

# Preparación y caracterización físicoquímica de una microemulsión de macrogol -8- glicéridos de caprilocaproilo para la administración oral de fármacos

## *Preparation and Physicochemical characterisation of caprylocapryl macrogol -8- glycerides microemulsion for oral drug delivery*

GHOSH PK<sup>1</sup>, UMRETHIA ML<sup>1</sup>, MAJITHIYA RJ<sup>1</sup>, MURTHY RSR\*

<sup>1</sup> Drug Delivery Research Laboratory, Pharmacy Department, The M.S. University of Baroda, Vadodara, India  
\*Autor de contacto Dr. R.S.R. Murthy, Professor in Pharmaceutics, Drug Delivery Research Laboratory, GH Patel Pharmacy Building, Donor's Plaza, Opposite to M.S. University Office, Fatehgunj, Vadodara-390002, Gujarat, India. E-mail: murthyrsr@sify.com

### RESUMEN

Se evaluó el rendimiento de los macrogol -8- glicéridos de caprilocaproilo en el desarrollo de una microemulsión autoemulsionante, estable y aceptable desde el punto de vista farmacológico. Se evaluó la idoneidad de la concentración de surfactante en relación con la fase oleosa a través de la medición de la tensión interfacial. Se elaboró un sistema de microemulsiones pseudoternario con macrogol -8- glicéridos de caprilocaproilo/poligliceril 6-dioleato/triglicéridos de cadena media y agua. La microemulsión modelo se caracterizó en relación con su comportamiento electroconductor y la medición del tamaño de las gotitas tras su dilución en agua y fluido gástrico simulado, y se realizaron estudios de carga de superficie, estabilidad centrífuga, viscosidad y estabilidad. Se aplicó la teoría de la transición de percolación al sistema, lo que hizo posible la determinación del umbral de percolación y la identificación de las estructuras bicontinuas. Los cambios de tensión interfacial asociados a la formación de las microemulsiones mostraron valores muy bajos, hasta un 30% de aceite en una proporción 4:1 de surfactante/cosurfactante. Además, el tamaño de las partículas investigadas tras la dilución en agua abundante y en fluido gástrico simulado demostraron la eficacia del sistema de microemulsiones como un posible sistema de transporte para la administración oral de fármacos.

PALABRAS CLAVE: Electroconductividad. Tensión interfacial. Tamaño de las partículas. Microemulsión. Surfactante no iónico.

### ABSTRACT

*The performance of caprylocapryl macrogol -8- glycerides in the development of pharmaceutically acceptable, stable, self-emulsifying microemulsion was assessed. The suitability of the concentration of surfactant with respect to the oil phase was assessed by interfacial tension measurement. A pseudoternary microemulsion system was constructed using caprylocapryl macrogol -8- glycerides / polyglyceryl 6-dioleate / medium chain triglycerides and water. The model microemulsion was characterised with regard to its electroconductive behaviour and droplet size measurement after dilution with water as well as with simulated gastric fluid, surface charge, centrifugal stability, viscosity and stability studies. The percolation transition theory, which makes it possible to determine the percolation threshold and to identify the bicontinuous structures, was applied to the system. The interfacial tension changes associated with the microemulsion formation shows ultra low values upto 30% oil at a surfactant / cosurfactant ratio 4:1. Moreover, the investigated particle size after dilution with excess of water as well as with simulated gastric fluid proved the efficiency of the microemulsion system as a potential carrier for oral drug delivery.*

KEY WORDS: Electroconductivity. Interfacial tension. Particle size. Microemulsion. Non-ionic surfactant.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las microemulsiones son dispersiones isotropas, de baja viscosidad, transparentes y termodinámicamente estables de aceite y agua estabilizadas con una película interfacial de moléculas surfactantes, normalmente en conjunción con un cosurfactante. Las microemulsiones han atraído recientemente un interés considerable como posibles vehículos para la administración de fármacos debido en buena parte a su sencilla preparación, su limpidez y su capacidad de filtración e incorporación a una amplia gama de fármacos con distintos grados de lipofilia<sup>1,2</sup>. A pesar de sus numerosas ventajas en comparación con otros sistemas, las microemulsiones requieren a menudo un elevado contenido de surfactante que puede provocar irritaciones cutáneas<sup>2,3</sup>. La formulación de microemulsiones está asociada a los cambios en la tensión interfacial, donde la tensión interfacial mínima está directamente relacionada con la formulación de las microemulsiones<sup>4</sup> y debería proporcionar la primera información sobre la determinación de la microestructura de las películas mixtas de aceite/surfactante. Según Schulman et al<sup>5</sup>, la tensión interfacial es un proceso clave en la formación de microemulsiones y el papel principal del cosurfactante es la reducción de la tensión interfacial a valores muy bajos. La mayor parte de los trabajos científicos publicados evalúan sistemas de microemulsiones basados en cosurfactantes inadmisibles desde el punto de vista farmacológico, como los alcoholes de cadena media o corta<sup>2,6</sup>. La buena aceptación biológica de los surfactante no iónicos, así como su capacidad para formar microemulsiones insensibles al pH y a la concentración de electrolitos, son las principales razones de su extendido uso<sup>2,6</sup>. Existen varios estudios relacionados con las microemulsiones basadas en macrogol -8- glicéridos de caprilcaproilo poco irritantes<sup>7,8</sup>. Para facilitar la formulación de una microemulsión basada en macrogol -8- glicéridos de caprilcaproilo, se utilizaron surfactantes basados en ésteres de ácidos grasos de poliglicerol como cosurfactantes<sup>9</sup>. Se utilizó un triglicérido de cadena media como fase oleosa de la formulación de la microemulsión, para mejorar la biodisponibilidad de los fármacos poco solubles en agua<sup>10</sup>.

