Ther.*, vol. 29, no. 1, pp. 129-156, 1985
32. Andrews P, Thomas H, Pohlke R, Seubert J. "Praziquantel". *Med. Res. Rev.*, vol. 3, no. 2, pp. 147-200, 1983
33. Redman CA, Robertson A, Fallon PG, Modha J, Kusel JR, Doenhoff MJ, Martin RJ. "Praziquantel: an urgent and exciting challenge". *Parasitol. Today*, vol. 12, no. 1, pp. 14-20, 1996
34. Doenhoff MJ, Cioli D, Utzinger J. "Praziquantel: mechanism of action, resistance, and new derivatives of Schistosomiasis". *Curr. Opin. Infect. Dis.*, vol. 21, no. 6, pp. 659-667, 2008
35. World Health Organization. World Health Organization, Schistosomiasis, Disease. 2018. Disponible en: <https://www.who.int/schistosomiasis/disease/en/>
36. Abramowicz M. "Drugs for parasitic infections". *Med. Lett. Drugs Ther.*, vol. 5, pp. 1-5, 2007
37. Perez-Molina JA, Díaz-Menéndez M, Perez-Ayala A, Ferrére F, Monje B, Norman F, Lopez-Velez R. "Tratamiento de las enfermedades causadas por parásitos". *Enferm. Infec. Micr. Cl.*, vol. 28, no. 1, pp. 44-59, 2010
38. Homeida M, Leahy W, Copeland S, Ali MM, Harron DW. "Pharmacokinetic interaction between praziquantel and albendazole in Sudanese men". *Ann. Trop. Med. Parasit.*, vol. 88, no. 5, pp. 551-559, 1994
39. Olliaro P, Delgado-Romero P, Keiser J. "The little we know about the pharmacokinetics and pharmacodynamics of praziquantel (racemate and R-enantiomer)". *J. Antimicrob. Chemot.*, vol. 69, no. 4, pp. 863-870, 2014
40. Botros S, El-Lakkany N, Seif el-Din SH, Sabra AN, Ibrahim M. "Comparative efficacy and bioavailability of different praziquantel brands". *Exp Parasitol.*, vol 127, no. 2, pp. 515-521, 2011
41. Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, Blowey DL, Leeder JS, Kauffman RE. "Developmental pharmacology-drug disposition, action, and therapy in infants and children". *New. Engl. J. Med.*, vol. 349, no. 12, pp. 1157-1167, 2003
42. González-Esquivel D, Rivera J, Castro N, Yopez Mulia L, Helgi JC. "In vitro characterization of some biopharmaceutical properties of praziquantel". *Int. J. Pharm.*, vol. 295, no. 1-2, pp. 93-99, 2005
43. Dayan AD. "Albendazole, mebendazole and praziquantel. Review of non-clinical toxicity and pharmacokinetics". *Acta Trop.*, vol. 86, no. 2-3, pp. 141-159, 2003
44. Sachan NK, Bhattacharya A, Pushkar S, Mishra A. "Biopharmaceutical classification system: A strategic tool for oral drug delivery technology". *Asian J. Pharm.*, vol. 3, no. 2, pp. 76-81, 2014
45. Kasim NA, Whitehouse M, Ramachandran C, Bermejo M, Lennernäs H, Hussain AS, Junginger HE, Stavchansky SA, Midha KK, Shah VP, Amidon GL. "Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification". *Mol. Pharm.*, vol. 1, no. 1, pp. 85-96, 2004

46. Lindenberg M, Kopp S, Dressman JB. "Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of essential medicines according to the biopharmaceutics classification system". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 58, no. 2, pp. 265-278, 2004
47. Shawahna R. "Pediatric biopharmaceutical classification system: using age-appropriate initial gastric volume". *AAPS J.*, vol. 18, no. 3, pp. 728-736, 2016
48. Del Moral-Sanchez JM, Gonzalez-Alvarez I, Gonzalez-Alvarez M, Navarro A, Bermejo M. "Classification of WHO Essential Oral Medicines for Children Applying a Provisional Pediatric Biopharmaceutics Classification System". *Pharmaceutics*, vol. 11, no. 11, pp. 1-16, 2019
49. Costa P, Sousa Lobo JM. "Modeling and comparison of dissolution profiles". *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 13, no. 2, pp. 123-133, 2001
50. Hu J, Johnston KP, Williams RO. "Nanoparticle engineering processes for enhancing the dissolution rates of poorly water soluble drugs". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 30, no. 3, pp. 233-245, 2004
51. Becket G, Schep LJ, Tan MY. "Improvement of the in vitro dissolution of praziquantel by complexation with α -, β - and γ -cyclodextrins". *Int. J. Pharm.*, vol. 179, no. 1, pp. 65-71, 1999
52. Maragos S, Archontaki H, Macheras P, Valsami G. "Effect of cyclodextrin complexation on the aqueous solubility and solubility/dose ratio of praziquantel". *AAPS PharmSciTech.*, vol. 10, no. 4, pp. 1444-1451, 2009
53. Arrúa EC, Ferreira MJG, Salomon CJ, Nunes TG. "Elucidating the guest-host interactions and complex formation of praziquantel and cyclodextrin derivatives by ^{13}C and ^{15}N solid-state NMR spectroscopy". *Int. J. Pharm.*, vol. 496, no. 2, pp. 812-821, 2015
54. Da Silva Mourão LC, Batista DRMR, Honorato SB, Ayala AP, Morais WDA, Barbosa EG, Raffin FN, Moura TFADL. "Effect of hydroxypropyl methylcellulose on beta cyclodextrin complexation of praziquantel in solution and in solid state". *J. Incl. Phenom Macro.*, vol. 85, no. 1-2, pp. 151-160, 2016
55. Cugovčan M, Jablan J, Lovrić J, Cinčić D, Galić N, Jug M. "Biopharmaceutical characterization of praziquantel cocrystals and cyclodextrin complexes prepared by grinding". *J. Pharmaceut. Biomed.*, vol. 137, pp. 42-53, 2017
56. Münster M, Mohamed-Ahmed AHA, Immohr LI, Schoch C, Schmidt C, Tuleu C, Breitzkreutz J. "Comparative in vitro and in vivo taste assessment of liquid praziquantel formulations". *Int. J. Pharm.*, vol. 529, no. 1-2, pp. 310-318, 2017
57. Rodrigues SG, Chaves IS, Melo NFS, de Jesus MB, Fraceto LF, Fernandes SA, de Paula E, de Freitas MP, Pinto LMA. "Computational analysis and physico-chemical characterization of an inclusion compound between praziquantel and methyl- β -cyclodextrin for use as an alternative in the treatment of schistosomiasis". *J. Incl. Phenom Macro.*, vol. 70, no. 1-2, pp. 19-28, 2011
58. De Jesus MB, Pinto LMA, Fraceto LF, Takahata Y, Lino ACS, Jaime C, De Paula E. "Theoretical and experimental study of a praziquantel and-cyclodextrin inclusion complex using molecular mechanic calculations and-nuclear magnetic resonance". *J. Pharmaceut. Biomed.*, vol. 41, no. 4, pp. 1428-1432, 2006

59. Chiou WL, Riegelman S. "Pharmaceutical applications of solid dispersion systems". *J. Pharm. Sci.*, vol. 60, no. 9, pp. 1281-1302, 1971
60. Costa ED, Priotti J, Orlandi S, Leonardi D, Lamas MC, Nunes TG, Diogo HP, Salomon CJ, Ferreira MJ. "Unexpected solvent impact in the crystallinity of praziquantel/poly (vinylpyrrolidone) formulations. A solubility, DSC and solid-state NMR study". *Int. J. Pharm.*, vol. 511, no. 2, pp. 983-993, 2016
61. De la Torre P, Torrado S, Torrado S. "Preparation, dissolution and characterization of praziquantel solid dispersions". *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 47, no. 11, pp. 1429-1433, 1999
62. El-Arini SK, Leuenberger H. "Dissolution properties of praziquantel- β -cyclodextrin systems". *Pharm. Dev. Technol.*, vol. 1, no. 3, pp. 307-315, 1996
63. El-Lakkany N, Seif El-Din SH, Heikal L. "Bioavailability and in vivo efficacy of a praziquantel-polyvinylpyrrolidone solid dispersion in *Schistosoma mansoni*-infected mice". *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokin.*, vol. 37, no. 4, pp. 289-299, 2012
64. Orlandi S, Priotti J, Diogo HP, Leonardi D, Salomon CJ, Nunes TG. "Structural Elucidation of Poloxamer 237 and Poloxamer 237/Praziquantel Solid Dispersions: Impact of Poly (Vinylpyrrolidone) over Drug Recrystallization and Dissolution". *AAPS PharmSciTech*, vol. 19, no. 3, pp. 1274-1286, 2018
65. Cheng L, Lei L, Guo S. "In vitro and in vivo evaluation of praziquantel loaded implants based on PEG/PCL blends". *Int. J. Pharm.*, vol. 387, no. 1-2, pp. 129-138, 2010
66. Liu Y, Wang T, Ding W, Dong C, Wang X, Chen J, Li Y. "Dissolution and oral bioavailability enhancement of praziquantel by solid dispersions". *Drug Del. Transl. Re.*, vol. 8, no. 3, pp. 580-590, 2018
67. Chaud MV, Lima AC, Vila MMDC, Paganelli MO, Paula FC, Pedreiro LN, Gremião MPD. "Development and evaluation of praziquantel solid dispersions in sodium starch glycolate". *Trop. J. Pharm. Res.*, vol. 12, no. 2, pp. 163-168, 2013
68. Dametto PR, Dametto AC, Polese L, Ribeiro CA, Chorilli M, de Freitas O. "Development and physicochemical characterization of solid dispersions containing praziquantel for the treatment of schistosomiasis". *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 127, no. 2, pp. 1693-1706, 2017
69. Chaud MV, Tamascia P, de Lima AC, Paganelli MO, Gremião MPD, de Freitas O. "Solid dispersions with hydrogenated castor oil increase solubility, dissolution rate and intestinal absorption of praziquantel". *Braz. J. Pharm. Sci.*, vol. 46, no. 3, pp. 473-481, 2010
70. Marques CSF, Rezende P, Andrade LN, Mendes TMF, Allegretti SM, Bani C, Chaud MV, de Almeida MB, Souto EB, da Costa LP, Severino P. "Solid dispersion of praziquantel enhanced solubility and improve the efficacy of the schistosomiasis treatment". *J. Drug Deliv. Sci. Tec.*, vol. 45, pp. 124-134, 2018
71. Simonazzi A, Bermudez JM, Palma S. "Preparación de Dispersiones Sólidas utilizando Poloxamer 407 como estrategia farmacéutica para vehiculizar principio activos pocos solubles". *X Jornadas De Ciencia Y Tecnología De Facultades De Ingeniería Del NOA*, 2015
72. Xie S, Pan B, Shi B, Zhang Z, Zhang X, Wang M, Zhou W. "Solid lipid nanoparticle suspension enhanced the therapeutic efficacy of praziquantel against tapeworm". *Int. J. Nanomed.*, vol. 6, pp. 2367-2374, 2011

73. Witzleb R, Müllertz A, Kanikanti VR, Hamann HJ, Kleinebudde P. "Dissolution of solid lipid extrudates in biorelevant media". *Int. J. Pharm.*, vol. 422, no. 1-2, pp. 116-124, 2012
74. Kolenyak-Santos F, Garnero C, Nunes de Oliveira R, De Souza AL, Chorilli C, Marques Allegretti S, Longhi MR, Vinícius Chaud M, Gremião MP. "Nanostructured Lipid Carriers as a Strategy to Improve the In Vitro Schistosomiasis Activity of Praziquantel". *J. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 14, no. 1, pp. 1-12, 2014
75. Ribeiro de Souza AL, Andreani T, Nunes de Oliveira R, Kiill CP, Kolenyak dos Santos F, Marques Allegretti S, Vinícius Chaud M, Souto EB, Silva AM, Daflon Gremião MP. "In vitro evaluation of permeation, toxicity and effect of praziquantel-loaded solid lipid nanoparticles against *Schistosoma mansoni* as a strategy to improve efficacy of the schistosomiasis treatment". *Int. J. Pharm.*, vol. 463, no. 1, pp. 31-37, 2014
76. Villafuerte-Robles L. "Nanotecnología farmacéutica". *Razón y palabra*, vol. 14, no. 68, pp. 1-20, 2009
77. Qiao N, Li M, Schlindwein W, Malek N, Davies A, Trappitt G. "Pharmaceutical cocrystals: an overview". *Int. J. Pharm.*, vol. 419, no. 1-2, pp. 1-11, 2011
78. Espinosa Lara JC, Guzman Villanueva D, Arenas García JI, Herrera Ruiz D, Rivera Islas J, Román Bravo P, Morales Rojas H, Höpfl H. "Cocrystals of active pharmaceutical ingredients-praziquantel in combination with oxalic, malonic, succinic, maleic, fumaric, glutaric, adipic and pimelic acids". *Crys. Growth Des.*, vol. 13, no. 1, pp. 169-185, 2013
79. Vippagunta SR, Brittain HG, Grant DJW. "Crystalline solids". *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 48, no. 1, pp. 3-26, 2001
80. Yu L. "Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization". *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 48, no. 1, pp. 27-42, 2001
81. Zanolla D, Perissutti B, Passerini N, Chierotti MR, Hasa D, Voinovich D, Gigli L, Demitri N, Geremia S, Keiser J, Vioglio PC, Albertini B. "A new soluble and bioactive polymorph of praziquantel". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 127, pp. 19-28, 2018
82. Perissutti B, Passerini N, Trastullo R, Keiser J, Zanolla D, Zingone G, Voinovich D, Albertini B. "An explorative analysis of process and formulation variables affecting commilling in a vibrational mill: The case of praziquantel". *Int. J. Pharm.*, vol. 533, no. 2, pp. 402-412, 2017
83. Summers M, Aulton M. "Granulation", in *Pharmaceutics, the science of dosage form design, 2nd ed.* Aulton, M.E. Churchill Livingstone Elsevier Science Limited, 2002, pp. 364 - 378
84. Passerini N, Albertini B, Perissutti B, Rodriguez L. "Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel". *Int. J. Pharm.*, vol. 318, no. 1-2, pp. 92-102, 2006
85. Trastullo R, Dolci LS, Passerini N, Albertini B. "Development of flexible and dispersible oral formulations containing praziquantel for potential schistosomiasis treatment of pre-school age children". *Int. J. Pharm.*, vol. 495, no. 1, pp. 536- 550, 2015
86. Sharma A, Sharma US. "Liposomes in drug delivery: progress and limitations". *Int. J. Pharm.*, vol. 154, no. 2, pp. 123-140, 1997

87. Mourão SC, Costa PI, Salgado HR, Gremião MPD. "Improvement of antischistosomal activity of praziquantel by incorporation into phosphatidylcholine-containing liposomes". *Int. J. Pharm.*, vol. 295, no. 1-2, pp. 157-162, 2005
88. Frezza TF, Gremião MPD, Zanotti-Magalhães EM, Magalhães LA, de Souza ALR, Allegretti SM. "Liposomal-praziquantel: efficacy against *Schistosoma mansoni* in a preclinical assay". *Acta Trop.*, vol. 128, no. 1, pp. 70-75, 2013
89. Cheng L, Guo S, Wu W. "Characterization and in vitro release of praziquantel from poly(-caprolactone) implants". *Int. J. Pharm.*, vol. 377, no. 1-2, pp. 112-119, 2009
90. Li C, Cheng L, Zhang Y, Guo S, Wu W. "Effects of implant diameter, drug loading and end-capping on praziquantel release from PCL implants". *Int. J. Pharm.*, vol. 386, no. 1-2, pp. 23-29, 2010
91. Cheng L, Lei L, Guo S. "In vitro and in vivo evaluation of praziquantel loaded implants based on PEG/PCL blends". *Int. J. Pharm.*, vol. 387, no. 1-2, pp. 129-138, 2010
92. Zheng XS, Duan CZ, Xiao ZD, Yao BA. "Transdermal delivery of praziquantel: Effects of solvents on permeation across rabbit skin". *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 31, no. 5, pp. 1045-1048, 2008
93. Wang L, Zheng X, Fang Y, Wang Y, Duan C, Yao B. "Transdermal evaporation delivery system of praziquantel for schistosomiasis japonicum chemotherapy". *J. Pharm. Sci.*, vol. 100, no. 7, 2769-2777, 2011
94. Gao L, Zhang D, Chen M. "Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system". *J. Nanopart. Res.*, vol. 10, no. 5, pp. 845-862, 2008
95. Mainardes RM, Evangelista RC. "PLGA nanoparticles containing praziquantel: effect of formulation variables on size distribution". *Int. J. Pharm.*, vol. 290, no. 1-2, pp. 137-144, 2005
96. Damacena Silva L, Lima NF, Arrua EC, Salomon CJ, Vinaud MC. "In vivo treatment of experimental neurocysticercosis with praziquantel nanosuspensions—a metabolic approach". *Drug Deliv. Transl. Res.*, vol. 8, no. 5, pp. 1265-1273, 2018
97. Khadka P, Ro J, Kim H, Kim I, Kim JT, Kim H, Cho JM, Yun G, Lee J. "Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability". *Asian J. Pharm. Sci.*, vol. 9, no. 6, pp. 304-316, 2014
98. Müller RH, Gohla S, Keck CM. "State of the art of nanocrystals—special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 78, no. 1, pp. 1-9, 2011
99. Kesisoglou F, Panmai S, Wu Y. "Nanosizing-oral formulation development and biopharmaceutical evaluation". *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 59, no. 7, pp. 631-644, 2007
100. Shegokar R, Müller RH. "Nanocrystals: industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives". *Int. J. Pharm.*, vol. 399, no. 1-2, pp. 129-139, 2010
101. Bennema P, Van Eupen J, Van der Wolf BMA, Los JH, MeekesH. "Solubility of molecular crystals: Polymorphism in the light of solubility theory". *Int. J. Pharm.*, vol. 351, no. 1-2, pp. 74-91, 2008

102. Patravale VB, Date AA, Kulkarni RM. "Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy". *J. Pharm. Pharm.*, vol. 56, no. 7, pp. 827-840, 2004
103. Buckton G, Beezer AE. "The relationship between particle size and solubility". *Int. J. Pharm.*, vol. 82, no. 3, pp. R7-R10, 1992
104. Müller RH, Jacobs C, Kayser O. "Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: rationale for development and what we can expect for the future". *Adv. Drug Deliver. Rev.*, vol. 47, no. 1, pp. 3-19, 2001
105. Mosharraf M, Nyström C. "The effect of particle size and shape on the surface specific dissolution rate of micro-sized practically insoluble drugs". *Int. J. Pharm.*, vol. 122, no. 1-2, pp. 35-47, 1995
106. Fontana F, Figueiredo P, Zhang P, Hirvonen J, Liu D, Santos HA. "Production of pure drug nanocrystals and Nano Co-crystals by confinement methods". *Adv. Drug Deliver. Rev.*, vol. 131, pp. 3-21, 2018
107. Junyaprasert VB, Morakul B. "Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs". *Asian J. Pharm. Sci.*, vol. 10, no. 1, pp. 13-23, 2015
108. Shah DA, Murdande SB, Dave RH. "A review: pharmaceutical and pharmacokinetic aspect of nanocrystalline suspensions". *J. Pharm. Sci.*, vol. 105, no. 1, pp. 10-24, 2016
109. Lentz KA. "Current methods for predicting human food effect". *AAPS J.*, vol. 10, no. 2, pp. 282-288, 2008
110. Merisko-Liversidge E, Liversidge GG, Cooper ER. "Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds". *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 18, no. 2, pp. 113-120, 2003
111. Möschwitzer J, Müller RH. "Drug nanocrystals—the universal formulation approach for poorly soluble drugs" in *Nanoparticulate drug delivery systems*, CRC Press, pp. 91-108, 2007
112. Pintu Kumar D, Subrata C. "Nanosuspensions: Potent vehicles for drug delivery and bioavailability enhancement of lipophilic drugs". *J. Pharm. Res.*, vol. 5, no. 3, pp. 1548-1554, 2012
113. Ravichandran R. "Nanoparticles in drug delivery: potential green nanobiomedicine applications". *Int. J. Green Nanotechnol. Biomed.*, vol. 1, no. 2, pp. B108-B130, 2009
114. Müller RH, Becker R, Kruss B, Peters K. "Pharmaceutical nanosuspensions for medicament administration as systems with increased saturation solubility and rate of solution". *United States Patent 5, 858, 410*, USA, 1999
115. Chingunpituk, J. "Nanosuspension technology for drug delivery". *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, vol. 4, no. 2, pp. 139-153, 2007
116. Wang Y, Zheng Y, Zhang L, Wang Q, Zhang D. "Stability of nanosuspensions in drug delivery". *J. Control. Release*, vol. 172, no. 3, pp. 1126-1141, 2013
117. Wu L, Zhang J, Watanabe W. "Physical and chemical stability of drug nanoparticles". *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, vol. 63, no. 6, pp. 456-469, 2011
118. Nutan MT, Reddy IK. "General principles of suspensions" in *Pharmaceutical suspensions*, Springer, New York, NY, 2010, pp. 39-65

119. Rabinow BE. "Nanosuspensions in drug delivery". *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 3, no. 9, pp. 785-796, 2004
120. Bawa R. "FDA and Nano: Baby steps, Regulatory Uncertainty and the Bumpy Road Ahead" in "*Handbook of Clinical Nanomedicine: Law, Business, Regulation, Safety and Risk*". Bawa R., Audette G.F., Reese B.E. (Eds.). Pan Stanford Publishing Ltd., 2016, pp. 339-383
121. Tinkle S, McNeil SE, Mühlebach S, Bawa R, Borchard G, Barenholz Y, Tamarkin L, Desai N. "Nanomedicines: addressing the scientific and regulatory gap". *Ann. NY Acad. Sci.*, vol. 1313, no. 1, pp. 35-56, 2014
122. Soares S, Sousa J, Pais A, Vitorino C. "Nanomedicine: Principles, properties and regulatory issues". *Front. Chem.*, vol. 6, pp. 1-15, 2018
123. Paradise J. "Regulating Nanomedicine at the Food and Drug Administration". *AMA Journal of Ethics*, vol. 21, no. 4, pp. 347-355. 2019
124. U.S. Department of Health and Human Services. FDA Guidance for Industry: Considering Whether an FDA-Regulated Product Involves the Application of Nanotechnology. Junio 2014 (a). Disponible en <https://www.fda.gov/media/88423/download>
125. U.S. Department of Health and Human Services. FDA Guidance for Industry: Assessing the Effects of Significant Manufacturing Process Changes, Including Emerging Technologies, on the Safety and Regulatory Status of Food Ingredients and Food Contact Substances, Including Food Ingredients that are Color Additives. Junio 2014 (b). Disponible en <https://www.fda.gov/media/115075/download>
126. U.S. Department of Health and Human Services. FDA Guidance for Industry: Safety of nanomaterials in cosmetic products. Junio 2014 (c). disponible en <https://www.fda.gov/media/83957/download>
127. U.S. Department of Health and Human Services. FDA Guidance for Industry (Draft): Drug Products, Including Biological Products, that Contain Nanomaterial. Diciembre 2017. Disponible en <https://www.fda.gov/media/109910/download>
128. European Medicines Agency. Reflection paper on non-clinical studies for generic nanoparticle iron medicinal product applications. EMA/CHMP/SWP/100094/2011. Reino Unido, 2011. Disponible en https://etp-nanomedicine.eu/wp-content/uploads/2018/10/reflection-paper-non-clinical-studies-generic-nanoparticle-iron-medicinal-product-applications_en.pdf
129. European Medicines Agency. Joint MHLW/EMA Reflection Paper on the development of block copolymer micelle medicinal products. EMA/CHMP/13099/2013. Reino Unido, 2013a. Disponible en https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/joint-ministry-health-labour-welfare/european-medicines-agency-reflection-paper-development-block-copolymer-micelle-medicinal-products_en.pdf
130. European Medicines Agency. Reflection Paper on Surface coatings: General issues for consideration regarding parenteral administration of coated nanomedicine products. EMA/325027/2013. Reino Unido, 2013b. Disponible en https://etp-nanomedicine.eu/wp-content/uploads/2018/10/reflection-paper-surface-coatings-general-issues-consideration-regarding-parenteral-administration_en.pdf
131. European Medicines Agency. Reflection Paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product.

EMA/CHMP/806058/2009/Rev. 02. Reino Unido, 2013c. Disponible en https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper-data-requirements-intravenous-liposomal-products-developed-reference-innovator_en-0.pdf

132. D’Mello SR, Cruz CN, Chen ML, Kapoor M, Lee SL, Tyner KM. “The evolving landscape of drug products containing nanomaterials in the United States”. *Nat. Nanotechnol.*, vol. 12, no. 6, pp. 523-529, 2017
133. Pediatric Praziquantel Consortium. Disponible en: <https://www.pediatricpraziquantelconsortium.org/schistosomiasis>.

CAPÍTULO 2

Materiales y métodos

2.1. Materiales

A continuación se indican todos los materiales utilizados en esta Tesis:

- Praziquantel: grado farmacéutico (Parafarm; Saporiti, Buenos Aires, Argentina)
- Poloxamer 188 (P188): grado farmacéutico (Lutrol F68®; BASF, Estados Unidos)
- Polivinilpirrolidona (PVP) K30: grado farmacéutico (Parafarm; Saporiti, Buenos Aires, Argentina)
- Maltodextrina (MDX): grado farmacéutico (Todo Droga, Córdoba, Argentina)
- Agua tridestilada (All Chemistry, Bahía Blanca, Argentina) y destilada (Planta de destilación propia, Universidad Nacional del Sur)
- Materiales utilizados en la caracterizaciones fisicoquímicas y biofarmacéuticas de las nanopartículas y productos derivados:
 - bromuro de potasio (grado espectroscópico, Merck, Darmstadt, Alemania), utilizado para las determinaciones de espectroscopia infrarrojo
 - ácido clorhídrico 1N, preparado a partir de ácido clorhídrico concentrado (37% p/p, grado analítico, Anedra, Buenos Aires, Argentina) según lineamientos de Farmacopea Argentina (cita FA) y utilizado para determinaciones de disolución y disgregación *in vitro*
 - agua ultrapurificada MilliQ®, utilizada para efectuar diluciones de muestras en las determinaciones por espectroscopia de correlación de fotones
 - alcohol etílico absoluto (grado analítico, Dorwil, Buenos Aires, Argentina), utilizado para determinaciones de espectroscopia UV
 - ácido acético glacial (grado analítico, Dorwil, Buenos Aires, Argentina), utilizado para determinaciones de contenido de fármaco en las formulaciones masticables
 - medios de cultivo utilizados para las determinaciones de control microbiológico de formulaciones masticables: agar cetrimida, agar digerido de caseína-soja, agar Baird-Parker, agar Mac Conkey (Merck, Darmstadt, Alemania), fosfato potásico monobásico (grado analítico, Anedra, Buenos Aires, Argentina), hidróxido de sodio (grado analítico, Anedra, Buenos Aires, Argentina) para la preparación de solución reguladora de fosfato pH 7,2 [1]
 - materiales utilizados en las determinaciones de humedad por Karl Fischer: metanol anhidro (calidad para análisis, Merck, Buenos Aires, Argentina), formamida (calidad para análisis, Merck, Buenos Aires, Argentina), tamices moleculares (0,3 nm, Metrohm,

Herisau, Suiza) y reactivo de Karl Fischer Hydranal Composite 5 (Sigma-Aldrich, Misuri, Estados Unidos).

- Materiales utilizados para la preparación de las formas farmacéuticas finales:
 - para la elaboración del medio de redispersión de polvos: sacarosa (Ledema, Jujuy, Argentina), glicerina (Parafarm, Saporiti, Buenos Aires, Argentina), solución de sorbitol 70 % (Kasyap, Mumbai, India), fosfato dibásico de sodio (Surfactan, Buenos Aires, Argentina), ácido cítrico (Weifang Ensign Industry, Shandong, China), goma Xanthan (Parafarm, Saporiti, Buenos Aires, Argentina), celulosa microcristalina (Parafarm, Saporiti, Buenos Aires, Argentina), carboximetilcelulosa sódica (Parafarm, Saporiti, Buenos Aires, Argentina), simeticona (Rosenco, Buenos Aires, Argentina); todos de grado farmacéutico
 - para la elaboración de las formulaciones masticables: gelatina 200 bloom (grado farmacéutico, Rousselot, Buenos Aires, Argentina), glicerina (Parafarm, Saporiti, Buenos Aires, Argentina), sorbitol (Parafarm, Saporiti, Buenos Aires, Argentina), ácido cítrico (Weifang Ensign Industry, Shandong China); todos de grado farmacéutico.
- Especialidades medicinales:
 - Comprimidos conteniendo 600 mg PZQ (Lote N° L29, Prazitral, Laboratorio Lepetit, Neuquén, Argentina)
 - Gomas masticables multivitamínicas (Lote N° 80593, Supradyn, Laboratorio Bayer SA, Buenos Aires, Argentina)

2.2. Métodos

En esta sección se detallan los principales métodos utilizados para realizar los ensayos experimentales que permitieron llevar adelante este trabajo de Tesis, como así también las condiciones en las cuales se llevaron a cabo.

2.2.1. Efecto de las soluciones estabilizantes sobre propiedades de PZQ

2.2.1.1. Solubilidad

Para preparar las suspensiones iniciales, que luego serán procesadas por HAP, se requiere conocer la solubilidad de saturación del PZQ, a fin de establecer el contenido de fármaco que garantice las condiciones de sobresaturación para la producción de NS. Por esta razón,

la solubilidad de PZQ (materia prima) se determinó en las diferentes soluciones estabilizantes, y se comparó con la solubilidad del fármaco en agua destilada. Un parámetro que afecta significativamente la solubilidad de los fármacos, y que asimismo constituye un factor crítico en la producción de los nanocristales, es la temperatura del proceso [2]. Como se detallará más adelante (sección 2.2.2), el proceso de HAP aumenta considerablemente la temperatura de la suspensión alimentada, de manera que el proceso se controló para que la temperatura no supere los 40 °C. Por esta razón, los ensayos de solubilidad de saturación se realizaron a esta temperatura específica.

Las soluciones estabilizantes binarias se prepararon a una concentración total del 1 % (p/v), y consistieron en una combinación de P188 con PVP o MDX, en una relación 1:1. Además, P188 se usó individualmente, evaluando el efecto de tres concentraciones (0,25 %, 0,5 % y 1 %) de este agente, sobre la solubilidad del PZQ. Un exceso de PZQ fue agregado a 7 ml de las soluciones estabilizantes descritas, o agua destilada, y las mezclas se agitaron hasta alcanzar el equilibrio (72 horas) a 40 °C en un baño termostático (Arcano SHZ-88, Shangai, China). Pasado este tiempo, cada muestra se sedimentó usando una centrífuga Rolco CM 2036 (Liniers, Argentina), a 3500 rpm durante 20 minutos, y el sobrenadante se filtró a través de una membrana de nylon, con un tamaño de poro de 0,45 µm (Microclar, Tigre, Argentina). La concentración de PZQ se determinó por espectrofotometría UV (Varian Cary 50Conc, Varian Instruments, Mulgrave, Australia), a 264 nm, longitud de onda de máxima absorción del PZQ y en la cual no se registraron señales de interferencia para las soluciones estabilizantes.

2.2.1.2. Ángulo de contacto

Con el fin de evaluar la influencia de los excipientes sobre la humectabilidad del PZQ, se realizaron mediciones del ángulo de contacto, según metodología descrita por Di Battista y col. [3]. Este análisis se llevó a cabo mediante la observación tangencial de una gota (20 µL) de las soluciones de interés depositadas sobre una placa de vidrio, que previamente fue recubierta con una capa delgada de PZQ. Este recubrimiento se logró mediante la disolución del PZQ puro en etanol, seguida por la deposición de una alícuota de solución suficiente para recubrir toda la superficie de un portaobjetos de vidrio. La elevada volatilidad del etanol facilitó su rápida evaporación y la formación de una delgada lámina homogénea de residuo sólido de PZQ sobre la placa.

Las mediciones del ángulo de contacto se realizaron utilizando un goniómetro de ángulo de contacto NRL de ramé-hart (ramé-hart instrument co., EE. UU.), por triplicado. Para ello se contó

con la colaboración del Grupo de Investigación en Tecnología Farmacéutica (INIQUI, CONICET-Universidad Nacional de Salta).

En líneas generales, un ángulo de contacto menor a 90° indica que el mojado de la superficie es favorable y el líquido mojanete se esparcirá sobre un gran área de la superficie del sólido, mientras que ángulos mayores a 90° están asociados con un mojado desfavorable, de tal forma que el líquido tenderá a minimizar el contacto con la superficie y formará una gota turgente y compacta (Figura 2.1) [4, 5].

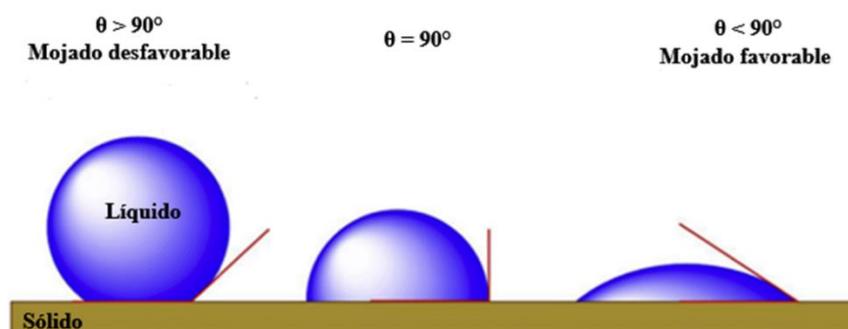


Figura 2.1. Ángulo de contacto entre un líquido y un sólido de interés. Adaptado de Referencia [6].

2.2.2. Preparación de los sistemas nanoparticulados y sus respectivas mezclas físicas

Como se mencionó previamente la metodología empleada para la elaboración de las NS fue la HAP. El PZQ (2 g), tal como fue adquirido, se dispersó en 200 ml de solución estabilizante, alcanzando una concentración final de 1% (p/v). Esta concentración garantiza una sobresaturación del sistema, según los resultados obtenidos en los análisis previos de solubilidad (llevados a cabo según lo ya enunciado en la sección 2.2.1.1). La relación fármaco:estabilizante utilizada se indica en cada capítulo pertinente (capítulos 3 y 4). Inicialmente, se preparó una suspensión gruesa, mediante humectación completa del PZQ con la solución estabilizante, utilizando mortero de vidrio. Posteriormente, las suspensiones se agitaron en un agitador magnético (1000 rpm; 10 minutos), para asegurar su homogeneidad, y se sonicaron durante 15 minutos, en baño ultrasónico (Testlab TB018TDCCD, Argentina) a máxima potencia. El medio utilizado en el baño ultrasónico consistió en una mezcla de agua destilada y lauril sulfato de sodio (en una concentración de 0,2% p/v), para aumentar las fuerzas de cavitación generadas. Las suspensiones resultantes fueron procesadas por HAP (APV Gaulin 1000, Dinamarca, con capacidad de 22 L/h) (Figura 2.2.). Inicialmente, se aplicaron 4 ciclos de homogeneización a una presión de 500 bar, con el fin de evitar la obstrucción de la válvula de homogeneización [7].

Posteriormente, las dispersiones se hicieron pasar a través del homogeneizador a una presión final de 950 bar, durante 60 ciclos. Debido al alto aporte de energía ocasionado por esta metodología, la corriente de salida, es decir, la corriente que recircula para una posterior homogeneización, exhibió significativos aumentos de temperatura. Para controlar este parámetro durante el procesamiento, se intercalaron ciclos bajo presión (cuatro en total) con ciclos sin presión (diez en total), de manera que la suspensión se enfriara durante su recirculación; al mismo tiempo que se adicionó al equipo con una serpentina, sumergida en un baño de agua mantenido a 20 °C, para favorecer el proceso de enfriamiento de la formulación. Al hacer esto, se logró controlar que la temperatura de la suspensión no supere los 40 °C. Para la readecuación del equipo se contó con la colaboración de investigadores del grupo de Tecnología de Partículas de la Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI, CONICET-UNS).



- ① Tolva de alimentación
- ② Conjunto de bloques de válvulas de la bomba
- ③ y ④ Conjunto de válvulas homogeneizantes
- ⑤ Manómetro
- ⑥ Descarga de la muestra

Figura 2.2. Fotografía del Equipo de Homogeneización de Alta Presión.

Con el fin de comparar los resultados obtenidos para las NS, en las diversas determinaciones de caracterización, se prepararon mezclas físicas (MF) en un mortero de vidrio por medio de la mezcla suave de PZQ y los diferentes estabilizantes, en la misma proporción que las NS elaboradas en cada caso particular.

2.2.3. Secado por atomización de las NS

El secado por atomización (SA) de las NS se llevó a cabo en un secadero a escala laboratorio Mini Spray Dryer Büchi B-290 (Büchi Labortechnik AG) (Figura 2.3.). Las condiciones operativas que se pueden seleccionar en el secadero son: temperatura de entrada del aire de secado, caudal de aire de atomización, caudal de la muestra líquida a atomizar y caudal de aire de secado. El secadero utilizado posee un sistema de presión negativa para impulsar el aire de secado, es decir, una bomba de vacío induce el ingreso de aire ambiente el cual circula a co-corriente con la solución/dispersión atomizada.



- ① Solución/ dispersión a ser atomizada
- ② Panel de control de variables operativas
- ③ Ciclón de separación
- ④ Vaso de colección del producto sólido
- ⑤ Cámara de secado
- ⑥ Medición de temperatura de salida

Figura 2.3. Equipo de secado por atomización. Adaptado de Referencia [8].

En esta Tesis, los parámetros del proceso de SA fueron: temperatura de entrada del aire de secado 50 °C, caudal de aire de atomización 670 L/h, caudal de alimentación 5 % (1,5 ml/min) y caudal de aire de secado 35 m³/ h [9]. Es ampliamente conocido que el SA de formulaciones acuosas que contienen excipientes de bajo punto de fusión constituye un verdadero desafío [10]. Las variables operativas utilizadas en este trabajo de Tesis se seleccionaron a partir de datos reportados en la literatura científica, para el secado de una mezcla que contenga un polímero hidrófilo de bajo punto de fusión, como es el caso del P188 [9, 11]. Durante el período de operación, las suspensiones a atomizar se sometieron a agitación magnética continua para favorecer su homogeneidad. Además, para estabilizar y facilitar la limpieza del equipo, se hizo

circular agua destilada durante 10 minutos previos y 10 minutos posteriores a la atomización de las suspensiones.

La temperatura de salida del aire de secado se registró para cada experiencia realizada. Luego del proceso de SA, el polvo colectado en el vaso de colección se pesó, se colocó en frascos color caramelo y se almacenó para su posterior caracterización.

El rendimiento del proceso se calculó como la relación entre la masa del producto obtenido luego del secado, respecto de la cantidad inicial de sólidos utilizada para preparar las alimentaciones líquidas.

2.2.3.1. Reconstitución extemporánea del polvo obtenido por SA

Una técnica ampliamente aplicada para disminuir el sabor amargo de algunos principios activos es el uso de vehículos dulces. En esta Tesis, el vehículo utilizado para la redispersión de polvos obtenidos por SA fue una combinación de las presentaciones comerciales Ora Sweet® y Ora Plus®, en una proporción 1:1. La selección de los vehículos mencionados se realizó considerando su amplia utilización en ámbitos hospitalarios para la formulación o readecuación de dosis formulaciones líquidas orales de uso pediátrico [12].

Dado que estos vehículos no están disponibles comercialmente en Argentina, fueron preparados en nuestro laboratorio según composición descripta en la literatura [13]. La composición de cada vehículo se detalla a continuación.

Tabla 2.1. Composición cuali-cuantitativa de los vehículos utilizados para la redispersión del polvo.

Vehículo	Composición	
Vehículo para soluciones	Sacarosa	80 g
	Glicerina	5 mL
	Sorbitol	5 mL
	Metilparabeno	0,1 g
	Sorbato de Potasio	0,1 g
	Fosfato dibásico de sodio	0,12 g
	Ácido cítrico	0,15 g
	Agua purificada c.s.p.	100 mL
Vehículo para suspensiones	Goma Xanthan	0,2 g
	Celulosa microcristalina	0,8 g
	Carboximetilcelulosa	0,025 g
	Ácido cítrico	0,1 g
	Fosfato dibásico de sodio	0,06 g
	Metilparabeno	0,1 g
	Sorbato de potasio	0,15 g
	Simeticona	0,1 g
Agua purificada c.s.p.	100 mL	

Como puede observarse, la presencia de excipientes tales como la goma xanthan, la celulosa microcristalina y la carboximetilcelulosa en la formulación otorgará el medio adecuado para el mantenimiento de partículas en suspensión; a la vez que la sacarosa, la glicerina y el sorbitol aportarán un agradable sabor. Además, el vehículo contiene simeticona, que además de ser un agente suspensor, evita la formación de espuma, que es particularmente útil en el caso de las formulaciones desarrolladas, debido al contenido de P188, que es propenso a la formación de espuma después de la agitación [14]. Los conservantes metilparabeno y sorbato de potasio (presentes en la fórmula de los productos comerciales) no se agregaron a la preparación del vehículo, dado que exhiben una absorción ultravioleta significativa a la longitud de onda máxima de PZQ.

Los polvos obtenidos mediante SA se redispersaron en el vehículo formulado, a una concentración final de PZQ del 1% (p/v).

2.2.4. Ensayos de caracterización de NS y polvos obtenidos por SA

2.2.4.1. Distribución de tamaño de partículas

La distribución de tamaño de partículas de los polvos obtenidos por SA, así como del PZQ materia prima, se determinó mediante difracción laser (DL) en un equipo Horiba LA 950 V2 (Horiba, Kyoto, Japón), utilizando el método de polvo seco a un flujo de aire de 0,2 MPa. Esta técnica está basada en que las partículas dispersan luz en todas las direcciones, con un patrón de intensidad que es dependiente del tamaño de la partícula. Mediante una fuente de luz láser y una serie de detectores, la luz es dispersada a través de la muestra, y un software procesa la información obtenida por los detectores. Las partículas grandes dispersan la luz en ángulos pequeños en relación con el rayo láser, mientras que las partículas de menor tamaño dispersan la luz en ángulos grandes [15]. Para el cálculo de la distribución de tamaño de partículas, la DL utiliza la teoría de Mie (de dispersión de la luz), suponiendo un modelo de esfera equivalente al volumen de la partícula. Esto quiere decir que esta técnica supone que las partículas medidas son esféricas, y los resultados que muestra este análisis se registran como un diámetro de la esfera equivalente al volumen de la partícula. La teoría de Mie requiere el conocimiento de las propiedades ópticas (índice de refracción y componente imaginario), tanto del agente dispersante como de la muestra que se está midiendo [15].

Por lo general, las propiedades ópticas del dispersante son relativamente fáciles de hallar en datos publicados, además de que muchos instrumentos modernos cuentan con bases de datos

integradas que incluyen dispersantes comunes. En el caso de que no se conozcan las propiedades ópticas, éstas se pueden medir [15].

En este trabajo de Tesis, el tamaño promedio de las partículas se expresó como el diámetro volumétrico medio D_{43} . Además, se informó el $D[v, 0,90]$, referido como el tamaño por debajo del cual se encuentra el 90 % de la población de partículas. El ancho de la distribución se informa como el parámetro *span*, variable que se calcula haciendo uso de la Ecuación 2.1:

$$span = (D_{90} - D_{10})/D_{50} \quad (\text{Ec. 2.1})$$

donde D_{90} , D_{50} y D_{10} son los diámetros para los cuales el 90, 50 y 10 % de la población de partículas se encuentran por debajo de cada valor, respectivamente. La distribución puede considerarse angosta si el factor de *span* es menor a 2 [16].

Por otra parte, la distribución de tamaño de partículas de las NS, así como de los productos secos redispersados, se determinó mediante Dispersión Dinámica de Luz, también conocida como Espectroscopia de Correlación de Fotones (ECF), utilizando un equipo Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido). Esta técnica permite determinar la distribución de tamaño de partículas en suspensión mediante el principio del movimiento Browniano. El movimiento Browniano de las partículas en suspensión hace que la intensidad de la luz dispersada varíe en el tiempo. Una característica importante de este fenómeno es que las partículas pequeñas se mueven rápidamente mientras que las partículas grandes lo hacen lentamente, y esta velocidad de movimiento está definida por su respectivo coeficiente de difusión (D). A partir del análisis de las fluctuaciones temporales en la intensidad de la luz dispersada se obtiene el coeficiente de difusión (D) de las partículas. La relación entre el tamaño de una partícula y su coeficiente de difusión debido al movimiento browniano se define en la ecuación de Stokes-Einstein (Ec. 2.2) [17, 18]:

$$d(H) = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (\text{Ec 2.2})$$

donde $d(H)$ es el diámetro hidrodinámico, k la constante de Boltzmann's, T la temperatura absoluta, η la viscosidad del medio y D el coeficiente de difusión. Para realizar estas determinaciones es fundamental conocer con precisión la viscosidad del medio. Además, la temperatura debe permanecer estable durante el proceso de medida, dado que la viscosidad de un líquido está relacionada con dicha variable [17, 18]. Es importante destacar que las partículas de mayor tamaño ($> 3 \mu\text{m}$) pueden distorsionar completamente las mediciones y, por lo tanto, se recomienda un análisis complementario con DL para corroborar los resultados obtenidos [19].

En esta Tesis, las muestras se retrodispersaron mediante un láser de helio-neón (633 nm) en un ángulo de 90° y a una temperatura constante de 25 °C. Cada muestra se analizó inmediatamente después de su preparación, por triplicado. Para evitar las interacciones entre partículas y lograr así que los resultados fueran independientes de la concentración de partículas, la muestra se diluyó usando agua ultrapurificada (MilliQ®), alcanzando una concentración final de 0,25 %. Los resultados obtenidos se informaron como D_{50} , D_{90} , diámetro hidrodinámico medio (Z_{size}) e índice de polidispersidad (IPD). El IPD se define como el cociente entre la desviación estándar y la media obtenida para la medición del tamaño de partículas [20]. Este parámetro brinda una idea de la distribución global de tamaños, asumiendo una sola media. Valores alrededor de 0,1 reflejan una población monodispersa homogénea, mientras que un IPD mayor que 0,5 indica una distribución de gran tamaño, así como una mayor tendencia a la aglomeración [21].