## 1. INTRODUCTION

Microemulsions are thermodynamically stable, transparent, low viscosity and isotropic dispersions of oil and water stabilised by an interfacial film of surfactant molecules, typically in conjunction with a cosurfactant. Recently, microemulsions have attracted a considerable amount of interest as potential drug delivery vehicles largely due to their simplicity of preparation, their clarity and their abilities to be filtered and incorporate a wide range of drugs of varying lipophilicity<sup>1,2</sup>. In spite of numerous advantages in comparisons, microemulsion often requires a high content of surfactant that can cause skin irritation<sup>2,3</sup>. The microemulsion formulation is associated with changes in the interfacial tension where minimum interfacial tension is directly related to the microemulsion formulation<sup>4</sup> and would provide the first information on the determination of the microstructure of mixed oil/surfactant films. Schulman et al<sup>5</sup> reported that interfacial tension is a key process in microemulsion formation and that the main role of the cosurfactant is to reduce the interfacial tension to very low values. The majority of the work reported in the scientific literature concerns microemulsion systems based on pharmaceutically unacceptable cosurfactant such as short- or medium-chain alcohols<sup>2,6</sup>. The good biological acceptances of non ionic surfactants as well as ability to form microemulsions that are insensitive to pH and electrolyte concentration are the main motives for their extensive use<sup>2,6</sup>. There are several reports available involving low-irritant caprylocapryl macrogol-8-glycerides based microemulsions as drug delivery vehicle<sup>7,8</sup>. In order to facilitate caprylocapryl macrogol-8-glycerides based microemulsion formulation, the surfactants based on polyglycerol fatty acid esters have been used as cosurfactant<sup>9</sup>. Medium chain triglyceride was widely used oil phase for the microemulsion formulation, for improving the bioavailability of poor water soluble drugs<sup>10</sup>. The present study aims at the optimization of various parameters in the formulation of microemulsion like ratio of surfactant and cosurfactant and preparation method. Interaction of the microemulsion prepared with the body fluid like simulated gastric fluid and the in-

El presente estudio tiene como objetivo la optimización de diversos parámetros de la formulación de una microemulsión, tales como la proporción de surfactante y cosurfactante y el método de preparación. Se estudió la interacción de la microemulsión preparada con fluido corporal similar al fluido gástrico y la influencia de las variables de formulación sobre la estabilidad, la textura óptica y las propiedades reológicas de la microemulsión.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1. *Materiales y método*

Labrasol® (macrogol -8- glicéridos de caprilcaproilo), Plurol Oleique® (poligliceril 6-dioleato) y Labrafac® (triglicérido de cadena media, ácidos grasos C8-C10) (Gattefossé, Francia) donados amablemente por Colorcon Asia Ltd., India. Todos los demás productos químicos eran de grado reactivo analítico y se utilizaron tal como se recibieron, sin ninguna purificación posterior. Durante todo el estudio se utilizó agua bidestilada.

### 2.2 *Mediciones de la tensión interfacial*

El sistema de microemulsiones objeto de estudio se sometió a mediciones de tensión interfacial con el tensiómetro interfacial de gota giratoria, modelo 500, ensamblado en la Universidad de Texas. Las mediciones se realizaron mediante la inyección de la mezcla de aceite/surfactante (ST) o aceite/cosurfactante (COST) en el capilar del tensiómetro relleno con agua y conservado a una temperatura de  $30 \pm 0,5$  °C mediante circulación de aceite. Las mediciones del diámetro de la gota se realizaron a distintas velocidades, en un intervalo comprendido entre 1.000 y 3.500 rpm. Las densidades se midieron con un método basado en el principio de Arquímedes.

### 2.3 *Elaboración del diagrama de fases*

Los diagramas de fases pseudoternarios se elaboraron con un sistema de cuatro componentes: Labrasol® (un surfactante de alto HLB),

fluencia de formulación variables on the stability, optical texture and rheological properties of the microemulsion was studied.

## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1. *Materials and Method*

Labrasol® (Caprylocapryl macrogol -8-glycerides), Plurol Oleique® (Polyglyceryl 6-dioleate) and Labrafac® (medium chain triglyceride, C8-C10 fatty acids) (Gattefossé, France) was kindly gifted by Colorcon Asia Ltd, India. All other chemical used were of analytical reagent grade and used as received without further purification. Double distilled water was used throughout the study.

### 2.2 *Interfacial tension measurements*

The microemulsion system under investigation was subjected to interfacial tension measurements using the spinning drop interfacial tensiometer (Model 500, assembled at The University of Texas). The measurements were performed by injecting the oil/surfactant (ST) or oil/cosurfactant (COST) mixture into the tensiometer capillary filled with water and maintained at a temperature of  $30 \pm 0.5$ °C by oil circulation. Measurements of the drop diameter were achieved at different speeds ranging from 1000 to 3500 rpm. Densities were measured using a method based upon the Archimedean principle.

### 2.3 *Construction of phase diagram*

Pseudo-ternary phase diagrams were constructed with system comprising 4 components: Labrasol® (a high HLB surfactant), Plurol Oleique® (a low HLB surfactant), Labrafac® as oil phase and double distilled water as aqueous phase. Appropriate amounts of ST, COST and oil were weighed into screw capped vials and were shaken to ensure thorough mixing. Phase diagram was constructed by titrating these samples with aliquots of water according to method mentioned by Aboofazeli and Lawrence<sup>11</sup> in 10% increments in the

Plurol Oleique® (un surfactante de bajo HLB), Labrafac® como fase oleosa y agua bidestilada como fase acuosa. Se pesaron las cantidades adecuadas de aceite, COST y ST, y se introdujeron en viales con tapas atornilladas que se agitaron para garantizar una mezcla correcta. El diagrama de fases se elaboró mediante la titulación de las muestras con alícuotas de agua de acuerdo con el método mencionado por Aboofazeli y Lawrence<sup>11</sup> en incrementos del 10% en un intervalo comprendido entre el 10% y el 100% (p/p). La mezcla se procesó en un agitador vortex (Remi equipments, Mumbai, India) durante 5 minutos y las muestras se almacenaron a temperatura ambiente durante 24 horas para su equilibrio. Una formulación transparente y clara fue indicativo de una microemulsión estable; al observarla bajo una luz polarizada las muestras no resultaron ser birrefringentes, como se esperaba debido a su naturaleza isotrópica. El pico máximo del diagrama de fases representa la fase oleosa y los otros dos picos representan el agua y la mezcla de ST y COST.

#### 2.4 Selección de formulaciones de microemulsiones para estudios detallados

A partir del diagrama de fases pseudoternario, se seleccionó una mezcla de Labrafac®/Labrasol®/Plurol Oleique® con aceite/ST + COST en una proporción de 0,250 para una investigación más detallada (Tabla 2). Además, se seleccionaron seis microemulsiones como posibles vehículos (ME1-ME6 en la Tabla 2 y en la Figura 2) que se diferenciaban entre sí por la fracción de agua ( $\Phi_w$ ) con una proporción 4:1 de ST/COST (Km) y una proporción fija de 0,250 de aceite/ST + COST. Todas las muestras se prepararon 48 horas antes de las investigaciones para que la distribución de las micelas de surfactante, agua y aceite alcanzara el equilibrio termodinámico y se almacenaron a temperatura ambiente.

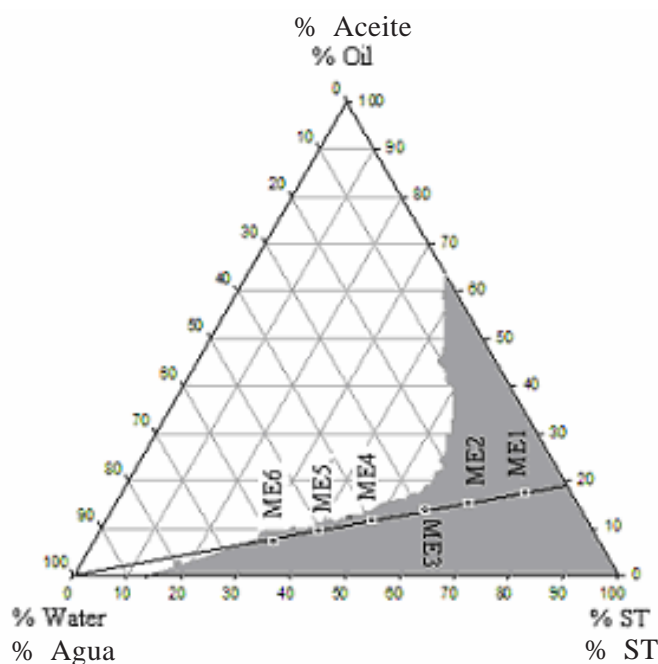
range from 10% to 100% wt/wt. Mixing was enhanced by vortex mixer (Remi equipments, Mumbai, India) for 5 minutes and the samples were stored at ambient temperature for 24 hours for equilibration. Clear, transparent formulation were indicative of a stable microemulsion when observed under polarised light They found to be non-birefringent, as would be expected from their isotropic nature. The top peak of the phase diagram represents the oil phase and other two peaks represent water and mixture of ST and COST.

#### 2.4 Selection of microemulsion formulations for detailed studies

From the constructed pseudoternary phase diagram of Labrafac® / Labrasol® / Plurol Oleique® mixture with oil / ST+ COST ratio 0.250 was selected for further investigation (Table 2). Furthermore six potential microemulsion vehicle (referred to as ME1-ME6 in Table 2 and Figure 2) differing from each other by water fraction ( $\Phi_w$ ) were selected where ST / COST ratio (Km) 4:1 and oil/ ST + COST ratio was 0.250 fixed. All the samples were prepared 48h before investigations for distribution of oil, water and surfactant micelles to attain the thermodynamic equilibrium and were stored at room temperature.

**FIGURA 2:** Diagrama de fases pseudoternario de Labrafac®, Labrasol® + Plurol Olique® y fase acuosa.

**FIGURE 2:** Pseudoternary phase diagram of Labrafac®, Labrasol®+Plurol Olique® and aqueous phase.



**TABLA 2:** Composición de las microemulsiones como posibles vehículos (% p/p)

**TABLE 2:** Microemulsion vehicle composition (%w/w).

Ingredientes <i>Ingredients</i>	ME1	ME2	ME3	ME4	ME5	ME6
Agua / <i>Water</i>	10	20	30	40	50	60
Labrafac®	18	16	14	12	10	8
Labrasol®/Plurol Oleique®	72	64	56	48	40	32

**2.5 Medición de la conductividad eléctrica**

**2.5 Electro conductive measurement**

La solubilización de la fase acuosa en la mezcla oleosa seleccionada se analizó cuantitativamente mediante la medición de la conductividad eléctrica ( $\sigma$ ). La fase acuosa se agregó gota a gota a la mezcla inicial de aceite y anfífilos y se midió la conductividad eléctrica de las muestras formuladas con un conductímetro (medidor de conductividad CM 180, Elco, India) a temperatura ambiente. Las mediciones se realizaron a una frecuencia constante de 1 Hz. La constante de la celda electrolítica

The solubilization of water phase in the selected oil mixture was monitored quantitatively by measuring the electrical conductivity ( $\sigma$ ). The water phase was added drop by drop in the initial mixture of oil and amphiphiles and measured electrical conductivity of formulated samples, using a conductometer (CM 180 conductivity meter, Elco, India) at ambient temperature. The measurements were made at a constant frequency of 1 Hz. The cell constant was ascertained by using a stan-

se determinó mediante una solución estándar de cloruro potásico. El efecto de adherencia del ST y el COST a la pared interna de la celda y los electrodos se evitó mediante el lavado previo de la celda dos veces con la muestra que se iba a medir antes de realizar cada medición.

### 2.6 Mediciones reológicas

El comportamiento reológico de las distintas formulaciones se evaluó mediante un viscosímetro Brookfield LVDV 111 + CP (fabricante: Brookfield, EE.UU.) y un software de cálculo reológico a una temperatura de  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ . Los experimentos se realizaron por triplicado con cada muestra.