2.2.4.2. Potencial Z

La carga de una partícula es un parámetro de significativa importancia a la hora de considerar la estabilidad física de las NS acuosas. Este parámetro se caracteriza mediante una combinación de electroforesis y velocimetría láser Doppler, que se expresa comúnmente como movilidad electroforética o convertida a potencial zeta [22].

La carga eléctrica superficial de las partículas influye en la distribución de los iones en el área interfacial circundante, lo que resulta en una mayor concentración de contraiones. Los contraiones son iones que tienen carga opuesta a la carga sobre la superficie de las partículas, de manera que se forma una doble capa eléctrica alrededor de cada una. La capa líquida que rodea a la partícula, se puede dividir en dos partes: la capa interior, denominada de Stern, donde los iones están cerca de la partícula, y la capa exterior, que se conoce como capa difusa, donde los iones están a una mayor distancia (Figura 2.4). Factores como el pH o la fuerza iónica, entre otros, pueden variar la composición de esta capa difusa [23].

Cuando una partícula con carga se mueve en un líquido, hay siempre una capa de líquido adherida a la superficie que se mueve con ella. Es así que dentro de la capa difusa hay un límite dentro del cual los iones y las partículas forman una entidad estable. Cuando la partícula se mueve, los iones que se encuentran dentro de ese límite se mueven con ella, pero los iones que están más allá de ese límite no. Este límite es llamado plano de deslizamiento (*shear plane* o *slipping plane*), y es el que separa la fase en movimiento de la fase estacionaria. Este plano se encuentra en la zona de la capa difusa de la doble capa eléctrica, en general a una distancia pequeña del plano de Stern (Figura 2.4). Al potencial eléctrico en este plano se lo denomina potencial zeta, el cual puede ser medido de una manera muy simple mediante estudios de

movilidades electroforéticas donde las partículas se mueven bajo la acción de un campo eléctrico. Es importante remarcar que experimentalmente el parámetro que se obtiene es el de la movilidad electroforética [18].

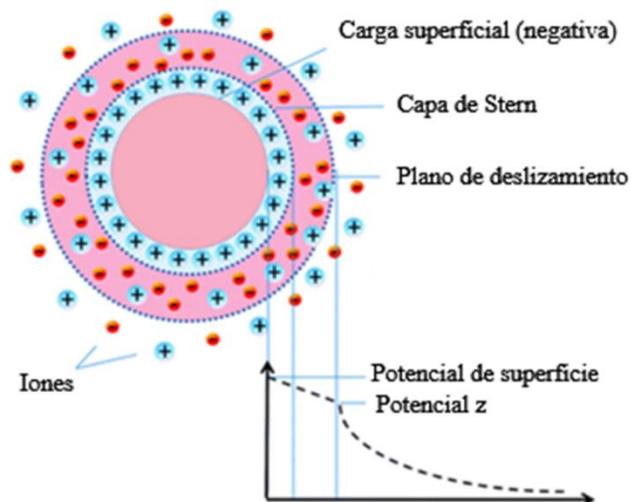


Figura 2.4. Visualización de la doble capa eléctrica. Adaptado de Referencia [24].

La determinación del potencial Z de las NS se realizó utilizando un equipo Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido), donde cada muestra fue ensayada por triplicado, a 25 °C. Las muestras fueron diluidas de la misma manera que para la evaluación del tamaño de partícula.

2.2.4.3. Morfología

La microscopía electrónica de barrido (MEB) es una técnica ampliamente utilizada para obtener información valiosa sobre morfología, topología de superficies y composición de una muestra [25]. Esta técnica se basa en el principio de la microscopia óptica, sustituyendo el haz de luz por un haz de electrones. Su funcionamiento consiste en hacer incidir un barrido de haz de electrones sobre la muestra, el cual interactúa con la muestra, dando como resultado la emisión de diferentes tipos de electrones, tales como los electrones secundarios de baja energía. Éstos constituyen los electrones arrancados a las capas electrónicas de los átomos del material de la superficie barrida, a raíz del choque contra ellos de los electrones primarios del haz. La emisión de estos electrones está modulada en cada punto por la inclinación de la superficie en ese punto, por el ángulo que forma la normal a la superficie con la dirección del haz incidente. Por lo tanto, con la señal que llega al detector de los electrones secundarios se construye en el monitor una

imagen topográfica, es decir, permite la visualización de la textura y la rugosidad de la muestra [26].

En esta Tesis se utilizó un microscopio electrónico de barrido LEO EVO 40-XVP (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Alemania). Para la preparación de las muestras, las NS se secaron en estufa (San Jor, Buenos Aires, Argentina) a 40 °C sobre una placa de Petri, operación que no resultó necesaria para las materias primas y los polvos obtenidos por SA. Por último, dado que las muestras deben ser necesariamente conductoras, se metalizaron con oro (espesor del metalizado: 300 nm) previo a su observación, utilizando un equipo Pelco 91000 (Ted Pella, California, Estados Unidos).

2.2.4.4. Análisis térmico

La calorimetría diferencial de barrido (CDB) es un método directo y cuantitativo para la determinación del calor de transformación y los cambios de entalpía de diversas muestras. En esta técnica se realiza la medida de la diferencia de cantidad de calor, entre una sustancia de interés y una de referencia, en función de la temperatura de la muestra, cuando ambas están sometidas a un programa de temperatura controlado [27]. En esta metodología, se dispone de dos cápsulas, una de las cuales contiene la muestra a analizar y la otra está generalmente vacía y es la llamada cápsula de referencia. Se utilizan calefactores individuales para cada cápsula, y un sistema de control comprueba si se producen diferencias de temperatura entre la muestra y la referencia. Si se detecta cualquier diferencia, los calefactores individuales se corregirán de tal manera que la temperatura se mantenga igual en ambas cápsulas. Es decir, cuando tiene lugar un proceso exotérmico o endotérmico, el instrumento compensa la energía necesaria para mantener la misma temperatura en ambas cápsulas [28]. Los termogramas obtenidos indican la tasa diferencial de calentamiento versus la temperatura, donde el área bajo la curva de un pico es directamente proporcional al calor absorbido por el evento térmico, y la integración de tal área da como resultado el calor de reacción [29]. Estos ensayos son de gran utilidad durante estudios de preformulación, ya que permiten conocer el comportamiento térmico de muestras puras y mezclas e inferir la presencia de posibles interacciones entre los excipientes y el fármaco en estudio, así como también reconocer una variedad de propiedades fisicoquímicas de los componentes de una formulación [29].

En esta Tesis, las determinaciones de CDB se llevaron a cabo en un equipo Pyris 1 (Perkin Elmer, Massachusetts, Estados Unidos), registrándose los resultados a través del software Pyris (Perkin Elmer, Waltham, Estados Unidos) articulado al equipo. Se obtuvieron los termogramas de todos los materiales puros (tal cual se recibieron), así como también de las NS (previamente secadas

en estufa a 40 °C, según lo ya enunciado en la sección 2.2.4.3) y sus respectivas MF, y los polvos obtenidos por SA. Aproximadamente 7 mg de las muestras a analizar se colocaron en cápsulas de aluminio cerradas. El estudio se realizó bajo corriente de nitrógeno (40 mL/min), para evitar descomposiciones aceleradas por la presencia de oxígeno. Se utilizó un programa de temperatura entre 30 y 200 °C, con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. Se determinó la temperatura de fusión del PZQ (en términos de T_{onset} y T_{peak}), así como la entalpía del mismo evento (ΔH_f) en las diferentes muestras (NS, MF y polvos SA), así como también se registró todo otro evento térmico característico de los estabilizantes empleados (e.g. fusión, transición vítrea).

2.2.4.5. Análisis cristalográfico mediante difracción de rayos X

La difracción de rayos X permite abordar la identificación de fases cristalinas de una muestra, tanto en su aspecto cualitativo como cuantitativo, mediante la incidencia de un haz de rayos X monocromático sobre la misma. Como consecuencia de la cristalinidad de la muestra, reflejada en las propiedades de simetría de las ordenaciones regulares de los átomos constituyentes, se produce un efecto de interferencia constructiva de las ondas de rayos X dispersadas por cada átomo, teniendo esta interferencia una amplitud máxima para ciertos ángulos de incidencia de la radiación sobre la muestra. La ley de interferencia que relaciona el espaciado entre planos cristalinos, característico de cada fase, la longitud de onda incidente y el ángulo de dispersión medido en los difractómetros, es conocida como ley de Bragg. Se grafica la intensidad de la señal emitida como producto de las interferencias constructivas y destructivas, apareciendo señales altamente definidas y características para compuestos de estado cristalino, mientras que las señales en estado amorfo se observan de manera más difusa [29].

En este trabajo de Tesis, los patrones de difracción de rayos X se obtuvieron usando un difractómetro PANalytical Empyrean 3 (Malvern Panalytical, Malvern, Reino Unido) con una radiación CuK_α filtrada con Ni y un detector PIXcel3D. El equipo fue operado a un voltaje de 45 kV y una corriente de 35 mA. Los difractogramas se colectaron entre los ángulos (2θ) en el rango de 2θ de 3,5 a 60 °, usando un modo de escaneo continuo con una velocidad angular de escaneo de $0,016 \text{ }^\circ \text{ min}^{-1}$. Se obtuvieron los difractogramas de todos los materiales puros (tal cual se recibieron), así como también de las NS (previamente secadas en estufa a 40 °C) y sus respectivas MF, y los polvos obtenidos por SA.

2.2.4.6. Espectroscopía infrarroja asociada a Transformación de Fourier (FT-IR)

La espectroscopia infrarroja es el método por el cual se estudia la absorción o emisión de energía radiante originada por la interacción entre la radiación electromagnética (de longitud de onda perteneciente al infrarrojo) y el material en estudio [30]. Esta metodología es ampliamente utilizada en la caracterización de diferentes compuestos, para identificar los grupos funcionales presentes en las muestras, así como también evidenciar la aparición de ciertas interacciones químicas entre compuestos. Permite determinar la estructura molecular de una sustancia, ya que refleja las vibraciones características de los grupos de átomos. La espectroscopia FT-IR está basada en los principios de la espectroscopia molecular, en la que las moléculas absorben energía de la luz en longitudes de ondas específicas. Para que una molécula absorba energía radiante, además de coincidir con la frecuencia de vibración, debe producir un cambio en su momento dipolar. Las vibraciones pueden ser de tensión o estiramiento y de flexión o deformación, y cada uno de estos tipos de vibración tiene asociada una frecuencia característica. Las vibraciones de tensión son cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos; mientras que las vibraciones de flexión están originadas por cambios en el ángulo que forman dos enlaces. Cada molécula presenta un espectro IR característico, debido a que todas las moléculas (con excepción de las especies diatómicas mononucleares, como O₂ y Br₂) tienen algunas vibraciones que, al activarse, provocan la absorción de una determinada radiación, cuya longitud de onda se halla en la zona del espectro electromagnético correspondiente al infrarrojo [31].

En esta Tesis, el análisis por FT-IR se llevó a cabo en un espectrofotómetro Nicolet 6700 (Thermo Scientific™, Waltham, Estados Unidos), sobre las mismas muestras descritas en las secciones anteriores. Cada muestra a ensayar se preparó realizando una mezcla con bromuro de potasio (KBr) en una relación másica 1:99, respectivamente. Una pequeña fracción de esta mezcla se colocó en una placa portamuestra y se analizó, barriendo longitudes de onda entre 4000 cm⁻¹ y 400 cm⁻¹. El análisis de los espectros obtenidos se realizó mediante el software OMNIC v.5.12 (Thermo Electron Scientific Instruments LLC, Madison, Estados Unidos) y la asignación de las bandas de absorción se llevó a cabo utilizando datos bibliográficos. Tanto las muestras como el bromuro de potasio se secaron hasta peso constante previo a su análisis utilizando una balanza de humedad.

2.2.4.7. Determinación del contenido de fármaco

El contenido de fármaco en las NS, así como en los polvos obtenidos por SA, se determinó mediante espectrofotometría UV-Vis. Esta técnica utiliza radiación del espectro

electromagnético cuya longitud de onda está comprendida entre 100 y 800 nm, y su efecto sobre la materia es producir transiciones electrónicas entre los orbitales atómicos y/o moleculares de la sustancia [32]. En la espectroscopia UV-Vis, una especie química absorbe radiación de la citada longitud de onda, y la energía adquirida por el sistema causa la transición de un electrón de un estado basal, o fundamental, a uno excitado. La energía de transición está relacionada con la longitud de onda de la radiación, a través de la ecuación de Planck. La base de la aplicación en análisis cuantitativo de la espectrofotometría UV-Vis está dada por la Ley de Lambert-Beer, que establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración del analito en esa solución [32]. Por lo tanto, puede emplearse para determinar la concentración de un compuesto en una solución:

$$A = - \log (I/I_0) = \epsilon c l \quad (\text{Ec. 2.3})$$

donde A es la absorbancia medida, I es la intensidad de la luz transmitida, I_0 es la intensidad de la luz incidente, ϵ es el coeficiente de absorción molar (característico de cada sustancia a una determinada longitud de onda), l corresponde a la longitud del camino óptico y c es la concentración de la sustancia absorbente [32].

Cabe aclarar que en la presente Tesis, la espectroscopia UV-Vis se utilizó no sólo para el ensayo de valoración del fármaco en las diferentes muestras, sino también para la cuantificación de PZQ en las muestras obtenidas luego del ensayo de disolución *in vitro*, solubilidad y sedimentación. Las lecturas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro (Varian Cary 50Conc, Varian Instruments, Mulgrave, Australia), a la longitud de onda de máxima absorción de PZQ (264 nm), y las determinaciones cuantitativas se realizaron utilizando curvas de calibrado.

Las muestras para determinaciones de valoración, equivalentes a 100 mg de PZQ, se disolvieron en etanol, medio en el cual tanto el PZQ como los excipientes utilizados en esta tesis son libremente solubles. Las lecturas se realizaron de manera directa, sin previa dilución. El ensayo se realizó por triplicado.

2.2.4.8. Disolución *in vitro*

La velocidad y el grado de absorción de un fármaco en el tracto gastrointestinal están determinados por factores como la desintegración y disolución de la forma farmacéutica, así como también la solubilidad acuosa y velocidad de disolución del fármaco. Estos factores deben tenerse en particular consideración porque poseen un impacto significativo en la absorción, distribución, transporte y, finalmente, biodisponibilidad del IFA [33-35]. En las formas farmacéuticas sólidas, la desintegración, eventualmente, y la disolución tienen un impacto

considerable en lo inherente a la biodisponibilidad del fármaco que contienen. Las suspensiones podrían considerarse análogas a la forma desintegrada de comprimidos y/o cápsulas, de manera que el proceso de disolución también constituye el paso limitante de la absorción y la biodisponibilidad [22]. En consecuencia, el ensayo de disolución se considera estrictamente relevante a la hora de estudiar el comportamiento del principio activo en condiciones que simulan el entorno fisiológico.

En este trabajo de Tesis, los estudios de disolución *in vitro* se llevaron a cabo utilizando un aparato 2 (Erweka DT60, Heusenstamm, Alemania) a 50 rpm. Las muestras incluyeron a PZQ materia prima; NS, polvos SA redispersados, y sus correspondientes MF, así como también a la especialidad medicinal reformulada (triturada y redispersada en el mismo vehículo). En todos los casos se consideró el uso de una muestra que contenga 100 mg de PZQ. El medio de disolución descrito en Farmacopea para el análisis de comprimidos de PZQ consiste en HCl 0,1 N, que contiene 2,0 mg de lauril sulfato de sodio por mL [36]. Durante los estudios preliminares realizados en esta Tesis se corroboró que utilizando esta gran cantidad de tensioactivo es difícil observar diferencias entre los perfiles de disolución de la materia prima y las dispersiones formuladas; es decir, se pierde poder discriminante en el ensayo. Por lo tanto, los perfiles de disolución *in vitro* se llevaron a cabo en 900 ml de HCl 0,1 N, sin el agregado del agente surfactante, a $37,0 \pm 0,5$ °C. A los 5, 15, 30 y 60 minutos de comenzado el ensayo, se extrajeron muestras de 10 ml (reemplazando un volumen igual de medio fresco), y se filtraron utilizando una membrana de nylon con poro de $0,22 \mu\text{m}$ (Gamafil, Beccariedad, Argentina). La cantidad de PZQ disuelta se determinó por espectrofotometría UV a 264 nm, y se refirió al contenido real del fármaco en cada muestra (establecido según lo ya enunciado en la sección 2.2.4.7). Para la construcción de los perfiles de disolución, se graficó el porcentaje promedio de PZQ disuelto, a cada tiempo de muestreo, junto a su respectiva desviación estándar.

Los perfiles de disolución se compararon estadísticamente mediante Análisis de Varianza (ANOVA), en términos del parámetro eficiencia de disolución (ED). La ED se define como el área bajo la curva de disolución hasta un cierto tiempo t , expresada como un porcentaje del área del rectángulo descrito por el 100% disuelto a ese mismo tiempo [37].

Asimismo, se realizó un ajuste de los datos de disolución a modelos cinéticos utilizando DDSolver, un complemento de Microsoft Excel®, versátil y de libre uso, propuesto por Zhang y colaboradores [38]. Este programa permite describir perfiles de disolución en términos de funciones matemáticas (es decir, métodos dependientes de modelo). En términos generales, suelen aplicarse modelos estándar tales como cinética de orden cero, cinética de orden uno,

Higuchi, Hixson-Crowell, Weibull, entre otras. La selección del modelo más apropiado está dada por la obtención de los mejores valores en los parámetros de ajuste R^2_{aj} (coeficiente de determinación ajustado), AIC (criterio de información de Akaike) y MSC (criterio de selección del modelo). El modelo que mejor describa el proceso de disolución *in vitro* será aquel con el mayor R^2_{aj} , mínimo AIC y máximo MSC [38].

2.2.4.9. Contenido de humedad

Para la determinación del contenido de humedad de los polvos obtenidos mediante SA se utilizó un analizador de humedad con lámpara halógena como fuente de calor (Ohaus M45, Ohaus Corporation, Parsippany, Estados Unidos), el cual funciona sobre la base del principio termogravimétrico. Al comienzo de la medida, el analizador de humedad determina el peso de la muestra. Se calienta rápidamente la muestra por medio de la unidad halógena desecadora. Durante la operación de secado, el equipo determina continuamente el peso de la muestra y presenta el resultado en el visor del mismo. Cuando la desecación termina, el resultado obtenido se informa como porcentaje de contenido de humedad [39]. El criterio de finalización seleccionado se basó en la pérdida de peso por unidad de tiempo (menos de 1 miligramo de pérdida en 90 segundos).

El análisis del contenido de humedad se realizó por triplicado, e inmediatamente después del proceso de secado por atomización.

2.2.4.10. Solubilidad

El ensayo de solubilidad se realizó en los polvos obtenidos mediante SA y sus correspondientes MF, a fin de evidenciar posibles cambios en esta propiedad luego de la aplicación de los procesos de HAP y SA. Para ello, se procedió de la misma manera que lo explicado anteriormente, en la sección 2.2.1, a excepción de que el medio utilizado fue agua destilada, y la temperatura de trabajo fue de 25 °C. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

2.2.4.11. Sedimentación y redispersabilidad

Se realizaron estudios de sedimentación y redispersabilidad de los polvos SA dispersados en el vehículo. Normalmente, el método de elección para estos estudios suele ser la turbidimetría [40, 41]. Sin embargo, como el vehículo utilizado contiene partículas dispersas de excipientes, este método no resulta factible de aplicación en la presente Tesis. Por lo tanto, la evaluación se realizó aplicando el método desarrollado por Vilches y col. [42]. Dicha metodología consistió en

mantener la suspensión, es decir, el polvo SA redispersado en el vehículo, en columnas de vidrio a temperatura ambiente durante 14 días. A intervalos de tiempo predeterminados de acuerdo a los esquemas de dosificación típicos de PZQ (1, 7 y 14 días), se extrajeron muestras de los extremos superior e inferior de la columna, y se cuantificó la concentración de PZQ por espectrofotometría UV-Vis. Simultáneamente, las suspensiones se colocaron en viales, que fueron agitados diariamente en forma manual, y se analizaron aplicando la misma metodología de cuantificación y esquema de intervalos temporales.

2.2.5. Formulación de gomas masticables

2.2.5.1. Proceso de formulación

Las gomas masticables conteniendo PZQ fueron elaboradas mediante metodología de moldeo [43]. Previa a su preparación, los moldes a ser utilizados fueron calibrados. Para ello, se preparó una masa fluidificada conteniendo gelatina, agua, sorbitol, glicerina y ácido cítrico, la cual se vertió en los 8 alvéolos del molde seleccionado y se dejó enfriar. Posteriormente, se pesaron las gomas obtenidas y se dividió el peso total por la cantidad de unidades, para obtener el peso promedio de cada goma.

Todas las etapas del proceso de formulación y estabilización de las gomas masticables se muestran la Figura 2.5. Para la preparación de la masa fluidificada, se utilizó el método de solución indirecta [44], para lo cual se hidrató la gelatina con un volumen definido de agua fría durante 30 minutos (Figura 2.5 a-c). Pasado ese tiempo, se calentó la gelatina en una plancha calefactora hasta fundir la masa (Figura 2.5 d), paso durante el cual se agregaron la glicerina y el sorbitol, manteniendo una agitación constante (Figura 2.5 e-f). De esta manera se formó la solución de gelatina. Una vez que la gelatina se disolvió por completo, y la temperatura de la solución no superó los 40 °C, se agregó el IFA (Figura 2.5 g). En este caso particular, el PZQ se incorporó tanto en forma de NS como de polvo SA redispersado en agua, correspondiente a la combinación fármaco:estabilizante 1:1 (F4 y SA2, respectivamente). Se mantuvo el sistema bajo agitación continua, para asegurar que el PZQ se distribuya homogéneamente (Figura 2.5 h). Justo antes de verter la masa en los alvéolos (moldes), se agregó el ácido cítrico, previamente disuelto en 1 ml de agua. Es de gran importancia que este ácido se agregue al final del proceso, ya que puede favorecer la hidrólisis de la gelatina [45]. Una vez incorporado el ácido cítrico, la mezcla fue vertida en los moldes, manteniendo una agitación manual de la mezcla durante el proceso, para evitar la precipitación del principio activo (Figura 2.5 i-j). Cabe destacar que la

importancia del agregado de cada uno de estos excipientes en la producción de gomas masticables, así como la fórmula cuali-cuantitativa de cada formulación, serán detalladas en el capítulo 5.

Las gomas masticables se dejaron solidificar a temperatura ambiente durante un período de 24 horas. Posteriormente, comenzó la fase de estabilización o secado. A nivel industrial, este proceso se lleva a cabo por convección de aire o en túneles para lograr una matriz sólida consistente en el menor tiempo posible [43]. En esta Tesis, este paso se llevó a cabo colocando las gomas masticables en un desecador, y logrando un ambiente de máxima sequedad (Humedad Relativa = 1 %) mediante empleo de sílica gel activada [46] (Figura 2.5 k-l). Las gomas masticables se pesaron diariamente, y el proceso de estabilización se consideró finalizado cuando se alcanzó un peso constante.

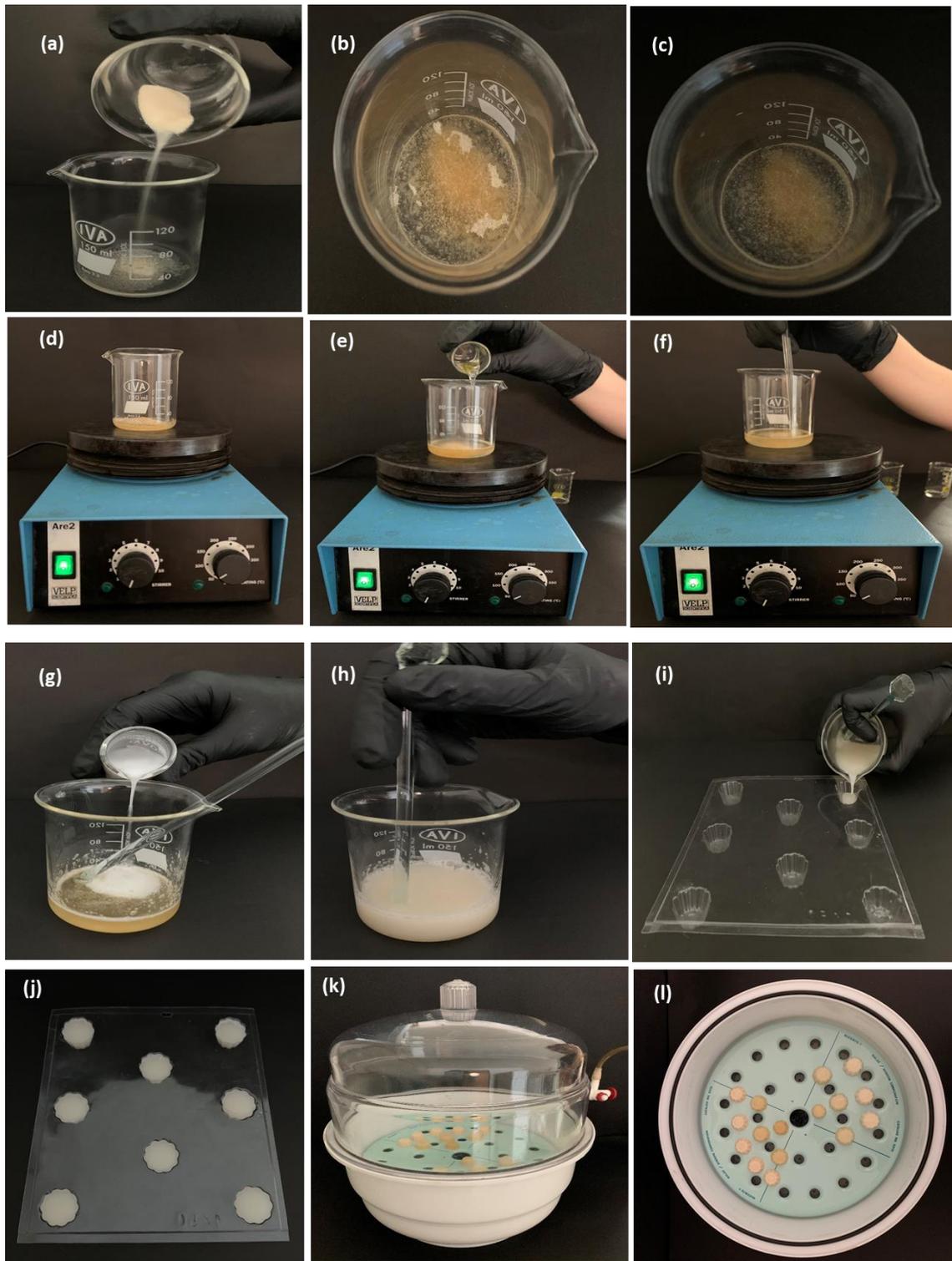


Figura 2.5: Esquema fotográfico de la formulación y estabilización de las gomas masticables.

2.2.5.2. Caracterización de las gomas masticables

2.2.5.2.1. Contenido de humedad

Si bien la presencia de agua es estrictamente necesaria para proveer la estructura de gel (acción plastificante), la evaluación del contenido de humedad resulta esencial ya que constituye una propiedad crítica de estos sistemas gelificados, sobre todo porque afectan su comportamiento termo-mecánico [43, 44]. Existen diversos métodos para determinar el contenido de humedad, entre los que se encuentran la medida de contenido de sólidos, la determinación de pérdida por secado, la titulación por Karl Fischer y la espectroscopía infrarroja. En esta Tesis se utilizó la titulación por Karl Fischer.

El método de medición de agua mediante volumetría Karl Fischer utiliza una reacción de dos pasos basada en el equilibrio redox del par yodo / yoduro [47]. El yodo se utiliza como reactivo de valoración para la determinación del punto final. Cuando se ha consumido toda el agua presente en la muestra, el exceso de yodo ya no puede reaccionar, y está presente en la solución con yoduro. La existencia del par yodo / yoduro corresponde a la reacción redox en los electrodos, que están sumergidos en el medio de trabajo, y hacen que el voltaje caiga bruscamente, indicando el punto final de la titulación [47]. El reactivo de Karl Fischer reacciona sólo con el agua, lo que elimina el error proveniente de la detección de componentes volátiles, situación que ocurre comúnmente en las determinaciones de pérdida por secado [48]. Aunque un problema que puede surgir en esta determinación es que el agua no entre en contacto directo con el reactivo, lo que puede ocurrir si la muestra es insoluble, y en lugar del contenido total de agua, sólo se puede medir el agua superficial. En este caso, la liberación de toda el agua contenida en la muestra se puede lograr mediante la adición de un solvente apropiado, tal como la formamida [47].

En la presente Tesis, este ensayo fue llevado a cabo por el Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI, Parque Tecnológico Miguelete) utilizando un equipo Metrohm modelo Titrando 852, con software asociado Tiamo versión 2.2 (Methrom Schweiz, Zofingen, Suiza). Para ello, se disolvió 0,1 g aproximadamente de goma masticable en una disolución compuesta por metanol anhidro y formamida, en una relación 1:1. La formamida fue empleada debido a que mejora la solubilidad en metanol de sustancias polares, y acelera la extracción de agua de sólidos a altas temperaturas. Para el previo acondicionamiento de la celda se utilizaron tamices moleculares de 0,3nm, previamente secados a 300 °C durante 24 horas. La mezcla de reacción fue calentada a 50 °C, para favorecer la disolución de la muestra, y a continuación fue valorada con el reactivo de titulación Hidranal® Composite. La determinación se realizó por quintuplicado.

2.2.5.2.2. pH

El término pH es una forma de expresar la concentración de ión hidrógeno o, más exactamente, la actividad del ión hidrógeno, en un cierto sistema. Esta determinación constituye otro de los parámetros críticos de los sistemas gelificados, ya que puede afectar el proceso de gelificación y la turbidez (transparencia) de la gelatina [44].

Para su determinación se empleó un pHímetro (Altronix TPX-I, Argentina), previamente calibrado con soluciones tampón pH 4.00 y pH 7.00. Para llevar a cabo el análisis, las gomas masticables se cortaron en finas porciones, para favorecer su disolución. Posteriormente, se mezclaron con agua caliente (aproximadamente 40 °C), en una proporción muestra: agua 1:3, y se agitaron hasta lograr una completa disolución. Antes de medir el pH, la solución se enfrió hasta temperatura ambiente [43].

2.2.5.2.3. Textura

Las propiedades mecánicas de los geles están íntimamente relacionadas a la textura y, en consecuencia, a la aceptación por parte de los pacientes [49].

Los ensayos reológicos para evaluar las características de los geles pueden agruparse en tres tipos: fundamentales, empíricos e imitativos. Los métodos fundamentales miden parámetros bien definidos, como el módulo de elasticidad o la viscosidad. Las pruebas fundamentales de deformación pequeña se basan en la técnica de reometría oscilatoria dinámica, una prueba de fluencia y una prueba de relajación de estrés. Por su parte, los métodos empíricos de deformación pequeña, utilizados para medir la resistencia del gel, comprenden las pruebas de compresión (o de penetración), donde el parámetro más comúnmente utilizado para medir la calidad del gel es su fuerza. Por último, las pruebas empíricas, de gran deformación, se utilizan para medir otro parámetro de los geles conocido como la resistencia a la rotura, es decir, la fuerza requerida para romper la muestra. Sin embargo, las mediciones de punto único, a menudo basadas en pruebas de ruptura, no son representativas del comportamiento mecánico general de los geles [50]. En este sentido, el análisis de toda la curva fuerza-deformación, generada por compresión utilizando un sistema de medición de textura, permite una mayor comprensión de la textura del gel. Esta técnica instrumental se conoce como análisis de perfil de textura (TPA, del inglés *Texture Profile Analysis*) y es uno de los métodos imitativos más empleados para el análisis de estos sistemas semisólidos. Se basa en la aplicación de una fuerza de deformación similar a la de procesado oral [51]. Esta técnica instrumental se desarrolló en la década de 1960 y se ha utilizado durante muchos años para la medición de las propiedades

texturales de los alimentos [52, 53]. En la presente Tesis, se utilizó este ensayo para evaluar la textura de las gomas masticables desarrolladas.

El análisis de perfil de textura se llevó a cabo utilizando un analizador de textura TA Plus (West Sussex, Inglaterra) (Figura 2.6), equipado con una celda de carga de 50 N, de acuerdo a una técnica adaptada a gomas de gelatina descrita por Delgado y Bañón [43]. Los datos fueron procesados por el software provisto por el equipo (Nexygen Plus).



- ① Celda de carga
- ② Sonda cilíndrica
- ③ Superficie en la que se coloca la muestra
- ④ Panel de control

Figura 2.6. Analizador de Textura TA Plus utilizado para la evaluación de la textura de las gomas masticables desarrolladas.

Las muestras se sometieron a dos ciclos de compresión y descompresión con una sonda cilíndrica plana de teflón (70 mm de diámetro), lo que permitió que cada muestra se deformara sin ser penetrada. Estos ciclos imitan las primeras dos mordidas en un proceso de masticación. El ensayo se llevó a cabo a temperatura ambiente, bajo las siguientes condiciones operativas:

dos ciclos consecutivos de 50 % de compresión (se mueve el cabezal una distancia igual a la mitad de la altura promedio de las gomas evaluadas); el cabezal transversal se movió a una velocidad constante de 30 mm/min y un punto de activación de 0.05 N. Dicha velocidad se encuentra recomendada en la literatura, a fin de obtener valores que estén estrechamente relacionados con las respuestas sensoriales [49]. El nivel de deformación final se eligió siguiendo las recomendaciones de Pons y Fiszman y Vieira y col. para alimentos en gel [49, 54]. A lo largo del tiempo numerosos autores han caracterizado gomas masticables de almidón, gelatina y/o pectina utilizando medidas de TPA bajo distintas condiciones de trabajo en función de la matriz estudiada [53, 55, 56].

El resultado obtenido de esta medición consiste es un gráfico de fuerza versus tiempo (Figura 2.7), donde se observa la presencia de dos picos.

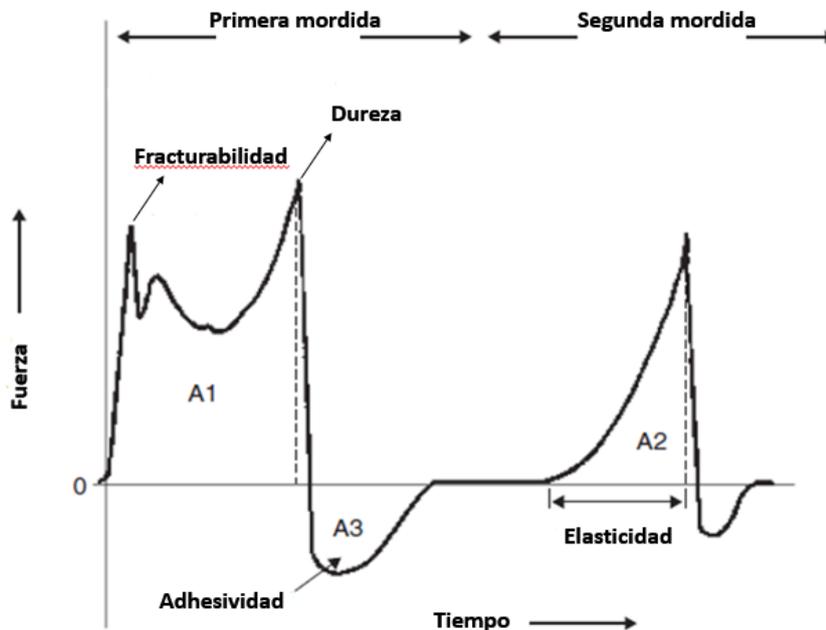


Figura 2.7. Curva de análisis de textura. Adaptado de Referencia [57].

Los atributos de textura más relevantes que derivan de este gráfico se detallan a continuación [49]:

- Fracturabilidad: corresponde a la fuerza del primer rompimiento significativo en la curva, expresada en N.
- Dureza: se define como la fuerza necesaria para lograr deformación a la primera compresión, expresada en N.

- **Cohesividad:** se define como las fuerzas internas del material que lo mantienen íntegro. En la curva de fuerza versus tiempo se determina como la relación entre el área bajo la curva obtenida al integrar hasta el punto máximo del segundo pico respecto al primer pico ($A2/A1$), y no posee unidades.
- **Adhesividad:** se define como la fuerza necesaria para superar las fuerzas atractivas entre el material en estudio y otras superficies en contacto. En el gráfico se observa como el área negativa del primer ciclo de compresión ($A3$).
- **Elasticidad:** se define como la velocidad a la cual un material deformado recupera sus dimensiones originales luego de la compresión, expresada en mm. Se calcula como la diferencia de distancias entre el máximo de la segunda curva y el inicio de la segunda curva.
- **Gomosidad:** se entiende como la elasticidad durante la masticación, o la energía requerida para desintegrar un producto semisólido a un estado estacionario previo a la deglución. Resulta del producto entre dureza y cohesividad y está expresada en N.
- **Masticabilidad:** se entiende como la energía requerida para masticar un producto sólido y hacerlo apto para la deglución. Es el resultado del producto entre gomosisidad y elasticidad, y está expresada en $N \times mm$.

Cada uno de los atributos identificados en la curva da una excelente correlación con las características sensoriales. La técnica del TPA ha servido para comprobar que la textura es una propiedad multi punto, más que una característica de punto sencillo. Cabe mencionar que la gomosisidad y la masticabilidad son mutuamente excluyentes y no deben reportarse para el mismo producto. Se estableció que el parámetro gomosisidad fue definido para productos semisólidos y la masticabilidad para productos sólidos [51]. En consecuencia, en esta Tesis, se reportará únicamente la gomosisidad.

Por otro lado, como el ensayo de textura es dependiente de los parámetros geométricos de la muestra, se seleccionaron gomas con dimensiones y forma similares [43, 44]. Por último, estos atributos derivados de la curva de TPA fueron comparados con los resultados obtenidos a partir de especialidades medicinales masticables de multivitamínicos disponibles en nuestro mercado. Todos los resultados reportados son un promedio de seis repeticiones.

2.2.5.2.4. Desintegración

Para que la liberación del principio activo desde la goma masticable sea efectiva se requiere una fácil disgregación de la forma farmacéutica en el tracto gastrointestinal, o en fluidos tales como

la saliva [58]. La disgregación consiste en la ruptura de las uniones formadas durante el proceso de compresión o, en nuestro caso, gelificación, tales como fuerzas de Van der Waals, uniones capilares, puentes de hidrógeno, entre otras, y cuyo objetivo es incrementar el área superficial de los fragmentos obtenidos, a fin de conseguir una rápida liberación de los fármacos [59].

El ensayo de disgregación está destinado a determinar la capacidad de disgregación de una forma farmacéutica, en un medio líquido y bajo condiciones experimentales especificadas. Se considera que la disgregación está terminada cuando no quedan residuos en la rejilla del equipo o bien, si quedara algún residuo, este está constituido por una masa blanda sin restos duros palpables [1].

En esta Tesis, el ensayo de desintegración de las gomas masticables se llevó a cabo en un equipo de desintegración (Scout Electronics EGM01, Ciudad, Argentina), utilizando HCl 0,1 N a 37 °C como medio. Para el análisis, las gomas se incorporaron, en primera instancia, como unidades enteras, y luego fueron cortadas en cuatro partes iguales.

2.2.5.2.5. Actividad acuosa

La actividad acuosa (a_w) se define como la relación que existe entre la presión parcial de vapor de agua de una sustancia y el agua pura, a la misma temperatura. Los valores pueden variar entre 0 y 1, y es un parámetro adimensional. En el equilibrio, el a_w es igual a la presión de vapor ejercida por la sustancia en el ambiente cerrado que la rodea, donde se da una equivalencia entre la humedad relativa del aire en ese ambiente cerrado y la actividad del agua en la sustancia ensayada [60].

En esta Tesis, el a_w de las gomas masticables se determinó usando un equipo LabMASTER- a_w (Novasina Axair AG, Pfäffikon, Suiza), con una exactitud de 0,001 (Figura 2.8). Este ensayo fue realizado por el Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI, Parque Tecnológico Miguelete), siguiendo la metodología descrita en bibliografía [61]. Las muestras fueron cortadas longitudinalmente, y ambas mitades fueron colocadas en la cápsula portamuestras del equipo, procediéndose a la medición. El ensayo se realizó por triplicado, a 25 °C.



Figura 2.8. Instrumento utilizado para determinar a_w

2.2.5.2.6. Control microbiológico

El estudio microbiológico se llevó a cabo siguiendo las especificaciones del capítulo 90 “Control higiénico de productos no obligatoriamente estériles” de Farmacopea Nacional Argentina, según se describe a continuación [1]:

- **Recuento de aerobios viables:** Para dicha determinación se realizó el procedimiento de recuento en placa. Se disolvieron 10 gramos muestra en solución reguladora de fosfato pH 7,2, para obtener 100 ml, realizándose posteriormente una dilución, de modo que 1 ml contenga entre 30 y 300 ufc. Se transfirió 1 ml de la dilución final a cada una de las dos placas de Petri estériles, y se agregaron rápidamente entre 15 y 20 ml de Agar Digerido de Caseína-Soja, previamente fundido y enfriado a 45 °C. Las placas de Petri se taparon y rotaron (para homogeneizar la muestra con el agar), y se dejaron solidificar a temperatura ambiente. Posteriormente, las placas fueron invertidas e incubadas durante 48 a 72 horas, momento en el cual se examinaron para evidencia ausencia o presencia de desarrollo microbiano. En caso positivo, se debe contar el número de colonias y expresar el promedio, para las dos placas en términos del número de unidades formadoras de colonias (ufc/g).
- **Ensayo para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*:** A un volumen de la dilución preparada anteriormente, equivalente a 1 gr o 1 ml de muestra, se le agregó Caldo Digerido de Caseína-Soja para obtener 100 ml, se mezcló e incubó. Luego, se examinó el medio a fin de detectar desarrollo bacteriano. En caso positivo, se debe inocular con un ansa la superficie de Agar Baird Parker (en el caso de *S. aureus*) y Agar Cetrimida (para *P. aeruginosa*), y examinar

luego de la incubación. Si ninguna de las placas contiene colonias con las características típicas de estos tipos de microorganismos, la muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, por gramo.

- **Ensayo para *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*:** A un volumen de la dilución preparada para el recuento de aerobios viables, se le agregó Caldo Lactosado para obtener 100 ml, se mezcló e incubó. Luego, se examinó el medio a fin de detectar desarrollo bacteriano. En caso positivo, se debe inocular con un ansa la superficie de Agar Verde Brillante (en el caso de *Salmonella spp.*) y Agar Mac Conkey (para *E. coli*), y examinar luego de la incubación. Si ninguna de las placas contiene colonias con las características típicas de estos tipos de microorganismos, la muestra cumple con los requisitos del ensayo para ausencia de *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*, por gramo
- **Recuento de hongos y levaduras:** Se procedió según lo indicado para recuento de aerobios viables, pero empleando Agar Dextrosa-Sabourand. Las placas de Petri se incubaron durante un período de 5 a 7 días, a una temperatura entre 20 y 25 °C, y se examinaron en busca de crecimiento microbiano luego de ese proceso.

Estos ensayos se llevaron a cabo en colaboración con el grupo de investigación en microbiología (Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia – UNS).

2.2.5.2.7. Contenido de fármaco

El contenido de fármaco en las gomas masticables se determinó mediante espectrofotometría UV-Vis. Las muestras se disolvieron en ácido acético, medio en el cual tanto el PZQ como la gelatina son libremente solubles. Las lecturas se realizaron de manera directa, sin previa dilución, a la longitud de onda de máxima absorción del PZQ (264 nm). El ensayo se realizó por triplicado.

2.2.6. Análisis estadístico

En general, en el presente trabajo de Tesis, los resultados presentados se han expresado como un valor promedio \pm el error estándar asociado a la media, de las mediciones obtenidas en los diferentes ensayos, y según el número de réplicas especificadas en cada caso particular. Las comparaciones estadísticas se efectuaron mediante el análisis de la varianza (ANOVA), a través del programa Infostat (www.infostat.com.ar). Se utilizó siempre un nivel de confianza del 95 % (nivel de significancia $\alpha = 0,05$) para identificar diferencias significativas entre determinaciones.