### 2.7 Efecto de dilución y medición del tamaño de las partículas

El análisis del tamaño de las partículas de las microemulsiones se realizó mediante una espectroscopía de correlación fotónica con el equipo Zetasizer H<sub>SA</sub> 3000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido). Como fuente de luz se utilizó un láser de estado sólido. Las mediciones de la espectroscopía de correlación fotónica se realizaron con un ángulo de dispersión de  $90^\circ$ , a una temperatura de  $25^\circ\text{C}$  y se utilizaron cuentas de poliestireno para calibrar el rendimiento del instrumento. Las muestras se colocaron en cubetas de cuarzo. Se realizaron cinco experimentos distintos con cada muestra y los datos se expresaron como la media  $\pm$  la desviación estándar (D.E.). La mezcla básica (aceite, ST y COST) del preconcentrado de microemulsión (PME) se diluyó en abundante agua (100 partes) o en 0,1 N HCl para simular la dilución en un fluido corporal y, a continuación, se determinó el tamaño de las partículas del sistema.

### 2.8 Mediciones de potencial zeta

Se determinó un potencial zeta por microemulsión mediante el equipo Zetasizer H<sub>SA</sub> 3000 (Malvern Instrument Ltd., RU). Las muestras se inyectaron en las cubetas cilíndricas y se

dard potassium chloride solution. The adherence effect of the ST and the COST upon the cell inner wall and the electrodes was avoided by pre-washing the cell twice with the sample to be measured before each measurement.

### 2.6 Rheological measurements

Rheological behaviour of the different formulation was evaluated using a Brookfield LVDV 111 + CP viscometer (Mfg: Brookfield, USA) using rheocal software at a temperature of  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ . Experiments were carried out in triplicate for each sample

### 2.7 Dilution effect and particle size measurements

Size analysis of microemulsions was carried out by photon correlation spectroscopy with Zetasizer H<sub>SA</sub> 3000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK). A solid state laser was used as the light source. The photon correlation spectroscopy measurements were carried out at a scattering angle of  $90^\circ$  and at  $25^\circ\text{C}$  temperature with polystyrene beads used to calibrate instrument performance. Samples were placed in quartz cuvettes. Five different experiments per sample were performed and data are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (S.D.) Microemulsion pre-concentrate (MEP) basic mixture (oil, ST and COST) was diluted with excess (100times) water or 0.1N HCl to simulate body fluid dilution and then particle size of the system was also determined.

### 2.8 Zeta potential measurements

A zeta potential for microemulsion was determined using Zetasizer H<sub>SA</sub> 3000 (Malvern Instrument Ltd., UK). Samples were injected into the cylindrical cuvettes and results were recorded. Before putting the fresh sample cuvettes was washed with the methanol and rinsed using the sample to be measured before each experiment. Each sample was analysed in triplicate.

registraron los resultados. Antes de colocar la muestra fresca, se lavaron las cubetas con metanol y se enjuagaron con la muestra que se iba a medir antes de cada experimento. Cada muestra se analizó por triplicado.

## 2.9 Estudios de estabilidad

### 2.9.1 Inspección visual

La vida en almacenamiento, como ecuación del tiempo y la temperatura de almacenamiento, se evaluó mediante la inspección visual del sistema de microemulsiones en distintos períodos de tiempo. La estabilidad se analizó a las siguientes temperaturas: 0-8 °C (refrigerador), 25 ±2 °C y 50±2 °C.

### 2.9.2 Centrifugación

Para estimar los sistemas metaestables, las microemulsiones seleccionadas como vehículos se centrifugaron (Remi Laboratories, Mumbai, India) a 10.000 rpm durante 30 minutos a 0 °C.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Mediciones de la tensión interfacial

La mezcla de aceite y agua únicamente forma una microemulsión cuando la tensión interfacial (TIF) entre las dos fases alcanza valores muy bajos (tiende a cero). La tensión interfacial es un factor clave para la formación de microemulsiones y el papel principal del COST es reducir la tensión interfacial<sup>5</sup>.

Tal como se muestra en la Tabla 2, la adición del COST hasta el 90% (p/p) redujo la tensión interfacial del aceite puro de 11,86 dinas/cm a 1,45 dinas/cm. De forma similar, los datos de tensión interfacial obtenidos de las distintas mezclas de aceite-ST revelaron que la incorporación del ST provoca un espectacular descenso de la tensión interfacial, que alcanzó un mínimo en la concentración de ST al 80%. Cuando la combinación de la mezcla (Km=4) de ST (Labrasol ®) y COST (Plurol Oleique®) se añadió a la fase oleosa (Labrafac®), la tensión interfacial del sistema alcan-

## 2.9 Stability studies

### 2.9.1 Visual Inspection

Shelf life as a function of time and storage temperature was evaluated by visual inspection of the microemulsion system at different time period. Stability was monitored at 0-8°C (refrigerator), 25 ±2°C and 50±2°C temperature.

### 2.9.2 Centrifugation

In order to estimate metastable systems, the selected microemulsion vehicles were centrifuged (Remi Laboratories, Mumbai, India) at 10, 000 rpm for 30 minute at 0°C.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1 Interfacial tension measurements

The mixture of oil and water forms a microemulsion only when interfacial tension (IFT) between the two phases attains very low values (tends to zero). Interfacial tension is a key factor for microemulsion formation and that the main role of COST is to reduce the interfacial tension<sup>5</sup>.

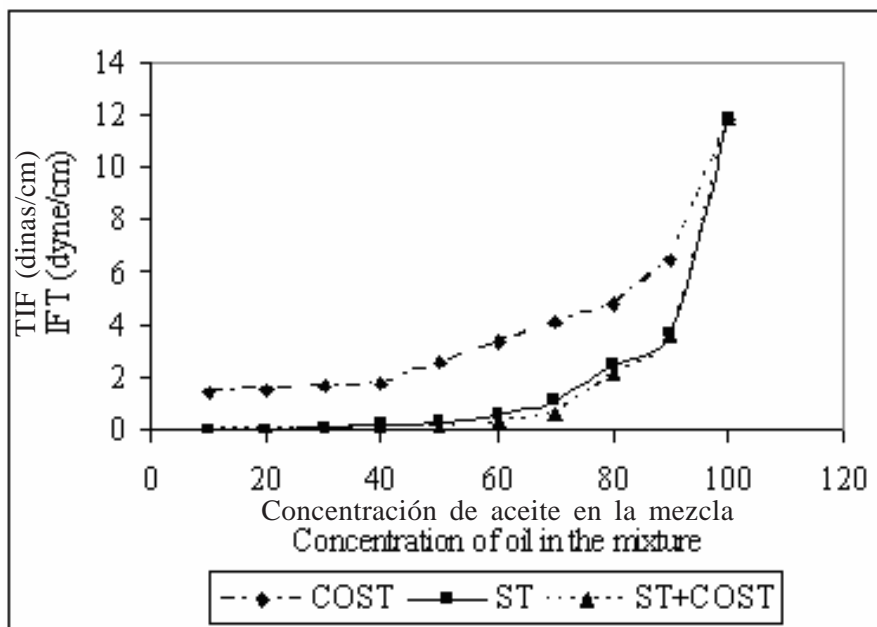
As shown in Table 2, addition of COST upto 90% w/w reduced the interfacial tension of pure oil from 11.86 dyne/cm to 1.45 dyne/cm. Similarly, interfacial tension data for the various oil-ST mixture revealed that the incorporation of ST led to a dramatic decrease in the interfacial tension which reached a minimum at 80% ST concentration. When the combination of both the ST (Labrasol ®) and COST (Plurol Oleique) mixture (Km=4) was added into the oil phase (Labrafac®), the interfacial tension of the system reaches minimum (tends to zero) at a concentration of 70%. It is evident from the Table 1 and Figure 1 that interfacial efficiency of the ST and COST mixture is better than ST or COST alone. However, the interfacial tension reduction in case of ST was found more pronounced than COST. It is also observed that the microemulsion can also be formed in presence of ST only (without COST) but high concentration of ST is needed to form the microemulsion

zó el mínimo (tendió a cero) con una concentración del 70%. En la Tabla 1 y la Figura 1 se aprecia que la eficacia interfacial de la mezcla de ST y COST es mayor que la del ST o el COST por separado. No obstante, el ST mostró una reducción de la tensión interfacial más pronunciada que el COST. También se observó que la microemulsión se puede formar en presencia del ST solo (sin el COST), pero se necesitó una mayor concentración de ST para formar la microemulsión que en el caso de la mezcla de ST + COST. Se podría sugerir que el COST ayudó al descenso de la tensión interfacial del sistema de microemulsiones y que existe una relación sinérgica entre el ST y el COST.

than the ST+COST mixture. It could be suggested that the COST helped decrease the interfacial tension of the microemulsion system with a synergistic relationship existing between ST and COST.

**FIGURA 1:** Efecto de la tensión interfacial (TIF) del aceite en presencia de ST, COST y mezcla de ST + COST (Km=4)

**FIGURE 1:** Effect on interfacial tension (IFT) of oil in presence of ST, COST and ST+COST mixture (Km=4)





**TABLA 1:** Efecto del ST, el COST y la mezcla de ST + COST sobre la tensión interfacial.**TABLE 1:** Effect of ST, COST and ST+ COST mixture on interfacial tension.

% de aceite en la mezcla <i>% of oil in the mixture</i>	Tensión interfacial (dinas/cm) <i>Interfacial Tension (dyne/Cm)</i>		
	Aceite : mezcla de COST <i>Oil : COST mixture</i>	Aceite : mezcla de ST <i>Oil : ST mixture</i>	Aceite : Mezcla de ST y COST (Km=4) <i>Oil : ST and COST mixture (Km=4)</i>
10	1.45 ± 0.10	0	0
20	1.54 ± 0.11	0	0
30	1.66 ± 0.14	0.11 ± 0.04	0
40	1.79 ± 0.12	0.23 ± 0.06	0.05 ± 0.01
50	2.53 ± 0.31	0.32 ± 0.08	0.07 ± 0.02
60	3.40 ± 0.26	0.54 ± 0.05	0.28 ± 0.11
70	4.12 ± 0.36	1.15 ± 0.12	0.65 ± 0.16
80	4.78 ± 0.41	2.45 ± 0.63	2.18 ± 0.32
90	6.45 ± 0.64	3.72 ± 0.78	3.64 ± 0.46
100	11.86 ± 1.23	11.86 ± 1.23	11.86 ± 1.23

### 3.2 Diagrama de fases

El diagrama de fases pseudoternario del sistema cuaternario investigado agua/macroglicéridos de caprilcaproilo/poligliceril 6-dioleato/triglicéridos de cadena media se muestra en la Figura 2. La formación de los sistemas de microemulsiones (el área sombreada) se observó a temperatura ambiente. Las investigaciones del comportamiento de las fases de este sistema demostraron que la aproximación para determinar la concentración de ST, COST, fase acuosa y fase oleosa en la que se formó el sistema de microemulsiones de baja viscosidad de una fase era acertada.

Durante la adición de agua en las mezclas oleosas seleccionadas hubo una transición continua de los sistemas ricos en aceite (parte superior del diagrama de fases) al sistema rico

### 3.2 Phase Diagram

Pseudo-ternary phase diagram of the investigated quaternary system water/caprylocapryl macroglycerides / polyglyceryl-6 dioleate / medium chain triglyceride is presented in Figure 2. Formation of microemulsion systems (the shaded area) was observed at room temperature. Phase behaviour investigations of this system demonstrated the suitable approach to determine the water phase, oil phase, ST and COST concentration for which the transparent, one phase low-viscous microemulsion system was formed.