2.3. Bibliografía

1. Farmacopea Argentina, 7^{ma} Ed; Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT): Buenos Aires, Argentina, 2013
2. Keck CM, Müller RH. "Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenization". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol 62, no. 1, pp. 3–16, 2006
3. Di Battista CA, Constenla D, Ramírez-Rigo MV, Piña J. "The use of arabic gum, maltodextrin and surfactants in the microencapsulation of phytosterols by spray drying". *Powder Technol.*, vol 286, pp. 193–201, 2015
4. Litster J, Ennis B, Liu L. "The science and Engineering of granulation processes" (1st ed.). *Kluwer Academic Publishers. Dordrecht*, 2004
5. Schramm LL. "Emulsions, Foams, and Suspensions: Fundamentals and Applications". *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim*, 2005
6. Hebbar RS, Isloor AM., Ismail AF. "Contact angle measurements". in *Membrane characterization*, Elsevier , 2017, pp. 219-255
7. Müller RH, Jacobs C, Kayser O. "Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy rationale for development and what we can expect for the future". *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol 47, no. 1, pp. 3–19, 2001
8. "Laboratory Scale Spray Drying Of Inhalable Drugs: A Review," <http://www.buchi.com/en/file/bestbuchi59laboratoryscalspraydryingofinhalabledrugs.pdf>, 2010
9. Calcagno A. "Diseño y Evaluación de Micropartículas conteniendo Meloxicam". *Tesis de Magister*. Universidad Nacional del Sur, 2019
10. Homar M, Kerč J. "Microparticles Based on Low Melting Hydrophilic Polymers Prepared by Spray Drying" *8th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology. Graz, Austria*, 2010
11. Paredes A, Llabot JM, Sanchez-Bruni S; Allemandi D, Palma S. "Self-dispersible nanocrystals of albendazole produced by high pressure homogenization and spray-drying". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol 42, no. 10, pp. 1564-1570, 2016
12. Buontempo F. "Desarrollo galénico de formulaciones huérfanas en pediatría". *Tesis Doctoral*. Universidad de Buenos Aires, 2010
13. Farmacotecnia, boletín informativo. Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria. Disponible en: <https://gruposdetrabajo.sefh.es/farmacotecnia/images/stories/Boletines/BOLETIN32014final.pdf>. España, 2014
14. Haywood A, Glass BD. "Liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products—considering new evidence on stability". *J. Pharm. Pharm. Sci.*, vol 16, no. 3, pp. 441–55, 2013
15. Malvern Instruments Worldwide. "A basic guide to particle characterization", 2015
16. Palazzo F, Giovagnoli S, Schoubben A, Blasi P, Rossi C, Ricci M. "Development of a spray-drying method for the formulation of respirable microparticles containing ofloxacin–palladium complex". *Int. J. Pharm.*, vol 440, no. 2, pp. 273–282, 2013
17. Kaszuba M, McKnight D, Connah MT, McNeil-Watson FK, Nobbmann U. "Measuring sub nanometre sizes using dynamic light scattering". *J. Nanopart. Res.*, vol 10, no. 5, pp. 823-829, 2008

18. Pecini E. "Preparación y caracterización de partículas de magnetita soportadas sobre láminas de montmorillonita. Uso en la remoción de aniones y cationes de interés ambiental". *Tesis Doctoral*, Universidad Nacional del Sur, 2018
19. Shekunov BY, Chattopadhyay P, Tong HH, Chow AH. "Particle size analysis in pharmaceuticals: principles, methods and applications". *Pharm. Res.*, vol 24, no. 2, pp. 203-227, 2007
20. Kokhanovsky AA. "Light scattering reviews 4: single light scattering and radiative transfer". *Springer Science & Business Media*, 2009
21. Gao L, Zhang D, Chen M. "Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system". *J. Nanopart. Res.*, vol. 10, no. 5, pp. 845-862, 2008
22. Starkloff WJ, Palma SD, Gonzalez-Vidal NL. "Nanosuspensiones: Disminución del tamaño de partícula como herramienta para mejorar la biodisponibilidad de fármacos liposolubles". *Rev. Mex. Cien. Farm.*, vol 44, no. 4, pp. 7-16, 2013
23. Otarola J. "Desarrollo de sistemas portadores de fármacos basados en nanopartículas sólidas lipídicas y de nuevos métodos analíticos para la determinación de principios activos cargados en los sistemas portadores". *Tesis Doctoral*. Universidad Nacional del Sur, 2018
24. Herrada RA, Pérez-Corona M, Shrestha RA, Pamukcu S, Bustos E. "Electrokinetic remediation of polluted soil using nano-materials: Nano-iron case" in *Evaluation of Electrochemical Reactors as a New Way to Environmental Protection*, Peralta-Hernández JM, Rodrigo-Rodrigo MA, Martínez-Huitle CA (Eds), pp. 41-57, 2014
25. Vernon-Parry KD. "Scanning electron microscopy: an introduction". *III-Vs Review*, vol 13, no. 4, pp. 40-44, 2000
26. Zhou W, Apkarian R, Wang ZL, Joy D. "Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM)" in *Scanning microscopy for nanotechnology*. Springer, New York, pp. 1-40, 2006
27. Planells OV, del Castillo García B. "Técnicas instrumentales en Farmacia y Ciencias de la Salud". *Fondo Editorial de la Universidad Norbert Wiener*, 2009
28. Suriñach S, Baró S, Bordas S, Clavaguera N, Clavaguera-Mora MT. "La calorimetría diferencial de barrido y su aplicación a la Ciencia de Materiales". *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, vol. 31, no. 1, pp. 11-17, 1992
29. Brittain HG, Bogdanowich SJ, Bugay DE, DeVincentis J, Lewen G, Newman AW. "Physical characterization of pharmaceutical solids". *Pharm. Res.*, vol 8, no. 8, pp. 963-973, 1991
30. Pedregal C, Avendaño C. "Los métodos espectroscópicos en el análisis de fármacos" en *Introducción a la química farmacéutica, 2da ed.* Avendaño C. McGraw-Hill/Interamericana De España, S.A, 2001, pp. 863-883
31. Murru, C. "Nanopartículas de proteínas de soja: preparación, caracterización y aplicación a la encapsulación de β -caroteno". *Tesis de Magister*. Universidad de Oviedo, 2017
32. Castro de Esparz ML, Litter MI, Wong M, Mori V. "Métodos espectroscópicos UV-Vis" en *Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos*, Litter MI, Armienta MA, Farías S. IBEROARSEN, CYTED, Buenos Aires, Argentina, 2009, pp. 43-62
33. Fell JT, Mohammad HAH. "The wetting of powders by bile salt solutions and gastric juice". *Int. J. Pharm.*, vol 125, no. 2, pp. 327-330, 1995

34. Hörter D, Dressman JB. "Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract". *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, vol 46, no. 1-3, pp. 75-87, 2001
35. Azarbayjani AF, Jouyban A, Chan SY. "Impact of surface tension in pharmaceutical sciences". *Journal of pharmacy & pharmaceutical sciences*, vol 12, no. 2, pp. 218-228, 2009
36. The United States Pharmacopeia and National Formulary USP 41-NF36, The United States Pharmacopeial Convention, Inc: Rockville, MD, Estados Unidos, 2018
37. Khan KA. "The concept of dissolution efficiency". *J. Pharm. Pharmacol.*, vol 27, no. 1, pp. 48-49, 1975
38. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Zou A, Li W, Yao C, Xie S. "DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles". *AAPS J.*, vol 12, no. 3, pp. 263-271, 2010
39. Manual de instrucciones Analizador de Humedad MB45
40. Mengual O, Meunier G, Cayré I, Puech K, Snabre P. "TURBISCAN MA 2000: multiple light scattering measurement for concentrated emulsion and suspension instability analysis". *Talanta*, vol 50, no. 2, pp. 445-456, 1999
41. Celia C, Locatelli M, Cilurzo F, Cosco D, Gentile E, Scalise D, et al. "Long term stability evaluation of prostacyclin released from biomedical device through Turbiscan lab expert". *Med. Chem.*, vol 11, no. 4, pp. 391-399, 2015
42. Vilches AP, Jimenez-Kairuz A, Alovero F, Olivera ME, Allemandi DA, Manzo RH. "Release kinetics and up-take studies of model fluoroquinolones from carbomer hydrogels". *Int. J. Pharm.*, vol 246, no. 1-2, pp. 17-24, 2002
43. Delgado P, Bañón S. "Determining the minimum drying time of gummy confections based on their mechanical properties". *CYTA - J. Food*, vol 13, no. 3, pp. 329-335, 2015
44. Burey P, Bhandari BR, Rutgers RPG, Halley PJ, Torley PJ. "Confectionery Gels: A Review on Formulation, Rheological and Structural Aspects". *Int. J. Food Prop.*, vol 12, no. 1, pp. 176-210, 2009
45. Schrieber R, Gareis H. "Gelatin handbook: theory and industrial practice". *John Wiley & Sons*, 2007
46. Coppola M, Djabourov M, Ferrand M. "Phase diagram of gelatin plasticized by water and glycerol". *Macromol. Sym.*, vol 273, no. 1, pp. 56-65, 2008
47. Ergun R, Lietha R, Hartel RW. "Moisture and Shelf Life in Sugar Confections". *Cri. Rev. Food Sci.*, vol 50, no. 2, pp. 162-192, 2010
48. Beard GE. "Moisture measurement: An overview". *Manuf. Confect.* Vol 81, pp. 73-80, 2001
49. Pons M, Fiszman SM. "Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems". *J. Text. Studies*, vol 27, no. 6, pp. 597-624, 1996
50. Delgado Estrella, PS. "Acciones tecnológicas para mejorar la calidad nutricional y sensorial de los caramelos de goma". *Tesis doctoral*, Universidad de Murcia, 2018
51. Szczesniak AS. "Objective measurements of food texture". *J. Food Sci*, vol 28, no. 4, pp. 410-420, 1962
52. Sanderson GR. "Gellan gum" in *Food gels*, Harris P, New York: Elsevier Science Publishing Co., Inc., 1990, pp. 201-232

53. Lau MH, Tang J, Paulson AT. "Texture profile and turbidity of gellan/gelatin mixed gels". *Food Res. Int.*, vol 33, no. 8, pp. 665-671, 2000
54. Vieira MA, Rovaris AA, Maraschin M, De Simas KN, Pagliosa CN, Podesta R, Amboni RDMC, Barreto PLM, Amante ER. "Chemical Characterization of Candy Made of Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) Residue". *J. Agr. Food Chem.*, vol 56, no. 12, pp. 4637-4642, 2008
55. Gaspar C, Laureano O, Sousa I. "Production of reduced-calorie grape juice jelly with gellan, xanthan and locust bean gums: sensory and objective analysis of texture". *Z Lebensm Unters Forsch A*, vol 206, no. 3, pp. 169-174, 1998
56. Hani NM, Romli SR, Ahmad M. "Influences of red pitaya fruit puree and gelling agents on the physico-mechanical properties and quality changes of gummy confections". *Int. J. Food. Sci. Tech.*, vol 50, no. 2, pp. 331-339, 2015
57. Mochizuki, Y. (2001). "Texture profile analysis" in *Current protocols in food analytical chemistry R. E. Wrolstad (Ed.)*, New York, NY: John Wiley & Sons Inc., 2001, pp. H2.3.1.-H2.3.7
58. Romero de Soto MD. "Estudios de farmacotecnia y desarrollo de formas de dosificación de vegetales deshidratados para su aplicación en pediatría y personas de la tercera edad". *Tesis doctoral*, Universidad de Granada, 2012
59. García Sanchez MJ, Santos Buelga D. "Formas sólidas orales" en *Tecnología farmacéutica. Vila Jato JL. Ed. Síntesis, S.A. España*, 2001, pp. 55-155
60. Hartel RW, von Elbe JH, Hofberger R. "Water" in *Confectionery science and technology*. Springer, 2018, pp. 69-83
61. Chirife J, Fontan CF. "Prediction of water activity of aqueous solutions in connection with intermediate moisture foods: experimental investigation of the a_w lowering behavior of sodium lactate and some related compounds". *J. Food Sci.*, vol 45, no. 4, pp. 802-804, 1980

CAPÍTULO 3

Desarrollo y caracterización de nanosuspensiones de Praziquantel

3.1. Introducción

Como se mencionó en el Capítulo 1, existen diversas metodologías para reducir el tamaño de partícula al rango nanométrico. Por su versatilidad, la HAP es una de las técnicas más frecuentemente utilizada para la obtención de NS.

Inicialmente, se desarrollaron dos variantes de HAP para la obtención de nanocristales: la microfluidización y la homogeneización de pistón [1]. Sin embargo, la primera de ellas ha sido prácticamente abandonada para este fin, como consecuencia del elevado número de ciclos de homogeneización que es necesario aplicar para obtener un tamaño de partícula óptimo y de la excesiva proporción de partículas micrométricas presentes en el producto final [1]. En consecuencia, la atención se centra hoy en día en el empleo de homogeneizadores de pistón. Esta metodología fue desarrollada por Müller y colaboradores en el año 1999 y registrada como DissoCube® por la firma SkyePharma, resultando aplicable para la obtención de NS en medios acuosos [2]. Años más tarde, su aplicación se extendió a disolventes no acuosos y a mezclas de agua con otros disolventes miscibles. Esta tecnología ha sido registrada como Nanopure® por la empresa alemana PharmaSol [3].

Durante los procesos de homogeneización en medio acuoso, una suspensión de fármaco micronizado se hace pasar a través de una ranura muy estrecha (de aprox. 25 micras) del homogeneizador, bajo presión, la cual es generada por acción de un pistón. Al atravesar la ranura, la velocidad del fluido aumenta debido a que el área disminuye. Este aumento de velocidad es compensado por una disminución de la presión, la cual cae incluso por debajo de la presión de vapor del agua a esa temperatura. Esto ocasiona la formación y crecimiento de burbujas, que finalmente implosionan cuando la suspensión abandona la ranura del homogeneizador [1]. Este fenómeno, conocido como cavitación, es el fenómeno determinante de esta tecnología para promover la reducción de tamaño de partícula [2].

Además del fenómeno de cavitación, la fuerza de cizalla, también llamada esfuerzos de corte, y la turbulencia del flujo también contribuyen a la reducción del tamaño de partícula por HAP. La turbulencia está asociada al movimiento irregular de líquidos y gases que fluyen a alta velocidad. Asimismo, está caracterizada por una alta convección y cambios espacio-temporales rápidos de presión y velocidad. El movimiento del fluido se da en forma caótica o, en otras palabras, el movimiento principal es perturbado por otros movimientos desordenados que se mezclan con

aquél. Las moléculas, en lugar de seguir trayectorias paralelas (flujo laminar) describen caminos irregulares y forman torbellinos o remolinos [4]. En consecuencia, el conjunto de estos fenómenos provocan que el fluido ejerza tensiones disruptivas sobre las partículas favoreciendo la tendencia a la rotura.

Cabe aclarar que una de las características que hace particularmente atractiva a esta metodología es que los modelos de homogeneizadores más pequeños, cuyo volumen de muestra se encuentra entre los 5 y 10 ml, tienen sus equivalentes a escalas mayores (hasta 1000 l/h), con lo cual los resultados pueden ser transferidos, en forma relativamente sencilla, de la escala laboratorio a la industrial [4].

En el presente trabajo de Tesis Doctoral se utilizó un homogeneizador a válvula de alta presión o a dos etapas, en el que el fluido es introducido axialmente a través del asiento de la válvula, para luego acelerarse radialmente en la pequeña región comprendida entre la válvula y el asiento (Figura 3.1). Una vez que el fluido deja este espacio, impacta contra el cabezal de la válvula, saliendo del homogeneizador a presión atmosférica [4, 5]. La presión alcanzada en el equipo particularmente utilizado llega a un máximo de 1000 bar.

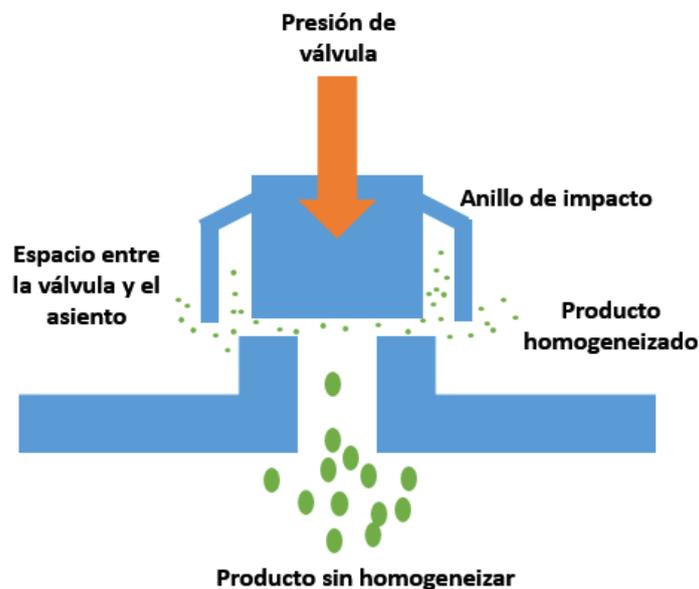


Figura 3.1. Esquema de procesamiento mediante HAP. Homogeneizador a dos etapas. Adaptado de Referencia [4]

Las variables del proceso que afectarán al tamaño promedio y la distribución de tamaño de partículas del producto obtenido incluyen: la presión aplicada, el número de ciclos de homogeneización al que se somete el producto y la dureza propia del IFA [1].

Cuanto mayor sea la presión aplicada, mayor será la velocidad que alcanza la suspensión en la ranura del homogeneizador, por lo que mayor será la caída de presión estática en ella, el número de burbujas formadas y la energía disponible para reducir el tamaño de las partículas [1]. Sin embargo, esta relación no siempre resulta ser lineal. Durante un proceso de molienda, los cristales se rompen en sus puntos débiles, es decir, en las imperfecciones. Con la disminución del tamaño de partícula, el número de imperfecciones es cada vez menor, lo cual indicaría que los cristales se vuelven cada vez más perfectos. De esta manera, la fuerza requerida para romper los cristales aumenta a medida que disminuye el tamaño de partícula. Cuando el cristal se vuelve casi perfecto, mayores presiones no tendrán un efecto tan importante sobre el tamaño de las partículas. Es decir, que la fuerza o energía requerida para romper los cristales parece aumentar de manera exponencial [6]. En general, para la producción de nanocristales se utilizan presiones entre 1000 y 1500 bar.

En lo que se refiere al número de ciclos de homogeneización es importante señalar que normalmente es necesario aplicar un número de ciclos considerable, incluso superior a 10 o 20, para conseguir nanocristales del tamaño requerido. Este hecho tiene su origen en que, a consecuencia de la muy corta duración (del orden de los milisegundos) del paso del producto a través de la ranura del homogeneizador, la energía generada no alcanza para fragmentar todas las partículas de manera uniforme, por lo que resulta imprescindible la repetición del ciclo [1]. Con la aplicación reiterada de ciclos de homogeneización se consigue la progresiva homogeneidad en el tamaño de los nanocristales [7]. Asimismo, como la velocidad de flujo en la ranura es diferente entre las distintas zonas de la misma, siendo mayor en la zona central que en las paredes, la rotura de las partículas es diferente en distintas posiciones de la ranura [7]. Con el incremento del número de ciclos, la probabilidad de que las partículas más grandes pasen por la zona de mayor energía es mayor, propiciando así las condiciones para lograr su reducción de tamaño. Finalmente, el número de ciclos necesarios dependerá de la dureza intrínseca del fármaco y del tamaño de partícula deseado.

La temperatura es otra variable a considerar, en lo que respecta a la calidad general del producto final. Ésta debe ser controlada, especialmente cuando se trabaja con fármacos termolábiles, ya que se registra un aumento significativo de la temperatura durante el proceso de homogeneización en sí mismo. Para ello, en los homogeneizadores de pistón, se puede disponer de intercambiadores de calor que permiten una regulación estricta de la temperatura de trabajo [1].

Un aspecto de crucial importancia a tener en cuenta durante la preparación de NS es la incorporación de estabilizantes en el diseño de la formulación. En la HAP, contrariamente a lo que sucede en otras metodologías, la naturaleza y concentración del estabilizante no tiene efecto sobre el tamaño de partícula alcanzado ni sobre la forma de la misma. Sin embargo, se ha demostrado que posee un rol crítico en la estabilidad física del sistema, a largo plazo, retrasando o incluso evitando la agregación de partículas [1].

Las nanopartículas presentan una energía libre considerable, debido a su gran área superficial, por lo que, en ausencia de un estabilizante apropiado, esta energía puede inducir su aglomeración o agregación. Las funciones principales de un agente estabilizante consisten en prevenir la maduración de Ostwald, la aglomeración o la floculación, con el fin de obtener una formulación físicamente estable. Además, debe propiciar la humectación de la superficie de las partículas y proporcionarles una barrera, de tipo iónico o estérico [8]. Por su parte, el tipo y cantidad de estabilizante utilizado no sólo tiene un efecto significativo en la estabilidad física, sino también sobre el comportamiento *in vivo* e *in vitro* de la NS [9]. En algunos casos resulta necesaria una mezcla de agentes y mecanismos estabilizadores para obtener una NS óptima y estable. En lo que respecta particularmente a la cantidad de estabilizante, la proporción fármaco: estabilizante en una formulación puede variar desde 1:20 a 20:1, y debe ser investigada específicamente para cada caso en particular [9, 10].

Los estabilizantes más frecuentemente utilizados en el diseño y desarrollo de NS pueden agruparse en agentes surfactantes (iónicos y no iónicos) y poliméricos. Cada uno de ellos ejercerá la estabilización por diferentes mecanismos [11].

Los surfactantes iónicos estabilizarán a la formulación mediante su adsorción a la superficie de la partícula, a la cual le otorgan una determinada carga. Para mantener la electroneutralidad, un número igual de contraiones con carga opuesta rodea las partículas y se forma una doble capa de carga neutra. Este mecanismo se denomina estabilización electrostática, y es la repulsión mutua de estas dobles capas que rodean las diferentes partículas la que proporciona la estabilidad. Por lo tanto, si el potencial eléctrico asociado con la doble capa es suficientemente alto, la repulsión electrostática entre las partículas impide su agregación [11].

El mecanismo de estabilización de los agentes poliméricos, al igual que los surfactantes no iónicos, se basa en efectos estéricos. La estabilización estérica se logra por la adhesión en la superficie de la nanopartícula de macromoléculas del agente estabilizante. Por ejemplo, los agentes estabilizantes estéricos de naturaleza polimérica, que poseen propiedades anfifílicas, tienen en su estructura cadenas ramificadas que, al entrar en contacto con las cadenas de otras

nanopartículas, reducen las interacciones debido a un impedimento estérico [10]. Por todo lo expuesto, además de la reducción del tamaño de partícula, la HAP también logra una rápida estabilización de las partículas al permitir el contacto y la unión de los agentes estabilizantes a las superficies recién formadas [12, 13].

En esta Tesis se han seleccionado tres estabilizantes poliméricos para la formulación de NS de PZQ, ellos son P188, PVP K30 y MDX. Esta selección se llevó a cabo en base a los resultados obtenidos durante ensayos preliminares de evaluación de posibles agentes estabilizantes, que involucraron, además de los excipientes finalmente seleccionados, povidona de otros grados de polimerización (K17 y K90) e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), a diferentes concentraciones. Estos agentes fueron finalmente descartados dado que se obtuvieron dispersiones de PZQ con tamaños promedio de partícula superiores a 1,5 μm . Asimismo, se tuvieron en cuenta los buenos resultados obtenidos con la utilización de P188, PVP y MDX, durante la aplicación de HAP sobre otros fármacos, descritos en literatura [14-16]. Por último, es importante considerar que éstos constituyen excipientes aprobados para su uso en pacientes pediátricos, por lo cual son considerados seguros en esta población [17]. A continuación, se describirán en detalle cada uno de estos excipientes.

El Poloxamer es un copolímero en bloque anfifílico no iónico, compuesto por un bloque central hidrofóbico derivado de óxidos de propileno (PPO, $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), rodeado por dos bloques hidrofílicos derivados de óxidos de etileno (PEO, $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$) [18]. Su estructura química se indica en la Figura 3.2.

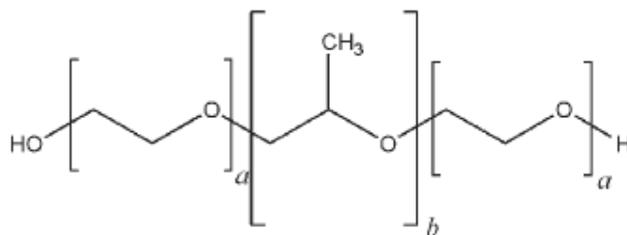


Figura 3.2. Estructura química de Poloxamer. Adaptado de Referencia [18]

En esta fórmula, los subíndices a y b representan números enteros que controlan el peso molecular y, por lo tanto, la viscosidad del polímero. Generalmente, a varía entre 10 y 150, y b entre 15 y 75. La posibilidad de combinar bloques con diferentes pesos moleculares da lugar a la formación de diferentes polímeros identificados como 124, 188, 237, 338 y 407, que exhiben una ligera diferencia en sus propiedades fisicoquímicas. La representación común de Poloxamer se indica con una 'P' seguida por tres dígitos, donde los dos primeros se multiplican por 100

dando como resultado la masa molecular del PPO, y el último dígito se multiplica por 10 e indica el contenido porcentual de PEO [19].

El P188 tiene un peso molecular promedio de 8600 g mol^{-1} . De acuerdo a su estructura, los subíndices a y b corresponden a 80 y 27 unidades, respectivamente [20]. En consecuencia, el P188 es libremente soluble en agua. El P188 actúa adsorbiéndose fuertemente sobre la superficie de las nanopartículas hidrofóbicas a través de las cadenas hidrofóbicas de PPO, mientras que las cadenas hidrofílicas de PEO rodean las partículas del fármaco generando un impedimento estérico [21].

Debido a su naturaleza anfifílica, los poloxamers se utilizan en una variedad de aplicaciones en productos farmacéuticos, tanto en formas sólidas, líquidas como semisólidas. En formulaciones líquidas, además de utilizarse como estabilizante para suspensiones, también se usan como agentes emulsionantes y solubilizantes. La selección del grado dependerá de la naturaleza de la aplicación y del equilibrio necesario entre las porciones hidrófilas y lipófilas de la molécula (equilibrio hidrófilo-lipófilo, o HLB). Los poloxamers cubren un rango de valores de HLB de aproximadamente 1 a 30. Valores altos de HLB indican un equilibrio mayormente hidrófilo, y viceversa para valores bajos de HLB. En el caso de P188, éste presenta un HLB de 29. Además, presenta algunas propiedades similares a los agentes de superficie (surfactantes) no iónicos, dado que en solución acuosa posee propiedades tensioactivas [22].

La poli (1-vinil-2-pyrrolidona), povidona, polivinilpirrolidona o PVP, es un polímero sintético que se obtiene de la polimerización del radical N-vinilpirrolidona. Los diferentes grados de polimerización dan lugar a polímeros de diferentes pesos moleculares. En general se caracterizan por su viscosidad en solución acuosa, relativa al agua, expresada como un valor K que puede estar entre el rango de 10 a 120 [23]. La estructura química se indica en la Figura 3.3.

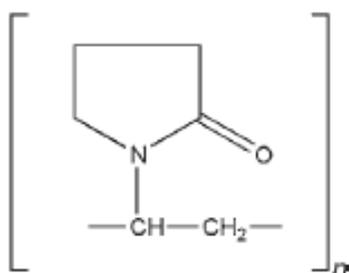


Figura 3.3. Estructura química de Povidona. Adaptado de referencia [23].

La PVP es libremente soluble en agua. Se usa principalmente en formas farmacéuticas sólidas, como aglutinante y desintegrante, pero también es ampliamente utilizada como agente suspensor en formulaciones líquidas. En las suspensiones, la PVP se adsorberá sobre la superficie de las partículas suspendidas, estabilizando el sistema a través de un efecto estérico [22]. Se ha demostrado que mejora la disolución de fármacos pobremente solubles, además de ser un excipiente considerado seguro y no tóxico [23].

Las maltodextrinas son agentes estabilizantes que se obtienen por hidrólisis parcial (ácida o enzimática) del almidón [24]. Usualmente se clasifican de acuerdo a su grado de hidrólisis, expresado como dextrosa equivalente, por lo que este valor se encuentra estrechamente relacionado con su peso molecular [25]. Está conformada por una mezcla de polímeros consistente en unidades de D-glucosa, con un valor de dextrosa equivalente inferior a 20, unidas primariamente por enlaces α -(1 \rightarrow 4), y con segmentos ramificados unidos por enlaces α -(1 \rightarrow 6) (Figura 3.4) [24, 26].

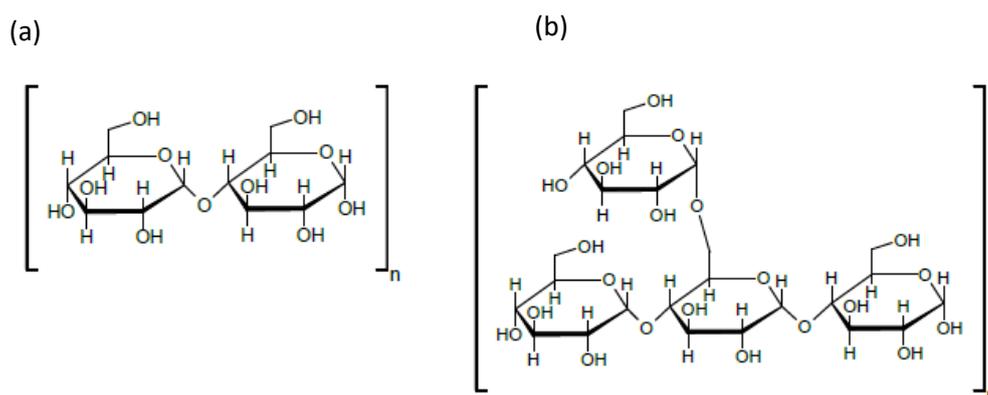


Figura 3.4. Estructura química de la maltodextrina: a) cadena lineal de dos unidades de glucopiranosas; b) ramificaciones sobre la cadena lineal. Adaptado de Referencia [24].

La MDX es libremente soluble en agua y es un sacárido nutritivo, que no aporta sabor dulce. En las suspensiones, las MDX funcionan aumentando la viscosidad de la fase acuosa continua y, por lo tanto, enlentecen la sedimentación de la fase dispersa [22].

3.2. Formulaciones

Considerando los antecedentes que demuestran la utilidad de P188 para la obtención de NS y los resultados obtenidos en los estudios preliminares llevados a cabo en nuestro laboratorio, se seleccionó este agente estabilizante para el diseño y desarrollo de NS, ya sea como excipiente único a distintas concentraciones o en mezclas binarias asociado a PVP o MDX (Tabla 3.1.) [27-

30]. En los casos de uso de mezclas binarias, las formulaciones se elaboraron a una concentración final de solución estabilizante al 1% (p/v).

Tabla 3.1. Composición de las distintas formulaciones

Formulación	Composición	Porcentaje (%)
F1	P188	0,25
F2	P188	0,50
F3	P188	1,00
F4	P188 – PVP	0,50 – 0,50
F5	P188 – MDX	0,50 – 0,50

3.3. Resultados

3.3.1. Efecto de las soluciones estabilizantes sobre propiedades de PZQ, críticas para el desarrollo de NS

3.3.1.1. Efecto sobre la solubilidad de PZQ

La solubilidad de PZQ en agua y en las diferentes soluciones estabilizantes se realizó según lo descrito en la sección 2.2.1.1.

La solubilidad de PZQ en agua a 40 °C fue de $0,332 \pm 0,018$ mg/mL. Por su parte, los resultados de solubilidad del PZQ disperso en las distintas soluciones estabilizantes fueron $0,317 \pm 0,013$ mg/mL (P188 0,25%), $0,326 \pm 0,002$ (P188 0,5%), $0,336 \pm 0,019$ (P188 1%), $0,421 \pm 0,012$ (mezcla binaria P188-PVP) y $0,367 \pm 0,016$ (P188-MDX). De acuerdo a los resultados enunciados, se puede concluir que los excipientes utilizados no tienen un marcado efecto sobre la solubilidad del fármaco. Esto reviste importancia en la formulación de las NS, dado que los excipientes no deben modificar en gran medida la solubilidad del IFA, a fin de evitar inestabilidades físicas tales como aglomeración y/o maduración de Ostwald [31]. Además, un fármaco que es soluble en presencia del estabilizante también podría llegar a formar una dispersión sólida amorfa en la interfaz de las NS formuladas, una vez que éstas sean secadas [32, 33].

3.3.1.2. Efecto sobre el mojado de PZQ

Esta propiedad se describe como la habilidad de una superficie sólida para ser mojada por un líquido y, en general, se caracteriza en términos del ángulo de contacto. Éste se define como el ángulo entre la superficie del sólido de interés y la tangente de una gota del líquido en la intersección de las interfaces gas - líquido y líquido – sólido, y es una medida cuantitativa de la

humectación de un sólido por un líquido [34]. En la sección 2.2.1.2 se han descrito los detalles metodológicos para llevar a cabo esta determinación.

La mojabilidad (humectabilidad) de un polvo es una propiedad de gran interés, ya que está relacionada a diversos problemas prácticos, tales como la dispersabilidad del polvo en un medio líquido y la correcta selección de un material líquido para recubrir o granular un polvo [34].

El objetivo de esta determinación fue evaluar la influencia de los agentes estabilizantes seleccionados sobre la capacidad de mojado del PZQ. Los resultados del ángulo de contacto se redujeron de un valor inicial de $65,02^{\circ} \pm 1,80$, en agua pura, a valores en el rango entre $51,75^{\circ} \pm 0,61$ y $45,36^{\circ} \pm 1,42$ cuando se agregó P188 en sus tres concentraciones, siendo este efecto más notorio al aumentar la concentración del agente estabilizante. Por otro lado, cuando se añadió la mezcla de P188-PVP y P188-MDX, los resultados de ángulo de contacto fueron $46,62^{\circ} \pm 1,62$ y $52,38^{\circ} \pm 0,63$, respectivamente. Estos resultados demuestran la adecuada capacidad humectante de estas mezclas estabilizantes, principalmente debido a la presencia de P188. Es bien sabido que los tensioactivos, como es el caso del P188, disminuyen la tensión interfacial sólido/líquido cuando se adsorben en las superficies de las partículas, reduciendo el ángulo de contacto y mejorando así la humectabilidad de los fármacos hidrófobos [35, 36]. Estos resultados están en concordancia con los datos obtenidos en la determinación de solubilidad (ver sección 3.3.1.1), donde se observa un ligero aumento de la solubilidad del PZQ disperso en estas soluciones estabilizantes, en comparación con el agua, probablemente debido a la mejora en la humectabilidad del fármaco [37].

3.3.1.3. Efecto sobre el tamaño de partícula de PZQ

La reducción del tamaño de partícula por un método de molienda es un proceso algo más complejo que los procesos de precipitación, ya que están involucrados diversos fenómenos, tales como la fractura de los cristales, la adsorción y desorción de los polímeros sobre la superficie del fármaco y la agregación y segregación de las partículas. Por lo tanto, no es posible encontrar una regla simple que sirva de guía para la selección de un estabilizante apropiado para un fármaco específico, aplicable a procesos *top-down*. Es decir, las pruebas de eficacia para la selección de los agentes estabilizantes todavía se realizan a modo de prueba y error, debido a la escasa comprensión sistemática disponible en este área de investigación [10, 38, 39].

El tamaño de partícula promedio de PZQ (como materia prima), medido según lo enunciado en la sección 2.2.4.1, fue de $45,10 \pm 5,74 \mu\text{m}$, asociado a un valor de *span* de 7,20, lo cual indica una amplia distribución de tamaños. Luego de 60 ciclos de homogeneización, se obtuvo una

reducción significativa del tamaño de partícula de PZQ, tal como se muestra en la Tabla 3.2. Para seleccionar el número de ciclos adecuado, y lograr así una dispersión de nanopartículas lo más homogénea posible, se tomaron alícuotas a los 20, 40 y 60 ciclos. Si bien luego de 20 ciclos de HAP las partículas registraron una importante reducción del tamaño, encontrándose en el rango nanométrico, la polidispersidad resultó demasiado alta, manteniéndose esta situación aún luego de 40 ciclos de procesamiento (datos no mostrados). Por lo tanto, se decidió tomar como único punto de muestreo para el estudio de distribución de tamaño, a las NS luego de 60 ciclos de HAP. Estas observaciones se podrían relacionar con la forma alargada de la partícula (Ver Sección 3.3.2.1), en la que una misma partícula necesitaría varios ciclos de homogeneización para reducir y homogeneizar su tamaño [40].

Tabla 3.2. Distribución de tamaño de partículas de las distintas formulaciones

Formulación	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)	D ₉₅ (μm)	D ₄₃ /Z _{size} (μm) ^a	span/IPD ^a
PZQ puro	18,01 ± 0,76	136,62 ± 29,95	-	45,10 ± 5,74	7,20
F1	1,03 ± 0,10	1,27 ± 0,12	2,34 ± 0,21	1,17 ± 0,24	0,54 ± 0,1
F2	0,80 ± 0,09	1,01 ± 0,01	1,19 ± 0,11	0,84 ± 0,09	0,31 ± 0,02
F3	0,79 ± 0,09	1,09 ± 0,10	1,21 ± 0,10	0,84 ± 0,07	0,25 ± 0,05
F4	0,83 ± 0,06	1,06 ± 0,08	1,13 ± 0,10	0,86 ± 0,07	0,27 ± 0,05
F5	0,89 ± 0,07	1,14 ± 0,08	1,21 ± 0,22	0,91 ± 0,10	0,30 ± 0,09

^aEl parámetro medido corresponde a la técnica utilizada en cada caso (D₄₃ y *span*, en el caso de DL; Z_{size} e IPD, en el caso de ECF)

Como se puede observar en la Tabla 3.2, la distribución de tamaño de partículas y sus valores promedio fueron muy similares entre las diferentes formulaciones evaluadas, a excepción de la F1 que evidenció los mayores tamaños y su valor de Z_{size} superó incluso el rango nanométrico. Estos resultados están en buen acuerdo con los aspectos teóricos enunciados para la técnica aplicada, que indican que la naturaleza y concentración de los agentes estabilizantes no afectaría la disminución del tamaño de partícula [1]. Según una definición más estricta, una formulación debe tener un valor de D₅₀ inferior a 1 μm y un D₉₀ menor a 2,5 μm, para clasificarse como una NS [41, 42]. En consecuencia, todas las formulaciones desarrolladas, a excepción de F1, pueden ser consideradas NS. En el caso de la F2, ésta resultó ser muy inestable desde el punto de vista físico, dado que dentro de las 24 horas de formulada se desarrolló un precipitado (no redispersable fácilmente mediante agitación manual), indicando que la concentración de estabilizante resultó ineficiente. En el caso de la F3, se obtuvo un producto con adecuada distribución de tamaño de partículas, sin la formación de precipitado visible, en el tiempo de reposo. Sin embargo, la utilización de P188 al 1 % como único agente estabilizante provocó la

formación de una excesiva cantidad de espuma en el sistema, lo que dificultó en gran medida el procesamiento mediante HAP y la posterior manipulación de la formulación. Por ello, el hecho de reemplazar parte de este excipiente por otro estabilizante polimérico (PVP y MDX), conservando la concentración total de solución estabilizante en un 1 % (p/v) sería un planteo interesante para evitar este inconveniente manteniendo tamaños nanométricos.

El agregado de PVP y MDX, en reemplazo de parte del P188, permitió obtener tamaños de partículas similares entre sí (F4 y F5), y con las formulaciones F2 y F3 (Tabla 3.2). Sin embargo, la formulación F4 mostró un menor tamaño promedio y una distribución de tamaño de partículas más homogénea (menor IPD). Las interacciones específicas entre grupos funcionales del fármaco y los excipientes tienen un rol muy importante en la estabilización [21]. En este sentido, la superficie hidrofóbica de PZQ, que además no presenta ningún grupo funcional polar, parece ser ideal para que la PVP se adsorba físicamente y provoque la estabilización estérica esperada, dado que no se forman enlaces de hidrógeno fuertes, sino que predominan las fuerzas débiles de interacción de Van der Waals [21].

En base a los resultados obtenidos, es posible concluir que una concentración del 1 % (p/v) de una mezcla de excipientes poliméricos resultó suficiente para lograr reducir el tamaño de partícula de PZQ a escala nanométrica, y obtener NS con una distribución de tamaño de partículas homogénea y adecuada para su manipulación. En consecuencia, tanto la F4 como la F5 fueron posteriormente caracterizadas en términos de morfología, potencial zeta, interacciones químicas, cristalinidad y disolución *in vitro*.

3.3.2. Caracterización de las NS seleccionadas

3.3.2.1. Morfología de las partículas

La MEB es una herramienta sumamente útil para distinguir si han ocurrido cambios morfológicos en los sistemas desarrollados, luego de la aplicación de la metodología de HAP. Mediante esta técnica se evaluó la morfología de las partículas de PZQ (materia prima, pre-tratamiento), los excipientes puros, las MF y las NS F4 y F5 obtenidas previamente (Figuras 3.5 a 3.8)

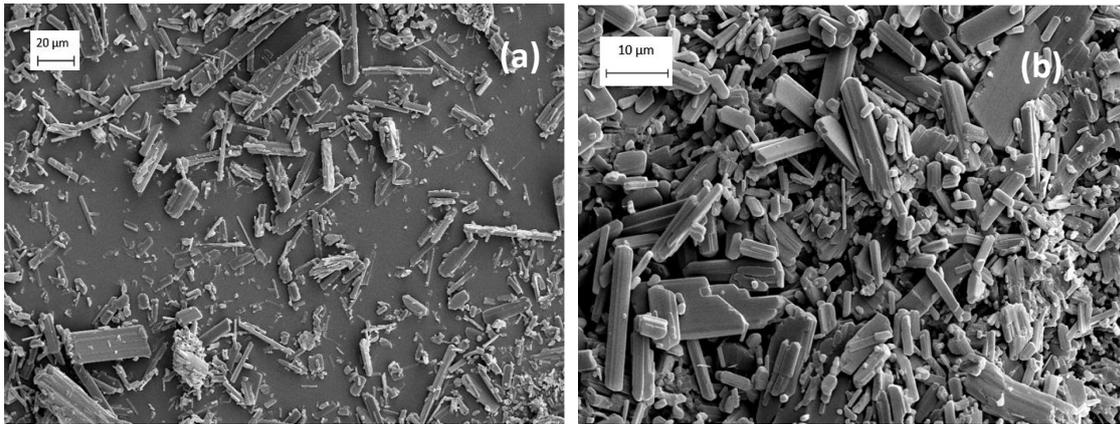


Figura 3.5. Micrografías de PZQ a distintas magnificaciones (a) 1000x y (b) 4000x

Como puede verse en la Figura 3.5, el PZQ (sin tratamiento) está compuesto por partículas aciculares, prismáticas, de superficie estriada y bordes filosos. El tamaño obtenido se corresponde con el obtenido mediante DL (ver Tabla 3.2), observándose tamaños de aproximadamente 30 micras de largo y 5 micras de diámetro, y una amplia distribución de tamaño de partículas. Cabe destacar que esta forma de partículas presenta numerosas desventajas, tanto para la manipulación del polvo (e.g. flujo, [43]) como para el procesamiento de reducción del tamaño de partícula [40]. Por su parte, PVP, P188 y MDX (materia prima) exhibieron morfologías esféricas, con tamaños de partícula mayores respecto al fármaco (Figura 3.6). Estos resultados se hallan en total concordancia con la morfología descrita en literatura para estos excipientes [18, 23, 24, 45].

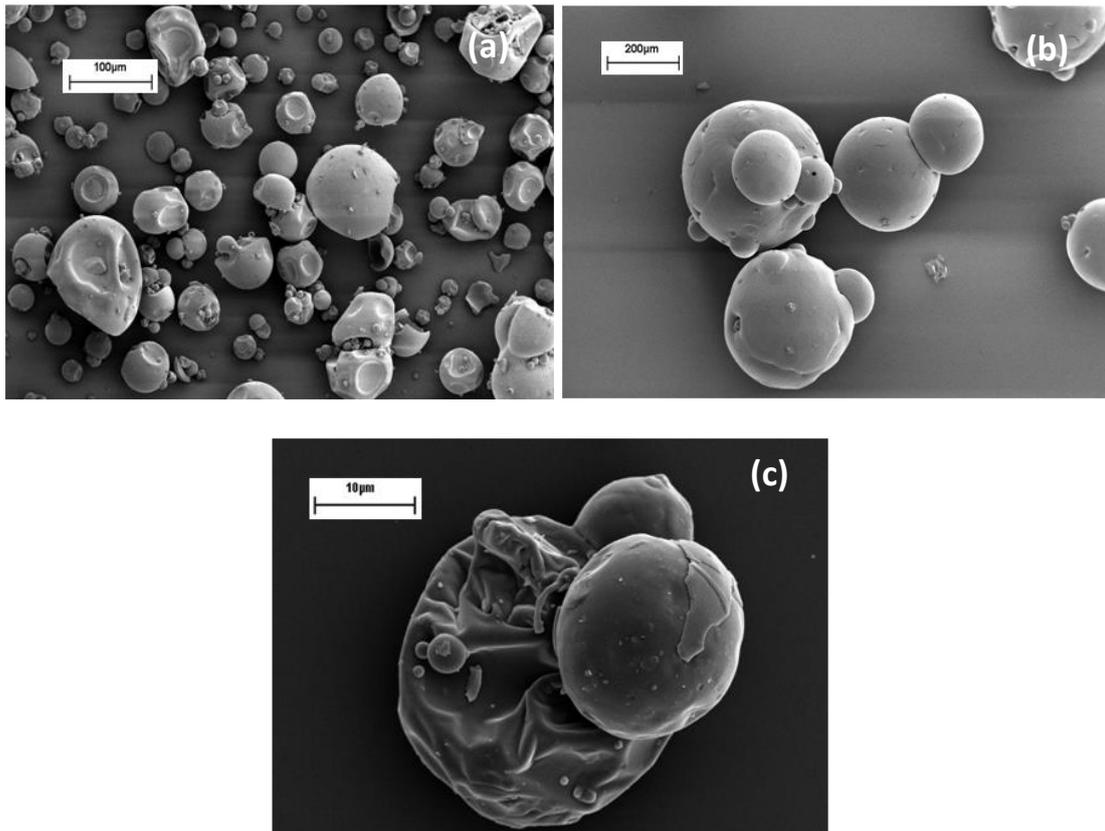


Figura 3.6. Micrografías de los excipientes: (a) PVP (3000x), (b) P188 (1700x) y (c) MDX (3000x)

Las figuras 3.7.a y 3.7.b muestran la morfología de las MF correspondientes a las formulaciones F4 y F5, respectivamente, las cuales resultaron ser muy similares entre sí, dada la esfericidad de los distintos excipientes. Allí puede observarse cómo la mayoría de las partículas de PZQ se adsorben sobre la superficie de los polímeros, quedando muy pequeña cantidad de partículas aisladas.