During the addition of water in the selected oily mixtures there was a continuous transition from oil-rich systems (top side of the phase diagram) to water-rich system (left side of the phase diagram). The obtained results show

en agua (parte izquierda del diagrama de fases). Los resultados obtenidos mostraron que la solubilización máxima de agua se alcanzó en la mezcla aceite/surfactante/cosurfactante, cuando la fase oleosa era  $< 20\%$ . La reducción de la cantidad de ST cuando la fase oleosa era  $> 20\%$  de la mezcla aceite/ST/COST mostró una capacidad menor para solubilizar la fase acuosa. También se investigaron los cambios estructurales de los sistemas seleccionados mediante un incremento constante de 0,25 del contenido en agua de la mezcla aceite/ST + COST para comprobar si existía una relación entre la conductividad eléctrica y la viscosidad de la microestructura. A partir de las investigaciones anteriores, se prepararon seis microemulsiones (ME1 a ME6) como posibles vehículos (Tabla 2), en las que la proporción de ST y COST ( $K_m = 4$ ) y también de aceite: ST + COST (0,25) se mantuvo constante y se varió el porcentaje de la mezcla ST + COST así como de la fase acuosa y la fase oleosa del sistema. Se especuló sobre la posibilidad de que estos lotes proporcionaran tipos de microestructuras coloidales razonablemente diferentes, lo que se pudo confirmar mediante la electroconductividad y la viscosidad.

### 3.3 Mediciones de la conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica es una propiedad sensible a la estructura y se utiliza con frecuencia para investigar los cambios estructurales de las macro y microemulsiones. La conductividad eléctrica de cada microemulsión depende de la composición de la fase continua. Tal como se muestra en la Figura 3, las conductividades de la fase inferior de ST y la fase superior de ST son prácticamente independientes de la concentración de agua. Se puede suponer que la estructura de la fase inferior y la fase superior son del tipo agua/aceite y del tipo aceite/agua, respectivamente. En la fase media del sistema, se produjo un aumento de la conductividad debido a un aumento en la concentración de la fase acuosa. La estructura de la microemulsión de fase media es una estructura bicontinua<sup>12,13</sup>, que podría ser, en opinión de algunos científicos, un modelo de dispersión líquido-líquido: un

that the maximum solubilization of water was achieved in oil/surfactant/cosurfactant mixture when oil phase corresponds to  $< 20\%$ . Reduction in ST content when oil phase contribute  $> 20\%$  of the oil/ST/COST mixture showed lesser ability to solubilize the water phase. Also we have investigated the structural changes in the selected system with increasing the water content at constant oil/ST + COST mixture of 0.25 in order to find out whether there is any relationship exists between the electro conductivity and viscosity in the microstructure. From the above investigations, six potential microemulsion vehicles (ME1 to ME6) were prepared (Table 2) where the ratio of ST and COST ( $K_m = 4$ ) and also oil: ST + COST (0.25) were kept constant and the percentage of ST + COST mixture as well as oil and water phase of the system were varied. These batches were speculated to give reasonably different types of colloidal microstructure which could be confirmed by electro-conductivity and viscosity.

### 3.3 Electro conductive measurements

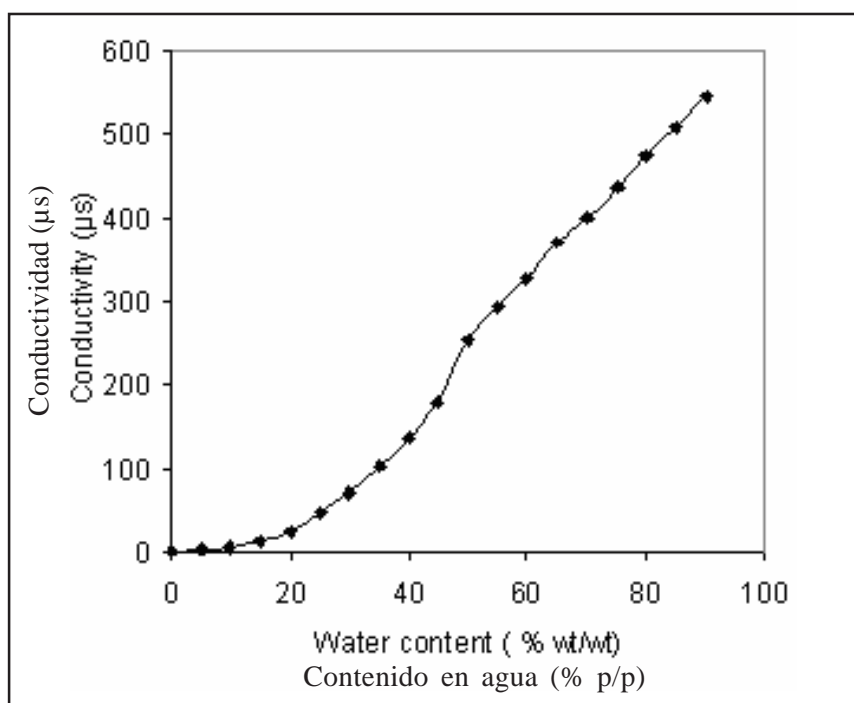
Electrical conductivity is a structure sensitive property and is frequently used to investigate structural changes in macro and microemulsions. The electrical conductivities in each microemulsion depend on the composition of the continuous phase, as shown in Figure 3 the conductivities in the lower ST phase and upper ST phase are almost independent of water concentration. It can be assumed that the structure of the lower phase and upper-phase are w/o type and o/w type, respectively. For the middle phase in the system, conductivity increase with an increase in concentration of aqueous phase. The structure of the middle phase microemulsion is a bicontinuous structure<sup>12,13</sup> where as some scientist reported the middle phase microemulsion structure may be a liquid-liquid dispersion model; a mixed dispersion medium consisting of a mixture of oil, water, ST and COST<sup>14</sup>. The electrical conductivity ( $\sigma$ ) of the selected oily mixture was almost zero as long as the % of aqueous phase was less than 10% (w/w). During the aqueous phase titration up to 55% (w/w), electrical conductivity increases fast. When the percen-

medio de dispersión mixto formado por una mezcla de aceite, agua, ST y COST<sup>14</sup>. La conductividad eléctrica ( $\sigma$ ) de la mezcla oleosa seleccionada fue casi cero siempre que el porcentaje de la fase acuosa era inferior al 10% (p/p). Durante la volumetría de la fase acuosa hasta el 55% (p/p), la conductividad eléctrica aumentó rápidamente. Cuando el porcentaje de contenido de fase acuosa fue > 55% (p/p), la conductividad del sistema no se vio afectada de forma significativa por la posterior adición de fase acuosa.

tage content of aqueous phase is > 55% (w/w) the conductivity of the system was not affected significantly with further addition of aqueous phase.

**FIGURA 3:** Conductividad como una ecuación de contenido en agua.

**FIGURE 3:** Conductivity as a function of water content.



Con la adición de agua, la conductividad eléctrica de estos sistemas aumentó ligeramente hasta alcanzar el valor crítico. A continuación, se observó un rápido aumento de la conductividad con la posterior adición de agua. Este fenómeno se conoce como percolación y la fracción crítica de la fase acuosa dispersa ( $\Phi_w$ ) a la que ocurre se conoce como umbral de percolación ( $\Phi_p$ ) (Bennett et al 1982). En este tipo de sistema, la conductividad viene determinada por una ley universal (que aparece a continuación) independiente de las

With the addition of water, electrical conductivity of these systems slightly increases until the critical value is reached. Then a sudden increase in conductivity is observed with the further addition of water. This phenomenon is known as percolation and the critical fraction of dispersed aqueous phase ( $\Phi_w$ ) at which it occurs is known as percolation threshold ( $\Phi_p$ ) (Bennett et al 1982). In such a system conductivity is governed by a universal law (as mentioned below) independent of the physical properties of the medium. Just before the

propiedades físicas del medio. Justo antes de alcanzar el umbral de percolación, el sistema se vuelve conductor de forma repentina.

$$\sigma = (\Phi_w - \Phi_p)^t \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde  $\sigma$  es la conductividad,  $\Phi_w$  es la fracción de volumen acuoso disperso y  $\Phi_p$  es la fracción de volumen disperso en el umbral de percolación<sup>15,16</sup> y  $t$  depende de la dimensionalidad del sistema ( $t = 8/5$  en un sistema tridimensional).

Para probar la validez de la teoría de la percolación, se determinó  $\sigma^{1/t}$  en función de  $\Phi_w$ . El umbral de percolación se puede observar en la Figura 4 si se extrapola la línea recta que une la parte media del gráfico y corta el eje  $\Phi_w$  (Figura 4). El aumento de la conductividad de la microemulsión que se observó cuando el contenido en agua aumentó por encima del umbral de percolación pudo producirse como resultado de un proceso progresivo de agrupamiento e interconexión de las gotitas de agua<sup>17</sup>. Se han propuesto varios mecanismos para explicar la conducción percolativa observada en algunas microemulsiones agua/aceite; uno de los mecanismos más aceptados es el modelo de 'coalescencia de gotitas' sugerido por Fletcher y Robinson<sup>18</sup>.

El sistema de microemulsiones investigado que contenía Labrasol®, un ST no iónico, mostró un comportamiento electroconductor a pesar de su naturaleza no iónica. En la región de bajo contenido en agua, se formó una microemulsión agua/aceite. Por encima del umbral de percolación ( $\Phi_p \approx 10\%$  p/p) la conductividad aumentó de forma lineal y repentina hasta un contenido en agua del 50% (p/p). Se puede concluir que por encima de  $\Phi_p$  existe una red de canales conductores que se corresponde con la formación de canales o cilindros de agua en una fase oleosa debido a las interacciones atractivas entre las gotitas microesféricas de la fase acuosa de la microemulsión agua/aceite<sup>19,20</sup>. Para  $\Phi_w > 50\%$  (p/p), la conductividad eléctrica no aumentó de forma significativa. La Figura 4 representa la estructura de la microemulsión. Cuando  $\Phi_w > 10\%$  se formará una microemulsión agua/aceite, cuando  $50\% > \Phi_w > 10\%$  se formará una estructura bicontinua y cuando  $\Phi_w > 50\%$  se formará una microemulsión aceite/agua.

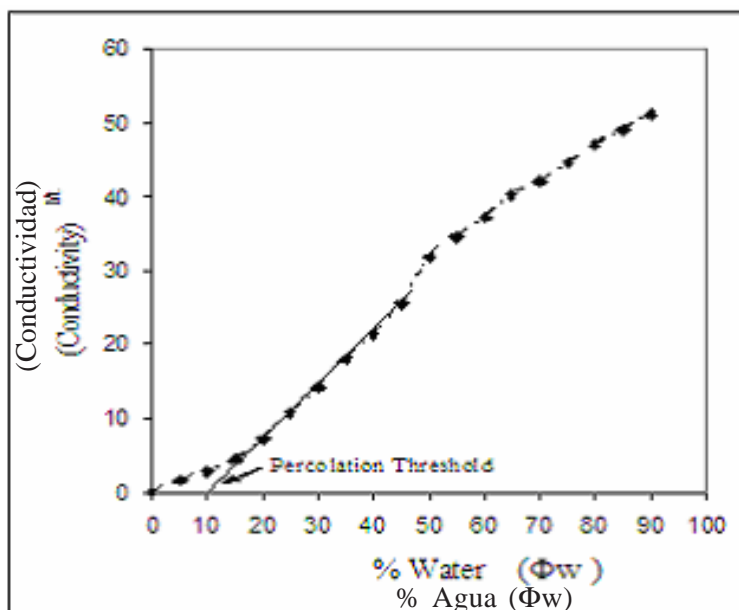
percolation threshold, the system suddenly becomes conducting.

$$\sigma = (\Phi_w - \Phi_p)^t \quad (\text{Equation 1})$$

Whereas  $\sigma$  is the conductivity,  $\Phi_w$  is the dispersed aqueous volume fraction and  $\Phi_p$  is the dispersed volume fraction at percolation threshold<sup>15,16</sup> and it depends on the system dimensionality ( $t = 8/5$  for 3-dimensional system)

To test the validity of the percolation theory,  $\sigma^{1/t}$  was plotted against  $\Phi_w$ . Percolation threshold can be found out from the Figure 4 by extrapolating the straight line which join the middle part of the graph and intersect the  $\Phi_w$  axis (Figure 4). The increase in microemulsion conductivity observed when the water content is raised above the percolation threshold may result from a progressive aqueous droplet interlinking and clustering process<sup>17</sup>. Various mechanisms have been proposed to explain the percolative conduction observed with some w/o microemulsions; one of the most accepted mechanisms is the model of 'sticky droplet collisions' model suggested by Fletcher and Robinson<sup>18</sup>.