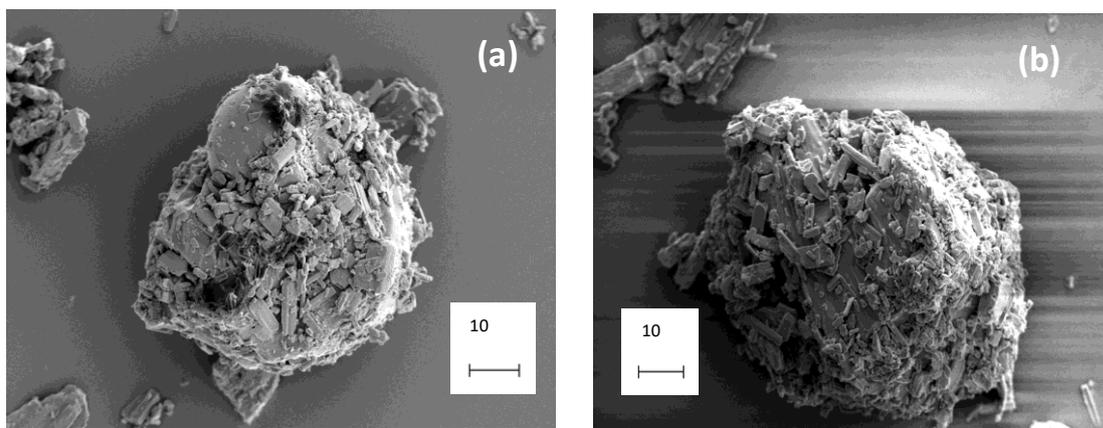


Figura 3.7. Micrografías de las MF (3000x): (a) MF correspondiente a F4 y (b) MF correspondiente a F5

Las figuras 3.8.a y 3.8.b muestran la morfología de las NS F4 y F5, respectivamente. De manera general, se puede observar en ambos casos una importante reducción en el tamaño de las partículas, en comparación con el tamaño original, y en concordancia con los resultados expuestos en la Tabla 3.2. Si bien se observa una amplia distribución de tamaño de partículas en las micrografías, más del 95 % de la población de partículas se encontró por debajo de 1132,7 nm y 1214,0 nm para F4 y F5, respectivamente (Tabla 3.2). Es decir, aunque se obtuvo una distribución de tamaño amplia, la mayoría de las partículas de PZQ midieron alrededor de 1 μm . Además, se observa que la muestra está constituida por partículas primarias, de tamaño micrométrico y sub-micrométrico. Sin embargo, y como era de esperar, la forma prismática fue conservada, aunque también se observan algunas partículas de forma cúbica. De esta manera se confirma que la HAP no modifica significativamente la morfología de las partículas de PZQ, de forma similar a lo descrito por Müller y Peter [12]. Dado que las partículas son alargadas, algunas de ellas resultan ser nanométricas en una sola dimensión. Esto se podría atribuir a que en algunas partículas, la dirección de la fractura es principalmente longitudinal (lo cual depende de la estructura del cristal, [40] o que durante el procesamiento se dificulta el paso de las partículas más alargadas por la ranura estrecha, teniendo menos chances de romperse.

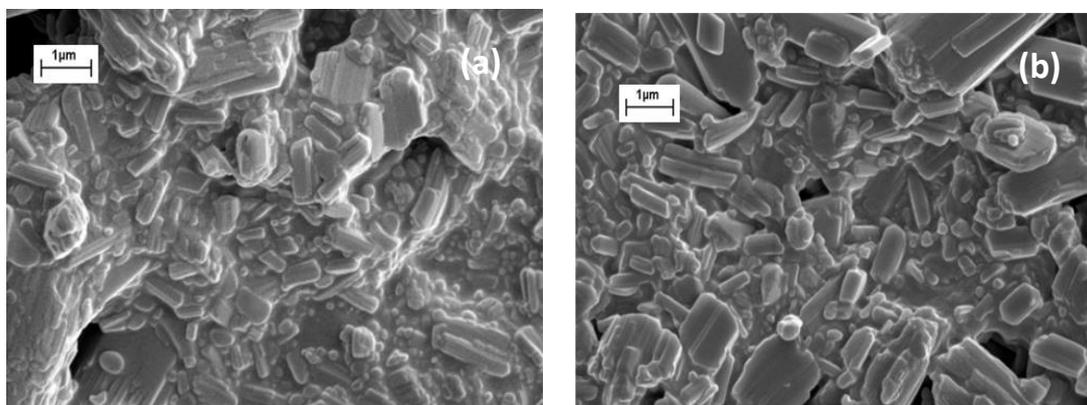


Figura 3.8. Micrografías de NS (20000x): (a) F4 y (b) F5

En conclusión, se establece que para el caso de PZQ, el proceso de HAP no ha provocado cambios morfológicos significativos en las partículas, pero sí ha logrado disminuir su tamaño al rango nanométrico y obtener así NS con apropiada homogeneidad en la distribución de tales tamaños.

3.3.2.2. Potencial Zeta

La determinación del potencial zeta de una NS permite conocer la carga superficial de las nanopartículas y proveer así una noción sobre su estabilidad, desde el punto de vista electrostático. Este parámetro depende fundamentalmente de los componentes de la formulación, y está determinado por la naturaleza química que conforma la superficie de las nanopartículas y el/los componente/s del medio que las rodea. Se han establecido valores mínimos de potencial zeta de -30 mV para NS estabilizadas electrostáticamente y de -20 mV para aquellas estabilizadas estéricamente [46].

Las mediciones de potencial zeta de las NS formuladas se llevaron a cabo según lo enunciado en la sección 2.2.4.2, hallándose valores negativos promedio de -20,8 mV y -19,9 mV para F4 y F5, respectivamente. En consecuencia, se confirma la estabilización del sistema por mecanismos estéricos propuesta para los excipientes utilizados.

Los valores negativos de estos resultados resultan adecuados porque, aunque las moléculas que conforman la NS no tienen carga, existe una densidad de carga negativa por la presencia de grupos OH en las moléculas de P188 y MDX. Esto hace que los contraiones sean positivos y la carga de la capa siguiente sea negativa. Por lo tanto, el potencial zeta, que es la diferencia entre esas dos últimas capas, resulta negativo. Además, la utilización de polímeros de alto peso molecular para la estabilización de nanopartículas hace que el plano de corte se desplace, dando como resultado una disminución en el potencial zeta [47].

A medida que los estabilizantes poliméricos no iónicos se adsorben sobre la superficie de las nanopartículas, su alta concentración superficial y la extensión de las cadenas hidrofílicas en la fase acuosa, aumentan el grosor de la capa de polímero adsorbido. Esto produce una disminución en el potencial zeta, al mismo tiempo que estabiliza las NS por impedimento estérico. Por lo tanto, tanto la hidrofobicidad como la hidrofilia de los estabilizantes poliméricos no iónicos son esenciales para obtener una adsorción estable del polímero sobre las nanopartículas [48].

3.3.2.3. Caracterización por FT-IR

Para caracterizar a nivel molecular los materiales procesados, se obtuvieron los espectros FT-IR de las NS F4 y F5, los cuales se compararon con los materiales puros y sus correspondientes MF, según lo enunciado en la sección 2.2.4.6. El objetivo de este análisis radica en analizar si el proceso de HAP es capaz de provocar cambios del PZQ a nivel molecular e identificar posibles

interacciones en el estado sólido. Los espectros FT-IR obtenidos se detallan en las figuras 3.9 y 3.10.

En el caso de PZQ materia prima, se encontraron bandas de absorción en la región de 2933 - 2849 cm^{-1} , que reflejan las deformaciones axiales simétricas y asimétricas de CH_2 y CH_3 . En la región de 1650 - 1600 cm^{-1} se observa una multibanda, que corresponde a las vibraciones de flexión del grupo funcional amida. En particular, una banda intensa con dos picos separados e iguales a 1619 cm^{-1} y 1645 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de estiramiento C=O y C-N de los dos grupos de la amida terciaria. Estos resultados están en buen acuerdo con aquellos reportados en literatura [49-51]. Además, la observación de picos en la región de la huella digital por debajo de 1500 cm^{-1} , así como la ausencia del pico característico en la región 3300–3700 cm^{-1} , confirmaron la presencia de la forma racémica del fármaco [52].

Por su parte, el espectro FT-IR de P188 exhibió bandas características a 3484, 2888 y 1114 cm^{-1} , debido a la flexión de los grupos O-H, C-H y C-O, respectivamente [53].

El espectro IR de PVP se identificó mediante picos de absorción a 1645, 1465 y 3000 cm^{-1} , correspondientes a las bandas de estiramiento del grupo C = O, a la banda de absorción del grupo N-H, y a la banda de estiramiento C-H, respectivamente [54]. Dada la higroscopicidad de la PVP, se observó una banda muy ancha a 3487 cm^{-1} que se atribuyó a la presencia de agua [55].

En el caso de la MDX, el espectro mostró una banda ancha de vibración a 3400 cm^{-1} , característica de los grupos O-H, y picos en sus regiones típicas a 1144, 1048, 985 y 931 cm^{-1} que se atribuyen a los enlaces C-O [56].

Como se puede observar en las figuras 3.9 y 3.10, los espectros FT-IR de las MF corresponden prácticamente a la suma de los espectros de cada componente por separado, sugiriendo la ausencia de interacciones entre el fármaco y los excipientes. De la misma manera, los espectros FT-IR de las NS fueron casi completamente superponibles a su correspondiente MF, indicando que el procesamiento por HAP no provocó ninguna modificación química del PZQ ni de los estabilizantes. Esto concuerda con los resultados obtenidos por otros investigadores, quienes evidenciaron la ausencia de interacciones entre PZQ-PVP y PZQ-P188 [50, 57].

En conclusión, los resultados de este estudio sugieren que no ocurrieron interacciones moleculares que pudieran alterar la estructura química del PZQ.

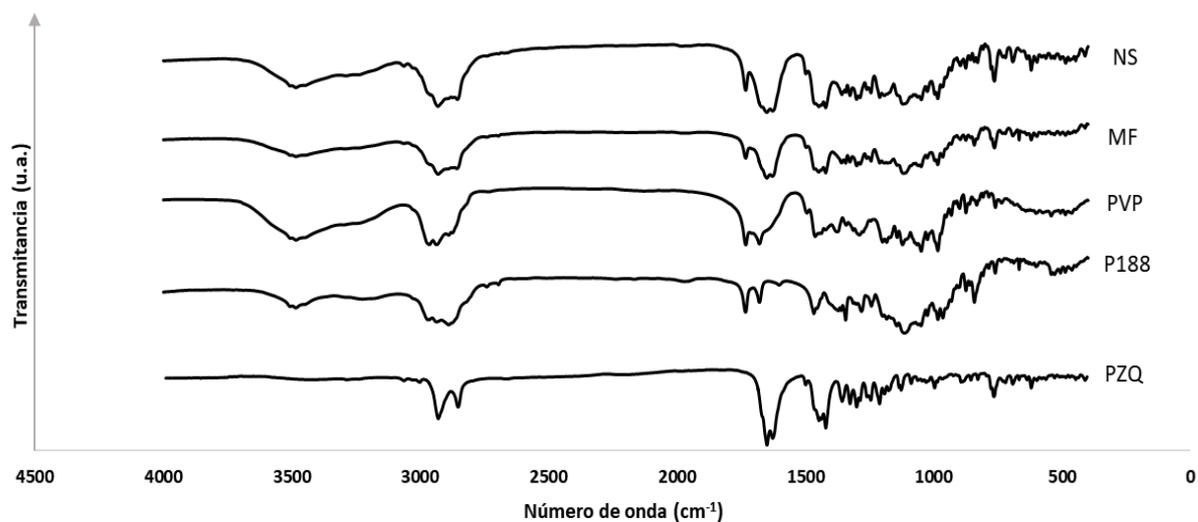


Figura 3.9. Espectros FT-IR correspondiente a F4

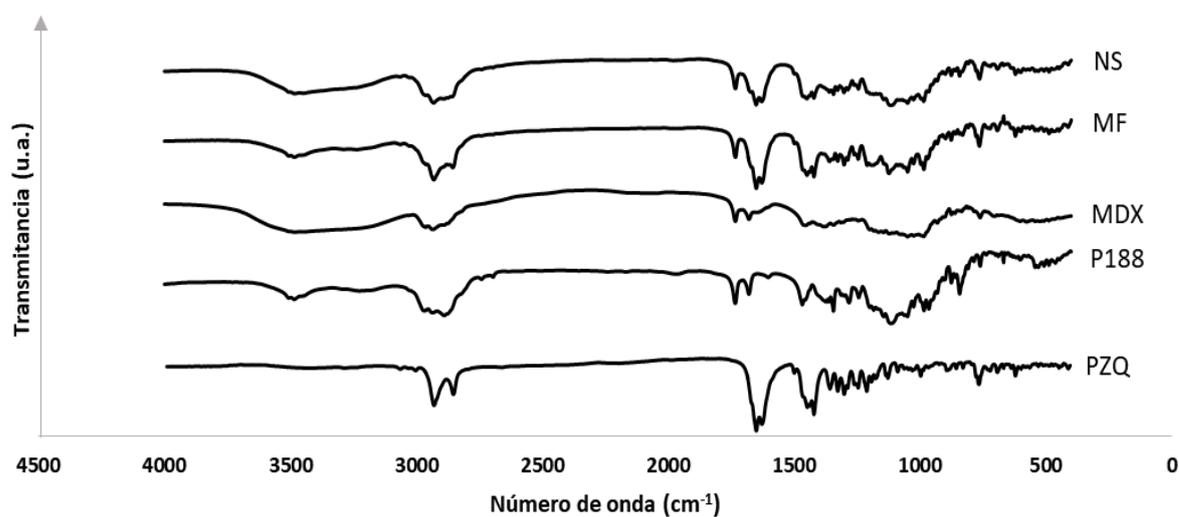


Figura 3.10. Espectros FT-IR correspondiente a F5

3.3.2.4. Análisis Térmico

El comportamiento térmico de las mismas muestras se evaluó mediante CDB, según lo enunciado en la sección 2.2.4.4. La Tabla 3.3 muestra los resultados de temperatura y entalpía de fusión del PZQ, correspondientes tanto a la materia prima como a las distintas formulaciones (MF y NS).

Tabla 3.3. Comportamiento térmico de los materiales puros, las MF y las NS.

Muestra	Temperatura de inicio de la fusión de PZQ (T_{onset}) (°C)	Punto de fusión de PZQ (T_{peak}) (°C)	ΔH_f de PZQ (J/g) ^a	C_{total} (%) ^b
PZQ	139,4	144,2	100,9	100
MF (F4)	127,1	136,4	25,2	50,0
MF (F5)	123,5	132,7	39,2	77,7
NS (F4)	126,3	133,9	23,8	47,2
NS (F5)	126,7	133,8	36,1	71,6

^a Entalpía de Fusión de PZQ. Se expresa como J/g de muestra analizada

^b Cristalinidad relativa del fármaco

Complementariamente, en la Figura 3.11 se muestran los termogramas de todas las muestras estudiadas. El termograma de PZQ como materia prima (Figura 3.11e y Tabla 3.3) exhibió un único pico endotérmico a 144,2 °C, correspondiente a la fusión del mismo, indicando asimismo un comportamiento cristalino. Este resultado coincide con el informado en literatura [50, 52, 58].

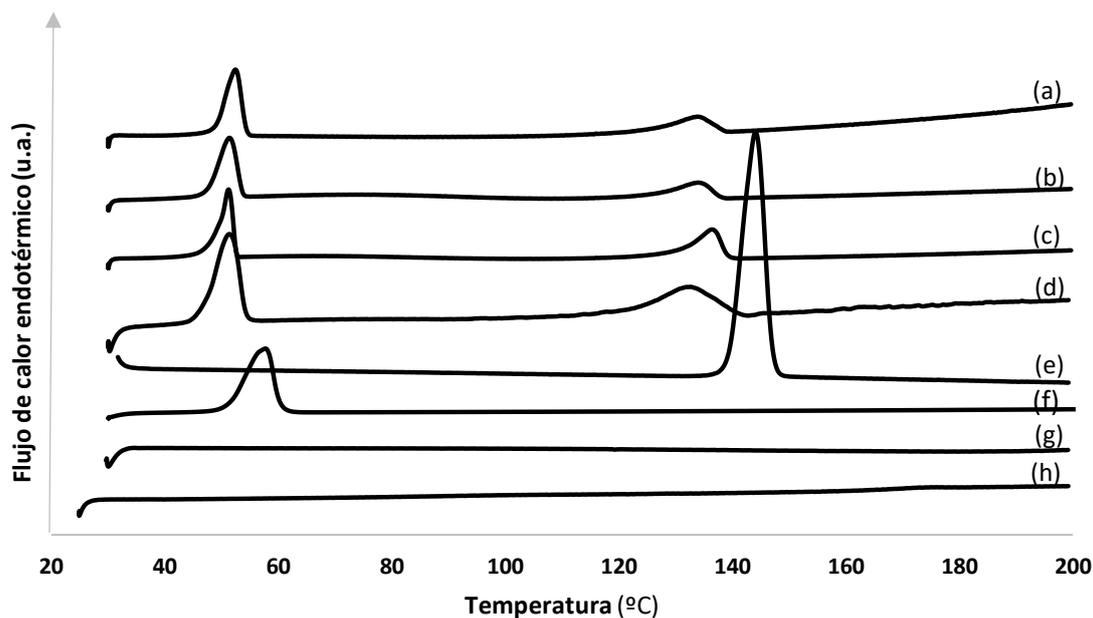


Figura 3.11. Comportamiento térmico de (a) NS F4, (b) NS F5, (c) MF F4, (d) MF F5, (e) PZQ materia prima, (f) P188, (g) MDX y (h) PVP, (u.a. unidades arbitrarias)

Por su parte, el P188 exhibió un pico endotérmico a 57,6 °C que se atribuye a la fusión del mismo (Figura 3.11f), mientras que la PVP mostró un evento de transición vítrea a aproximadamente 166,0 °C (temperatura que surge al ampliar la curva que se presenta en la Figura 3.11h). Ambos

eventos están de acuerdo con los descriptos en la literatura [44, 59]. El termograma de la MDX (Figura 3.11g) no mostró ningún evento significativo, en el rango de temperatura de 30 a 200 °C [60].

En el caso de F4, la MF (Figura 3.11c) exhibió dos eventos térmicos, correspondientes a los puntos de fusión de P188 y PZQ, a 51,2 ° C y 136,4 ° C, respectivamente (Tabla 3.3). En el caso de las NS de igual composición, se observaron los mismos picos a aproximadamente las mismas temperaturas (52,5 °C y 133,9 °C), asociadas a la fusión del P188 y el PZQ, respectivamente (Figura 3.11a y Tabla 3.3). Para F5, tanto la MF (Figura 3.11d) como la NS (Figura 3.11b) también registraron dos eventos térmicos, correspondientes a los picos de fusión del P188 (51,3 °C) y del PZQ (132,7 / 133,8 °C), según puede observarse en la Tabla 3.3. Dado que en ambos casos (F4 y F5) se evidenció la endoterma de fusión, se confirma la conservación de la estructura cristalina del PZQ en las NS formuladas. Sin embargo, el punto de fusión de PZQ, tanto en las MF como en las NS, se registró a una temperatura ligeramente menor que en la materia prima. Esto podría deberse a una disminución en la pureza de los componentes individuales y, en el caso particular de las NS, a la reducción del tamaño de partícula según lo predicho por la ecuación de Gibbs-Thomson [61-64].

Como se observa en la Tabla 3.3, los valores de entalpía correspondientes a la endoterma de fusión del PZQ en la formulación F4 (tanto MF como NS) resultaron ser significativamente menores respecto al resultado del PZQ materia prima. Así, mediante la comparación del área bajo la curva del pico de fusión del PZQ, se pudo calcular la cristalinidad relativa del fármaco en los sistemas respecto a la materia prima (C_{total}), encontrándose resultados de 50,0 y 47,2 % de cristalinidad para la MF y NS de F4, respectivamente. Este comportamiento podría atribuirse a dos factores. Por un lado, la presencia del P188, el cual al fundirse a una temperatura menor que el fármaco, podría ocasionar que parte del mismo se solubilice en el fundido [65, 66]. Por otro lado, esta relativa pérdida de cristalinidad concuerda con las observaciones realizadas por otros investigadores, trabajando con éste y otros sistemas y métodos de procesamiento, quienes describen que la PVP tiene la capacidad de promover la formación de fases amorfas e inhibir el crecimiento de cristales [45, 65, 67-69]. En otras palabras, la miscibilidad entre el P188 y la PVP en el estado sólido es muy baja, debido a la incapacidad de formar enlaces (e.g. puentes hidrógeno) entre ambos, dada la escasa disponibilidad de grupos hidroxilo del P188 capaces de interactuar con los grupos carbonilo de la PVP. Por lo cual, en fase sólida, el P188 mantiene su estado cristalino en presencia de la PVP amorfa. Una vez alcanzada la temperatura de fusión del P188, esto podría ocasionar la disolución parcial del fármaco en el fundido y que dicho polímero comience a interactuar con la PVP, actuando como plastificante [65, 70]. No obstante, es

importante destacar que los sistemas nanoparticulados obtenidos no evidencian una amorfización completa luego del proceso de elaboración, manteniéndose aún cristalinos (tal como se discutirá en la sección 3.3.2.5).

3.3.2.5. Caracterización cristalográfica

Con el objetivo de confirmar la ausencia de cambios cristalinos en el PZQ, asociados a su procesamiento para la obtención de las NS, en esta sección se presentan los resultados del análisis cristalográfico de las mismas muestras ya examinadas. Las condiciones experimentales fueron expuestas en la sección 2.2.4.5.

En la Figura 3.12 se presentan los difractogramas de los diferentes componentes individuales de las formulaciones desarrolladas. Como allí se puede observar, el PZQ posee una estructura cristalina, presentando dos picos dobles a $6,5^\circ$ y $8,5^\circ$, y picos de alta intensidad a $4,0^\circ$, $15,4^\circ$, $16,5^\circ$ y $20,0^\circ$. La posición e intensidad de las reflexiones se encuentran acordes a datos previamente publicados, y confirman la presencia de la mezcla racémica de PZQ [52, 71].

Por su parte, P188 presentó también un estado cristalino, con dos picos característicos a, aproximadamente, 19° y 23° (Figura 3.12). Los agentes estabilizantes PVP y MDX mostraron, en cambio, un patrón de difracción amorfo, con ausencia de picos (Figura 3.12). Estos datos están en buen acuerdo con los resultados reportados previamente en literatura [44, 59, 60], y todos coinciden con las observaciones derivadas del análisis por CDB.

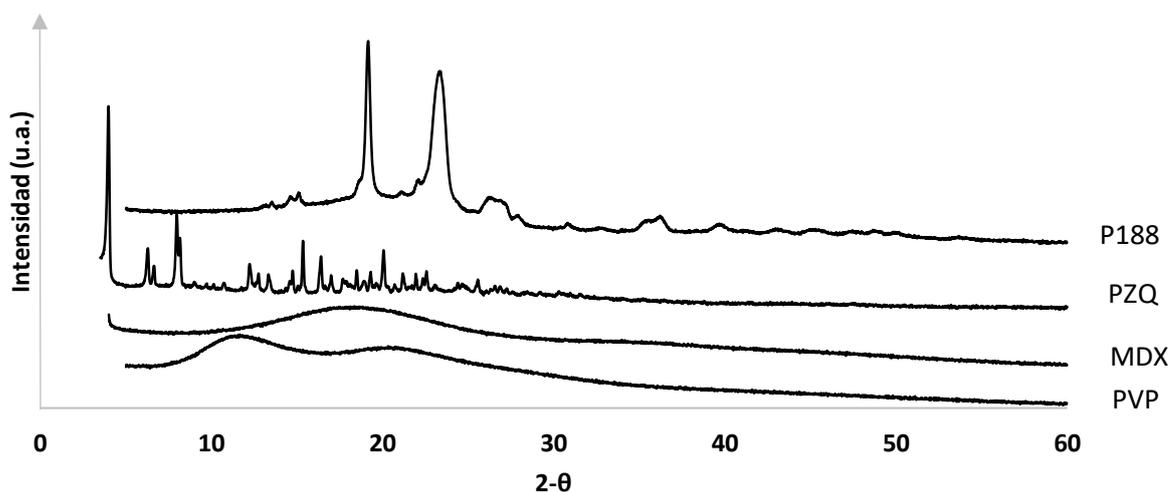


Figura 3.12. Difractogramas de los materiales puros

En la Figura 3.13 se presentan los difractogramas de PZQ materia prima, las NS F4 y F5, y sus correspondientes MF. En este caso, los difractogramas fueron normalizados con el fin de evidenciar la elevación de la línea de base en cada muestra analizada. El patrón de difracción

característico de PZQ se halla conservado, tanto en las MF como en las NS, observándose además los picos característicos del P188 en todos los sistemas evaluados (Figuras 3.13a y 3.13b).

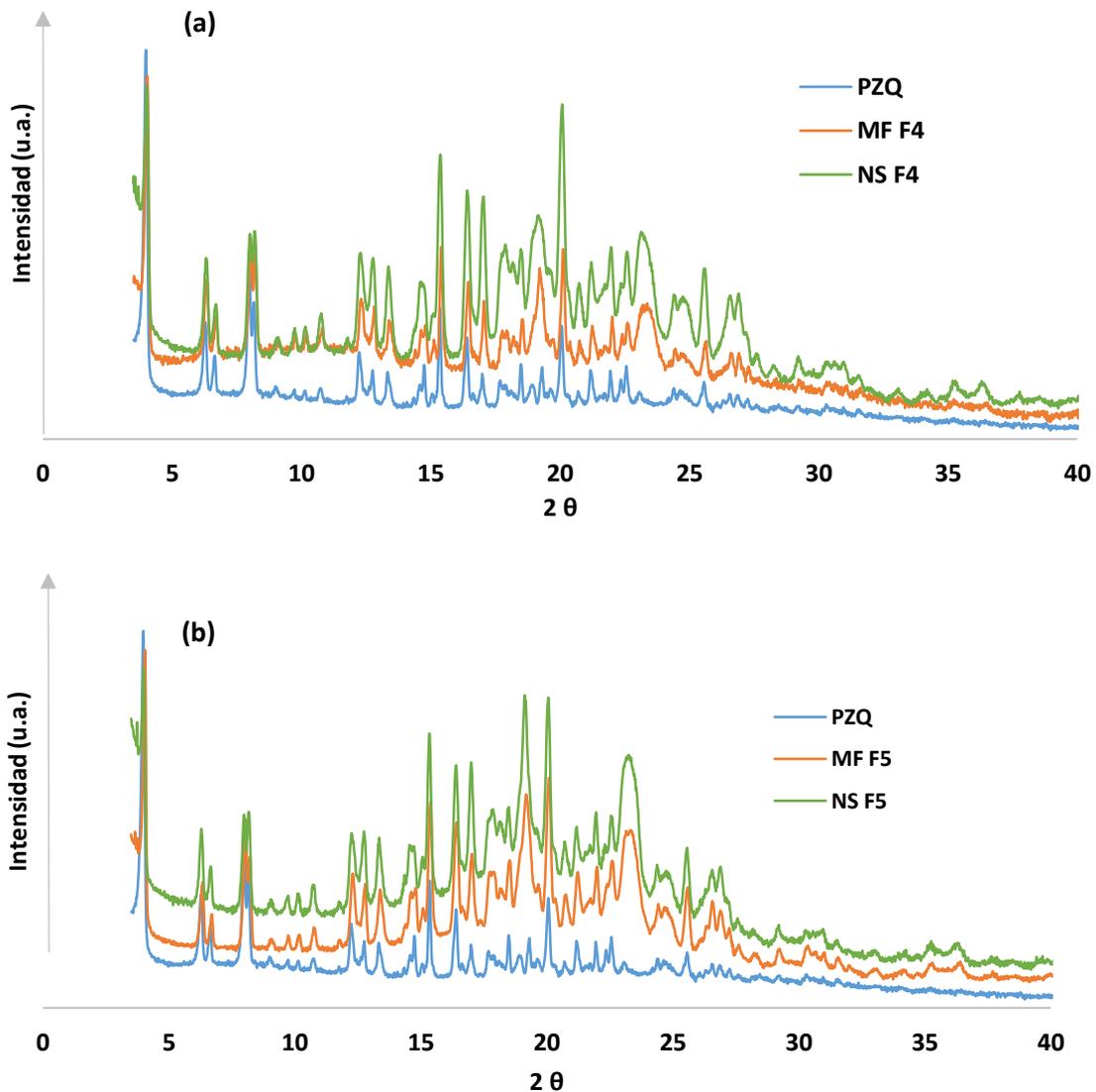


Figura 3.13. Difractogramas de MF y NS correspondientes a (a) F4 y (b) F5

En la técnica de difracción de rayos X es posible evaluar la pérdida de cristalinidad de una muestra a través de la observación del ancho de los picos. Concretamente, los picos se ensanchan cuando la red no se encuentra bien definida. En el caso extremo de un material amorfo, los picos desaparecen, y lo que se obtienen son curvas muy débiles, sin picos definidos. En las muestras analizadas, se observa un ensanchamiento de los picos, tanto para la mezcla física como para las NS de ambas formulaciones. De esta manera, si bien existe una relativa pérdida de cristalinidad, se puede indicar la coexistencia de una fase cristalina y una amorfa, siendo la primera la que se encuentra en mayor proporción. Esto reviste gran importancia desde

el punto de vista de la estabilidad de las formulaciones desarrolladas, dado que la posible aparición de un estado amorfo traería aparejado una mayor inestabilidad [72]. Con el tiempo, las partículas amorfas de alta energía suelen transferirse a un estado cristalino de menor energía y mayor estabilidad, dependiendo este proceso también de la temperatura, el tipo de estabilizante utilizado y la coexistencia de la forma cristalina [73]. Además, para evitar problemas de estabilidad, son en general preferibles las partículas cristalinas, considerando la mayor movilidad del fármaco en fases amorfas [74]. Por estas razones, las formulaciones desarrolladas poseen una ventaja significativa.

3.3.2.6. Disolución *in vitro*

La Figura 3.14 presenta los perfiles de disolución del PZQ materia prima, las MF y NS, obtenidos según lo expuesto en la sección 2.2.4.8. Como se puede ver en dicha figura, el PZQ se disuelve en muy pequeña proporción durante los 60 minutos de duración del ensayo, alcanzando un porcentaje de disolución promedio máximo del 18 %. En el caso de las MF, éstas mejoraron el perfil de disolución de PZQ, con respecto al fármaco puro, alcanzando porcentajes de disolución de 33 y 25 % luego de los 60 minutos, para F4 y F5, respectivamente. Estos resultados están en concordancia con aquellos obtenidos en la sección 3.3.1.2 (*Mojado*), donde se puso en evidencia que los excipientes favorecen la humectabilidad del fármaco, mejorando, en parte, su desempeño de disolución [75].

En el caso de las NS, éstas mejoraron significativamente el perfil de disolución de PZQ, con respecto al fármaco puro y las MF. En tanto, entre ambas formulaciones también se observaron diferencias. Mientras que la formulación F5 alcanzó a los 60 minutos un porcentaje de fármaco disuelto de 75 %, la formulación F4 logró un porcentaje cercano al 90 %, demostrando mejor desempeño de ésta última con respecto a la primera.

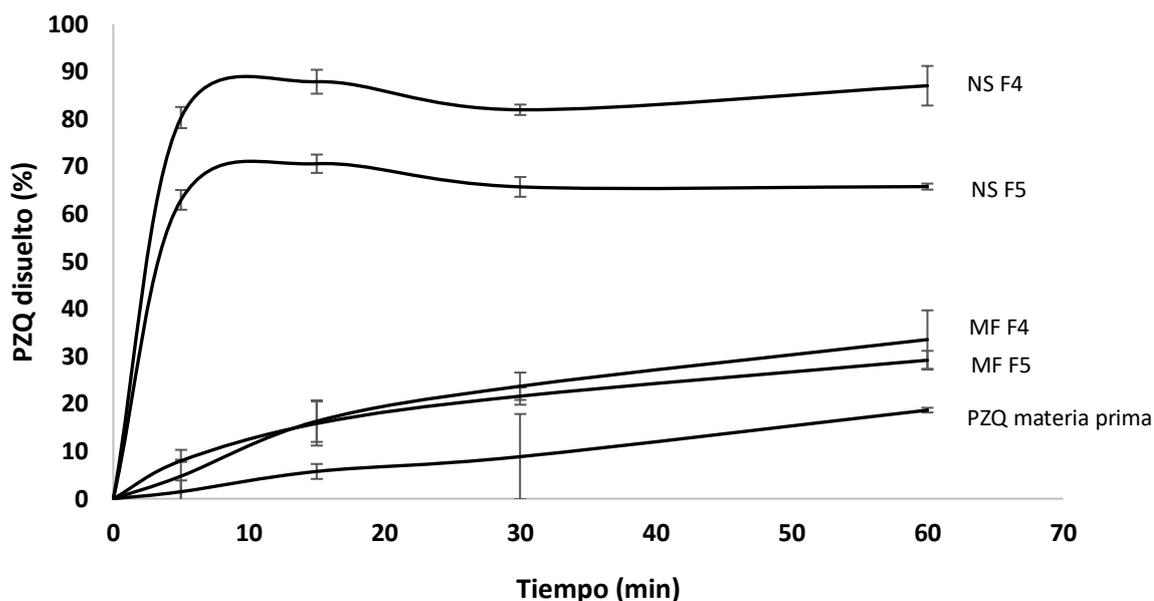


Figura 3.14. Perfiles de disolución de PZQ materia prima, F4 y F5.

Los perfiles de disolución se ajustaron a modelos cinéticos, según lo descrito en la sección 2.2.4.8, hallándose los mejores coeficientes de ajuste para una cinética de tipo Weibull. En la Tabla 3.4 pueden observarse los resultados de ED y del ajuste de los perfiles al modelo cinético de Weibull, así como los valores de α y β (parámetros característicos de este modelo) obtenidos para ambas formulaciones. Es importante destacar que el modelo de Weibull es una función que puede ser aplicada exitosamente a la mayoría de los perfiles de disolución, a pesar de que presenta ciertas deficiencias considerando que se trata de un modelo empírico [76].

Tabla 3.4. Resultados del ajuste de los perfiles de disolución al modelo cinético de Weibull y de ED

Muestra	R^2_{aj}	AIC	MSC	α	β	ED (%)
F4	0,9509	8,72	2,42	$0,77 \pm 0,16$	$0,13 \pm 0,06$	$78,99 \pm 2,87$
F5	0,9811	8,76	3,38	$0,87 \pm 0,07$	$0,14 \pm 0,03$	$63,88 \pm 7,60$

Referencias: R^2_{aj} (coeficiente de determinación ajustado), AIC (criterio de información de Akaike), MSC (criterio de selección del modelo), E.D. (eficiencia de disolución)

Cabe destacar que no se hallaron diferencias significativas entre los valores de los parámetros que caracterizan la cinética de Weibull, α ($p=0,3762$) y β ($p=0,0629$), de las formulaciones evaluadas. Sin embargo, al comparar los perfiles mediante la determinación del rendimiento del proceso, en términos de ED (según lo descrito en 2.2.4.8), se registraron diferencias significativas ($p=0,0323$) entre F4 y F5, siendo la formulación con mayor rendimiento de disolución la desarrollada con PVP (Tabla 3.4).

La modificación de variables cruciales durante el desarrollo de las NS, tales como un aumento de la solubilidad de saturación del fármaco y la reducción del tamaño de partícula *per se*, conducirán a la mejora de la velocidad de disolución del fármaco y del rendimiento del proceso, como se refleja en la ecuación de Noyes-Whitney [77]. Por lo tanto, la mejorada disolución registrada para las NS de PZQ desarrolladas en este trabajo de Tesis podría atribuirse al tamaño reducido de partícula, asociado con un mayor área superficial expuesta y un mejor contacto entre el IFA y el medio de disolución, como se confirmó anteriormente y en concordancia con lo descrito en literatura [78-80].

Además, el hábito cristalino podría tener un efecto significativo sobre el comportamiento de disolución *in vitro*. Según lo descrito por Mengran Guo et al., los nanocristales con formas cilíndricas revelan una mayor biodisponibilidad y disolución *in vitro* que los cristales con formas esféricas, debido al área de superficie más grande y al pequeño espesor de la capa de difusión exhibido por los primeros [81]. Como ya se mencionó en la sección 3.3.2.1., la morfología de las nanopartículas de PZQ resultó ser mayormente alargada, con observación de algunas partículas cúbicas.

En conclusión, cabe destacar que la mejora en la disolución observada podría atribuirse a la conjunción de las variables ya expuestas (reducido tamaño de partícula, mejora en la humectabilidad del fármaco y coexistencia de una fase cristalina con cierta proporción de fase amorfa), siendo más significativa la contribución de estas variables en el caso de F4. Finalmente, es importante mencionar que, en comparación con otras formulaciones descritas en la literatura, la mejora significativa en la velocidad de disolución de PZQ se logró utilizando una metodología simple, de un único paso, libre de solventes orgánicos y con posibilidad de escalado industrial [45, 50, 82].

3.4. Conclusiones

Mediante el uso de HAP, se logró obtener dos sistemas nanoparticulados conteniendo PZQ, con adecuados atributos para su administración por vía oral. Esta técnica demostró ser un proceso robusto y simple para la reducción del tamaño de partícula, de un único paso y sin uso de solventes orgánicos. Se logró una significativa mejora tanto en la velocidad de disolución como en la cantidad final disuelta de PZQ, comparado con el fármaco sin tratamiento y las correspondientes MF. Además, se conservó parcialmente el estado cristalino del PZQ luego del proceso de HAP, lo cual constituye un factor importante a tener en cuenta para las

características de estabilidad de la formulación. Vale la pena destacar que se lograron perfiles de disolución significativamente mejorados, incluso manteniendo cierto grado de cristalinidad del PZQ.

Teniendo en cuenta estos resultados de modo integral y priorizando el comportamiento de disolución, se selecciona la formulación F4 para el desarrollo de formulaciones farmacéuticas pediátricas.

3.5. Bibliografía

1. Keck CM, Müller RH. "Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenization". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 62, no. 1, pp. 3-16, 2006
2. Müller RH, Becker R, Kruss B, Peters K. "Pharmaceutical nanosuspensions for medicament administration as systems with increased saturation solubility and rate of solution". *United States Patent 5, 858, 410*, USA, 1999
3. Müller RH, Mäder K, Krause K. Verfahren zur schonenden Herstellung von hochfeinen Micro-/Nanopartikeln, PCT Application PCT/EP00/06535, Germany, 2000
4. Defain Tesoriero MV. "Nanoadyuvantes para ruta mucosa a partir de fuentes sustentables de lípidos". *Tesis doctoral*. Universidad Nacional de Quilmes, 2016
5. Flourey J, Bellettre JM, Legrand J, Desrumaux A. "Analysis of a new type of high pressure homogenizer. A study of the flow pattern". *Chem. Eng. Sci.*, vol. 59, no. 4, pp. 843-853, 2004
6. Fichera MA, Wissing SA, Müller RH. "Effect of 4000 bar homogenisation pressure on particle diminution in drug suspensions". APV, Nürnberg, 2004
7. Gao L, Zhang D, Chen M. "Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system". *J. Nanopart. Res.*, vol. 10, no. 5, pp. 845-862, 2008
8. Verma S, Kumar S, Gokhale R, Burgess DJ. "Physical stability of nanosuspensions: investigation of the role of stabilizers on Ostwald ripening". *Int. J. Pharm.*, vol. 406, no. 1-2, pp. 145-152, 2011
9. Patravale VB, Date AA, Kulkarni RM. "Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy". *J. Pharm. Pharm.*, vol. 56, no. 7, pp. 827-840, 2004
10. Peltonen L, Hirvonen J. "Pharmaceutical nanocrystals by nanomilling: critical process parameters, particle fracturing and stabilization methods". *J. Pharm. Pharmacol.*, vol. 62, no. 11, pp. 1569-1579, 2010
11. Shete G, Jain H, Punj D, Prajapat H, Akotiya P, Bansal AK. "Stabilizers used in nano-crystal based drug delivery systems". *J. Excip. Food Chem.*, vol. 5, no. 4, pp. 184-209, 2016
12. Müller RH, Peters K. "Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs: I. Preparation by a size-reduction technique". *Int. J. Pharm.*, vol. 160, no. 2, pp. 229-237, 1998
13. Rabinow BE. "Nanosuspensions in drug delivery". *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 3, no. 9, pp. 785-796, 2004
14. Zhang D, Tan T, Gao, L, Zhao W, Wang P. "Preparation of azithromycin nanosuspensions by high pressure homogenization and its physicochemical characteristics studies". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 33, no. 5, pp. 569-575, 2007
15. Li X, Gu L, Xu Y, Wang Y. "Preparation of fenofibrate nanosuspension and study of its pharmacokinetic behavior in rats". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 35, no. 7, pp. 827-833, 2009
16. Homayouni A, Sadeghi F, Varshosaz J, Garekani HA, Nokhodchi A. "Comparing various techniques to produce micro/nanoparticles for enhancing the dissolution of celecoxib containing PVP". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 88, no. 1, pp. 261-274, 2014

17. Safety & Toxicity of Excipients for Paediatrics Database (STEP Database). Disponible en: <http://www.eupfi.org/step-database-info/>
18. Rowe R, Sheskey P, Quinn SC. "Poloxamer", in *Handbook of pharmaceutical excipients 6th Ed*, vol. 40, no. 3, 2009, pp. 506–509.
19. Devi DR, Sandhya P, Hari BV. "Poloxamer: a novel functional molecule for drug delivery and gene therapy". *J. Pharm. Sci. Res.*, vol. 5, no. 8, pp. 159-165 2013
20. Kabanov AV, Batrakova EV, Alakhov VY. "Pluronic® block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery". *J. Control. Release*, vol. 82, no. 2-3, pp. 189-212, 2002
21. Choi JY, Yoo JY, Kwak HS, Nam BU, Lee J. "Role of polymeric stabilizers for drug nanocrystal dispersions". *Curr. Appl. Phys.*, vol. 5, no. 5, pp. 472-474, 2005
22. Moreton RC. "Commonly Used Excipients in Pharmaceutical Suspensions" in *Pharmaceutical suspensions: from formulation development to manufacturing*. Kulshreshtha AK, Singh ON, Wall GM Springer, New York, 2009, pp. 67-103
23. Rowe R, Sheskey P, Quinn SC. "Povidone", in *Handbook of pharmaceutical excipients 6th Ed*, vol. 40, no. 3, 2009, pp. 581–585
24. Rowe R, Sheskey P, Quinn SC. "Maltodextrin", in *Handbook of pharmaceutical excipients 6th Ed*, vol. 40, no. 3, 2009, pp. 418–420
25. Avaltroni F, Bouquerand PE, Normand V. "Maltodextrin molecular weight distribution influence on the glass transition temperature and viscosity in aqueous solutions". *Carbohydrate Polymers*, vol. 58, no. 3, pp. 323–334, 2004
26. Fioramonti SA, Arzeni C, Pilosof AMR, Rubiolo AC, Santiago LG. "Influence of freezing temperature and maltodextrin concentration on stability of linseed oil-in-water multilayer emulsions". *J. Food. Eng.*, vol. 156, pp. 31–38, 2015
27. Ganta S, Paxton JW, Baguley BC, Garg S. "Formulation and pharmacokinetic evaluation of an asulacrine nanocrystalline suspension for intravenous delivery". *Int. J. Pharm.*, vol. 367, no. 1-2, pp. 179-186, 2009
28. Paredes A, Llabot JM, Sanchez-Bruni S; Allemandi D, Palma S. "Self-dispersible nanocrystals of albendazole produced by high pressure homogenization and spray-drying". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 42, no. 10, pp. 1564-1570, 2016
29. Li W, Yang Y, Tian Y, Xu X, Chen Y, Mu L, Zhang Y, Fang L. "Preparation and in vitro/in vivo evaluation of revaprazan hydrochloride nanosuspension". *Int. J. Pharm.*, vol. 408, no. 1-2, pp. 157-162, 2011
30. Wang Y, Li X, Wang L, Xu Y, Cheng X, Wei P. "Formulation and pharmacokinetic evaluation of a paclitaxel nanosuspension for intravenous delivery". *Int. J. Nanomed.*, vol. 6, pp. 1497-1507, 2011
31. Nakach M, Authelin JR, Tadros T, Galet L, Chamayou A. "Engineering of nano-crystalline drug suspensions: Employing a physico-chemistry based stabilizer selection methodology or approach". *Int. J. Pharm.*, vol. 476, no. 1-2, pp. 277-288, 2014

32. Wang Y, Zheng Y, Zhang L, Wang Q, Zhang D. (2013). "Stability of nanosuspensions in drug delivery". *J. Control. Release*, vol. 172, no. 3, pp. 1126-1141, 2013
33. Kayaert P, Van den Mooter G. "Is the amorphous fraction of a dried nanosuspension caused by milling or by drying? A case study with Naproxen and Cinnarizine". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 81, no. 3, pp. 650-656, 2012
34. Susana L, Campaci F, Santomaso AC. "Wettability of mineral and metallic powders: Applicability and limitations of sessile drop method and Washburn's technique". *Powder Technol.*, vol. 226, pp. 68-77, 2012
35. Sinswat P, Gao X, Yacaman MJ, Williams III RO, Johnston KP. "Stabilizer choice for rapid dissolving high potency itraconazole particles formed by evaporative precipitation into aqueous solution". *Int. J. Pharm.*, vol. 302, no. 1-2, pp. 113-124, 2005
36. Wong SM, Kellaway IW, Murdan S. "Enhancement of the dissolution rate and oral absorption of a poorly water soluble drug by formation of surfactant-containing microparticles". *Int. J. Pharm.*, vol. 317, no. 1, pp. 61-68, 2006
37. Buckton G. "The role of compensation analysis in the study of wettability, solubility, disintegration and dissolution". *Int. J. Pharm.*, vol. 66, no. 1-3, pp. 175-182, 1990
38. Van Eerdenbrugh B, Vermant J, Martens JA, Froyen L, Van Humbeeck J, Augustijns P, Van den Mooter G. "A screening study of surface stabilization during the production of drug nanocrystals". *J. Pharm. Sci.*, vol. 98, no. 6, pp. 2091-2103, 2009
39. Cerdeira AM, Mazzotti M, Gander B. "Miconazole nanosuspensions: influence of formulation variables on particle size reduction and physical stability". *Int. J. Pharm.*, vol. 396, no. 1-2, pp. 210-218, 2010
40. Ho R, Naderi M, Heng JY, Williams DR, Thielmann F, Bouza P, Keith RA, Thiele G, Burnett DJ. "Effect of milling on particle shape and surface energy heterogeneity of needle-shaped crystals". *Pharm. Res.*, vol. 29, no. 10, pp. 2806-2816, 2012
41. Wong J, Brugger A, Khare A, Chaubal M, Papadopoulos P, Rabinow B, Kipp J, Ning J. "Suspensions for intravenous (IV) injection: a review of development, preclinical and clinical aspects". *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 60, no. 8, pp. 939-954, 2008
42. Yue PF, Li Y, Wan J, Yang M, Zhu WF, Wang CH. "Study on formability of solid nanosuspensions during nanodispersion and solidification: I. Novel role of stabilizer/drug property". *Int. J. Pharm.*, vol. 454, no. 1, pp. 269-77, 2013
43. Beretzky Á, Kása P, Pintye-Hódi K, Bajdik J, Szabó-Révész P, Erős I. "Pelletization of needle-shaped phenylbutazone crystals". *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 69, no. 2, pp. 529-539, 2002
44. Newa M, Bhandari KH, Li DX, Kwon TH, Kim JA, Yoo BK, Woo JS, Lyoo WS, Yong CS, Choi HG. "Preparation, characterization and in vivo evaluation of ibuprofen binary solid dispersions with poloxamer 188". *Int. J. Pharm.*, vol. 343, no. 1-2, pp. 228-237, 2007
45. De la Torre P, Torrado S, Torrado S. "Preparation, dissolution and characterization of praziquantel solid dispersions". *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 47, no. 11, pp. 1629-1633, 1999
46. Jacobs C, Kayser O, Müller RH. "Nanosuspensions as a new approach for the formulation for the poorly soluble drug tarazepide". *Int. J. Pharm.*, vol. 196, no. 2, pp. 161-164, 2000

47. Mishra PR, Al Shaal L, Müller RH, Keck CM. "Production and characterization of Hesperetin nanosuspensions for dermal delivery". *Int. J. Pharm.*, vol. 371, no. 1-2, pp. 182-189, 2009
48. Abdelbary AA, Li X, El-Nabarawi M, Ellassasy A, Jasti B. "Effect of fixed aqueous layer thickness of polymeric stabilizers on zeta potential and stability of aripiprazole nanosuspensions" *Pharm. Dev. Technol.*, vol. 18, no. 3, pp. 730-735, 2013
49. El-Subbagh HI, Al-Badr AA. "Praziquantel", in: *Florey (Ed.), Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*, 24 Academic Press Inc., 1998, pp. 463–500.
50. Passerini N, Albertini B, Perissutti B, Rodriguez L. "Evaluation of melt granulation and ultrasonic spray congealing as techniques to enhance the dissolution of praziquantel". *Int. J Pharm.*, vol. 318, no. 1-2, pp. 92-102, 2006
51. Liu Y, Wang T, Ding W, Dong C, Wang X, Chen J, Li Y. "Dissolution and oral bioavailability enhancement of praziquantel by solid dispersions". *Drug Del. Transl. Re.*, vol. 8, no. 3, pp. 580-590, 2018
52. Liu Y, Wang X, Wang JK, Ching CB. "Structural characterization and Enantioseparation of the chiral compound praziquantel". *J. Pharm. Sci.*, vol. 93, no. 12, pp. 3039–3046, 2004
53. Karekar P, Vyas V, Shah M, Sancheti P, Pore Y. "Physicochemical investigation of the solid dispersion systems of etoricoxib with poloxamer 188". *Pharm. Dev. Technol.*, vol. 14, no. 4, pp. 373–379
54. Srikanth MV, Babu G, Sunil SA, Rao NS, Murthy KV. "In-vitro dissolution rate enhancement of poorly water soluble non-steroidal antiandrogen agent, bicalutamide, with hydrophilic carriers". *J. Sci. Ind. Res. India*, vol. 69, pp. 629-634, 2010
55. Van den Mooter G, Augustijns P, Bleton N, Kinget R. "Physico-chemical characterization of solid dispersions of temazepam with polyethylene glycol 6000 and PVP K30". *Int. J. Pharm.*, vol. 164, no. 1-2, pp. 67–80, 1998
56. Medina-Torres L, Santiago-Adame R, Calderas F, Gallegos-Infante JA, González-Laredo RF, Rocha-Guzmán NE, Nuñez-Ramirez DM, Bernard-Bernard MJ, Manero, O. "Microencapsulation by spray drying of laurel infusions (*Litsea glaucescens*) with maltodextrin". *Ind. Crop. Prod.*, vol. 90, pp. 1-8, 2016
57. Albertini B, Perissutti B, Bertoni S, Zanolla D, Franceschinis E, Voinovich D, Lombardo F, Keiser J, Passerini N. "Combining Mechanochemistry and Spray Congealing for New Praziquantel Pediatric Formulations in Schistosomiasis Treatment". *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, no. 5, pp. 1233, 2019
58. El-Arini SK, Leuenberger H. "Dissolution properties of praziquantel-PVP systems". *Pharm. Acta Helv.*, vol. 73, no. 3, pp. 89–94, 1998
59. Turner DT, Schwartz A. "The glass transition temperature of poly (N-vinyl pyrrolidone) by differential scanning calorimetry". *Polymer*, vol. 26, no. 5, pp. 757–762, 1985
60. Mollan MJ, Celik M, "Maltodextrin", in *Florey (Ed.), Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*, 24 Academic Press Inc., 1996, pp. 307–349.
61. Mura P, Faucci MT, Manderioli A, Bramanti G, Ceccarelli L. "Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-

- stage microscopy and scanning electron microscopy". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 18, no. 1-2, pp. 151–163, 1998
62. Tița B, Fuliăș A, Bandur G, Marian E, Tița D. "Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 56, no. 2, pp. 221–227, 2011
 63. Hasa D, Voinovich D, Perissutti B, Grassi G, Fiorentino S, Farra R, Abrami M, Colombo I, Grassi M. "Reduction of melting temperature and enthalpy of drug crystals: theoretical aspects". *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 50, no. 1, pp. 17–28, 2013
 64. Kuehl C, El-Gendy N, Berkland C. "NanoClusters surface area allows nanoparticle dissolution with microparticle properties". *J. Pharm. Sci.*, vol. 103, no. 6, pp. 1787–1798, 2014
 65. Orlandi S, Priotti J, Diogo HP, Leonardi, D, Salomon CJ, Nunes TG. "Structural Elucidation of Poloxamer 237 and Poloxamer 237/Praziquantel Solid Dispersions: Impact of Poly (Vinylpyrrolidone) over Drug Recrystallization and Dissolution". *AAPS PharmSciTech*, vol. 19, no. 3, pp. 1274-1286, 2018
 66. Trastullo R, Dolci LS, Passerini N, Albertini B. "Development of flexible and dispersible oral formulations containing praziquantel for potential schistosomiasis treatment of pre-school age children". *Int. J. Pharm.*, vol. 495, no. 1, pp. 536- 550, 2015
 67. Starkloff WJ, Palma, SD, Gonzalez-Vidal NL. "Nanosuspensiones: Disminución del tamaño de partícula como herramienta para mejorar la biodisponibilidad de fármacos liposolubles". *Rev. Mex. Cien. Farm.*, vol. 44, no. 4, pp. 7-16, 2013
 68. Yoshioka M, Hancock B, Zografi G. "Inhibition of Indomethacin crystallization in poly(vinylpyrrolidone) coprecipitates". *J. Pharm. Sci.*, vol. 84, no. 8, pp. 983–986, 1995
 69. Bühler V. "Polyvinylpyrrolidone – Excipients for Pharmaceuticals", *Springer, Germany*, 2005, p. 87
 70. Foustieris E, Tarantili PA, Karavas E, Bikiaris D. "Poly (vinyl pyrrolidone)–poloxamer-188 solid dispersions prepared by hot melt extrusion". *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 113, no. 3, pp. 1037-1047, 2013
 71. Cugovčan M, Jablan J, Lovrić J, Cinčić D, Galić N, Jug M. "Biopharmaceutical characterization of praziquantel cocrystals and cyclodextrin complexes prepared by grinding". *J. Pharmaceut. Biomed.*, vol. 137, pp. 42-53, 2017,
 72. Yu L. "Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization". *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 48, no. 1, pp. 27–42, 2001
 73. Alshora DA, Ibrahim MA, Alanazi FK. "Nanotechnology from particle size reduction to enhancing aqueous solubility" in A.M. Grumezescu (Ed.), *Surface Chemistry of Nanobiomaterials, Elsevier*, 2016, pp. 163–191
 74. Ghosh I, Bose S, Vippagunta R, Harmon F. "Nanosuspension for improving the bioavailability of a poorly soluble drug and screening of stabilizing agents to inhibit crystal growth". *Int. J. Pharm.*, vol. 409, no. 1-2, pp. 260–268, 2011
 75. Lippold BC, Ohm A. "Correlation between wettability and dissolution rate of pharmaceutical powders". *Int. J. Pharm.*, vol. 28, no. 1, pp. 67-74, 1986

76. Costa P, Sousa Lobo JM. "Modeling and comparison of dissolution profiles". *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 13, no. 2, pp. 123-133, 2001
77. Noyes AA, Whitney WR. "The rate of solution of solid substances in their own solutions". *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 19, no. 12, pp. 930-934, 1897
78. Kocbek P, Baumgartner S, Kristl J. "Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs". *Int. J. Pharm.*, vol. 312, no. 1-2, pp. 179-186, 2006
79. Lai F, Pini E, Angioni G, Manca ML, Perricci J, Sinico C, Fadda AM. "Nanocrystals as tool to improve piroxicam dissolution rate in novel orally disintegrating tablets". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 79, no. 3, pp. 552-558, 2011
80. Mauludin R, Müller RH, Keck CM. "Kinetic solubility and dissolution velocity of rutin nanocrystals". *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 36, no. 4-5, pp. 502-510, 2009
81. Guo M, Fu Q, Wu C, Guo Z, Li M, Sun J, He Z, Yang L. "Rod shaped nanocrystals exhibit superior in vitro dissolution and in vivo bioavailability over spherical like nanocrystals: a case study of lovastatin". *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, vol. 128, pp. 410-418, 2015
82. El-Lakkany N, Seif El-Din SH, Heikal L. "Bioavailability and in vivo efficacy of a praziquantel-polyvinylpyrrolidone solid dispersion in *Schistosoma mansoni*-infected mice". *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, vol. 37, no. 4, pp. 289-299, 2012

CAPÍTULO 4

Desarrollo y caracterización de polvos nanocompuestos obtenidos mediante Secado por Atomización

4.1. Introducción

Como se ha señalado previamente, la principal ventaja de los sistemas nanométricos destinados a la administración oral es su mejorada solubilidad y velocidad de disolución, que se origina a partir del área superficial aumentada. Sin embargo, las NS líquidas están comúnmente asociadas a eventos de inestabilidad física que incluyen sedimentación, cremado, crecimiento de cristales y/o agregación, que afectan fundamentalmente la exactitud de dosis y la disolución del fármaco [1, 2].

La transformación de las NS en un producto sólido constituye una de las principales formas de solucionar tales problemas de estabilidad [3]. El polvo obtenido a partir de una NS constituye un producto versátil, dado que se puede utilizar como tal, reconstituido en diferentes vehículos, o bien como producto intermedio para la posterior obtención de comprimidos, cápsulas, u otras formas farmacéuticas. Es importante tener en cuenta que luego de todas las etapas de producción del medicamento, se deben conservar las propiedades mejoradas del fármaco que presentaban las NS que les dieron origen, tal como su mayor velocidad de disolución [4].

Técnicamente, la transformación de las NS en productos sólidos se puede lograr mediante procesos, tales como liofilización, secado por atomización, pelletización y granulación, siendo los dos primeros los más utilizados para este propósito [5]. Como se mencionó en el Capítulo 2, en esta Tesis se utilizó el secado por atomización (SA, *spray drying*) para la obtención de un producto seco. Esta técnica presenta varias ventajas en comparación con la liofilización. Entre ellas se puede mencionar que permite obtener un producto en polvo y que requiere menor consumo de energía y tiempo de procesamiento [6].

El SA es un proceso continuo, costo-efectivo, reproducible y escalable. En líneas generales, consta de los siguientes pasos: (1) atomización del sistema líquido (solución, suspensión o emulsión), (2) secado de las finas gotas atomizadas utilizando aire caliente, (3) separación del polvo seco del aire, mediante el uso de ciclones, y (4) recolección del producto seco [7, 8].

En la Figura 4.1 se puede observar un esquema del equipo de SA. En primer lugar, una bomba peristáltica conduce una formulación líquida hacia un atomizador, en el cual se genera una gran cantidad de microgotas, que se mezclan con el aire de secado caliente en el interior de la cámara de secado. Este aire caliente, que se encuentra a una dada temperatura (T_{entrada}), permite la evaporación del agua contenida en las gotas para producir partículas, que circulan hacia un

ciclón de separación y se depositan en un recipiente colector. Finalmente, el aire, luego de pasar a través de un filtro que retiene partículas remanentes, es descargado a la atmósfera [9].

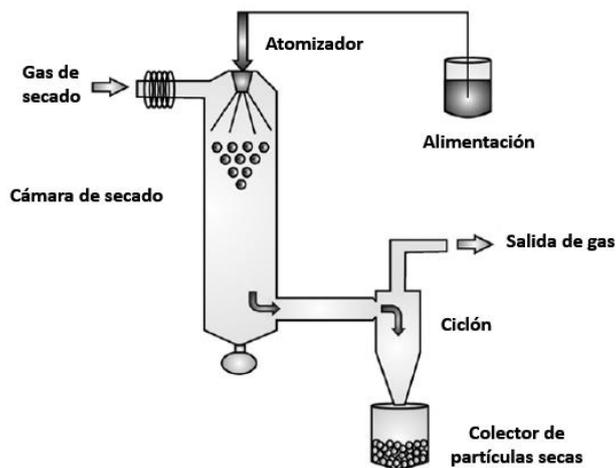


Figura 4.1. Equipo de secado por atomización (esquema co-corriente). Adaptado de Referencia [7].

Las condiciones operativas del secado y la composición de la formulación líquida que se procesará, suelen tener un efecto significativo sobre las propiedades del producto y el rendimiento del proceso [10, 11]. Respecto a las condiciones operativas, es posible ajustar el caudal del sistema líquido a atomizar, la temperatura y caudal del aire de secado y el caudal o presión del aire de atomización [11, 12]. En relación a la composición de la formulación líquida, es relevante el tipo de sistema que se atomiza (soluciones o sistemas dispersos), el contenido de sólidos, su viscosidad y tensión superficial [13].

Un potencial inconveniente de esta metodología podría ser la posibilidad de que el producto procesado sufra una degradación térmica o un cambio físico (fusión o transición vítrea) debido al uso de aire caliente. Sin embargo, la temperatura de entrada del aire de secado se puede seleccionar y controlar con precisión, el tiempo de procesamiento es corto y en la cámara la temperatura del aire disminuye a medida que se evapora el solvente presente en la muestra. Todos estos factores contribuyen a que con una adecuada selección de las condiciones operativas, las aplicaciones de esta tecnología se expandan en el campo farmacéutico.

Diversos autores han reportado la obtención de sistemas sólidos particulados a partir de NS, de diversos fármacos, mediante la aplicación de esta técnica [14-18]. Una vez obtenido el producto seco, el principal desafío es lograr una buena redispersabilidad del polvo, de manera que se alcancen nuevamente tamaños de partícula nanométricos. Durante el SA puede ocurrir

agregación de las partículas, lo que conduce a la pérdida relativa de la gran superficie expuesta de las nanopartículas [19]. Para prevenir una agregación irreversible, se suelen agregar a las NS a atomizar, cantidades significativas de dispersantes solubles en agua, tales como azúcares (lactosa, trehalosa, sacarosa), alcoholes de azúcar (manitol, xilitol) o ciclodextrinas [7]. Sin embargo, en el caso de una formulación con una dosis alta de fármaco, como ocurre en el caso particular del PZQ, se debe minimizar el agregado de excipientes adicionales. Por esta razón, resultaría estratégico preparar un polvo seco de NS evitando el uso de adyuvantes de secado.

Como ya se mencionó en el Capítulo 1, el desarrollo de formulaciones pediátricas representa un desafío, ya que normalmente las pautas de dosificación se ajustan según la edad, el peso u otros parámetros que cambian con el crecimiento. Por lo tanto, las formas farmacéuticas debieran ofrecer no sólo facilidad de administración y aceptación por parte del paciente, sino también flexibilidad en la dosificación. A una edad temprana, existe preferencia por las formulaciones líquidas ya que son más fáciles de deglutir que los comprimidos convencionales [20]. Por esta misma razón, estas formas farmacéuticas son beneficiosas en la administración de dosis altas de principio activo, tal como ocurre con PZQ. Las suspensiones extemporáneas son formulaciones sólidas que se convierten en una forma líquida, mediante su dispersión en agua u otro vehículo adecuado. Por ello, combinan las ventajas de las formas farmacéuticas líquidas con las de las formulaciones sólidas.

Otro factor a considerar en el diseño de medicamentos pediátricos orales es la presentación del envase, ya que constituye un componente crítico para mantener la estabilidad química y física, así como también para lograr el cumplimiento y la adherencia al tratamiento y el manejo adecuado de la formulación por parte del responsable de administrarla. Por lo tanto, la elección del tipo de envase depende en gran medida de la edad del grupo objetivo, del tipo de formulación, de los requisitos de estabilidad, del tipo de frecuencia de uso (dosis única o múltiple) y de la flexibilidad de dosis requerida. Habitualmente, las formulaciones orales para niños se presentan en botellas de vidrio o plástico o sachets, condición que es seleccionada durante la etapa de preformulación, teniendo en cuenta las propiedades del IFA y los excipientes, así como también las necesidades del paciente [21].

En la figura 4.2 se esquematiza una guía sugerida para la selección del envase primario de formas farmacéuticas orales, destinadas a pacientes pediátricos [21]. Teniendo en consideración el tipo de producto que se describirá en el presente capítulo (polvos obtenidos por SA destinados a administración extemporánea), se podría proponer un kit conteniendo el polvo y el vehículo apropiado para su redispersión en envases primarios separados o un solo envase con

compartimentos diferentes para el polvo y el vehículo. Esto resultaría sumamente interesante en el caso de administración del producto en zonas endémicas de esquistosomiasis, donde el acceso a agua potable es limitado.

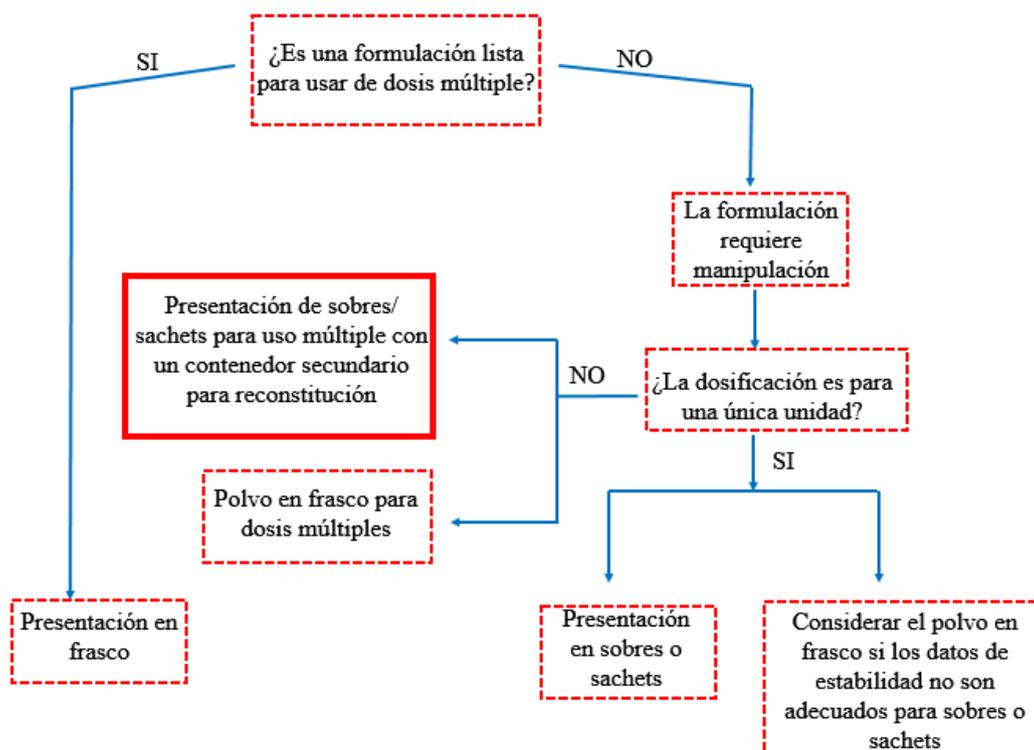


Figura 4.2. Esquema de selección de envase primario adecuado para formulaciones pediátricas orales. Adaptado de Referencia [21].

En este capítulo, se pretende entonces desarrollar un polvo, a partir de las NS de PZQ obtenidas, que al redispersarse en un medio acuoso mantenga las propiedades beneficiosas de las nanopartículas. Los polvos destinados a ser reconstituídos en un medio líquido requieren que sus partículas se mantengan suspendidas durante el período de uso o, si sedimentan, que la redispersión resulte efectiva con una simple agitación manual [22]. En este sentido, la reconstitución del polvo llevada a cabo en este trabajo de Tesis se efectuó en una mezcla de vehículos para soluciones y suspensiones, comercialmente conocidos como Ora Sweet® y Ora Plus® respectivamente, los cuales proporcionarán un medio suspensor adecuado, además de agradable sabor. Cabe mencionar que estos vehículos son ampliamente utilizados en la reformulación de medicamentos en pediatría, pudiendo considerarse seguros para su uso [23-27].

Generalmente, la redispersabilidad de las formulaciones sólidas se puede evaluar en relación con la distribución de tamaño de las partículas del producto reconstituído y / o la velocidad de

disolución [28]. El tamaño de partícula, una vez reconstituido el producto seco, se compara con el tamaño de partícula original en las NS primarias. Dado que no existe un estándar de evaluación, generalmente las formulaciones sólidas cuyo tamaño de partícula reconstituido en un medio adecuado alcanzan el rango nanométrico, pueden considerarse como poseedoras de una apropiada redispersabilidad [28].

4.2. Formulaciones

Dado que la formulación F4 (PZQ-P188-PVP) resultó ser la más prometedora en cuanto al comportamiento de disolución evidenciado (tal cual se describió en el Capítulo 3), la evaluación del proceso de SA se realizó sobre esta NS. Además, con el fin de evaluar la influencia del contenido de sólidos sobre el proceso de SA, se decidió ensayar tres condiciones diferentes, variando la cantidad de excipiente, aunque manteniendo constante la proporción entre ambos estabilizantes y la concentración final de PZQ en la formulación (1 %, p/v).

Partiendo de la condición inicial, en la que la proporción fármaco excipiente fue de 1:1, se evaluó la incorporación de cantidades correspondientes a la mitad y al doble de excipiente con respecto al fármaco, es decir una proporción 1:0,5 y 1:2, respectivamente. Se prepararon así tres NS (Tabla 4.1) que posteriormente fueron sometidas al proceso de SA, de acuerdo a lo expuesto en la sección 2.2.3.

Tabla 4.1. Composición de las distintas formulaciones

Formulación	Composición	Porcentaje (% p/v)	Relación IFA:excipiente
NS1	PZQ - P188 – PVP	1,00 - 0,25 - 0,25	1:0,5
NS2	PZQ - P188 – PVP	1,00 - 0,50 – 0,50	1:1
NS3	PZQ - P188 – PVP	1,00 - 1,00 -1,00	1:2

4.3. Resultados

4.3.1. Proceso de secado por atomización

Como se comentó previamente, la técnica de SA es un proceso ampliamente utilizada en el campo del diseño de partículas para vehicular principios activos en portadores solubles y optimizar propiedades del polvo, tales como tamaño de partícula y redispersabilidad [29, 30].

Uno de los parámetros de especial consideración, durante la aplicación de SA, es el rendimiento del proceso. Los resultados obtenidos fueron 31 %, 45 % y 58 % para el secado de NS1, NS2 y NS3, respectivamente. Estos valores pueden considerarse aceptables, teniendo en cuenta que se utilizó un equipo de SA a escala de laboratorio y no se agregaron adyuvantes de secado [13]. Además, estos resultados indicaron que no hubo una adhesión significativa de partículas sólidas a las paredes de la cámara del equipo, lo que normalmente ocurre cuando se usan polímeros de bajo puntos de fusión, como es el caso de P188 ($T_{\text{fusión}}=57,6\text{ }^{\circ}\text{C}$). En este sentido, la selección de la baja temperatura de entrada fue gobernada por la presencia de P188, con el fin de evitar la adherencia y la aglomeración de las partículas una vez secas [31].

Además, se puede observar que a medida que aumenta el contenido de sólidos, el rendimiento del proceso también es mayor. Este comportamiento se podría explicar teniendo en cuenta que a medida que las dispersiones se vuelven más concentradas, la cantidad de agua en la gota disminuye, lo que conduce a mayores rendimientos del proceso, según lo descrito por Ceschan y col. [13].

Finalmente, con respecto a los resultados de temperatura de salida (T_s), éstos se encontraron en el rango de 36-38 ° C. El punto de mayor estrés térmico para las muestras ocurre cuando ya se obtiene el polvo y la temperatura del aire alcanza el valor T_s . Como la degradación térmica de PZQ, P188 y PVP comienza alrededor de 260 °C, 305 °C y 428 °C, respectivamente, no se debieran esperar procesos que afecten la estabilidad de los materiales [32-34].

Los resultados obtenidos indican que el proceso de SA se aplicó con éxito, aunque los valores de rendimiento podrían optimizarse estudiando diferentes condiciones operativas.

4.3.2. Caracterización del producto sólido y del polvo redispersado

Los productos obtenidos fueron caracterizados de acuerdo a lo expuesto en la sección 2.2.4.

4.3.2.1. Contenido de humedad del polvo

El contenido de humedad de los polvos obtenidos fue menor al 1 % en todos los casos. Estos resultados confirman que la temperatura de entrada seleccionada, si bien fue baja, no afectó el adecuado secado del producto, bajo el conjunto de condiciones operativas seleccionadas.

4.3.2.2. Distribución de tamaño de partículas

Los tamaños de partícula obtenidos luego del procesamiento por HAP y SA se muestran en la Tabla 4.2.

Tabla 4.2. Distribución de tamaño de partículas de NS, polvos secos y polvos redispersados en agua.

	D_{50} (μm)	D_{90} (μm)	Z_{size}/D_{43} (μm) ^a	IPD/ <i>span</i> ^a
NS				
NS1	1,04 ± 0,08	2,34 ± 0,30	0,89 ± 0,02	0,32
NS2	0,82 ± 0,07	1,38 ± 0,05	0,71 ± 0,03	0,19
NS3	1,05 ± 0,002	2,02 ± 0,38	0,85 ± 0,01	0,28
Polvos				
SA1	10,35 ± 0,26	21,83 ± 2,84	14,45 ± 3,21	1,53
SA2	9,72 ± 0,12	19,75 ± 1,85	13,04 ± 2,20	1,46
SA3	11,52 ± 0,32	27,96 ± 2,51	18,07 ± 1,70	1,95
Polvos redispersados				
SA1 Redispersado	1,13 ± 0,11	2,14 ± 0,1	0,91 ± 0,04	0,26
SA2 Redispersado	0,71 ± 0,11	1,07 ± 0,32	0,67 ± 0,04	0,17
SA3 Redispersado	1,08 ± 0,12	1,78 ± 0,28	0,96 ± 0,03	0,15

Definiciones: SA1, polvo obtenido por SA de la NS1. SA2, polvo obtenido por SA de la NS2. SA3, polvo obtenido por SA de la NS3

^a El parámetro medido corresponde a la técnica utilizada en cada caso (D_{43} y *span*, en el caso de DL; Z_{size} e IPD, en el caso de ECF)

En todas las NS desarrolladas como insumo para el SA (y de acuerdo a los resultados ya descriptos en el Capítulo 3) se evidenció una significativa disminución en el tamaño de partícula de PZQ luego de la aplicación de HAP, alcanzando valores inferiores a 1 μm . Además, los valores de IPD fueron, en todos los casos, inferiores a 0,32, lo que indica una distribución estrecha, en comparación con la distribución amplia registrada para la materia prima PZQ, en términos de valor de *span*, cuyo valor fue de 7,20 (ver Capítulo 3). Teniendo en cuenta que la única diferencia entre las tres NS desarrolladas fue la relación fármaco: estabilizante, se puede concluir, en primera instancia, que la distribución de tamaño de partículas no se vio afectada por este parámetro.

Después del proceso de secado, los polvos mostraron un diámetro volumétrico medio (D_{43}) entre 13,04 y 18,07 μm y valores de *span* inferiores a 2, lo que indica una distribución de tamaño de partículas estrecha (Tabla 4.2). Como el tamaño de partícula del polvo producido es mayor al de los cristales presentes en las NS, es relevante evaluar si al tomar contacto con agua revierten al sistema nanométrico que les dio origen.

En este sentido, cuando los polvos SA se redispersaron en agua, la distribución de tamaño de partículas no difirió significativamente respecto al de las correspondientes NS originales, con resultados de tamaño medio (Z_{size}) menores a una micra en los tres casos (Tabla 4.2).

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir que los polvos SA de PZQ mostraron una excelente capacidad de redispersión, posiblemente debido a la formación de una matriz soluble alrededor de las partículas del fármaco como se ha demostrado en estudios utilizando albendazol [35]. Se observaron comportamientos similares en polvos SA de indometacina, lovirida y fenitoína, fármacos insolubles en agua que presentan valores de Log P similares a PZQ (3,3; 3,7 y 2,3 respectivamente, siendo 2,5 el valor LogP de PZQ). Esto es debido a que la tendencia de los nanocristales a aglomerar durante el SA dependería principalmente de la hidrofobicidad del fármaco [36].

4.3.2.3. Morfología de las partículas

Para estudiar el efecto de las formulaciones propuestas y los procesos aplicados sobre la morfología de las partículas, los polvos obtenidos se analizaron por MEB. Las Figuras 4.3 y 4.4 muestran las micrografías correspondientes a las MF y los productos obtenidos mediante SA, respectivamente.

De manera general, para el caso de las MF, se puede observar la presencia de aglomerados constituidos por partículas alargadas de PZQ adsorbidas sobre la superficie de los excipientes esféricos (Figura 4.3).

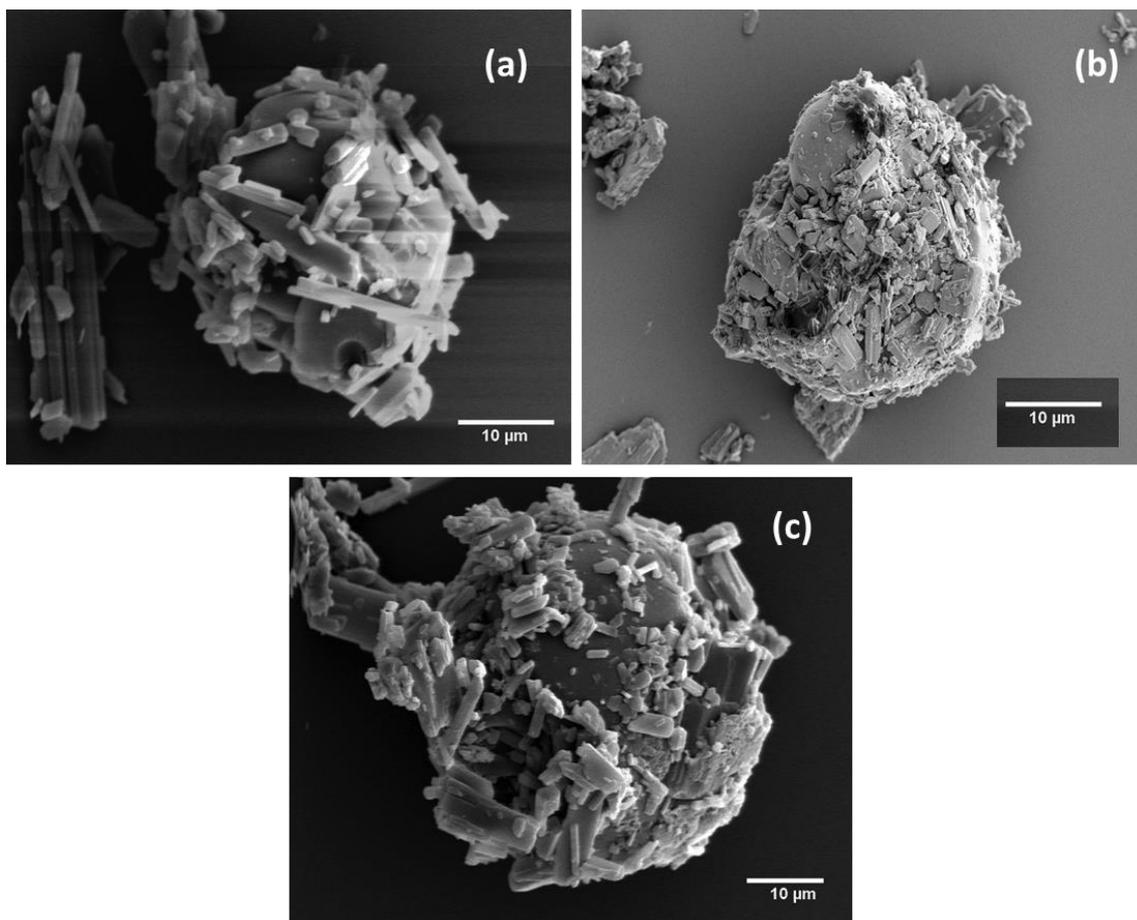


Figura 4.3. Micrografías de las MF (a) MF1 (correspondiente a la relación 1:0,5), (b) MF2 (correspondiente a la relación 1:1) y (c) MF3 (correspondiente a la relación 1:2)

Con respecto a los polvos obtenidos luego del proceso de secado, se observa que la morfología resultante fue mayormente esférica, con una superficie lisa, a diferencia de los bordes agudos y la superficie estriada del PZQ (Figura 4.4). Esta esfericidad se podría atribuir al efecto de recubrimiento de los excipientes y al proceso de SA en sí mismo, ya que, como se indicó en el Capítulo 3, el PZQ conserva su forma alargada luego del proceso de HAP. El proceso de recubrimiento enunciado se evidencia claramente en la Figura 4.4.e, donde pueden observarse ciertas partículas de PZQ, con su forma característica, encapsuladas dentro de partículas esféricas de polvo seco.

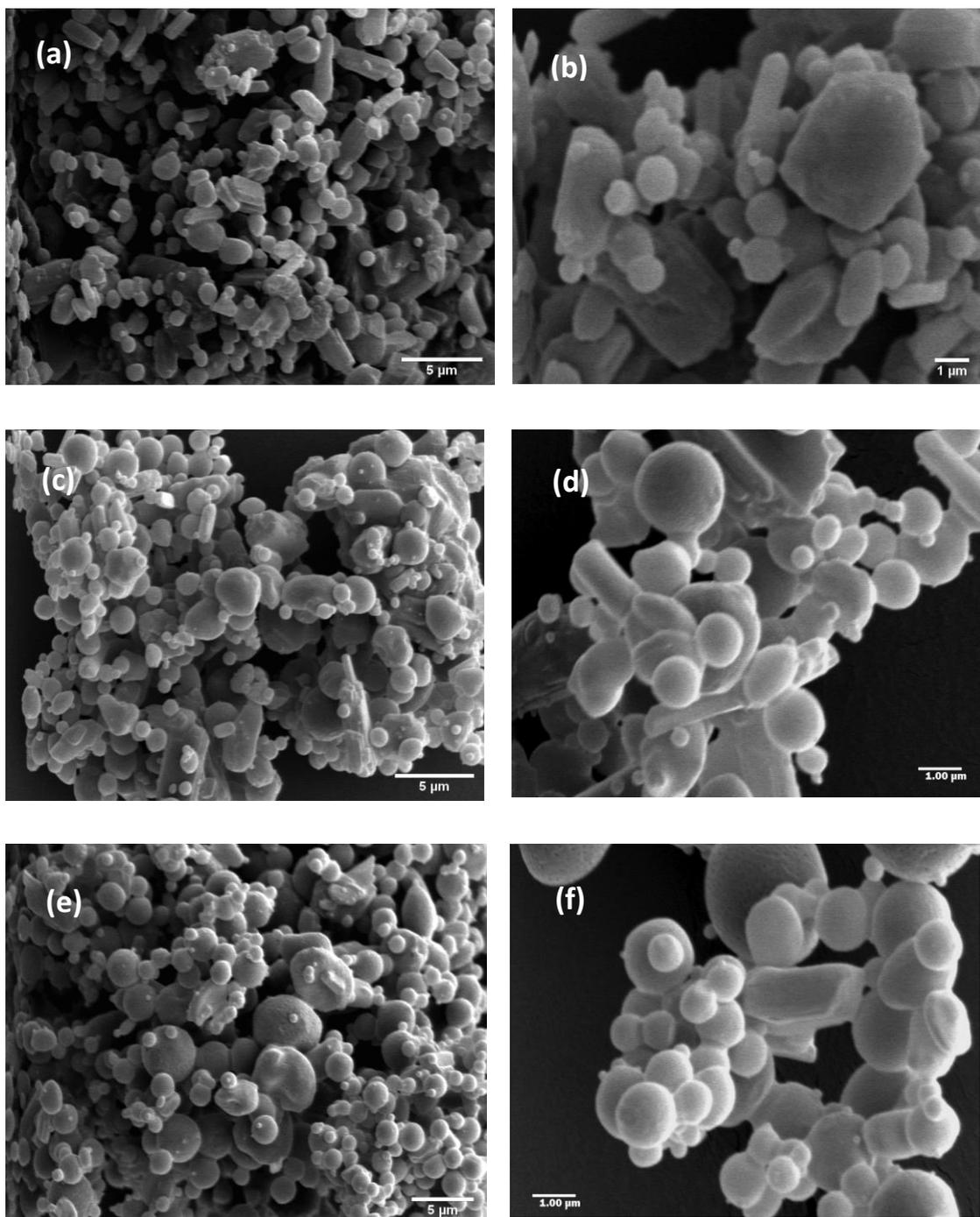


Figura 4.4. Micrografías SA1 (a) 3000X, (b)10000X; SA2 (c) 3000X, (d)10000X y SA3 (e) 3000X, (f)10000X

También se puede observar en las micrografías que la cantidad de partículas esféricas resultó mayor a medida que aumenta la proporción de estabilizante (Figura 4.4). En el caso de la formulación con menor proporción de excipientes (SA1), la cobertura de las partículas de PZQ no fue completa, y se logran observar algunas partículas de fármaco aisladas (Figura 4.4.a). Sin embargo, estas partículas exhibieron una superficie más lisa, sin los bordes agudos característicos de la materia prima, debido al efecto de recubrimiento de los estabilizantes. A

medida que aumenta la proporción de estabilizante, la presencia de partículas esféricas se hace más notoria (Figuras 4.4.c y 4.4.e).

Considerando tanto la distribución de tamaño de partículas como la morfología de las partículas secas, se puede concluir que las nanopartículas de PZQ fueron microencapsuladas por los excipientes solubles durante el proceso de SA, obteniéndose así estructuras conocidas como micropartículas nanocompuestas (*nanocomposite microparticles*) [7, 37].

4.3.2.4. Caracterización por FT-IR

Con el objetivo de evaluar el desarrollo de posibles modificaciones químicas luego del proceso de SA, los polvos obtenidos se evaluaron mediante espectroscopia infrarroja, y se compararon con los componentes puros y una MF de referencia (en proporción 1:1 de PZQ:estabilizante).

El espectro FT-IR obtenido de los diferentes polvos se muestra en la Figura 4.5. Allí pueden observarse las bandas características de PZQ, P188 y PVP, de acuerdo a lo ya descrito en la sección 3.3.2.3, las cuales se han mantenido sin variaciones significativas en los espectros de los polvos SA, siendo las curvas totalmente superponibles entre sí y con la MF. Esto demuestra que el proceso de SA no ha provocado ninguna modificación química en el fármaco.

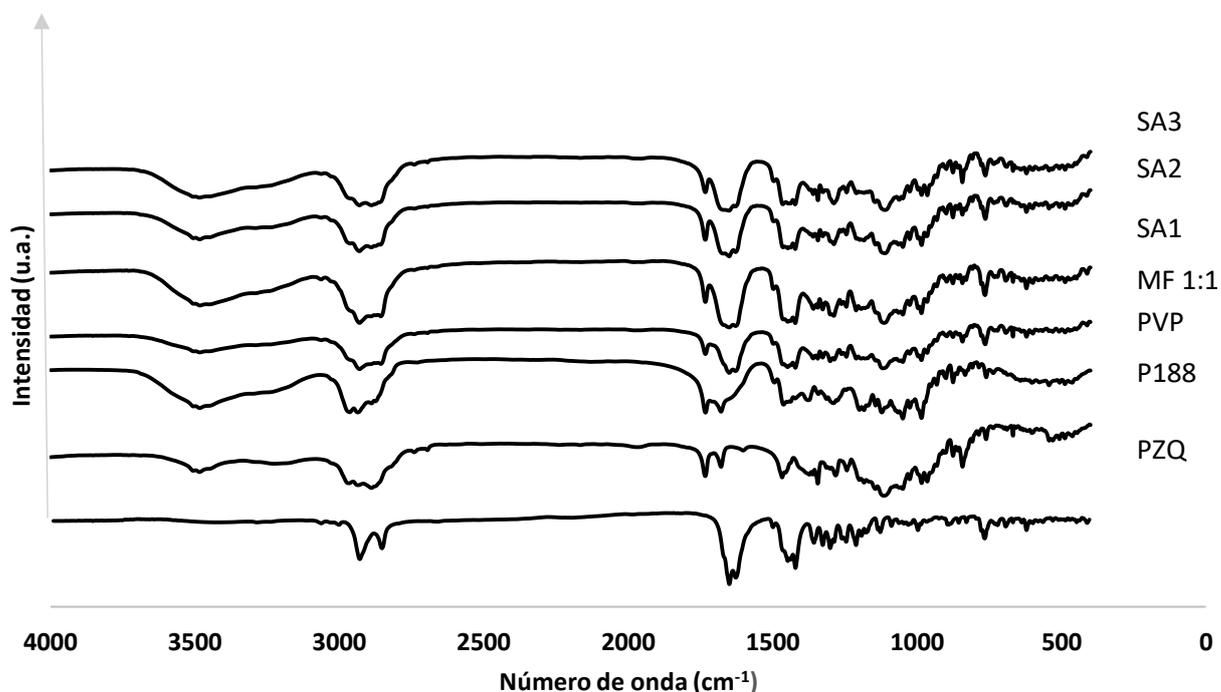


Figura 4.5. Espectros FT-IR obtenidos luego del SA, en comparación con componentes puros y una MF de referencia.

4.3.2.5. Análisis térmico

Es sabido que el proceso de SA puede inducir cambios polimórficos o una amorfización del fármaco encapsulado [7, 38]. En este sentido, se estudió el comportamiento térmico de los polvos obtenidos, mediante CDB. Los termogramas del fármaco puro, los excipientes, las MF y los polvos SA se presentan en la Figura 4.6. Además, los valores de temperaturas y entalpías registrados para el evento térmico de fusión del PZQ se indican en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Comportamiento térmico de los materiales puros, las MF y los polvos SA.

Muestra	Temperatura de inicio de la fusión de PZQ (T_{onset}) (°C)	Punto de fusión de PZQ (T_{peak}) (°C)	ΔH_f de PZQ (J/g) ^a	C_{total} (%) ^b
PZQ	139,4	144,2	100,9	100
MF1	133,4	138,9	51,4	77,9
MF2	127,1	136,4	25,2	50,0
MF3	118,7	126,5	12,1	36,6
SA1	128,8	138,3	47,4	71,8
SA2	123,6	132,3	26,3	52,1
SA3	120,7	130,0	13,0	39,3

^a Entalpía de Fusión de PZQ. Se expresa como J/g de muestra analizada

^b Cristalinidad relativa del fármaco

Tal como se mencionó en la sección 3.3.2.4, el PZQ presenta una naturaleza cristalina, que se evidencia por el marcado punto de fusión del fármaco. En cuanto a los excipientes, P188 presenta una estructura cristalina, mientras que la ausencia de eventos de fusión indica la naturaleza amorfa de la PVP (Figura 4.6).

Por su parte, las MF y los polvos SA de las tres formulaciones presentan ambos eventos térmicos antes mencionados, conservándose, en todos los casos, la estructura cristalina de PZQ (Figura 4.6 y Tabla 4.3). Sin embargo, se observó un ensanchamiento y un ligero desplazamiento de las endotermas de fusión, en las MF y los polvos SA. Además, se observó una cierta reducción en el porcentaje de cristalinidad (C_{total}), calculado según lo indicado en la sección 3.3.2.4. Los resultados obtenidos fueron 71,8 %, 52,1 % y 39,3 %, para SA1, SA2 y SA3 respectivamente (Tabla 4.3). Tal como se discutió en la sección 3.3.2.4, esto podría atribuirse a diversos factores, tales como la dilución del IFA en la mezcla de estabilizantes, la solubilización del PZQ en el P188 fundido, y la presencia de PVP amorfa que promueve la formación de fases amorfas en el IFA [39-45]. Estos resultados demostraron que hubo una cierta pérdida de cristalinidad, y que este

efecto fue mayor a medida que aumentó la cantidad de excipiente, sin poder atribuirle un efecto significativo al proceso de SA sobre dicho parámetro.

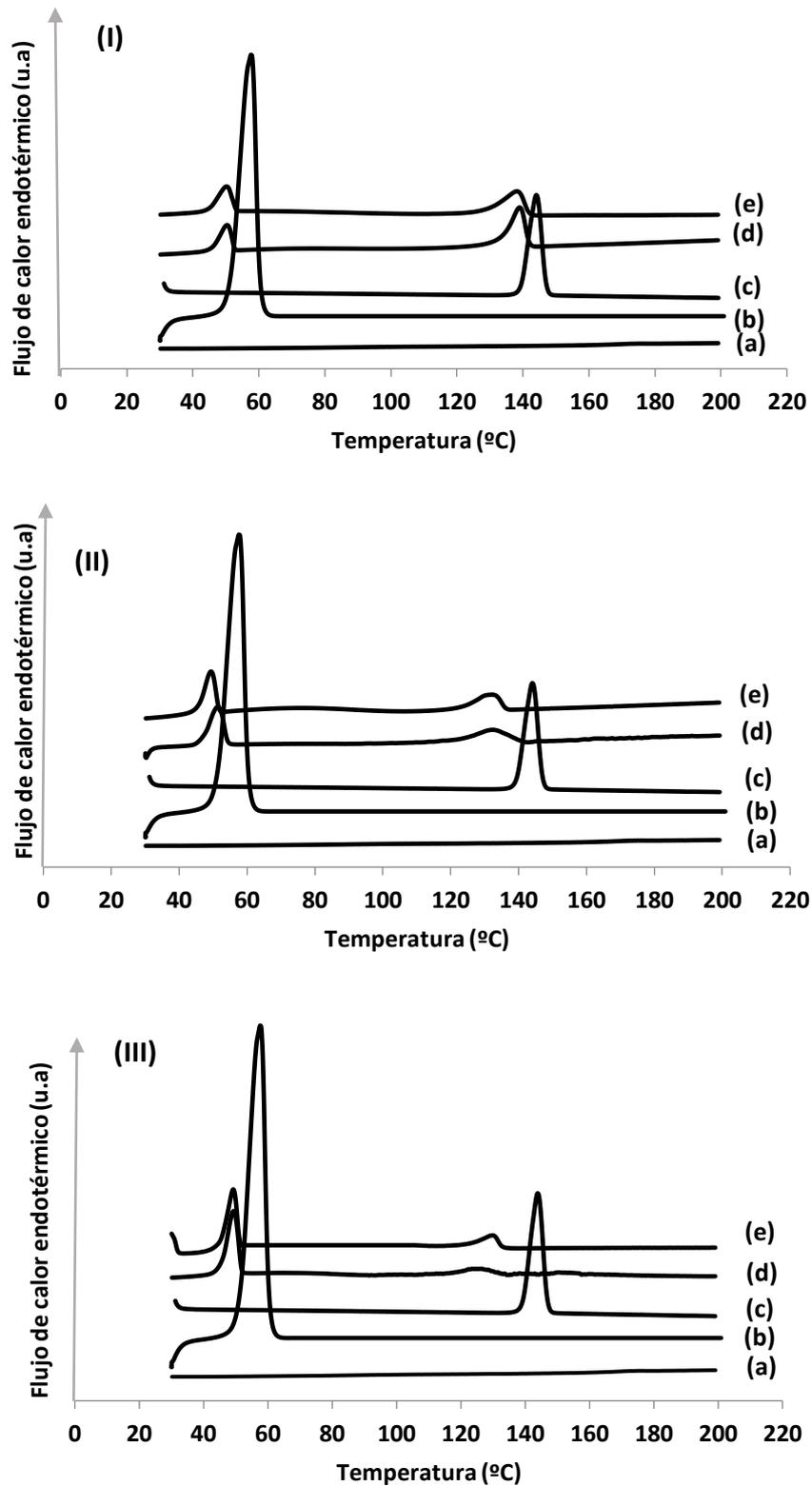


Figura 4.6. Termogramas de SA1 (I), SA2 (II) y SA3 (III), indicando las curvas de: (a) PVP; (b) P188; (c) PZQ; (d) MF; (e) polvos SA

4.3.2.6. Caracterización cristalográfica

Adicionalmente a los estudios térmicos comentados recientemente, el estado cristalino de PZQ en los polvos obtenidos se confirmó a través del estudio de rayos X. Los difractogramas se muestran en la Figura 4.7. Como se indicó en la sección 2.2.4.5, el análisis se llevó a cabo en el rango 2θ de $3,5^\circ$ a 60° . Sin embargo, entre 30° y 60° no se encontraron picos de interés, por lo tanto, los resultados se muestran sólo hasta 30° . Cabe aclarar, además, que los difractogramas fueron normalizados con el fin de visualizar la elevación de la línea de base de cada componente.

Tal como se enunció en la sección 3.3.2.5, el PZQ presenta una clara estructura cristalina. En el caso de los difractogramas de las MF y los polvos SA, es posible observar la presencia de dos nuevos picos a 18° y 22° , correspondientes a la presencia de P188 en todas las formulaciones (Figura 4.7). Además, todas las MF mostraron las reflexiones características de PZQ, mientras que la elevación de la línea de base es causada por la presencia de PVP.

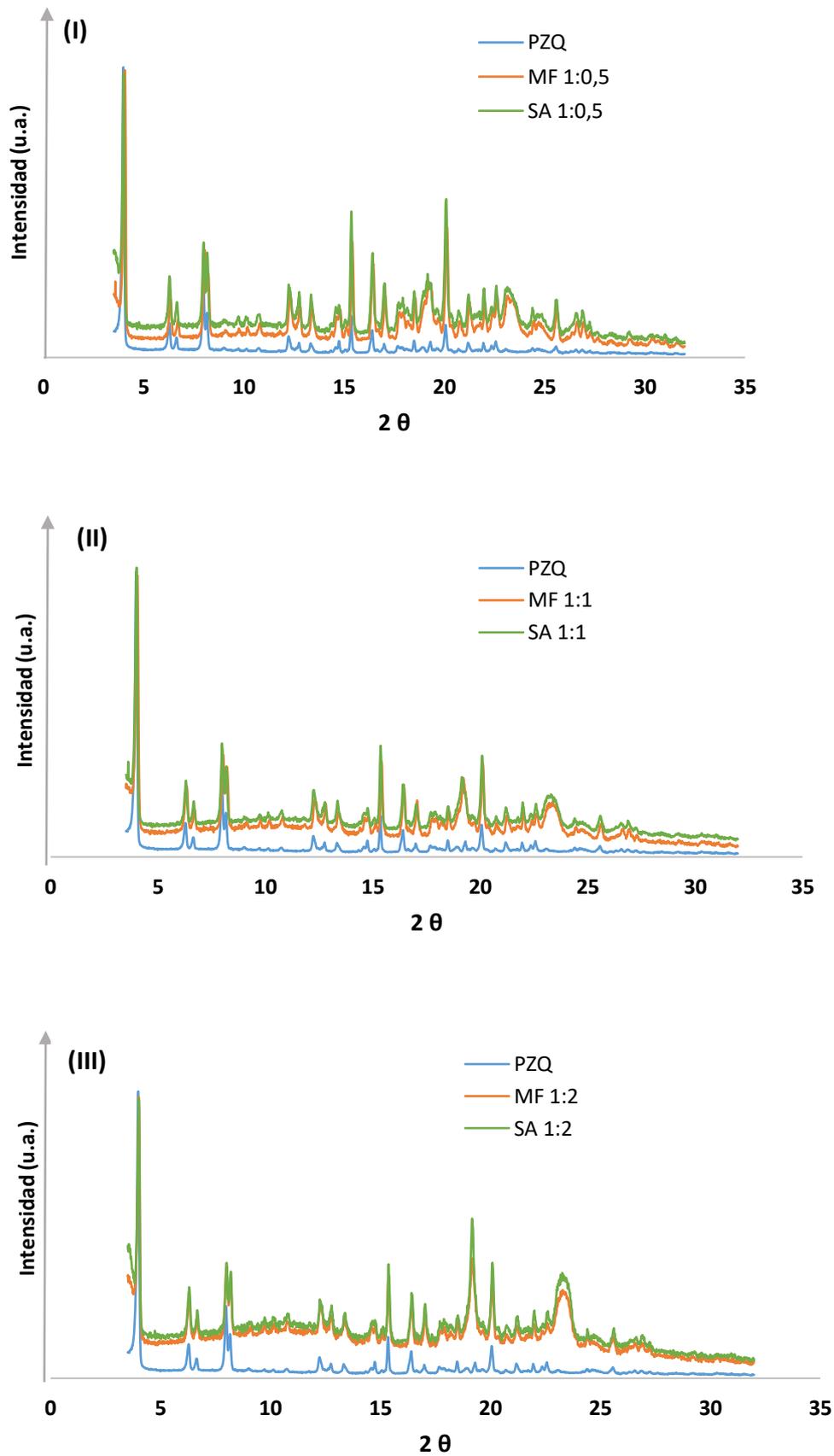


Figura 4.7. Difractogramas de rayos X de SA1 (I), SA2 (II) y SA3 (III).

Por su parte, en el análisis de los polvos SA, en todos los casos se mantuvo la estructura cristalina, es decir, las reflexiones se ubicaron en las mismas posiciones angulares que las correspondientes al PZQ sin procesamiento alguno, aunque el grado de cristalinidad sería diferente. Esto puede notarse a través de diferencias sutiles en el ancho de los picos característicos (Figura 4.7). Como se explicó para el caso del análisis por CDB, este efecto podría atribuirse a la presencia de los estabilizantes.

Todos estos datos confirmaron que las formulaciones obtenidas mantienen mayormente el estado cristalino de PZQ, lo que podría ser una característica sumamente interesante con respecto a la estabilidad de los polvos SA a largo plazo.

4.3.2.7. Estudios de solubilidad

Tal como se indicó en la sección 3.3.1.1, el PZQ sin procesar fue escasamente soluble en agua, con un valor de solubilidad de $0,30 \pm 0,01$ mg/ml. Por su parte, los valores de solubilidad de PZQ en las diferentes MF fueron de $0,40 \pm 0,02$; $0,41 \pm 0,01$ y $0,54 \pm 0,01$ mg/mL para MF1, MF2 y MF3, respectivamente. Estos resultados demostraron que las MF provocaron un ligero aumento en la solubilidad de PZQ, lo que indica que los excipientes promueven la solubilidad del principio activo, siendo este efecto mayor para la MF3. En el caso particular de la PVP, esta capacidad de mejoramiento de la solubilidad de los principios activos poco solubles se encuentra descrita en literatura [43, 46]. Además, en el caso particular del P188, está bien establecido que exhibe propiedades como agente solubilizante y humectante [47].

En los polvos SA, la solubilidad de PZQ aumentó de manera significativa, con valores de $0,59 \pm 0,01$; $0,55 \pm 0,03$ y $0,56 \pm 0,02$ mg/mL para SA1, SA2 y SA3, respectivamente. Este resultado podría ser un efecto de la reducción en el tamaño de partícula que, como se comentó en capítulos anteriores, podría explicarse en forma teórica por la ecuación de Ostwald-Freundlich, que relaciona la solubilidad de saturación con el tamaño de partícula del fármaco. Según esta ecuación, cuanto menor es el tamaño de partícula, mayor es la solubilidad, siendo este efecto prominente para materiales con un tamaño medio de partícula inferior a $2 \mu\text{m}$ [48]. Por lo tanto, la combinación de excipientes que mejoran la humectabilidad, añadida a una reducción significativa en el tamaño de partícula condujeron al aumento observado en la solubilidad acuosa de PZQ, que se mantuvo luego del proceso de SA debido a la adecuada redispersabilidad del polvo obtenido.

4.3.2.8. Contenido de fármaco

El contenido de fármaco en las NS y en los polvos SA redispersados se encontró en el rango comprendido entre $98,99 \pm 1,69 \%$ y $106,78 \pm 0,62 \%$ (expresado en porcentaje del contenido teórico de PZQ esperado). Estos resultados indican que no hubo pérdida de fármaco durante los procesos de HAP y SA.

4.3.2.9. Disolución *in vitro*

La Figura 4.8 muestra los perfiles de disolución del PZQ y las correspondientes MF, NS y polvos SA redispersados en vehículo. Como se puede observar, el fármaco *per se* se disolvió en muy escasa magnitud (18%) luego de 60 minutos de ensayo. En el caso de las MF, los perfiles de disolución de MF1 y MF2 fueron similares entre sí, alcanzando un porcentaje disuelto promedio de 30,1 y 33,5%, respectivamente; mientras que la MF3 mostró una mayor disolución, con un valor promedio de 55,3%. Los resultados de ED para MF1, MF2 y MF3 fueron $19,19 \pm 6,24 \%$; $21,27 \pm 3,45 \%$ y $38,37 \pm 0,58 \%$, respectivamente, encontrándose diferencias altamente significativas ($p = 0,0002$) entre el rendimiento de disolución de la MF3 con respecto a las MF1 y MF2. Estos datos están de acuerdo con los resultados observados para los estudios de solubilidad (ya comentados en 4.3.2.7) y pueden basarse en la mejora de la mojabilidad del PZQ observada al contacto con los estabilizantes.

Por otro lado, los productos nanométricos (NS y polvos SA redispersados) mostraron un aumento significativo en el rendimiento de disolución del PZQ, tanto en velocidad como en cantidad, en comparación con la materia prima y las MF. Los resultados de ED para las NS fueron $71,26 \pm 2,54 \%$; $80,68 \pm 1,13 \%$, y $75,96 \pm 2,42 \%$, y para los polvos SA redispersados fueron $74,72 \pm 2,45 \%$; $79,82 \pm 2,15 \%$ y $78,29 \pm 3,93 \%$, para las proporciones fármaco:estabilizante de 1:0,5, 1:1 y 1:2, respectivamente. Se puede observar que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los perfiles de disolución de las NS respecto a los polvos SA redispersados, de cada combinación fármaco:estabilizante particular ($p=0,0817$), ni tampoco entre los perfiles de disolución de los tres polvos SA redispersados ($p=0,0918$). Sin embargo, se registraron diferencias altamente significativas en el rendimiento de disolución de cada polvo SA redispersado en comparación con su correspondiente MF, con valores p de 0,0087; 0,0036 y 0,0073, respectivamente. Esto confirma lo ya explicado en otras oportunidades en este trabajo de Tesis, donde la mejora en la disolución del PZQ en las NS está dada por la reducción del tamaño de partícula generada por el proceso de HAP, propiedad que se mantiene en los polvos

SA redispersados y, en consecuencia, se mantiene también la performance de disolución optimizada.

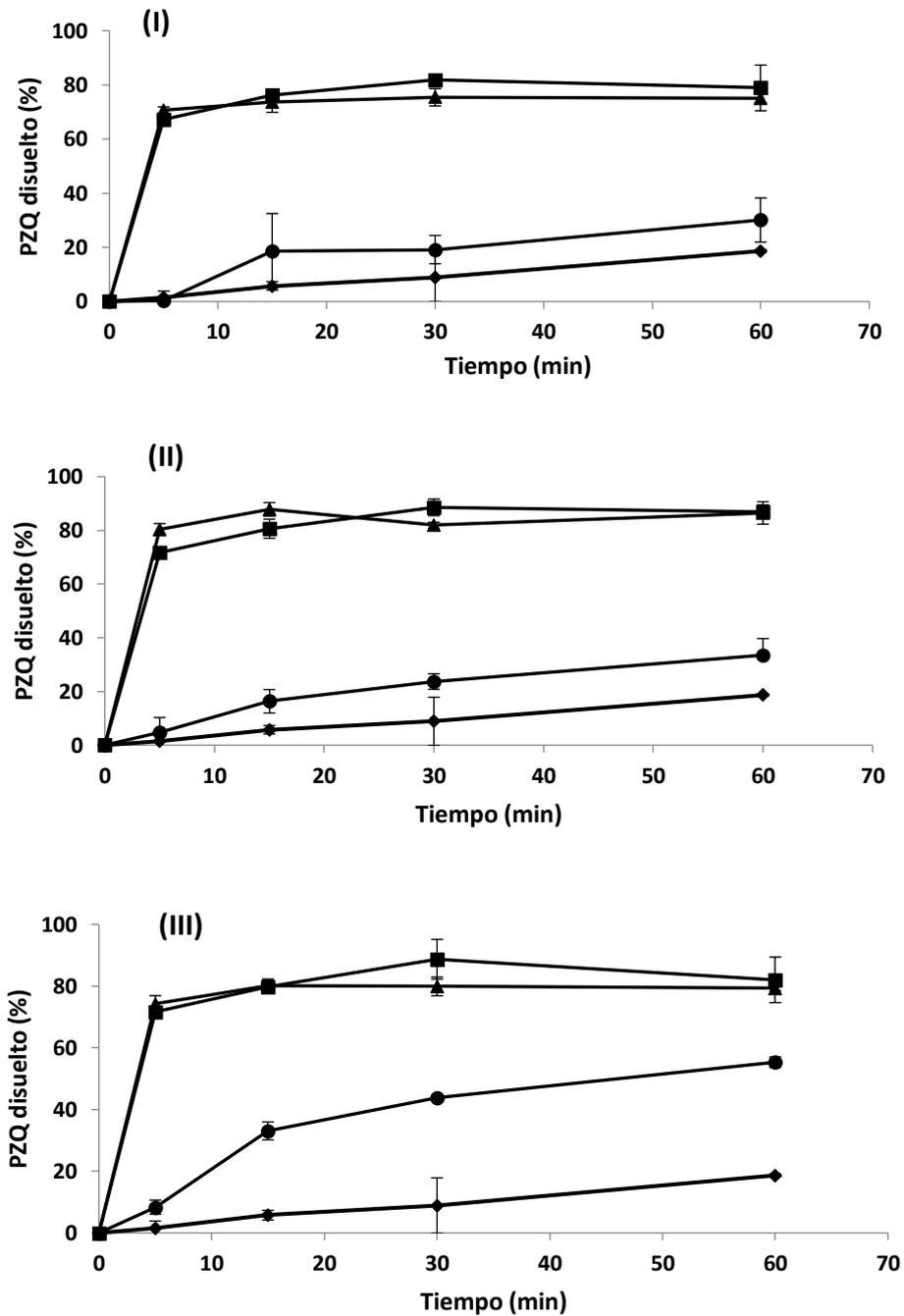


Figura 4.8. Perfiles de disolución de sistemas con proporción fármaco: estabilizante de (I) 1: 0.5, (II) 1: 1 y (III) 1: 2, en HCl 0,1 N. Cada línea representa el perfil de disolución promedio de PZQ (◆), MF (●), NS (▲) y polvos SA redispersados en vehículos (■), asociados con las barras de error correspondientes (desviación estándar).

La cinética de disolución *in vitro* de PZQ, a partir de las MF y los polvos SA redispersados, también se evaluó a través de enfoques dependientes de modelo. Se pueden utilizar diferentes criterios

estadísticos para la selección del modelo que mejor se adapte a los datos de disolución. Como se mencionó en la sección 2.2.4.8, en este trabajo de Tesis se seleccionaron los parámetros más comúnmente utilizados, es decir, el coeficiente de determinación ajustado (R^2_{adj}), el criterio de información de Akaike (AIC) y el criterio de selección del modelo (MSC) [49]. El mejor modelo será aquel que tenga el mayor R^2_{adj} , el AIC más bajo y / o el MSC más alto [49].

Los resultados obtenidos para estos parámetros de ajuste cinético en las MF y polvos SA redispersados pueden verse en la Tabla 4.4.

En los casos de la MF1 y MF2, así como sus correspondientes polvos SA redispersados, el modelo con mejores parámetros estadísticos fue el de Weibull, centrándose principalmente en los criterios AIC y MSC. En el caso de la MF3 y su correspondiente formulación SA redispersada, la selección del mejor modelo fue más compleja, debido a los resultados aleatorios obtenidos en los parámetros de ajuste. Sin embargo, el modelo de Weibull fue el segundo mejor modelo en ambos casos (MF3 y su correspondiente polvo redispersado), con una ligera diferencia en relación con el mejor ajuste obtenido (Tabla 4.4). En este punto es importante recordar, como se indicó en la sección 3.3.2.6, que el modelo de Weibull constituye una ecuación que se puede aplicar exitosamente a casi todos los tipos de perfiles de disolución, aunque presenta algunas deficiencias considerando que es un modelo empírico [50].

Como ya se ha explicado, las partículas nanométricas exhiben un mayor área superficial, lo que resulta en un mejor contacto con el medio de disolución y, en consecuencia, una mejora en el rendimiento de la disolución [51]. En conclusión, el comportamiento de disolución mejorado registrado para las formulaciones de PZQ podría explicarse por una combinación del aumento en la solubilidad y humectabilidad del fármaco y la reducción del tamaño de partícula, propiedades que se mantienen luego del proceso de secado y redispersión, sin influencia altamente significativa de la relación fármaco: estabilizante [52].

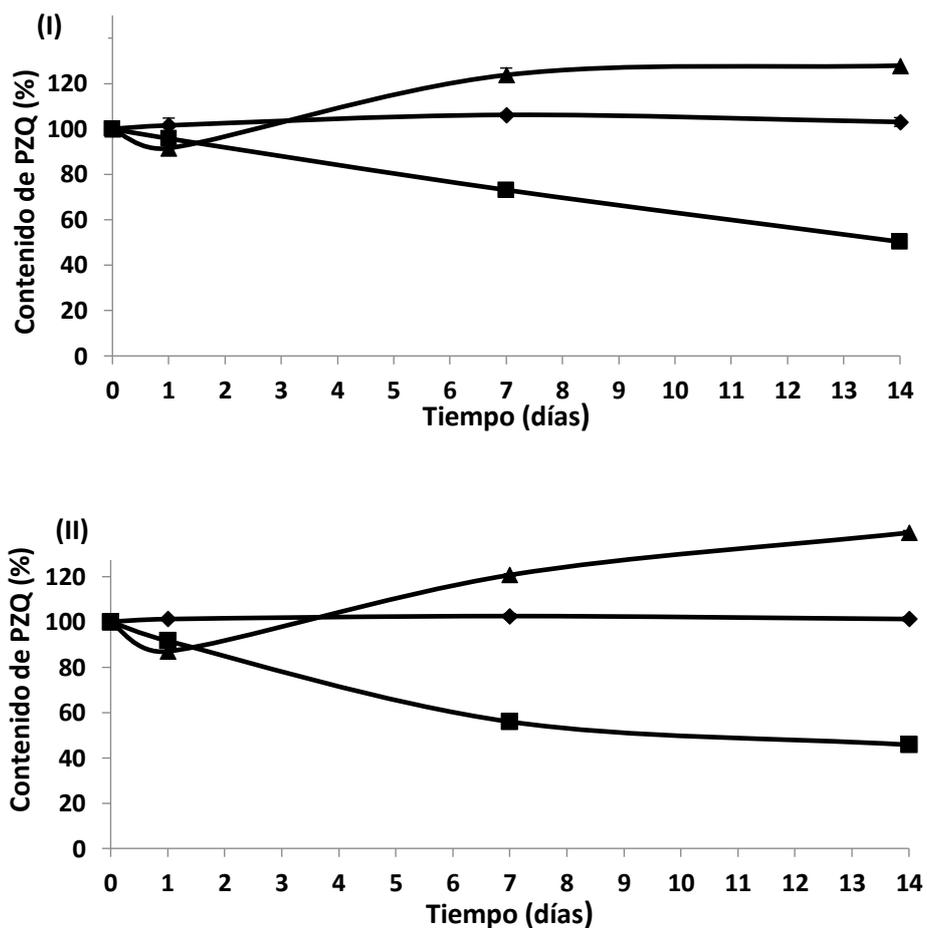
Tabla 4.4. Modelos de disolución aplicados a MF y polvos SA redispersados, y sus correspondientes parámetros de ajuste

Muestra	Parámetros estadísticos	Orden Cero	Primer Orden	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	Hixson-Crowell	Weibull
MF1	R²_{adj}	0,945	0,965	0,864	0,955	0,959	1,000
	AIC	13,214	11,358	16,811	12,758	11,981	-17,999
	MSC	2,396	2,860	1,496	2,510	2,704	10,199
SA1 Redisp.	R²_{adj}	0,759	0,926	0,883	0,945	0,995	0,979
	AIC	37,644	28,996	33,347	10,864	32,626	7,097
	MSC	-4,384	-2,222	-3,310	2,311	-3,130	3,253
MF2	R²_{adj}	0,758	0,854	0,928	0,937	0,826	0,945
	AIC	20,452	18,523	13,602	13,707	19,203	13,029
	MSC	0,984	1,467	2,697	2,671	1,297	2,840
SA2 Redisp.	R²_{adj}	0,242	0,769	0,390	0,536	0,723	0,729
	AIC	38,309	28,152	34,312	20,833	33,188	20,632
	MSC	-4,602	-2,063	-3,603	-0,233	-3,321	-0,182
MF3	R²_{adj}	0,551	0,816	0,907	0,870	0,744	0,905
	AIC	26,963	23,174	20,828	22,488	24,586	21,157
	MSC	0,353	1,300	1,887	1,472	0,947	1,805
SA3 Redisp.	R²_{adj}	0,132	0,600	0,251	0,378	0,562	0,560
	AIC	38,519	27,749	34,556	23,765	33,214	24,382
	MSC	-4,215	-1,522	-3,224	-0,526	-2,888	-0,680

4.3.2.10. Estudios de sedimentación y redispersabilidad

Con el objetivo de evaluar la posible sedimentación y capacidad de redispersabilidad posterior del polvo SA dispersado en vehículo, se llevó a cabo el ensayo de acuerdo a lo enunciado en la sección 2.2.3.1.

Como se puede observar en la Figura 4.9, la concentración promedio de PZQ determinada en las muestras colectadas del extremo inferior de las columnas de vidrio registró un incremento en el tiempo; mientras que el contenido de fármaco en las muestras tomadas del extremo superior claramente disminuyó en el mismo intervalo, lo que indica una evidente precipitación del PZQ. Este comportamiento fue igualmente registrado para los tres sistemas desarrollados, revelando que la proporción de estabilizante no afectó el fenómeno de sedimentación.



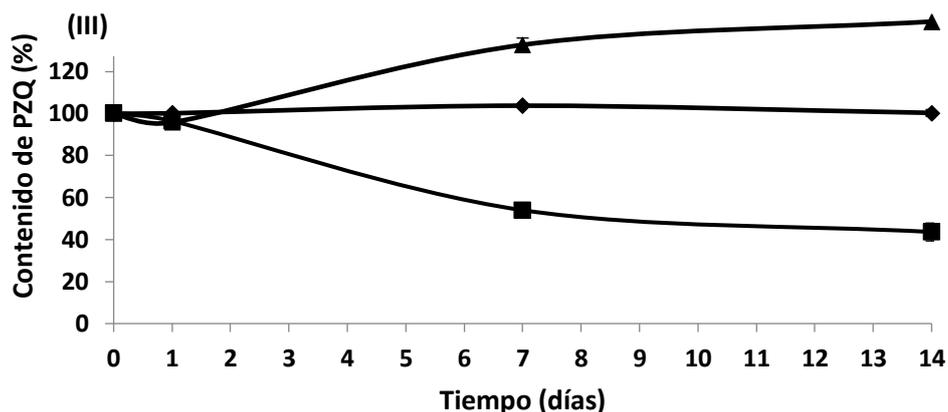


Figura 4.9. Sedimentación y redispersabilidad de (I) SA1 redispersado, (II) SA2 redispersado y (III) SA3 redispersado en el vehículo. Cada línea representa el contenido promedio de PZQ en la muestra tomada de la sección superior (■) e inferior (▲) de la columna de vidrio, y en el vial sometido a agitación periódica (◆), asociado con las barras de error correspondientes (desviación estándar). Los resultados están expresados en porcentaje de PZQ respecto al teórico.

Asimismo, en la Figura 4.10.b se puede observar claramente dicha precipitación, al compararla con la condición inicial del polvo recientemente resuspendido (Figura 4.10.a). Esta sedimentación también se registró cuando el producto fue almacenado en viales, la cual revirtió completamente luego de una simple agitación manual (Figura 4.10.c). Esta facilidad de redispersión (post-sedimentación) se confirmó a través de las mediciones de concentración del PZQ, en muestras tomadas de los viales luego de la agitación manual, las cuales permanecieron constantes a lo largo del tiempo (Figura 4.9).

En conclusión, a pesar de la sedimentación registrada para todos los polvos SA suspendidos en vehículo, la redispersión del sedimento resultó ser un proceso sencillo y rápido, obteniéndose finalmente suspensiones homogéneas, lo cual podría estar siendo ocasionado por el entorno proporcionado por los excipientes constituyentes del vehículo.

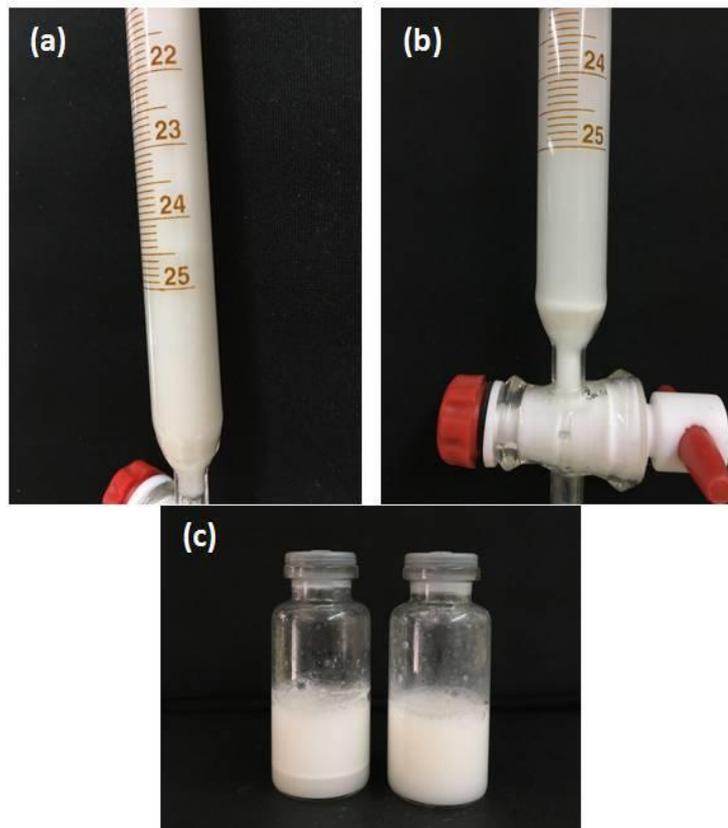


Figura 4.10. Estudios de sedimentación y redispersabilidad: condición inicial (a), visible precipitación después de 14 días (b) y polvo SA suspendido y almacenado en viales, antes y después de una simple agitación manual (c). Las imágenes corresponden a la formulación SA1.

4.3.3. Evaluación de propiedades críticas del producto redispersado durante el período de utilización propuesto

Como se mencionó en el Capítulo 1, el PZQ es un principio activo de amplia utilización en el tratamiento de numerosas parasitosis causadas por *Schistosoma*. En general, el tratamiento de estas patologías no requiere de pautas de administración de extensa duración, siendo en su mayoría tratamientos de un único día. Sin embargo, algunas patologías, como la teniasis, requieren que el tratamiento se extienda durante un máximo de 14 días [53]. En consecuencia, la evaluación de las propiedades consideradas críticas para los polvos desarrollados fue llevada a cabo durante dicho período de tiempo. Estas propiedades incluyen la distribución de tamaño de partículas, la caracterización cristalográfica, el contenido de fármaco y el comportamiento de disolución del polvo redispersado.

4.3.3.1. Análisis de la distribución de tamaño de partículas

Dado que la distribución de tamaño de partículas es el parámetro más crítico en estas formulaciones, se determinó su evolución en el tiempo enunciado. Los resultados se indican en la Tabla 4.5. Como se puede observar, el tamaño nanométrico de las partículas de PZQ se mantuvo sin alteraciones significativas luego de los 14 días. Además, el IPD se encuentra en valores aceptables en todos los casos, indicando una distribución estrecha y homogénea del tamaño de las partículas. Esto indica que el entorno aportado por el vehículo es apropiado para evitar la aglomeración de las nanopartículas o bien que, de producirse la aglomeración, su resuspensión es rápida y sencilla (como se indicó en la sección 4.3.2.10), manteniendo así los tamaños originales.

Tabla 4.5. Tamaño medio de partícula e IPD de PZQ en función del tiempo

Formulación	Día 1		Día 7		Día 14	
	D ₅₀ (μm)	IPD	D ₅₀ (μm)	IPD	D ₅₀ (μm)	IPD
SA1 Redisp.	0,91 ± 0,04	0,22	0,96± 0,03	0,11	0,93 ± 0,06	0,23
SA2 Redisp.	0,67 ± 0,04	0,19	0,71 ± 0,06	0,22	0,70 ± 0,10	0,12
SA3 Redisp.	0,96± 0,03	0,22	0,97 ± 0,10	0,18	1,02 ± 0,09	0,25

4.3.3.2. Caracterización cristalográfica

Con el fin de evaluar la aparición de posibles cambios en la cristalinidad de los polvos, se obtuvieron los respectivos difractogramas de rayos X luego de 14 días de almacenamiento.

Como puede observarse en la figura 4.11, los espectros muestran un claro comportamiento cristalino del fármaco, presentándose las reflexiones características de PZQ ya especificadas en el punto 4.3.2.6. Se concluye entonces que durante el tiempo de almacenamiento estudiado, el PZQ no sufrió cambios significativos en su estructura cristalina.

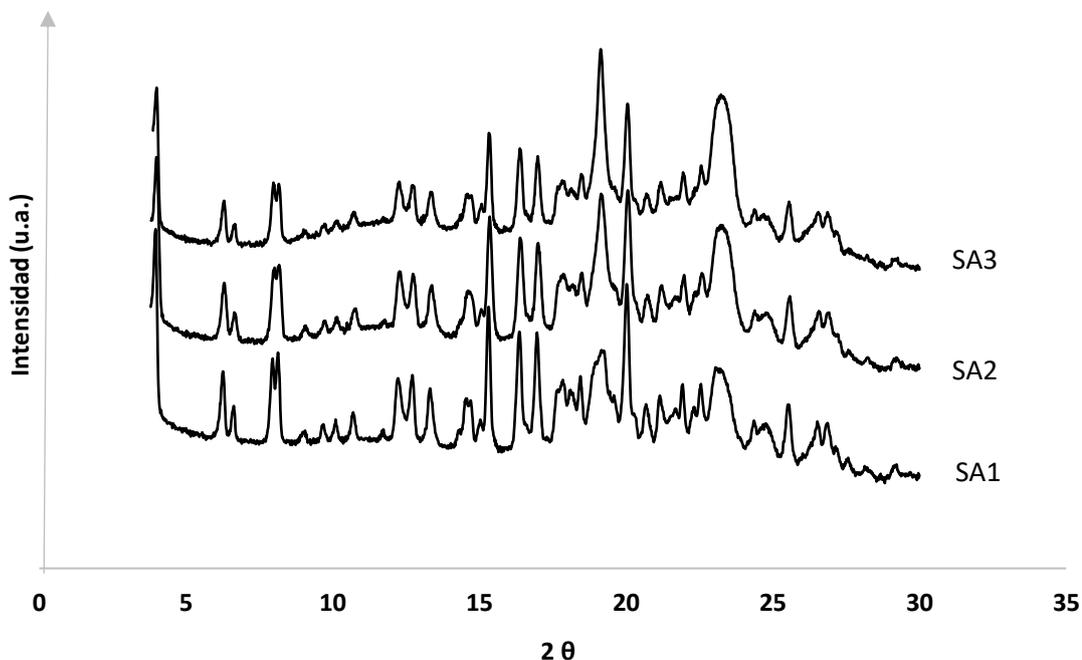


Figura 4.11. Diffractogramas de los polvos SA luego del almacenamiento

4.3.3.3. Contenido de fármaco y disolución *in vitro*

El contenido de fármaco en la suspensión obtenida a partir del polvo SA fue cuantificado de acuerdo a lo enunciado en la sección 2.2.4.7. Los resultados de valoración, en el día de resuspensión del polvo, fueron $98,99 \pm 1,04$ % para SA1, $102,51 \pm 0,76$ % para SA2 y $103,90 \pm 0,62$ % para SA3; mientras que a los 14 días, los valores de contenido de PZQ fueron de $98,73 \pm 0,65$ %, $106,62 \pm 1,17$ % y $106,65 \pm 0,92$ %, para SA1, SA2 y SA3, respectivamente. Los resultados obtenidos indican entonces que el contenido de PZQ se mantuvo sin variaciones durante el período de estudio.

En cuanto a la disolución *in vitro*, los perfiles se mantuvieron sin variaciones significativas luego de 14 días de haber sido formulada la suspensión de polvo SA (Figura 4.12). Por su parte, la ED obtenida fue de $84,51 \pm 0,57$ %; $84,16 \pm 0,70$ % y $84,44 \pm 0,23$ % para SA1, SA2 y SA3, respectivamente. Este comportamiento de disolución también resultó similar al observado al momento de formular la suspensión (informados en la sección 4.3.2.9) y están en buen acuerdo con lo reflejado en la distribución de tamaño de partículas, luego de 14 días.

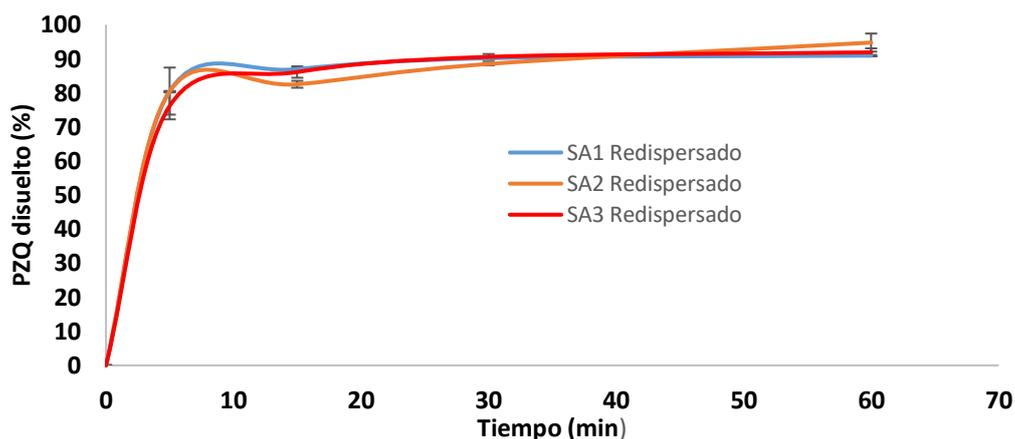


Figura 4.12. Perfil de disolución luego de 14 días.

4.3.4. Comparación de la disolución *in vitro* de los sistemas formulados a partir de un comprimido comercial de PZQ

La reformulación de comprimidos en formas farmacéuticas líquidas es una práctica muy común en el ámbito hospitalario, ante problemas de formulaciones huérfanas [54]. En este sentido, se llevó a cabo la disolución *in vitro* de un comprimido de PZQ comercialmente disponible, triturado y suspendido en el vehículo ya descrito (sección 2.2.3.1). La finalidad fue presentar el desempeño en términos de disolución de PZQ desde una matriz muy compleja y comparar su perfil de disolución con los obtenidos en los sistemas formulados en este capítulo. La composición cuali-cuantitativa de los comprimidos de PZQ se detalla en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6. Composición cuali-cuantitativa de los comprimidos comerciales conteniendo PZQ.

Componente	Cantidad por comprimido (mg) ^a	Composición (%)
Praziquantel	600	64,1
Almidón de maíz	50	5,34
Croscarmelosa sódica	27	2,8
Estearato de magnesio	9	1,0
Lactosa monohidrato	80	8,6
Lactosa granulada	89	9,5
Lauril sulfato de sodio	9	1,0
Polietilenglicol 6000	9	1,0
Polivinilpirrolidona	27	2,8
Opadry II	36	3,8
Peso Total	936	100

^a Cabe aclarar que la composición cuali-cuantitativa aquí descrita no se encuentra presente en el rótulo (envase primario) ni prospecto del producto. La misma fue obtenida de la Disposición ANMAT 6604/16.

El perfil de disolución obtenido se muestra en la Figura 4.13.

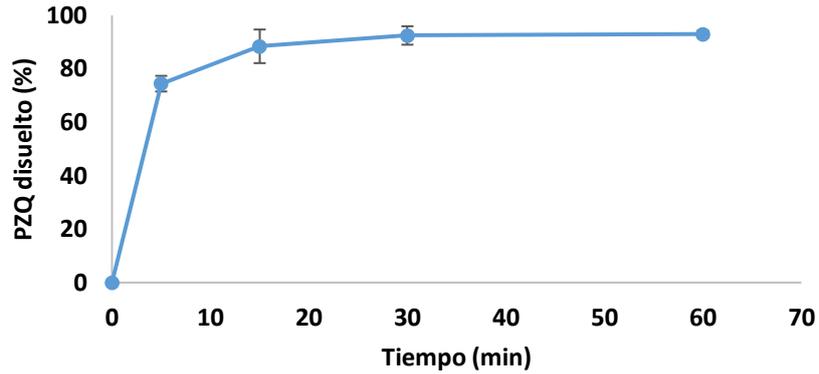


Figura 4.13. Perfil de disolución de comprimidos comerciales de PZQ redispersados en vehículo. (Cabe aclarar que no se muestran aquí los perfiles de disolución de los polvos SA redispersados, para una mejor visualización de este único perfil, evitando superposiciones. Tales gráficas pueden observarse en la Figura 4.8).

Como se observa, el comportamiento de disolución del comprimido reformulado es similar a los sistemas desarrollados en este capítulo. Esto se puede atribuir a que la especialidad medicinal presenta en su composición excipientes que favorecen el mojado de PZQ, como es el caso del lauril sulfato de sodio, el polietilenglicol y la polivinilpirrolidona (Tabla 4.6).

En términos exclusivos de evaluación de la disolución, las NS presentan un desempeño *in vitro* semejante (incluso ligeramente mejor) que la actual opción terapéutica disponible para niños. Sin embargo, se desaconseja el triturado y reformulación de comprimidos siempre que surja una tecnología alternativa especialmente diseñada para la aplicación [55]. De este modo se evitan eventos no esperados, tales como cambios físicos o químicos en el fármaco durante su manipulación, la aparición de incompatibilidades entre excipientes o la administración de un tipo o concentración de excipiente que no es adecuada para niños o poblaciones de pacientes con intolerancias (e.g. lactosa).

En síntesis, los productos desarrollados y presentados en este capítulo presentan una composición simple, están destinados específicamente a pacientes pediátricos, a la vez que constituyen sistemas listos para usar, se evita su procesamiento magistral a partir de una especialidad medicinal y se mejora la exactitud de dosis.

4.4. Conclusiones

De acuerdo a los resultados observados, la aplicación de técnicas combinadas comprendiendo HAP y SA, permitió obtener una formulación muy prometedora para administración extemporánea de PZQ. El proceso de HAP permitió una reducción de tamaño de partícula, a la vez que mejoró la solubilidad y la disolución del fármaco. Tanto el tamaño de partícula como la mejorada disolución de PZQ, así como las demás propiedades fisicoquímicas evaluadas, se conservaron luego del proceso de secado, que condujo a un polvo de muy sencilla dispersión en un vehículo de sabor agradable y que, a su vez, también es conveniente para la manipulación y almacenamiento. Asimismo, si bien el polvo dispersado en el vehículo sufre una sedimentación significativa durante el almacenamiento, ésta es totalmente reversible con una simple agitación manual.

Por todo lo expuesto cabe concluir que los polvos de PZQ obtenidos constituyen una formulación de administración extemporánea promisoriosa, con conservación de las propiedades optimizadas durante el proceso de micronización y adecuada estabilidad. Asimismo, los polvos obtenidos podrían constituir un producto intermedio para la elaboración de otras formas farmacéuticas.

4.5. Bibliografía

1. Wu L, Zhang J, Watanabe W. "Physical and chemical stability of drug nanoparticles". *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 63, no. 6, pp. 456–469, 2011
2. Wang Y, Zheng Y, Zhang L, Wang Q, Zhang D. "Stability of nanosuspensions in drug delivery". *J. Control. Release*, vol. 172, no. 3, pp. 1126-1141, 2013
3. Alaei S, Ghasemian E, Vatanara A. "Spray drying of cefixime nanosuspension to form stabilized and fast dissolving powder". *Powder technol.*, vol. 288, pp. 241-248, 2016
4. Van Eerdenbrugh B, Van den Mooter G, Augustijns P. "Top-down production of drug nanocrystals: nanosuspension stabilization, miniaturization and transformation into solid products". *Int. J. Pharm.*, vol. 364, no. 1, pp. 64-75, 2008
5. Müller RH, Möschwitzer J, Bushrab FN. "Manufacturing of nanoparticles by milling and homogenization techniques" in *Nanoparticle Technology for Drug Delivery, Drugs and the Pharmaceutical Sciences*, Gupta, R.B., Kompella, U.B. (Eds.), Taylor & Francis Group, LLC, New York, 2006, pp. 21–51
6. Zhang X, Guan J, Ni R, Li LC, Mao S. "Preparation and solidification of redispersible nanosuspensions". *J. Phar. Sci.*, vol. 103, no. 7, pp. 2166-2176, 2014
7. Sosnik A, Seremeta KP. "Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers". *Adv. Colloid interfac.*, vol. 223, pp. 40-54, 2015
8. Freitas C, Müller RH. "Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLNTM)". *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 46, no. 2, pp. 145–151, 1998
9. Di Battista CA. "Microencapsulación de Fitoesteroles Mediante Secado por Atomización". *Tesis Doctoral*. Universidad Nacional del Sur, 2016
10. Bruschi M, Cardoso ML, Lucchesi M, Gremião MP. "Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: preparation and characterization". *Int. J. Pharm.*, vol. 264, no. 1-2, pp. 45–55, 2003
11. Gallo L, Llabot JM, Allemandi D, Bucalá V, Piña J. "Influence of spray-drying operating conditions on Rhamnus purshiana (Cáscara sagrada) extract powder physical properties," *Powder Technol.*, vol. 208, no. 1, pp. 205–214, 2011
12. Schoubben A, Blasi P, Giovagnoli S, Rossi C, Ricci M, "Development of a scalable procedure for fine calcium alginate particle preparation," *Chem. Eng. J.*, vol. 160, no. 1, pp. 363–369, 2010
13. Ceschan NE, Bucalá V, Ramírez-Rigo MV. "New alginic acid–atenolol microparticles for inhalatory drug targeting". *Mat. Sci. Eng. C-Mater.*, vol 41, pp. 255-66, 2014
14. Chaubal, M. V., & Popescu, C. "Conversion of nanosuspensions into dry powders by spray drying: a case study". *Pharm. Res.*, vol. 25, no. 10, pp. 2302-2308, 2008
15. Bonda AF, Rinaldi M, Segale L, Palugan L, Cerea M, Vecchio C, Pattarino F. "Nanonized itraconazole powders for extemporaneous oral suspensions: role of formulation components studied by a mixture design". *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 83, pp. 175-183, 2016
16. Hecq J, Deleers M, Fanara D, Vranckx H, Amighi K. "Preparation and characterization of nanocrystals for solubility and dissolution rate enhancement of nifedipine". *Int. J. Pharm.*, vol. 299, no. 1-2, pp. 167-177, 2005

17. Paredes A, Llabot JM, Sanchez-Bruni S; Allemandi D, Palma S. "Self-dispersible nanocrystals of albendazole produced by high pressure homogenization and spray-drying". *Drug Dev. Ind. Pharm.*, vol. 42, no. 10, pp. 1564-1570, 2016
18. Zhang X, Guan J, Ni R, Li LC, Mao S. "Preparation and solidification of redispersible nanosuspensions". *J. Pharm. Sci.*, vol. 103, no. 7, pp. 2166-2176, 2014
19. Lee J. "Drug Nano- and Microparticles Processed into Solid Dosage Forms: Physical Properties". *J. Pharm. Sci.*, vol. 92, no. 10, pp. 2057-2068, 2003
20. Liu F, Ranmal S, Batchelor HK, Orlu-Gul M, Ernest TB, Thomas IW, Flanagan T, Tuleu, C. "Patient-centered pharmaceutical design to improve acceptability of medicines: similarities and differences in paediatric and geriatric populations". *Drugs*, vol. 74, no. 16, pp. 1871-1889, 2014
21. Campbell GA, Vallejo E "Primary packaging considerations in developing medicines for children: oral liquid and powder for constitution". *J. Pharm. Sci.*, vol. 104, no. 1, pp. 52-62, 2015
22. Strickley RG, Iwata Q, Wu S, Dahl TC. "Pediatric drugs—a review of commercially available oral formulations". *J. Pharm. Sci.*, vol. 97, no. 5, pp. 1731-1774, 2008
23. Safety & Toxicity of Excipients for Paediatrics Database (STEP Database). Available in: <http://www.eupfi.org/step-database-info/>
24. Strickley RG. "Pediatric oral formulations: an updated review of commercially available pediatric oral formulations since 2007". *J. Pharm. Sci.*, vol. 108, no. 4, pp. 1335-1365, 2019
25. Nahata MC, Morosco RS, Brady MT. "Extemporaneous sildenafil citrate oral suspensions for the treatment of pulmonary hypertension in children" *Am. J. Health-Syst. Ph.*, vol. 63, no. 3, pp. 254–257, 2006
26. Skillman KL, Caruthers RL, Johnson CE. "Stability of an extemporaneously prepared clopidogrel oral suspension". *Am. J. Health-Syst. Ph.*, vol. 67, no. 7, pp. 559–561, 2010
27. Helin-Tanninen M, Autio K, Keski-Rahkonen P, Naaranlahti T, Järvinen K. "Comparison of six different suspension vehicles in compounding of oral extemporaneous nifedipine suspension for paediatric patients". *Eur. J. Hosp. S. P.*, vol. 19, pp. 432–437, 2012
28. Gao L, Liu G, Ma J, Wang X, Zhou L, Li X, Wang F. "Application of drug nanocrystal technologies on oral drug delivery of poorly soluble drugs". *Pharm. Res.*, vol. 30, no. 2, pp. 307-324, 2013
29. Al-Khattawi A, Bayly A, Phillips A, Wilson D. "The design and scale-up of spray dried particle delivery systems". *Expert Opin. Drug Del.*, vol. 15, no. 1, pp. 47-63, 2018
30. Arpagaus C, Schwartzbach H. "Scale-up from bench-top research to laboratory production". Büchi Mini Spray Dyer B-290. Information Bulletin N° 52/2008.
31. Seremeta KP, Tur MIR, Pérez SM, Höcht C, Taira C, Hernández ODL, Sosnik A. "Spray dried didanosine-loaded polymeric particles for enhanced oral bioavailability". *Colloid and Surfaces B.*, vol. 123, pp. 515-523, 2014
32. Fonseca LB, Nele M, Volpato NM, Seiceira RC, Pinto JC. "Production of PMMA nanoparticles loaded with praziquantel through "in situ" miniemulsion polymerization". *Macromol. React. Eng.*, vol. 7, no. 1, pp. 54-63, 2013

33. Loría-Bastarrachea MI, Herrera-Kao W, Cauich-Rodríguez JV, Cervantes-Uc JM, Vázquez-Torres H, Ávila-Ortega A. "A TG/FTIR study on the thermal degradation of poly (vinyl pyrrolidone)". *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 104, no. 2, pp. 737-742, 2011
34. Fousteris E, Tarantili PA, Karavas E, Bikiaris D. "Poly (vinyl pyrrolidone)–poloxamer-188 solid dispersions prepared by hot melt extrusion". *J. Therm. Anal. Calorim.*, vol. 113, no. 3, pp. 1037-1047, 2013
35. Paredes AJ, Sanchez Bruni S, Allemandi D, Lanusse C, Palma SD. "Albendazole nanocrystals with improved pharmacokinetic performance in mice". *Ther Deliv.*, vol. 9, no. 2, pp. 89–97, 2018
36. Van Eerdenbrugh B, Froyen L, Van Humbeeck J, Martens JA, Augustijns P, Van den Mooter G. "Drying of crystalline drug nanosuspensions—the importance of surface hydrophobicity on dissolution behavior upon redispersion". *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 35, no. 1-2, pp. 127-135, 2008
37. Bhakay A, Azad M, Bilgili E, Dave R. "Redispersible fast dissolving nanocomposite microparticles of poorly water-soluble drugs". *Int. J. Pharm.*, vol. 461, no. 1-2, pp. 367-379, 2014
38. Kumar S, Shen J, Burgess DJ. "Nano-amorphous spray dried powder to improve oral bioavailability of itraconazole". *J. Control Release*, vol. 192, pp. 95–102, 2014
39. De la Torre P, Torrado S, Torrado S. "Preparation, dissolution and characterization of praziquantel solid dispersions". *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 47, no. 11, pp. 1629–1633, 1999
40. Bühler V. "Polyvinylpyrrolidone – excipients for pharmaceuticals". Germany: Springer; 2005. p. 87.
41. Yoshioka M, Hancock B, Zografi G. "Inhibition of indomethacin crystallization in poly(vinylpyrrolidone) coprecipitates". *J. Pharm. Sci.*, vol. 84, no. 8, pp. 983–986, 1995
42. Perissutti B, Passerini N, Trastullo R, Keiser J, Zanolla D, Zingone G, Voinovich D, Albertini B. "An explorative analysis of process and formulation variables affecting comilling in a vibrational mill: the case of praziquantel". *Int. J. Pharm.*, vol. 533, no. 2, pp. 402–412, 2017
43. Costa ED, Priotti J, Orlandi S, Leonardi D, Lamas MC, Nunes TG, Diogo HP, Salomon CJ, Ferreira MJ. "Unexpected solvent impact in the crystallinity of praziquantel/poly (vinylpyrrolidone) formulations. A solubility, DSC and solid-state NMR study". *Int. J Pharm.*, vol. 511, no. 2, pp. 983-993, 2016
44. Orlandi S, Priotti J, Diogo HP, Leonardi, D, Salomon CJ, Nunes TG. "Structural Elucidation of Poloxamer 237 and Poloxamer 237/Praziquantel Solid Dispersions: Impact of Poly (Vinylpyrrolidone) over Drug Recrystallization and Dissolution". *AAPS PharmSciTech*, vol. 19, no. 3, pp. 1274-1286, 2018
45. Trastullo R, Dolci LS, Passerini N, Albertini B. "Development of flexible and dispersible oral formulations containing praziquantel for potential schistosomiasis treatment of pre-school age children". *Int. J. Pharm.*, vol. 495, no. 1, pp. 536- 550, 2015
46. Rowe R, Sheskey P, Quinn SC. "Povidone", in *Handbook of pharmaceutical excipients 6th Ed*, vol. 40, no. 3, 2009, pp. 581–585
47. Rowe R, Sheskey P, Quinn SC. "Poloxamer", in *Handbook of pharmaceutical excipients 6th Ed*, vol. 40, no. 3, 2009, pp. 506–509.

48. Gao L, Zhang D, Chen M. "Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system". *J. Nanopart. Res.*, vol. 10, no. 5, pp. 845–862, 2008
49. Zhang Y, Huo M, Zhou J, Zou A, Li W, Yao C, Xie S. "DDSolver: an add-in program for modeling and comparison of drug dissolution profiles". *AAPS J.*, vol. 12, no. 3, pp. 263–271, 2010
50. Costa P, Sousa Lobo JM. "Modeling and comparison of dissolution profiles". *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 13, no. 2, pp. 123-133, 2001
51. Noyes AA, Whitney WR. "The rate of solution of solid substances in their own solutions". *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 19, no. 12, pp. 930–934, 1897
52. Lippold BC, Ohm A. "Correlation between wettability and dissolution rate of pharmaceutical powders". *Int. J. Pharm.*, vol. 28, no. 1, pp. 67–74, 1986
53. World Health Organization. World Health Organization, Schistosomiasis, Disease. 2018. Disponible en: <https://www.who.int/schistosomiasis/disease/en/>
54. Buontempo F. "Desarrollo galénico de formulaciones huérfanas en pediatría". *Tesis Doctoral*. Universidad de Buenos Aires, 2010
55. Gudeman J, Jozwiakowski M, Chollet J, Randell M. "Potential risks of pharmacy compounding". *Drugs in R&D*, vol. 13, no. 1, pp. 1-8, 2013

CAPÍTULO 5

Desarrollo y caracterización de gomas masticables
para administración pediátrica

5.1. Introducción

Las gomas masticables, también conocidas como geles masticables, son un tipo de formulación basadas en tecnologías utilizadas en el área de los alimentos, y conocidas por su agradable textura, su capacidad para mejorar el sabor y color y su versatilidad en el diseño de la forma y el tamaño del producto final [1,2]. En el área farmacéutica constituyen una alternativa interesante para la administración de fármacos en pacientes pediátricos y en adultos o ancianos que padecen disfagia. Además, las gomas masticables también son seleccionadas para vehiculizar fármacos en altas dosis porque, como se mencionó, no presentan un límite de tamaño definido.

Los geles o gomas masticables se utilizan para administrar fármacos y suplementos dietarios por vía oral, y pueden contener todos o algunos de los siguientes componentes: agentes gelificantes, azúcares, agua, edulcorantes y agentes aromatizantes. Los geles masticables mantienen su forma moldeada, son elásticos y están destinados a ser masticados antes de tragarlos. Popularmente se conocen como "gomitas", en las industrias de confitería y suplementos dietarios, pero este término no se utiliza en los textos oficiales [2].

Desde un punto de vista tecnológico, las gomas masticables son dispersiones acuosas de sacarosa y jarabes de glucosa combinadas con agentes gelificantes, ácidos, aromas y colorantes. Se caracterizan por tener una textura blanda y masticable, conferida por un gel a base de gelatina, aunque pueden contener otros agentes gelificantes, como es el caso del almidón o la pectina, entre otros [3,4]. La selección del agente gelificante debe recibir especial atención, ya que es el responsable de otorgar una textura única al producto y las características particulares para su manipulación [4,5]. Una gran ventaja que presentan estas formas farmacéuticas es que su elaboración puede ser magistral (además de industrial), dado que pueden confeccionarse mediante procedimientos simples, sin la necesidad de equipamientos sofisticados.

Los principales componentes de esta tecnología incluyen:

- Principios activos

Se puede considerar una amplia variedad de fármacos, incluidos los de venta libre y los de prescripción bajo receta, así como también los suplementos dietarios. Se deben tener algunas consideraciones que incluyen, por ejemplo, la estabilidad del fármaco en un medio acuoso

ligeramente ácido, el tamaño de partícula adecuado para evitar una sensación arenosa en la boca y la ausencia de interacción con cualquier sistema de gelificación. Algunos ejemplos de IFA vehiculizados en gomas masticables incluyen vitaminas (por ejemplo, ácido ascórbico), minerales, aceites omega-3, fibras, extractos vegetales y otros suplementos alimenticios [1]. Además, se ha estudiado la incorporación de analgésicos (como ibuprofeno, paracetamol y meloxicam) en gomas masticables, obteniéndose resultados prometedores [6].

- Agente gelificante

Existen diversos hidrocoloides que pueden ser utilizados en la preparación de las gomas masticables, como pectinas, almidón, alginatos y gelatinas, entre otros. Cada uno de estos agentes, solos o en combinación, darán lugar a geles con una amplia variedad de estructuras y texturas. Dado que en esta Tesis se utilizará la gelatina como agente gelificante, a continuación se hará una descripción detallada de la misma.

La gelatina animal se elabora a partir de la hidrólisis parcial del colágeno, presente en la piel y los huesos de los animales [7]. Está compuesta por aminoácidos como prolina, hidroxiprolina, alanina y glicina, constituyendo esta última aproximadamente un tercio de la molécula (Mitchell, 1976). Es un biopolímero con amplias aplicaciones no sólo en la industria alimentaria, sino también en la industria farmacéutica (para la elaboración de cápsulas de gelatina) y en cosmética [8].

La gelatina es el agente gelificante más popular, debido a su buena disponibilidad, facilidad de uso, agradable textura en la boca, rápida disolución en el tracto gastrointestinal y a que conforma un gel "físico". Esto significa que las fuerzas involucradas en los entrecruzamientos no son enlaces químicos covalentes, sino fuerzas de tipo dipolo-dipolo, transferencia de carga, puente hidrógeno, entre otras, que le otorgan a estos geles la termoreversibilidad característica [4,9].

Cuando la gelatina se pone en contacto con agua fría, se hincha absorbiendo de 5 a 10 veces su volumen de agua. Cuando se calienta a temperaturas por encima del punto de fusión, la gelatina hinchada se disuelve, formando una solución coloidal o sol. Al enfriarse, este sol es convertido en un gel. Esta conversión sol-gel es un proceso reversible, teóricamente ilimitado, siendo ésta la propiedad tecnológica por excelencia de la gelatina [10].

Durante la gelificación se produce una pérdida de la movilidad de las cadenas polipeptídicas, dando lugar a hélices estabilizadas que, al enfriarse, se reordenan y acaban formando una red tridimensional o gel [11]. El gel de gelatina se forma cuando la concentración de gelatina es lo

suficientemente alta y la temperatura es lo suficientemente baja, lo que permite moldear productos en caliente. La cinética de gelificación se puede dividir en dos fases: (i) durante la primera hora, la resistencia del gel aumenta en forma rápida, debido principalmente a la formación de nuevas reticulaciones; (ii) luego, el aumento de la fuerza del gel por extensión de los enlaces cruzados se ralentiza, y es lineal con el logaritmo del tiempo [12].

La capacidad gelificante de la gelatina se suele medir en grados *Bloom*. Un grado *Bloom* es una medida estándar de la fuerza aplicada para provocar una deformación en un gel a una concentración y temperatura estandarizada. En general, los valores *Bloom* de las gelatinas comerciales van desde 50 a 275, siendo los más utilizados para la preparación de gomas masticables aquellos entre 150 a 250. A mayor valor *Bloom* se obtienen geles más firmes, para una determinada concentración de gelatina [7]. De todas maneras, una gelatina de un determinado valor *Bloom* puede reemplazarse por otra de diferente valor y dar la misma firmeza del gel, al cambiar la concentración de gelatina, utilizando tablas de conversión específicas. Sin embargo, al realizar este intercambio se pueden afectar otras propiedades de textura. Por ejemplo, la textura de una goma masticable formulada con gelatina de 250 *Bloom* es mucho más corta (se rompe más fácilmente) que la de una goma equivalente hecha con gelatina de 150 *Bloom*, a la misma fuerza de gel [13].

Las propiedades de los geles de gelatina, concretamente su rigidez y resistencia, dependen de factores tales como la temperatura, pH, contenido en cenizas, presencia de algún aditivo, método de obtención, fuerza intrínseca, historia térmica y concentración, entre otros. Las condiciones existentes durante el procesado también pueden afectar a las propiedades del gel de gelatina. Así, la gelatina puede degradarse y perder sus propiedades gelificantes bajo condiciones de altas temperaturas, valores extremos de pH o fuerte agitación. La relación entre la concentración y la resistencia del gel está dada, entre otros factores, por la influencia sobre los enlaces intermoleculares dentro de la red. Desde un punto de vista reológico, los geles de gelatina a baja concentración tienen un carácter más líquido, mientras que los geles de alta concentración se comportan más como materiales sólidos. La fuerza del gel también se ve seriamente afectada por valores extremos de pH de la solución, mientras que permanece estable a valores de pH entre 4 y 9. Los geles diluidos (<2%) son más afectados por este factor, mientras que los geles más concentrados (> 10%) son relativamente insensibles al pH [12].

La gelatina proporciona texturas que no pueden ser obtenidas con otros gelificantes. No obstante, puede combinarse con otros hidrocoloides para obtener diferentes texturas; por ejemplo, con goma acacia (textura compacta), almidón (intermedia) o pectina (blanda y

quebradiza). Las cualidades organolépticas únicas proporcionadas por la gelatina dependen fuertemente de su punto de fusión (que a su vez está influenciado por el valor Bloom), la viscosidad de la gelatina y la concentración del gel. Éstas, a su vez, pueden ser alteradas por otros componentes incorporados en el producto en cuestión, como por ejemplo, sales, azúcares y otros agentes gelificantes o espesantes, que una vez disueltos en el gel, pueden interactuar con la gelatina potenciando la formación del gel o produciendo el efecto contrario [14].

- Agua

Las gomas masticables se caracterizan por tener un contenido final de agua entre 8 y 22 %, y, por lo tanto, existe cierto riesgo de que las variaciones de humedad pueden llegar a afectar sus propiedades físicas. La adición de agua en estas formulaciones cumple la función de disolver los agentes gelificantes, edulcorantes, colorantes y saborizantes. La vida útil, la textura y la estabilidad de los ingredientes están directamente relacionadas con la dinámica del agua en este tipo de productos. Además, en la producción de formulaciones gelificadas, el agua actúa como un agente plastificante para ayudar a la formación del gel [4].

- Endulzantes

Por lo general, la sacarosa y el jarabe de glucosa son los endulzantes por elección. Se utilizan en proporciones altas, respecto a otros excipientes. Generalmente, el contenido varía entre el 40 y el 60 % del total de la formulación [13].

Alternativamente, se pueden encontrar varias versiones sin azúcar de gomas masticables, comúnmente denominados productos “libres de azúcar” o “*sugar-free*”, en los cuales se utilizan edulcorantes. La sustitución de grandes cantidades de azúcar por cantidades equivalentes en peso de edulcorantes se puede realizar empleando polialcoholes como sorbitol, maltitol, xilitol, isomalt, entre otros. Las funciones específicas de los polialcoholes, en general, incluyen el control de la viscosidad y textura, la retención de humedad, la reducción de la actividad de agua, el control de la cristalización, a la vez que actúan como sustancias de relleno, son bajos en calorías y aportan un dulzor natural y suave [14]. Además, son mucho más fáciles de digerir que la sacarosa, se metabolizan poco a poco y se absorben de manera incompleta. De esta manera, las gomas masticables libres de azúcar, además de ser aptas para pacientes diabéticos y ser no-cariogénicas, evitan problemas de estabilidad y textura relacionadas a la presencia del azúcar [13].

En particular, en esta Tesis se utilizó el sorbitol como endulzante. A diferencia de otros carbohidratos, el sorbitol no participa de las reacciones de Maillard, ya que no posee grupos

aldehídos o cetónicos que puedan intervenir en este tipo de reacción. Además, presenta alta solubilidad en agua, lo que le confiere una alta capacidad de hidratación, permitiendo así la reducción de la actividad acuosa y, consecuentemente, el control del crecimiento microbiano [15].

- Acidulantes

Su incorporación no sólo mejora el sabor sino que también proporciona un pH más bajo, necesario para prevenir la contaminación microbiana [1]. Para este propósito suelen utilizarse ácidos orgánicos, como ácido cítrico, láctico, málico, entre otros. Sin embargo, las temperaturas utilizadas en la preparación de las gomas masticables, junto con el disminuido pH, pueden provocar la degradación de la gelatina y la inversión del azúcar. Esto llevaría a productos indeseablemente pegajosos y a una elasticidad reducida. Para minimizar esta problemática, el acidulante es añadido idealmente a temperaturas más bajas, justo antes del proceso de elaboración por moldeo [1, 13].

- Otros componentes

Saborizantes: Los atributos del sabor dependen del tipo de agente gelificante utilizado y del tipo de ácido orgánico, si está presente. Los saborizantes líquidos, ya sea a base de agua o aceite, son comúnmente utilizados en la elaboración de gomas masticables, en porcentajes bajos, entre 0,1 - 0,2 % y hasta un 3 % [13].

Colorantes: Se utilizan, normalmente, colorantes solubles en agua, en pequeña cantidad (<1 %), la cual depende de factores tales como el grosor de la goma, la claridad, el tipo de hidrocoloide utilizado y el método de acabado final del producto (por ejemplo lubricación o recubrimientos con azúcar). Los colorantes deben ser estables a altas temperaturas y bajos pH. Se asume que tendrán un efecto imperceptible en la textura de los geles, afectando únicamente la apariencia y, en algunos casos, la percepción del sabor [13].

Conservantes: Si bien el crecimiento de microorganismos puede evitarse con una combinación de factores, tales como el bajo pH y una actividad acuosa adecuada, se puede recurrir al agregado de conservantes como metil y propil parabenos, ácido benzoico o su sal de sodio y ácido sórbico o su sal de potasio [1].

En cuanto al proceso de fabricación, las gomas masticables suelen producirse por moldeo [16]. En la Figura 5.1 se esquematiza la secuencia de etapas típicas presentes en todo proceso de producción de gomas masticables basadas en gelatina, por esta metodología.

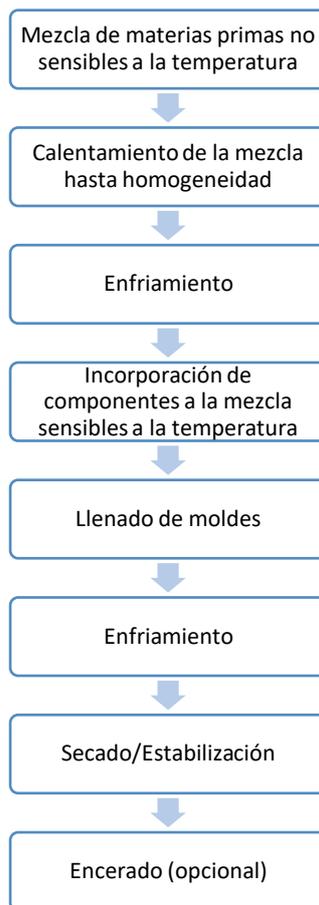


Figura 5.1. Esquema de la secuencia de etapas típicas en la elaboración de gomas masticables de gelatina por moldeo

Una solución de gelatina, que finalmente dará lugar al gel, se puede obtener a través de una solución indirecta o de una solución directa [4]. En el primer caso, es decir, para formar la solución indirecta, las partículas de gelatina se agregan al agua fría, asegurándose de que todas se humedezcan uniformemente, dejándose hidratar durante un tiempo suficiente hasta que se forme una masa suave y friable. Luego, esta masa se calienta a 50 - 60 °C, dando lugar a la solución de gelatina. La agitación constante de la solución ayuda a la disolución [4, 17]. Por otro lado, el método de disolución directa elimina la etapa de hidratación en frío, pero requiere de temperaturas más elevadas, típicamente de 60 - 80°C, y de agitación a alta velocidad, para garantizar la ausencia de aglomerados cuando la gelatina se introduce en el líquido [4, 17]. El agua se calienta y se agita vigorosamente para crear un vórtice. Luego se agrega la gelatina lentamente, deteniéndose de vez en cuando para permitir que el polvo se humedezca antes de nuevas incorporaciones. Cuando se ha agregado toda la gelatina, se continúa agitando durante unos minutos más para asegurar la dispersión completa de la misma [4, 17].

En esta Tesis se utilizó el método de solución indirecta, dado que permite trabajar a menores temperaturas y no requiere de agitación a alta velocidad, permitiendo la elaboración magistral

de las gomas masticables. El proceso de fabricación esquematizado en la Figura 5.1, ha sido expuesto detalladamente y documentado en forma fotográfica en la sección 2.2.5.1.

Es importante aclarar que en la preparación de las gomas masticables, el IFA puede incorporarse de diversas formas:

- Disuelto en la fase acuosa de la matriz gel.
- Disuelto o dispersado como gotitas de emulsión, a base de lípidos, que luego se suspenden en toda la matriz gel.
- Como agregados sólidos o partículas suspendidas a lo largo de la matriz del gel.

En el primer caso, si el principio activo es soluble y estable en medio acuoso y, además, no tiene problemas de palatabilidad, es posible disolverlo en la fase acuosa de la goma masticable. Se debe considerar que tener principios activos disueltos puede aumentar la fuerza iónica de la solución, lo que afectará la capacidad de gelificación de la gelatina. En algunos casos, se puede recurrir a la complejación, por ejemplo, con ciclodextrinas, para aportar mayor solubilidad y estabilidad al principio activo [7].

En el segundo caso, los principios activos lipofílicos pueden vehiculizarse en lípidos, que posteriormente se dispersarán en la fase acuosa que contiene el agente gelificante, formando una emulsión. Este enfoque, de solubilizar el IFA en un portador lipídico, permite mejorar la biodisponibilidad de fármacos de baja solubilidad acuosa, ya que se elimina la etapa que limita la velocidad de la disolución [7]. También se han descrito estructuras de emulsión más complejas, tales como emulsiones dobles (W/O/W), que se utilizan como estrategia para mantener el IFA dentro de las gotitas de agua internas, protegiendo al fármaco de las condiciones gástricas [18]. Cuando las gotitas de aceite se digieren en el intestino delgado, finalmente se libera la fase de agua interna y, por lo tanto, el fármaco.

Por último, cuando el principio activo no es soluble en un medio acuoso, se puede incorporar suspendido en la matriz que forma la gelatina. Al masticar y digerir la goma, la gelatina se disuelve o se desintegra, y las partículas del fármaco son liberadas. Al usar como agente gelificante la gelatina, que funde rápidamente a la temperatura corporal, se asegura una liberación rápida del principio activo [7]. Particularmente, en esta Tesis, el agregado del fármaco se efectuó siguiendo esta modalidad, sólo que el mismo se encuentra en forma de **nanosuspensión**.

Considerando que la calidad del producto final puede ser modificada por la selección del agente gelificante, las condiciones de procesamiento y el agregado de aditivos, se espera establecer si

una nanosuspensión de alta dosis de fármaco puede ser vehiculizada en una goma masticable [5, 16, 19]. Este enfoque es novedoso ya que permitirá evaluar la vehiculización de un principio activo poco soluble en agua, en una formulación semisólida pediátrica de rápida disolución oral, manteniendo las propiedades optimizadas de las nanopartículas. Para ello, se evaluará la influencia del agregado de NS de PZQ sobre los principales atributos de calidad de las gomas masticables, incluyendo pH, actividad acuosa, textura, contenido de humedad, contenido de fármaco y desintegración, y se realizara un control microbiológico preliminar.

5.2. Formulaciones

Se propusieron seis formulaciones diferentes diseñadas sobre la base de pruebas preliminares, en función de adaptaciones de fórmulas descritas en bibliografía [20,21]. En dichas pruebas preliminares se incluyeron distintos agentes gelificantes, como alginato de sodio y pectina, con y sin la incorporación de cloruro de calcio, los cuales fueron posteriormente descartados debido a que no se obtuvieron sistemas adecuadamente gelificados, bajo las condiciones propuestas. Por tal motivo se prosiguió utilizando únicamente gelatina, como agente gelificante, en virtud de los resultados más promisorios hallados con este hidrocoloide. Por su parte, la mezcla de gelatina y glicerina fue una adaptación de la combinación descrita en literatura específica [21].

Asimismo, se evaluó la posibilidad de incorporar el IFA en forma de NS o de polvo SA redispersado en agua, tal cual se describió en la sección 2.2.5.1. La concentración de la NS incorporada fue del 1 % (p/v), de manera que el contenido de PZQ por gomita fue de 25 mg. Por otra parte, la utilización de polvos SA resuspendidos permite flexibilizar la dosis debido a que éstos se incorporan dispersos en un volumen menor de agua, respecto a la NS. Así, se propuso la formulación de dos dosificaciones de PZQ por goma masticable: 25 mg (resuspendiendo el polvo nanocompuesto a una concentración final del 2 %) y 150 mg (resuspendiendo el polvo al 12 %). El objetivo de estas evaluaciones fue determinar la posible variación de los atributos de calidad de las gomas, en función de la cantidad de IFA y agua incorporada en su elaboración. Cabe aclarar que la resuspensión del polvo SA a tales concentraciones no afectó significativamente el tamaño de partícula finalmente obtenido. Además, se evaluaron dos concentraciones de gelatina, 8% y 12%, porcentajes que se encuentran en el rango recomendado de uso de este hidrocoloide en gomas masticables [13]. La nomenclatura de cada formulación desarrollada se presenta en la Tabla 5.1, mientras que en la Tabla 5.2 se indica la composición cuali-cuantitativa de las formulaciones finales.

Tabla 5.1. Nomenclatura de las formulaciones

Formulación	Nomenclatura
Gelatina 12%, con agregado de PZQ en forma de NS	G1
Gelatina 12%, con agregado de PZQ en forma de polvo (25 mg)	G2
Gelatina 12%, con agregado de PZQ en forma de polvo (150 mg)	G3
Gelatina 8%, con agregado de PZQ en forma de NS	G4
Gelatina 8%, con agregado de PZQ en forma de polvo (25 mg)	G5
Gelatina 8%, con agregado de PZQ en forma de polvo (150 mg)	G6

Tabla 5.2. Composición cuali-cuantitativa de las gomas masticables preparadas.

Componente	G1 (%) ^a	G2 (%) ^a	G3 (%) ^a	G4 (%) ^a	G5 (%) ^a	G6 (%) ^a
Gelatina	12,5	12,3	12,4	8,2	8,0	8,1
Agua	17,6	24,8	24,8	16,3	13,5	15,2
Glicerina	9,5	18,8	18,7	10,3	26,3	25,5
Sorbitol	9,7	19	19,1	10,5	26,8	25,9
Ácido Cítrico	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
NS o polvo SA redispersado	50,3	24,8	24,8	54,4	25,1	25,2
Total	100	100	100	100	100	100

^a Los porcentajes se encuentran expresados como % p/p.

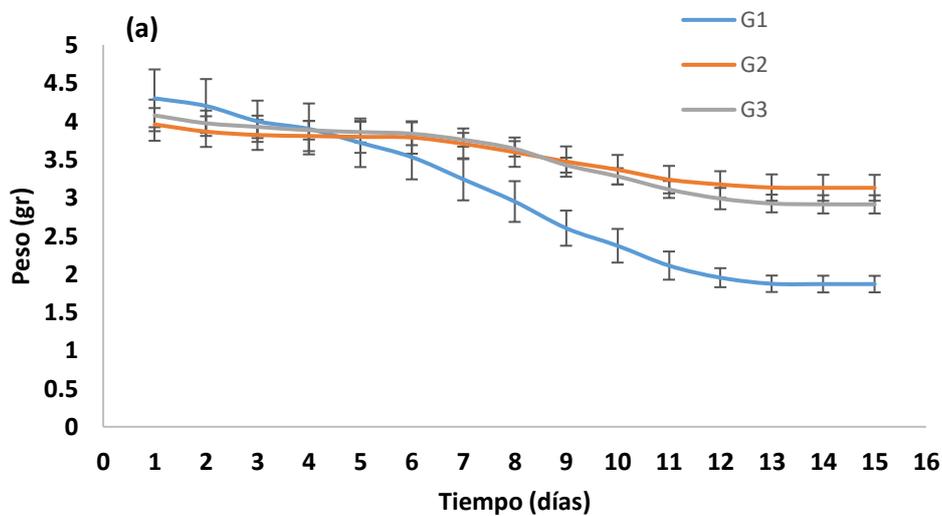
5.3. Resultados

5.3.1. Procesamiento y estabilización

Durante el proceso de estabilización, las gomas masticables fueron pesadas a intervalos regulares, hasta lograr un peso constante, lo cual se interpretó como la finalización del proceso. En la Figura 5.2 se muestran los cambios en el peso de las gomas masticables formuladas, en función del tiempo. Como puede observarse, al momento de la fabricación todas las gomas masticables tienen un peso homogéneo, alrededor de los 4 gramos/unidad. Durante la

estabilización, la pérdida de peso fue significativamente mayor para las gomas masticables elaboradas con NS (G1 y G4), con respecto a las fabricadas con polvo nanocompuesto suspendido (G2-G3, G5-G6); tendencia que no se vio influenciada por la concentración de la gelatina (Figura 5.2). Tal es así que el peso promedio final de las gomas masticables elaboradas con NS resultó ser de 1,9 y 1,5 gramos, para G1 y G4 respectivamente; mientras que las gomas masticables elaboradas con polvo SA redispersado exhibieron un peso medio final sustancialmente mayor (2,9; 3,1; 3,6 y 3,4 gramos, para G2, G3, G5 y G6 respectivamente). A su vez, la estabilización de las gomas masticables G1 y G4 insumió un mayor tiempo. Este comportamiento tendría su explicación en el diferente contenido de agua de las formulaciones elaboradas [22]. La mayor pérdida de peso observada para G1 y G4 puede deberse al mayor contenido inicial de agua en estas formulaciones, que lleva a una mayor pérdida de humedad durante el proceso de estabilización en un ambiente de alta sequedad, tal como se discutirá en la sección 5.3.2.1

Se determinó que el tiempo de estabilización promedio de las gomas es de 12 días, en las condiciones fijadas, alcanzándose la estabilización completa a los 15 días.



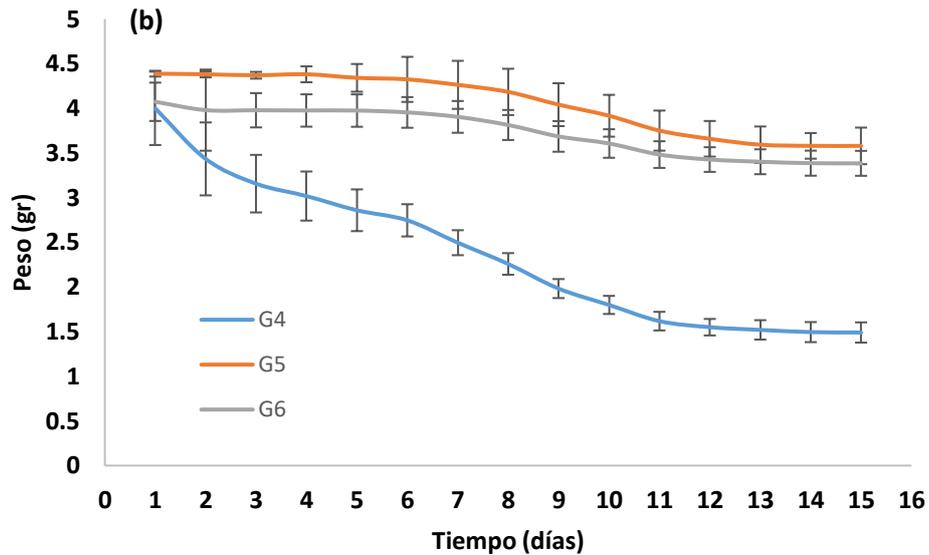


Figura 5.2. Gráfico de estabilización de las gomas masticables formuladas, en función de la variación de peso en el tiempo. (a) gomas masticables elaboradas con una concentración de gelatina al 12% y (b) gomas masticables elaboradas con una concentración de gelatina al 8%.

Por otra parte, se determinaron las dimensiones (alto y ancho) de las mismas gomas masticables, obteniéndose los resultados presentados en la Tabla 5.3. Puede observarse que la formulación G1 presenta un cambio significativo en sus dimensiones, a diferencia de las gomas G2 y G3. La misma tendencia se observa para el grupo de gomas masticables confeccionadas con 8% de gelatina (G4 con respecto a G5 y G6). Asimismo, las formulaciones G1 y G4 resultaron ser las más pequeñas (en ambas dimensiones) luego del proceso de estabilización. Esto se encuentra en buen acuerdo con la mayor proporción de agua en la fórmula inicial y el significativo porcentaje de pérdida de peso durante la estabilización, para ambos casos.

Tabla 5.3. Dimensiones de las gomas masticables

Formulación		Alto (cm)	Ancho (cm)
G1	Día 1	1,21 ± 0,06	1,90 ± 0,01
	Día 15	0,82 ± 0,03	1,57 ± 0,03
G2	Día 1	1,20 ± 0,01	1,94 ± 0,05
	Día 15	1,00 ± 0,01	1,90 ± 0,04
G3	Día 1	1,18 ± 0,01	1,92 ± 0,04
	Día 15	1,00 ± 0,01	1,89 ± 0,01
G4	Día 1	1,20 ± 0,03	1,90 ± 0,02
	Día 15	0,79 ± 0,04	1,50 ± 0,02
G5	Día 1	1,21 ± 0,06	1,92 ± 0,04
	Día 15	1,11 ± 0,01	1,89 ± 0,01
G6	Día 1	1,20 ± 0,03	1,93 ± 0,02
	Día 15	1,10 ± 0,05	1,91 ± 0,05

La determinación de las dimensiones de la formulación brinda información sobre las características geométricas/físicas de las gomas masticables, las cuales hay que tener en cuenta a la hora de establecer los controles de calidad, especialmente los correspondientes a textura, ya que son particularmente afectados por ellas [4]. En la Figura 5.3 se muestran fotografías de las formulaciones estabilizadas, sobre las cuales se realizaron los ensayos fisicoquímicos, mecánicos y farmacéuticos que se detallarán a continuación. Asimismo, allí puede observarse que las gomas masticables resultaron de un color opaco, y en el caso de las formulaciones con mayor dosis de fármaco, presentaron un color blanquecino, debido a la coloración característica del PZQ (materia prima) y a que éste es insoluble en la matriz de gelatina.

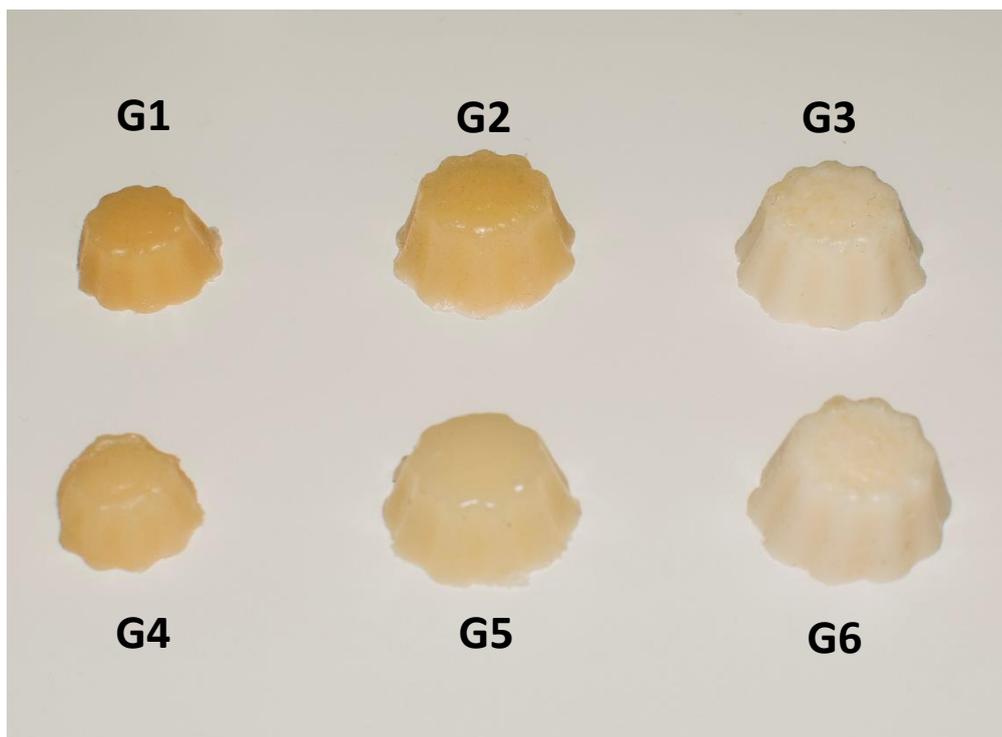


Figura 5.3. Fotografías de las distintas gomas masticables desarrolladas, una vez finalizado el proceso de estabilización.

5.3.2. Caracterización fisicoquímica, mecánica y farmacéutica de las formulaciones estabilizadas

Una vez lograda la estabilización de las gomas masticables, se llevaron a cabo las caracterizaciones fisicoquímicas, mecánicas y farmacéuticas que se detallarán a continuación.

5.3.2.1. Contenido de humedad

El contenido de humedad de las gomas masticables se realizó por el método de Karl-Fischer según lo enunciado en la sección 2.2.5.2.1. Tal como allí se indicó, este estudio fue realizado sobre las gomas masticables G1, G3, G4 y G6, con el fin de evaluar la influencia del contenido de gelatina y la forma de incorporación del principio activo sobre los valores finales de contenido de humedad. Los resultados obtenidos se indican en la Tabla 5.4.

Tabla 5.4. Resultados del contenido de humedad de las diferentes gomas masticables

Formulación	Contenido de humedad (g/100g)
G1	23,6 ± 1,4
G3	23,1 ± 1,0
G4	22,2 ± 1,3
G6	23,3 ± 0,7

Como se puede observar, los valores fueron muy similares entre sí, obteniéndose aproximadamente 23 gramos de agua por cada 100 gramos de goma masticable. Estos resultados indican que ni el contenido de gelatina ni la forma de incorporación del principio activo afectaron el porcentaje de humedad final. De esta manera, todos los sistemas desarrollados llegaron al equilibrio, relacionándose los valores informados a la máxima cantidad de agua que pudieron perder las gomas masticables. Este porcentaje de humedad está en buen acuerdo con aquellos reportados en bibliografía, donde se indica que el contenido de agua en este tipo de producto puede encontrarse entre un 8 % y un máximo cercano al 22-25 % [23], por lo que las formulaciones desarrolladas poseen valores aceptables de porcentaje de humedad.

Los resultados expuestos están en buen acuerdo con los datos informados de pérdida de peso (Figura 5.2). En el caso de las gomas masticables que incorporaron el PZQ en forma de NS (G1 y G4) se partió de un porcentaje teórico de humedad del 70 %. Comparado con el valor de humedad final (post-estabilización) obtenido por Karl Fischer, de aproximadamente 23 %, se observa una reducción cercana al 50 % en el contenido de humedad, y ese valor coincide con el 50 % de pérdida de peso que sufrió la formulación. De la misma manera, las gomas masticables preparadas con polvo nanocompuesto suspendido (G2, G3, G5 y G6) parten de un porcentaje teórico de humedad del 45-50 %, alcanzando valores post-estabilización del 23 %, con lo que aproximadamente hay un 25% de pérdida de humedad, coincidente con la variación de peso cercana a ese mismo porcentaje (Figura 5.2).

5.3.2.2. Determinación de pH

El valor de pH obtenido para todas las gomas masticables estabilizadas se encontró en el rango comprendido entre 4,4 y 4,5. Estos valores de pH son considerados aceptables, dado que la fuerza del gel se ve afectada para valores de pH menores a 4 y mayores a 10 [7]. Por otro lado, valores bajos de pH son favorables para evitar el crecimiento microbiano, que puede provocar mal olor, defectos en la palatabilidad y en la apariencia de la forma farmacéutica [1].

5.3.2.3. Análisis de Textura

La determinación de los atributos de textura, principalmente la dureza y la gomosidad, así como las dimensiones de las gomas masticables, permiten evaluar las características físicas de estas formas farmacéuticas, de modo que sean adecuadas para la utilización y aceptación por parte del paciente. Este ensayo se realizó de acuerdo a lo enunciado en la sección 2.2.5.2.3. Las gomas masticables estudiadas mediante el análisis de textura presentan un perfil típico, tal como se observa en la Figura 5.4.

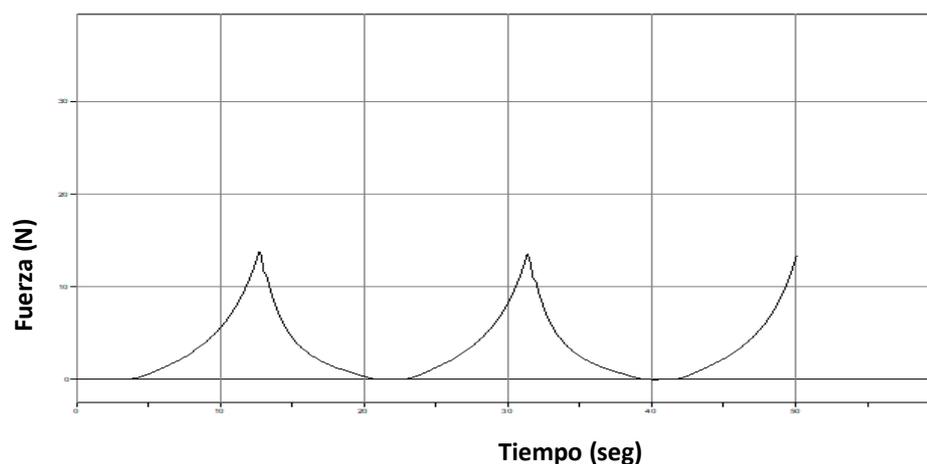


Figura 5.4. Perfil típico de textura de las gomas masticables formuladas que corresponde específicamente a G4

Los resultados obtenidos luego del ensayo TPA se describen en la Tabla 5.5. Es importante destacar que la adhesividad no ha sido reportada dado que, en todos los casos, resultó despreciable. La adhesividad es una medida del trabajo necesario para superar las fuerzas atractivas entre la superficie de la goma y la superficie de otros materiales con los que entra en contacto (por ejemplo, la lengua, los dientes, el paladar, etc.), por lo que está estrechamente relacionada con las propiedades de la superficie [24]. En otras palabras, se espera que este parámetro sea nulo dado que es una característica indeseable en la formulación de gomas masticables.

Tabla 5.5. Resultados del ensayo de análisis de textura

Formulación	Dureza (N)	Elasticidad (mm)	Cohesividad	Gomosidad (N)
Goma Comercial	12,26 ± 0,43	4,34 ± 0,40	0,90 ± 0,03	11,03 ± 0,83
G1	26,54 ± 2,18	4,19 ± 0,16	0,90 ± 0,01	23,39 ± 2,04
G2	23,30 ± 1,22	5,12 ± 0,11	0,93 ± 0,01	21,68 ± 1,03
G3	21,72 ± 1,54	4,89 ± 0,23	0,93 ± 0,07	20,20 ± 1,12
G4	21,79 ± 1,28	3,66 ± 0,13	0,90 ± 0,02	19,49 ± 0,80
G5	15,59 ± 0,50	5,07 ± 0,14	0,95 ± 0,06	16,80 ± 0,54
G6	14,68 ± 0,95	4,90 ± 0,27	0,95 ± 0,06	13,84 ± 1,43

Dado que no fue posible encontrar valores de referencia codificados para cada uno de los parámetros de textura, los resultados se compararon con aquellos obtenidos a partir de una

goma masticable comercial de referencia (conteniendo un complejo multivitamínico). Se debe tener en cuenta además que existe muy poca información sobre análisis de textura de gomas masticables medicinales (e incluso de confitería) en la literatura. Además, el ensayo de textura es estrictamente dependiente de los parámetros geométricos de la formulación, por lo que resulta crítico que éstos permanezcan constantes en una misma muestra [4, 16].

En primer lugar, la dureza se define como la fuerza necesaria para lograr deformación a la primera compresión [24]. La goma de referencia mostró valores de dureza de alrededor de 12 N, mientras que las gomas formuladas en esta Tesis mostraron resultados mayores y más variables (Tabla 5.5).

La principal tendencia observada indica una correlación entre la concentración de gelatina y los parámetros de dureza y gomosidad de los productos obtenidos (a mayor concentración de gelatina, mayores valores para estos parámetros), lo cual concuerda con lo reportado en bibliografía [9,25]. Cuando se comparó la forma de incorporación del IFA, para una misma condición de concentración de agente gelificante, se evidenció que la dureza del producto resultó mayor para las gomas masticables fabricadas utilizando la NS de PZQ, es decir, cuanto menor fue el contenido de agua. Si bien el resultado de humedad post-estabilización obtenido por Karl Fischer fue similar en todas las formulaciones, este valor está expresado en contenido porcentual de agua, y no por unidad fabricada, como se refieren las mediciones de análisis de textura. Si relacionamos el porcentaje de humedad hallado con el peso final de las gomas masticables estabilizadas, podemos concluir que el contenido total de agua en las formulaciones elaboradas con NS (G1 y G4) es menor, respecto a las producidas utilizando polvo SA suspendido. Asimismo, la glicerina y el sorbitol, que actúan como plastificantes en la formulación, también estarían favoreciendo a estos resultados. Un agente plastificante tiene la capacidad de retener agua en las formulaciones, al mismo tiempo que reduce la rigidez y mejora la flexibilidad de la gelatina [26]. En el caso de las gomas masticables elaboradas con NS (G1 y G4), si bien se parte de un mayor contenido de agua inicial, ésta se pierde en una gran proporción durante la fase de estabilización, lo cual puede relacionarse con el menor contenido de glicerina y sorbitol presente en la fórmula. En el caso de la incorporación de PZQ en forma de polvos SA redispersados (G2-G3, G5-G6), la cantidad de agua incorporada inicialmente es menor, pero ésta se pierde en menor proporción durante el proceso de secado, quizás favorecido por la mayor concentración relativa de glicerina y sorbitol (plastificantes). Por ello, la mayor dureza exhibida por las gomas masticables elaboradas con NS de PZQ podría ser el resultado de la conjunción de ambos factores: menor contenido de agua final por unidad (ocasionada por una mayor pérdida durante el proceso de estabilización) y menor contenido proporcional de los agentes plastificantes

glicerina y sorbitol [22, 27]. Estos resultados coinciden con los reportes de literatura, los cuales indican que a medida que disminuye el contenido de humedad, la textura de las gomas masticables evoluciona de blanda a dura y quebradiza, y que durante el almacenamiento, el intercambio de agua entre las gomas masticables y el medio ambiente puede afectar a los atributos físico-químicos, dando como resultado un endurecimiento (pérdida de humedad) o ablandamiento (ganancia de humedad) de las formulaciones [14, 28].

Por otro lado, la elasticidad se define como la velocidad a la cual un material deformado recupera sus dimensiones originales luego de la compresión [24]. La tendencia de los resultados obtenidos indica que, al igual que lo enunciado para dureza, la presencia de los plastificantes (glicerina y sorbitol) estaría influenciando la respuesta en este parámetro. Como se dijo anteriormente, los plastificantes reducen la rigidez de la gelatina, haciéndola más flexible, lo cual aumentaría la elasticidad de las gomas masticables, a medida que aumenta su concentración. Es decir, las gomas masticables elaboradas con polvo SA redispersado presentaron valores de elasticidad mayores, en comparación con las fabricadas con NS, atribuyendo este comportamiento a su mayor contenido de plastificantes.

Por su parte, la cohesividad corresponde a las fuerzas internas del material que lo mantienen íntegro [24]. Para las gomas formuladas, los resultados no variaron significativamente entre las dos concentraciones de gelatina ensayadas, aunque sí se observan sutiles diferencias entre la forma de incorporación del principio activo. Asimismo, los resultados de las formulaciones propuestas resultaron estrictamente similares a la formulación comercial de referencia.

La gomosidad podría definirse como la energía requerida para desintegrar un producto semisólido hasta dejarlo listo para su deglución [24]. Dado que en su cálculo están involucrados los parámetros de dureza y cohesividad, es razonable que la gomosidad aumente en forma directamente proporcional con la dureza. Asimismo, este parámetro resultó lógicamente mayor al aumentar la concentración de gelatina pues, como ya se ha comentado, existe una marcada correlación entre la concentración del agente gelificante y el atributo de dureza [9, 25].

De acuerdo a lo descrito, tanto la concentración de gelatina como la forma de incorporación del principio activo, estaría afectando algunas de las propiedades de textura de las gomas masticables propuestas en este trabajo de Tesis.

5.3.2.4. Ensayo de desintegración

El ensayo de desintegración se realizó según lo expuesto en la sección 2.2.5.2.4. Con el fin de evaluar la influencia de la masticación, propia de estas formas farmacéuticas, el ensayo se realizó tanto con las gomas masticables enteras como cortadas en 4 partes iguales. Los resultados obtenidos se observan en la Tabla 5.6.

Tabla 5.6. Tiempo de disgregación de las diferentes gomas masticables (enteras y cortadas)

Formulación	Tiempo de desintegración (min)	
	Unidad entera	Unidad cortada
G1	35	24
G2	27	17
G3	27	17
G4	23	15
G5	21	10
G6	22	10

En primer lugar, se observan diferencias significativas en el tiempo de desintegración, según la forma de presentación de la goma masticable (entera o cortada). Dado que estas son formas farmacéuticas destinadas a ser masticadas, los valores obtenidos para las gomas particionadas serían los más cercanos a una situación real. En este caso, todos los tiempos de desintegración resultaron menores a 30 minutos, valor límite correspondiente a cápsulas de gelatina tomado como referencia [29-31]. Cabe aclarar que el tiempo registrado corresponde al momento en que las gomas masticables se desintegraron por completo, evidenciándose a través de una total disolución de la matriz de gelatina, con ausencia de aglomerados. Por otra parte, puede observarse la influencia de la proporción de gelatina sobre el tiempo de desintegración. Aquellas gomas con mayor contenido de gelatina (G1 a G3), demoraron más en desintegrarse completamente, lo cual guarda estrecha relación con la dureza obtenida para las mismas formulaciones.

Además, conocer el tiempo de disgregación es crítico, dado que la formulación debe desintegrarse para liberar el principio activo. Como se mencionó al inicio de este capítulo, las gomas masticables están diseñadas para la administración de principios activos a personas que no puedan deglutir los comprimidos convencionales, y así mejorar la adherencia a los tratamientos. Sin embargo, el grado en que cada goma se mastica puede variar de individuo a individuo, siendo completamente masticada o simplemente deglutida en trozos. Por este motivo, y aunque el estudio de disgregación no se exige en los textos regulatorios para formas

masticables [29], diferentes autores se plantean la necesidad de tenerlo en cuenta en las etapas de diseño de producto [32, 33].

En conclusión, los resultados obtenidos en el ensayo de desintegración constituyen un buen indicador preliminar del desempeño de las gomas masticables formuladas y, una vez expuesto el fármaco, ya sea en forma de NS o de polvo nanocompuesto, se espera que su velocidad de disolución sea semejante a la de tales productos intermedios [31, 34].

No obstante es importante destacar que resulta necesario el desarrollo de métodos de disolución apropiados para gomas masticables, que funcionen como indicadores fehacientes del comportamiento biofarmacéutico de estas formulaciones, ya que no se han detectado reportes oficiales consensuados al respecto.

5.3.2.5. Actividad acuosa (a_w)

La a_w se puede considerar un indicador de la cantidad de agua que se halla disponible para participar en diversas reacciones, incluida el crecimiento microbiano [23]. Los resultados obtenidos para las formulaciones desarrolladas, según la metodología expuesta en la sección 2.2.5.2.5, se muestran en la Tabla 5.7.

Tabla 5.7. Resultados de a_w de las diferentes gomas masticables.

Formulación	a_w
G1	0,616 ± 0,002
G3	0,576 ± 0,002
G4	0,617 ± 0,002
G6	0,582 ± 0,001

Tal como se puede observar en la Tabla 5.7, la concentración de gelatina incorporada a las formulaciones no afectó los resultados de actividad acuosa. Esto coincide con los reportes de literatura, en los cuales se indica que ciertos ingredientes solubles en agua y con un alto peso molecular, tales como proteínas, hidrocoloides y gomas, tienen un mínimo efecto sobre la reducción de la actividad de agua [28]. En cuanto a la concentración y forma de incorporación del fármaco, los resultados obtenidos mostraron sutiles diferencias en los valores de a_w . La actividad de agua es una propiedad dependiente no sólo del contenido en agua, sino también de la presencia de otros solutos, como edulcorantes (polialcoholes), sales y sustancias humectantes [28]. Los ingredientes con alta solubilidad en agua y bajo peso molecular tienen un mayor efecto en la reducción de la actividad acuosa. Ello explicaría por qué las gomas elaboradas

con el polvo SA redispersado, en cuya composición presentan mayor proporción de sorbitol, exhibieron una actividad de agua ligeramente menor que las elaboradas con NS (que contienen menos sorbitol en su fórmula). Además, las gomas masticables G3 y G6 poseen mayor dosis de IFA, lo que también contribuiría a la sutil reducción del valor de a_w [14].

La actividad acuosa es un parámetro importante en las gomas masticables por su relación con la estabilidad microbiológica, la textura y la migración de agua. Un valor de a_w inferior a 0,65 asegura la estabilidad y una adecuada vida útil de los productos [23, 28]. En general, estas formulaciones suelen tener una actividad de agua por debajo de 0,75 [14]. En consecuencia, los resultados obtenidos indican que este parámetro resultó totalmente aceptable para las formulaciones desarrolladas.

5.3.2.6. Control microbiológico

El control higiénico (microbiológico) de las formulaciones desarrolladas se llevó a cabo según lo descrito en la sección 2.2.5.2.6. Las preparaciones farmacéuticas se pueden contaminar con hongos filamentosos, levaduras y bacterias. Las materias primas naturales, el equipamiento, el agua, los operadores, el aire y el material de empaque pueden ser fuentes de contaminación de los productos farmacéuticos y cosméticos [35]. La agencia reguladora de Estados Unidos *Food and Drug Administration* (FDA) reconoce tres categorías de microorganismos: patógenos, oportunistas y objetables. Se denominan patógenos a aquellos microorganismos o toxinas responsables de enfermar o infectar al hombre, hallándose entre los más comunes a *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium spp.* Se consideran oportunistas a aquellos microorganismos que producen enfermedad en pacientes inmunocomprometidos; mientras que se denomina objetables a aquellos que pueden inactivar fármacos y/o deteriorar el producto, provocando una posible falta de eficacia y seguridad. Según la legislación argentina, los parámetros microbiológicos a ensayar en formas farmacéuticas orales no estériles incluyen [30]:

- Aerobios viables totales: En este grupo se incluyen todos los microorganismos capaces de desarrollar en presencia de oxígeno y a una temperatura comprendida entre 20 °C y 45 °C, con una óptima entre 30 °C y 40 °C. Se estima la microflora total, aunque sin especificar tipos de microorganismos. Esta determinación refleja la calidad sanitaria de los productos analizados indicando, además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma en la que fueron manipulados durante su elaboración. Un recuento elevado puede significar una excesiva contaminación de la materia prima, una deficiente manipulación durante el proceso de elaboración, la posibilidad de que existan patógenos y la inmediata alteración del producto [36].

- Hongos y levaduras: Muchos hongos saprófitos, mohos y levaduras ambientales suelen estar ligados a contaminaciones de medicamentos y cosméticos. El impacto de la contaminación fúngica, especialmente por mohos, viene no sólo dada por su potencial para deteriorar los productos, sino también para producir una gran variedad de micotoxinas a las que el hombre tiene susceptibilidad y provocar infecciones y reacciones alérgicas en personas hipersensibles. Por estos motivos, para conocer la calidad microbiológica de un producto, es pertinente realizar un recuento de hongos y levaduras [36].
- *Staphylococcus Aureus*: El género *Staphylococcus* está ampliamente distribuido en la naturaleza, se lo encuentra en la piel y mucosas de humanos y otros primates. Es frecuentemente encontrado en la boca, sangre, glándulas mamarias, intestino, tracto genitourinario y vías aéreas respiratorias de sus huéspedes. *Staphylococcus aureus* se trata de un coco Gram positivo perteneciente a la familia *Micrococcaceae*. Se encuentra perfectamente documentado que el *S. aureus* es un patógeno oportunista humano y es una de las mayores causas de infecciones agudas y piogénicas, las cuales, de no ser tratadas, pueden extenderse al tejido circundante o, por vía de una bacteriemia, a otros órganos. La presencia del género *Staphylococcus*, y particularmente *S. aureus*, en una materia prima o producto farmacéutico o cosmético, indica que la fuente de contaminación pudo haber sido humana (o sea, los operadores). Estos microorganismos pueden ser transportados por el polvo, piel, ropa y microgotas de humedad que se generan al moverse, hablar y estornudar [35].
- *Escherichia coli*: Este microorganismo es parte de la flora normal fecal de humanos y animales inferiores. Sin embargo, algunas cepas pueden producir infecciones del tracto urinario, de heridas y entéricas, produciendo ocasionalmente septicemia y meningitis. Su presencia en un producto de uso o consumo humano implicaría una posible presencia de contaminación fecal, en especial en productos de consumo oral y en materias primas de origen natural [35].
- *Salmonella spp.*: Es un miembro de la familia *Enterobacteriaceae* que puede causar muchos tipos de infecciones, desde una gastroenteritis autolimitante hasta afecciones generalizadas como la fiebre tifoidea y paratifoidea. Son bacilos Gram negativos anaerobios facultativos. Las salmonelas se encuentran ampliamente difundidas en la naturaleza y como flora normal del tracto intestinal de animales y humanos. Se distinguen de otros microorganismos causantes de enfermedades gastrointestinales en que su presencia puede ser habitual en materias primas de origen natural, en especial aquellas de origen animal. Posee una gran habilidad de multiplicarse en un amplio rango de temperaturas, alcanzando recuentos muy elevados. Pueden ser fácilmente diseminadas y transmitidas de una persona a otra y producirse un prolongado período de excreción del microorganismo tras la infección, originándose lo que se conoce como

estado de portador. Dada la etiología de este microorganismo es de fundamental importancia su investigación en materias primas de origen natural [35].

- *Pseudomonas aeruginosa*: Es un bacilo Gram negativo no fermentador de la glucosa, y uno de los patógenos más importantes dentro del género *Pseudomonas*, con respecto al número y tipo de infecciones que causa y su relación con la alta morbilidad y mortalidad relacionada. Este microorganismo combina perfectamente su adaptabilidad a diferentes ambientes con una gran variedad de factores de virulencia. El espectro de enfermedades causadas por este agente varía desde una infección superficial de piel hasta una sepsis. Los individuos inmunocomprometidos son las comunidades más afectadas por infecciones con *P. aeruginosa*, y las causas están frecuentemente asociadas con la contaminación de agua y de soluciones acuosas. La importancia de investigar la presencia de *P. aeruginosa* en productos farmacéuticos que van a ser administrados por vía inhalatoria y ocular, así como también en vehículos acuosos, está determinada por la severidad de las infecciones que causa [35].

Los resultados obtenidos durante la evaluación de la gelatina (materia prima) y las formulaciones desarrolladas, así como también los valores de aceptación establecidos por Farmacopea Argentina, correspondientes a la vía de administración oral, se indican en la Tabla 5.8 [30].

Tabla 5.8. Parámetros microbiológicos obtenidos para la gelatina materia prima y gomas masticables, junto a los criterios de aceptación establecidos por Farmacopea Argentina

Parámetros microbiológicos	Criterios de aceptación	Gelatina materia prima	Resultados obtenidos G1 ^a	Resultados obtenidos G3 ^a
Aerobios mesófilos	≤ 1000 UFC/g o ml	30 UFC/g	110 UFC/g	210 UFC/g
Mohos y levaduras	≤ 100 UFC/g o ml	50 UFC/g	850 UFC/g	1200 UFC/g
<i>E. Coli</i>	Ausencia/g o ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>S. aureus</i>	Ausencia/g o ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>P. aeruginosa</i>	Ausencia/g o ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Salmonella spp.</i>	Ausencia/g o ml	Ausencia	Ausencia	Ausencia

^aLos resultados corresponden a los valores mínimos (G1) y máximos (G3) hallados durante el recuento microbiano.

Al comparar los datos obtenidos con los límites de la legislación vigente se puede observar, en primer lugar, la ausencia de microorganismos patógenos con implicancias graves para la salud, es decir, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *Salmonella spp.* Asimismo, la gelatina mostró un recuento microbiológico totalmente aceptable, por lo que se puede asegurar que se parte de un material microbiológicamente apto. Por su parte, el recuento de aerobios mesófilos de las

gomas masticables formuladas cumplió con el criterio de aceptación establecido en Farmacopea. Se debe considerar especialmente que las gommas masticables presentan valores de humedad superiores al 20%. En relación a ello, varios estudios han informado la existencia de un mayor crecimiento de colonias microbianas en productos que presentaban altos valores de humedad durante su almacenamiento [37,38]. Además, estos resultados están en buen acuerdo con lo reportado en la evaluación de a_w , cuyos valores se hallaron por debajo del umbral crítico (0,65) para la estabilidad microbiológica [23, 28].

En el caso de los mohos y levaduras, el recuento se halló por encima del criterio establecido por Farmacopea. De acuerdo a estos datos, es altamente probable que la contaminación esté ocurriendo durante el proceso de estabilización, dado que las gommas masticables poseen, durante esta fase, un alto contenido de humedad residual, y es necesaria la apertura periódica del desecador para secar la silica gel, a fin de mantener el ambiente de baja humedad relativa necesaria. Se debe tener en cuenta que, a pesar de que los valores de actividad acuosa son aceptables para que no ocurra la contaminación microbiana, el producto recién fabricado retiene toda su humedad, y es durante la fase de estabilización en la que podría estar ocurriendo la contaminación. No obstante, estos son resultados preliminares, los cuales podrían mejorarse mediante el agregado de un agente conservante o bien optimizando la fase de estabilización de las gommas masticables, situación que no sería discutible a escala industrial, donde los procesos de secado y estabilización se llevan a cabo bajo condiciones estandarizadas, utilizando equipamiento específico [16].

5.3.2.7. Determinación de contenido de PZQ

El ensayo de valoración se llevó a cabo según lo enunciado en la sección 2.2.5.2.7. Al no existir monografía codificada en Farmacopeas para PZQ en forma de gommas masticables, se tomaron como indicadores de referencia los límites de valoración enunciados para la forma farmacéutica comprimidos de este mismo fármaco, es decir, 90,0 – 110,0 % sobre valor declarado (SVD) [29,30]. Para las formulaciones desarrolladas, los resultados obtenidos se hallaron en el rango entre 91,6 % y 97,5 % SVD, con un coeficiente de variación del 4,1 %, lo cual indica que no hubo pérdida significativa de fármaco durante el proceso productivo, y que la variabilidad interindividual (entre las gommas masticables desarrolladas) es aceptable.

5.4. Conclusiones

En función de los resultados obtenidos es posible concluir que se lograron obtener exitosamente formas farmacéuticas masticables conteniendo NS, dosificadas a dos concentraciones, de un antiparasitario para el cual, actualmente, no existen formulaciones pediátricas en el mercado. La metodología aplicada para el desarrollo de las gomas masticables resultó ser un proceso sencillo y económico, ya que no requirió de grandes ni sofisticados equipamientos. Asimismo, las formulaciones propuestas no presentan azúcar en su composición, lo cual las torna sumamente atractivas por su capacidad no-cariogénica y para la administración de fármacos en pacientes diabéticos y pediátricos. La incorporación del PZQ en forma de NS o de polvo nanocompuesto redispersado permitió obtener formas farmacéuticas con características fisicoquímicas similares, a excepción de las propiedades de textura. Los resultados de pH y a_w obtenidos luego de la estabilización resultan buenos indicadores de estabilidad microbiológica y, si bien el análisis microbiológico no resultó satisfactorio en cuanto al recuento de mohos y levaduras, es posible su mejora a través de la incorporación de un agente conservante y/o la optimización del proceso de secado y estabilización de las gomas masticables.

Las gomas masticables tienen ventajas significativas por sobre las formas farmacéuticas convencionales, tanto sólidas como líquidas, ya que permanecen sólidas durante el almacenamiento, lo que es favorable para la estabilidad, y se transforman en líquidas a los pocos minutos de su administración, liberando así el principio activo incorporado. Por ello es que las gomas masticables tienen un enorme potencial para ser el sistema de administración de la mayoría de los medicamentos destinados a la población pediátrica, y los resultados aquí expuestos para PZQ alientan a seguir en este camino.

5.5. Bibliografía

1. Jacobs IC. "Semi-solid Formulations" in *Pediatric Formulations: A Roadmap AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series*. Bar-Shalom D, Rose K (Eds), 2014, Springer, New York, NY, pp. 171-179
2. Davydova N. "USP Chewable Gels Monographs". 2018 <https://www.usp.org/sites/default/files/usp/document/stakeholder-forum/chewable-gels.pdf>
3. Warnecke M. "Gums and jelly products and formulations" in *Proceedings of 45th P.M.C.A. Production Conference*, pp. 140–145, 1991
4. Burey P, Bhandari BR, Rutgers RPG, Halley PJ, Torley PJ. "Confectionery Gels: A Review on Formulation, Rheological and Structural Aspects". *Int. J. Food. Prop.*, vol. 12, no 1, pp. 176-210, 2009
5. DeMars LL, Ziegler GR. "Texture and structure of gelatin/pectin-based gummy confections". *Food hydrocolloid.*, vol. 15, no. 4-6, pp. 643-653, 2001
6. Dille MJ, Hattrem MN, Draget KI. "Soft, chewable gelatin-based pharmaceutical oral formulations: a technical approach". *Pharm. Dev. Technol.*, vol. 23, no. 5, pp. 504-511, 2017
7. Dille MJ, Hattrem MN, Draget KI. "Bioactively filled gelatin gels; challenges and opportunities". *Food hydrocolloid*, vol. 76, pp. 17-29, 2018
8. Chiellini E, Cinelli P, Fernandes EG, Kenawy ERS, Lazzeri A. "Gelatin-based blends and composites. Morphological and thermal mechanical characterization". *Biomacromolecules*, vol. 2, no. 3, pp. 806-811, 2001
9. Schrieber R, Gareis H. "Gelatine handbook". Weinheim: Wiley- VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007
10. Yang JS. "Applications of gelatin in food and biotechnology". *J. Nutr. Food. Sci.*, vol. 2, no. 3, pp. 263-268, 1997
11. Saha D, Bhattacharya S. "Characteristics of gellan gum based food gel". *J. Texture Stud.*, vol. 41, no. 4, pp. 459-471, 2010
12. Harris P, Normand V, Norton IT. "Gelatin" in *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Trugo, L. and Finglas, P.M. (Eds.) Academic Press, pp. 2865-2871, 2003
13. Hartel RW, Joachim H, Hofberger R. "Jellies, Gummies and Licorices" in *Confectionery Science and Technology*. Springer, Cham., 2018, pp. 329-359
14. Delgado Estrella PS. "Acciones tecnológicas para mejorar la calidad nutricional y sensorial de los caramelos de goma". *Tesis doctoral*, Universidad de Murcia, 2018
15. Kearsley MW, Deis RC. "Sorbitol and Mannitol" in *Sweeteners and sugar alternatives in food technology*, Mitchell H (Ed), 2008, pp. 249-292
16. Delgado P, Bañón S. "Determining the minimum drying time of gummy confections based on their mechanical properties". *CyTA - Journal of Food*, vol. 13, no. 3, pp. 329-335, 2015
17. Johnston-Banks FA. "Gelatine" in *Food Gels; Harris P., Ed. Elsevier Science Publishers Ltd*, 1990, pp. 233–289
18. Dickinson E, Stainsby G, Wilson L. "An adsorption effect on the gel strength of dilute gelatin-stabilized oil-in-water emulsions". *Colloid. Polym. Sci.*, vol. 263, no. 11, pp. 933-934, 1985

19. Dille MJ, Draget KI, Hattrem MN. "The effect of filler particles on the texture of food gels" in, *Novel ingredients and processing techniques: Vol. 1. Modifying food texture*. Chen J, Rosenthal A (Eds.) Woodhead Publishing. 2015, pp. 183-200
20. Cachado Gomes Jacinto Valente, SC. "Formas Farmacêuticas em Pediatria". *Tesis de maestría*. Universidade do Algarve, 2014
21. Allen LV. "Troches and lozenges". *Secundum Artem. Current & Practical Compounding Information for the Pharmacist*, vol. 4, no. 2, 2003
22. Čižauskaitė U, Jakubaitytė G, Žitkevičius V, Kasparavičienė G. "Natural ingredients-based gummy bear composition designed according to texture analysis and sensory evaluation in vivo". *Molecules*, vol. 24, no. 7, pp. 1-16, 2019
23. Hartel RW, von Elbe JH, Hofberger R. "Water" in *Confectionery Science and Technology*. Springer, Cham, 2017, pp. 69-83
24. Pons M, Fiszman SM. "Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems". *J. Text. Studies*, vol. 27, no. 6, pp. 597-624, 1996
25. Ikeda S, Henry K. "Effects of Partial Replacement of Gelatin in High Sugar Gels with Gellan on their Textural, Rheological, and Thermal Properties". *Food Biophys.*, vol. 11, no. 4, pp. 400-409, 2016
26. García Sanchez MJ, Santos Buelga D. "Formas sólidas orales" en *Tecnología farmacéutica*. Vila Jato JL. Ed. Síntesis, S.A. España, 2001, pp. 55-155
27. Coppola M, Djabourov M, Ferrand M. "Phase diagram of gelatin plasticized by water and glycerol". *Macromolecular Symp.*, vol. 273, no. 1, pp. 56-65, 2008
28. Ergun R, Lietha R, Hartel RW. "Moisture and Shelf Life in Sugar Confections". *Crit. Rev. Food Sci.*, vol. 50, no. 2, pp. 162-192, 2010
29. The United States Pharmacopeia and National Formulary USP 41-NF36, The United States Pharmacopeial Convention, Inc: Rockville, MD, Estados Unidos, 2018
30. Farmacopea Argentina, 7^{ma} Ed; Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT): Buenos Aires, Argentina, 2013
31. Romero de Soto MD. "Estudios de farmacotecnia y desarrollo de formas de dosificación de vegetales deshidratados para su aplicación en pediatría y personas de la tercera edad". *Tesis doctoral*, Universidad de Granada, 2012
32. Siewert M, Dressman J, Brown C, Shah V, Williams R. "FIP/AAPS guidelines for dissolution/in vitro release testing of novel/special dosage forms". *AAPS PharmSciTech.*, vol. 4, no. 1, pp. 43-52, 2003
33. Donauer N, Löbenberg R. "A mini review of scientific and pharmacopeial requirements for the disintegration test". *Int. J. Pharm.*, vol. 345, no. 1-2, pp. 2-8, 2007
34. Al-Gousous J, Langguth P. "Oral solid dosage form disintegration testing—the forgotten test". *J. Pharm. Sci.*, vol. 104, no. 9, pp. 2664-2675, 2015
35. Cerra H, Fernández MC, Horak C, Lagomarsino M, Torno G, Zaranki E. "Manual de microbiología aplicada a las industrias farmacéutica, cosmética y de productos médicos". 2013
36. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Análisis Microbiológico de los Alimentos. Metodología Analítica Oficial. Microorganismos Indicadores. Vol 3. Noviembre 2014 Disponible en:

http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_III.pdf

37. Wickham LD, Wilson LA. "Quality changes during long term storage of cassava roots in moist media". *Tropical Sci.*, vol. 28, no. 2, pp. 79-86, 1998
38. Aidoo H, Sakyi-Dawson E, Tano-Debrah K, Saalia FK. "Development and characterization of dehydrated peanut-cowpea milk powder for use as a dairy milk substitute in chocolate manufacture". *Food Res. Int.*, vol. 43, pp. 79- 85, 2010

CAPÍTULO 6

Conclusiones y perspectivas futuras

6.1. Conclusiones

El objetivo general de este trabajo de Tesis consistió en desarrollar y caracterizar NS de PZQ que posean propiedades biofarmacéuticas optimizadas, y su posterior formulación en diferentes formas farmacéuticas que pretenden ser destinadas, principalmente, a la población pediátrica. Mediante la aplicación de HAP se logró reducir el tamaño de las partículas de PZQ, cuyos valores promedio se encontraron en el rango nanométrico. Los excipientes seleccionados fueron apropiados, dado que se evitó la aglomeración de las partículas, a corto plazo. Mediante los estudios de FT-IR se descartó la existencia de interacciones entre el fármaco y los excipientes empleados. A pesar de que la HAP es una metodología en la que se aplica gran energía a la muestra, el principio activo conservó, en parte, su naturaleza cristalina inicial. Esto es importante ya que contribuye particularmente a la estabilidad del fármaco. Por último, el perfil de disolución de las NS desarrolladas mostró mejoras significativas cuando se comparó tanto con el fármaco puro como con las mezclas físicas. Los productos desarrollados constituyen así sistemas promisorios, conformando la base de los estudios posteriores.

Una vez obtenidas las NS, se llevó a cabo la transformación a una forma sólida mediante el SA. Se obtuvo, así, un polvo que conservó las características optimizadas de la NS, tanto en términos fisicoquímicos como biofarmacéuticos. La obtención de un polvo con buenos atributos para la vía oral constituye un producto versátil, que permite obtener variadas alternativas para la forma farmacéutica final. En este caso, la forma farmacéutica seleccionada se encuentra conformada por un polvo destinado a la preparación en forma extemporánea. En tal sentido, el vehículo elegido para la redispersión del polvo conteniendo PZQ se seleccionó considerando tanto la estabilidad física de las partículas en suspensión como la aceptabilidad por parte del paciente. Estos vehículos son de amplia utilización a nivel hospitalario, en la reformulación de medicamentos en el área pediátrica. La caracterización de los polvos redispersados permitió evidenciar que el tamaño de las partículas se conservó (alcanzándose valores nanométricos similares a las NS originales), que la redispersión resultó ser un proceso sencillo y rápido, que el comportamiento de disolución resultó altamente satisfactorio, y que, a pesar de la existencia de una sedimentación, la simple agitación manual permitió recuperar una suspensión homogénea. De esta manera, se logró obtener un polvo con mejoradas características biofarmacéuticas, destinado en primera instancia a la administración extemporánea de PZQ, que podría producirse tanto a nivel hospitalario como a nivel industrial, dispensándose en un envase adecuado.

Por último, teniendo en cuenta las mejoras biofarmacéuticas alcanzadas mediante la aplicación de las herramientas tecnológicas descritas (HAP y SA) y considerando que las formulaciones desarrolladas estarían destinadas a la población pediátrica, se elaboraron formas farmacéuticas semisólidas. En este sentido, las gomas masticables desarrolladas permitieron la vehiculización del PZQ en diferentes concentraciones, tanto en forma de NS como de polvo SA. Se logró obtener así una formulación que pretende ser ampliamente aceptada por los pacientes pediátricos, dada su similitud con una golosina, pero sin la incorporación de azúcar, con las ventajas que ello implica. La metodología empleada a escala laboratorio resultó ser sencilla y económica, y fácilmente aplicable en laboratorios magistrales. Los resultados obtenidos en la evaluación de propiedades críticas, realizadas sobre las distintas formulaciones propuestas, resultaron ser sumamente aceptables, fundamentalmente en términos de textura y desintegración. Los resultados de pH y a_w obtenidos luego de la estabilización resultan buenos indicadores de estabilidad microbiológica y, si bien el análisis microbiológico no resultó satisfactorio en cuanto al recuento de mohos y levaduras, es posible su mejora a través de la incorporación de un agente conservante y/o la optimización del proceso de secado y estabilización de las gomas masticables.

En resumen, en este trabajo de Tesis fue posible aumentar la velocidad de disolución del PZQ de forma significativa e incorporarlo en distintas formas farmacéuticas, que podrían contener dosis menores con una reducción asociada de los efectos secundarios. Ello se logró mediante la aplicación de herramientas tecnológicas sencillas y de fácil implementación. Estos desarrollos podrían conducir a una mejora en el tratamiento de las parasitosis tratadas con PZQ, especialmente aquellas con mayor afectación en la población pediátrica, mejorando la adherencia al tratamiento.

6.2. Perspectivas futuras

Si bien estos resultados resultan ser muy prometedores para llenar el vacío existente de una formulación pediátrica de PZQ en el mercado, tanto local como internacional, aún restan realizar evaluaciones que no se han abordado en este trabajo de Tesis. En este sentido, se proponen las siguientes actividades futuras:

- Evaluar la estabilidad química de las formulaciones desarrolladas, mediante el desarrollo de una metodología HPLC adecuada

- Realizar ensayos in vivo a fin de comprobar la eficacia de las formulaciones desarrolladas
- Realizar estudios de palatabilidad sobre las formulaciones desarrolladas para asegurar la adherencia al tratamiento
- Optimizar el proceso de SA de NS, mediante un diseño experimental adecuado, a fin de obtener resultados de rendimiento más promisorios
- Evaluar la utilización de distintos dispositivos y/o sistemas de envase primario para la administración de las formas farmacéuticas extemporáneas
- Optimizar la fórmula final de gomas masticables, previendo la incorporación de saborizantes, colorantes y/o conservantes adecuados, así como el proceso de acabado (e.g. encerado, recubrimiento con azúcar, etc.)
- Optimizar el proceso de producción de gomas masticables, a escala magistral, a fin de reducir el recuento microbiológico (fundamentalmente mohos y levaduras), así como evaluar la calidad microbiológica del producto intermedio (polvo SA)
- Desarrollar un método de disolución apropiado para la evaluación de las gomas masticables

Por último, cabe destacar que todos estos resultados son de interés en el ámbito de la producción pública de medicamentos, lo cual se encuentra demostrado por la obtención de un subsidio SPU “Universidades Agregando Valor”, gestionado entre nuestro grupo de investigación y el Laboratorio PROFARSE (Productora Farmacéutica Rionegrina Sociedad del Estado) para el desarrollo de formulaciones huérfanas en pediatría. Se pretende, en tal sentido, continuar trabajando conjuntamente con dicha institución, así como también con los servicios de farmacia de ámbitos hospitalarios públicos y privados, quienes han demostrado su interés en la búsqueda de soluciones farmacoterapéuticas para el tratamiento de las enfermedades infecciosas desatendidas.

Abreviaturas

Aw: Actividad acuosa

CDB: Calorimetría diferencial de barrido

DL: Difracción láser

DS: Dispersiones sólidas

ECF: Espectroscopia de correlación de fotones

ED: Eficiencia de disolución

EID: Enfermedades infecciosas desatendidas

EMA: European Medicines Agency

FDA: Food and Drug Administration

FT-IR: Espectroscopia infrarrojo por Transformada de Fourier

HCl: Ácido clorhídrico

HAP: Homogeneización a alta presión

IFA: Ingrediente farmacéutico activo

MDX: Maltodextrina

MEB: Microscopía electrónica de barrido

MF: Mezclas físicas

NNI: National Nanotechnology Initiative

NSL: Nanopartículas sólidas lipídicas

OMS: Organización Mundial de la Salud

NS: Nanosuspensiones

P188: Poloxamer 188

PVP: Polivinilpirrolidona (povidona)

PZQ: Praziquantel

SA: Secado por atomización

SCB: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

TPA: Texture Profile Analysis (Análisis de textura)

Tablas

Tabla 1.1. Dosis y posología habitualmente utilizadas para distintas parasitosis

Tabla 1.2. Ventajas y desventajas de las distintas tecnologías para la producción de nanopartículas

Tabla 2.1. Composición cuali-cuantitativa de los vehículos utilizados para la redispersión del polvo

Tabla 3.1. Composición de las distintas formulaciones

Tabla 3.2. Distribución de tamaño de partículas de las distintas formulaciones

Tabla 3.3. Comportamiento térmico de los materiales puros, las MF y las NS.

Tabla 3.4. Resultados del ajuste de los perfiles de disolución al modelo cinético de Weibull y de ED

Tabla 4.1. Composición de las distintas formulaciones

Tabla 4.2. Distribución de tamaño de partículas de NS, polvos secos y polvos redispersados en agua.

Tabla 4.3. Comportamiento térmico de los materiales puros, las MF y los polvos SA

Tabla 4.4. Modelos de disolución aplicados a MF y polvos SA redispersados, y sus correspondientes parámetros de ajuste

Tabla 4.5. Tamaño medio de partícula e IPD de PZQ en función del tiempo

Tabla 4.6. Composición cuali-cuantitativa de los comprimidos comerciales conteniendo PZQ

Tabla 5.1. Nomenclatura de las formulaciones

Tabla 5.2. Composición cuali-cuantitativa de las gomas masticables preparadas

Tabla 5.3. Dimensiones de las gomas masticables

Tabla 5.4. Resultados del contenido de humedad de las diferentes gomas masticables

Tabla 5.5. Resultados del ensayo de análisis de textura

Tabla 5.6. Tiempo de disgregación de las diferentes gomas masticables (enteras y cortadas)

Tabla 5.7. Resultados de aw de las diferentes gomas masticables

Tabla 5.8. Parámetros microbiológicos obtenidos para la gelatina materia prima y gomas masticables, junto a los criterios de aceptación establecidos por Farmacopea Argentina

Figuras

Figura 1.1. Esquema de formas farmacéuticas pediátricas

Figura 1.2. Estructura química de Praziquantel

Figura 1.3. Ciclo biológico de *Schistosoma*

Figura 1.4. Esquema de las principales características farmacocinéticas de PZQ

Figura 1.5. Sistema de clasificación Biofarmacéutica

Figura 1.6. Estructura básica de nanopartículas poliméricas, nanoemulsiones, NSL, portadores lipídicos nanoestructurados

Figura 1.7. Efecto de los alimentos en la disolución de micropartículas y nanopartículas

Figura 1.8. Ilustración esquemática de la maduración de Ostwald.

Figura 2.1. Ángulo de contacto entre un líquido y un sólido de interés

Figura 2.2. Equipo de Homogeneización de Alta Presión

Figura 2.3. Equipo de secado por atomización

Figura 2.4. Visualización de la doble capa eléctrica

Figura 2.5: Esquema fotográfico de la formulación y estabilización de las gomas masticables

Figura 2.6. Analizador de Textura TA Plus utilizado para la evaluación de la textura de las gomitas desarrolladas

Figura 2.7. Curva de análisis de textura

Figura 2.8. Instrumento utilizado para determinar a_w

Figura 3.1. Esquema de procesamiento mediante HAP. Homogeneizador a dos etapas

Figura 3.2. Estructura química de Poloxamer

Figura 3.3. Estructura química de Povidona

Figura 3.4. Estructura química de la Maltodextrina: a) cadena lineal de dos unidades de glucopiranosas; b) ramificaciones sobre la cadena lineal

Figura 3.5. Micrografías de PZQ a distintas magnificaciones: a) 1000x; b) 4000x

Figura 3.6. Micrografías de los excipientes: a) PVP (3000x); b) P188 (1700x); c) MDX (3000x)

Figura 3.7. Micrografías de las MF (3000x): a) MF correspondiente a F4; b) MF correspondiente a F5

Figura 3.8. Micrografías de NS (20000x): a) F4; b) F5

Figura 3.9. Espectros FT-IR correspondiente a F4

Figura 3.10. Espectros FT-IR correspondiente a F5

Figura 3.11. Comportamiento térmico de: a) NS (F4); b) NS (F5); c) MF (F4); d) MF (F5); e) PZQ materia prima; f) P188; g) MDX; h) PVP. u.a.: unidades arbitrarias

Figura 3.12. Difractogramas de los materiales puros

Figura 3.13. Difractogramas de MF y NS: a) F4; b) F5

Figura 3.14. Perfiles de disolución de PZQ materia prima, F4 y F5.

Figura 4.1. Principio de funcionamiento de un equipo de secado por atomización (esquema co-corriente).

Figura 4.2. Esquema de selección de envase primario adecuado para formulaciones pediátricas orales.

Figura 4.3. Micrografías de las MF: a) MF1; b) MF2; c) MF3

Figura 4.4. Micrografías SA1: a) 3000X; b) 10000X. Micrografías SA2: c) 3000X; d) 10000X. Micrografías SA3: e) 3000X; f) 10000X

Figura 4.5. Espectros FT-IR obtenidos luego del SA, en comparación con componentes puros y una MF de referencia.

Figura 4.6. Termogramas de SA1 (I), SA2 (II) y SA3 (III), indicando las curvas de: a) PVP; b) P188; c) PZQ; d) MF; e) polvos SA

Figura 4.7. Difractogramas de rayos X de: I) SA1; II) SA2; III) SA3

Figura 4.8. Perfiles de disolución de sistemas con proporción fármaco: estabilizante de: I) 1: 0.5; II) 1: 1; III) 1: 2, en HCl 0,1 N. Cada línea representa el perfil de disolución promedio de PZQ (◆), MF (●), NS (▲) y polvos SA redispersados en vehículos (■), asociados con las barras de error correspondientes (desviación estándar).

Figura 4.9. Sedimentación y redispersabilidad de: I) SA1 redispersado; II) SA2 redispersado; III) SA3 redispersado en el vehículo. Cada línea representa el contenido promedio de PZQ en la muestra tomada de la sección superior (■) e inferior (▲) de la columna de vidrio, y en el vial sometido a agitación periódica (◆), asociado con las barras de error correspondientes (desviación estándar). Los resultados están expresados en porcentaje de PZQ respecto al teórico.

Figura 4.10. Estudios de sedimentación y redispersabilidad: a) condición inicial; b) visible precipitación después de 14 días; c) polvo SA suspendido y almacenado en viales, antes y después de una simple agitación manual. Las imágenes corresponden a la formulación SA1

Figura 4.11. Difractogramas de los polvos SA luego del almacenamiento

Figura 4.12. Perfil de disolución luego de 14 días

Figura 4.13. Perfil de disolución de comprimidos comerciales de PZQ redispersados en vehículo

Figura 5.1. Esquema de la secuencia de etapas típicas en la elaboración de gomas masticables de gelatina por moldeo

Figura 5.2. Gráfico de estabilización de las gomas masticables formuladas, en función de la variación de peso en el tiempo. a) gomas masticables elaboradas con una concentración de gelatina al 12% y b) gomas masticables elaboradas con una concentración de gelatina al 8%

Figura 5.3. Fotografías de las distintas gomas masticables desarrolladas, una vez finalizado el proceso de estabilización

Figura 5.4. Perfil típico de textura de las gomas masticables formuladas

Producción científica

Artículos en revistas científicas

1. Design and characterization of novel chewable gels containing nanoparticulate Praziquantel for pediatric administration. Gonzalez MA, Ramírez Rigo MV, Gonzalez Vidal NL. En redacción avanzada
2. Orphan formulations in pediatric schistosomiasis treatment: development and characterization of praziquantel nanoparticle - loaded powders for reconstitution. Gonzalez MA, Ramírez Rigo MV, Gonzalez Vidal NL. AAPS PharmSciTech 20 (2019)
3. Praziquantel systems with improved dissolution rate obtained by high pressure homogenization. Gonzalez MA, Ramírez Rigo MV, Gonzalez Vidal NL. Materials Science & Engineering C 93 (2018) pp. 28 – 35

Congresos Internacionales

1. Micropartículas poliméricas de Praziquantel de rápida velocidad de disolución obtenidas mediante secado por atomización. Gonzalez M; Ramirez Rigo M; Gonzalez Vidal N. 5^{ta} Reunión Internacional de Ciencias Farmacéuticas (RICiFa) - L Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Farmacología Experimental (SAFE). Póster. Ciudad de la Punta, San Luis (Argentina), 14, 15 y 16 de Noviembre de 2018.
2. Solubility determination of Praziquantel in polymeric and surfactant solutions. Gonzalez M; Ramirez Rigo M.; Gonzalez Vidal N. 4° Reunión Internacional de Ciencias Farmacéuticas (RICiFa). Póster. Rosario (Argentina), 27 y 28 de Octubre de 2016.
3. Particle size analysis of Praziquantel formulations obtained by High Pressure Homogenization. Gonzalez M; Gonzalez Vidal N.; Ramirez Rigo M. 4° Reunión

Internacional de Ciencias Farmacéuticas (RICiFa). Póster. Rosario (Argentina), 27 y 28 de Octubre de 2016

Congresos Nacionales

1. Formulaciones extemporáneas conteniendo nanopartículas de Praziquantel destinadas a administración pediátrica. Gonzalez M; Gonzalez Vidal N.; Ramirez Rigo M. V Congreso Internacional y XVI Congreso Argentino de Farmacia y Bioquímica Industrial (SAFyBI). Resumen enviado para ser considerado para presentación. Buenos Aires (Argentina), 10 al 13 de septiembre de 2019.
2. Desarrollo y caracterización de una nueva formulación de Praziquantel. Gonzalez M; Gonzalez Vidal N.; Ramirez Rigo M. IV- Nanocórdoba. Póster. Carlos Paz (Córdoba), 19 y 20 de Mayo de 2017.