The investigated microemulsion system containing Labrasol®, an non ionic ST, showed electro conductive behaviour in spite of its non-ionic nature. In the region of low water contents a w/o microemulsion was formed. Beyond the percolation threshold ( $\Phi_p \approx 10\%$  w/w) conductivity increased linearly and sharply upto 50% (w/w) water content. It can be concluded that beyond  $\Phi_p$  a network of conductive channels exists which corresponds to the formation of water cylinders or channels in an oil phase due to the attractive interactions between the spherical micro droplets of water phase in the w/o microemulsion<sup>19,20</sup>. For the  $\Phi_w > 50\%$  (w/w) the electrical conductivity did not increase significantly. Thus Figure 4 represent the structure of microemulsion that is when  $\Phi_w > 10\%$  w/o microemulsion is formed,  $50\% > \Phi_w > 10\%$  shows the bicontinuous structure and when  $\Phi_w > 50\%$  then o/w microemulsions are formed.

**FIGURA 4:** Determinación del umbral de percolación.**FIGURE 4:** Percolation threshold determination.

### 3.4 Mediciones reológicas

La estructura del sistema de microemulsiones se puede caracterizar mediante mediciones reológicas. La dependencia de la viscosidad aparente de la microemulsión investigada se representa en la Tabla 3 y en la Figura 5. El resto de muestras analizadas resultaron ser de baja viscosidad ( $\eta = 10 - 60$  cP). La viscosidad del sistema aumentó de 49,49 a 58,83 cP al aumentar la cantidad de agua del 0 al 10%. Bennett et al realizaron un estudio similar en el que se puso de manifiesto que si se aumentaba la fracción de volumen de la fase dispersa aumentaba la viscosidad y que se podría esperar que los cambios de viscosidad reflejaran una transformación de la microestructura del sistema en función de la fracción de volumen disperso. El aumento inicial de la viscosidad al aumentar  $\Phi_w$  se debe posiblemente a la interacción atractiva y la agregación de gotitas de la fase acuosa, incluida la reorganización molecular de la interfase. El aumento de la viscosidad también se puede deber a la formación de una estructura bicontinua a partir de una estructura en forma de gotitas. También se observó que la viscosidad del sistema descendió de forma gradual después de la adición de la fase acuosa al 10%.

### 3.4 Rheological measurements

The structure of the microemulsion system can be characterised by Rheological measurements. The dependence of the apparent viscosity of the investigated microemulsion was represented in Table 3 and Figure 5. All the tested samples were of low viscosity ( $\eta = 10 - 60$  cP). The viscosity of the system increases from 49.49 to 58.83 cP with increasing water content from 0 to 10%. The similar study was reported by Bennett et al that increasing the volume fraction of dispersed phase increases the viscosity and it could be expected that viscosity changes reflects a transformation of system microstructure in the function of dispersed volume fraction. Initial increase of the viscosity with increasing  $\Phi_w$  is probably the consequences of attractive interaction and aggregation of droplets of water phase including molecular reorganisation on the interface. The increase in viscosity may also be due to the formation of bicontinuous structure from droplet-like formation. It was also observed that viscosity of the system was gradually goes down after addition of 10% aqueous phase. It was also observed that  $\eta$  of the system gradually and slowly decrease with the increase in the aqueous phase when 10%

Además, se observó que  $\eta$  del sistema descendió lenta y gradualmente con el aumento de la fase acuosa cuando  $10\% < \Phi_w < 50\%$ , seguido de un descenso cuando se superaba el 50%. Esto posiblemente se debe al hecho de que el sistema se transforma de agua/aceite (cuando  $\Phi_w > 10\%$ ) a través de una estructura bicontinua ( $10\% < \Phi_w < 50\%$ ) en un sistema de agua/aceite. El  $\eta$  del sistema descendió hasta 9,60 cP (cuando  $\Phi_w = 60\%$ ) desde 58,83 cP (cuando  $\Phi_w = 10\%$ ). Esta curva ( $\eta - \Phi_w$ ) también se puede ilustrar mediante una ecuación polinómica. La dependencia polinómica de la viscosidad del sistema en  $\Phi_w$  muestra la presencia de agregados no esféricos de fase dispersa. A partir de las mediciones de viscosidad del sistema investigado y del fenómeno de percolación, se puede concluir que el sistema sufre cambios estructurales de agua/aceite a aceite/agua a través de una estructura bicontinua como una ecuación de aumento de agua a una temperatura fija. La formación de la estructura bicontinua también se puede confirmar mediante la conductividad eléctrica. Esto posiblemente se deba a la transformación de la curvatura de película interfacial a medida que desciende la concentración de surfactante/cosurfactante, así como a los cambios de concentración de la fase acuosa y la fase oleosa. Según los resultados de viscosidad y conductividad, el sistema de microemulsiones ME1 es del tipo agua/aceite, los sistemas ME2, ME3, ME4 y ME5 son bicontinuos, y el sistema ME6 es del tipo aceite/agua.

$< \Phi_w < 50\%$ , followed by decrease beyond 50%. This is probably due to the fact that the system transforms from w/o (when  $\Phi_w > 10\%$ ) through bicontinuous structure ( $10\% < \Phi_w < 50\%$ ) to w/o system. The  $\eta$  of the system decrease to 9.60 cP (when  $\Phi_w = 60\%$ ) from 58.83 cP (when  $\Phi_w = 10\%$ ). This curve ( $\eta - \Phi_w$ ) can also be illustrated by a polynomial equation. Polynomial dependency of viscosity of the system on  $\Phi_w$  shows the presence of nonspherical aggregates of dispersed phase. From the viscosity measurements of the investigated system as well as percolation phenomenon, it may be concluded that the system undergoes a structural changes from w/o to o/w over bicontinuous structure as a function of increasing water at fixed temperature. The formation of bicontinuous structure also can be confirmed by electrical conductivity. This is possibly due to the transformation of the interfacial film curvature as concentration of surfactant / cosurfactant is decreased as well as concentration of oil and water phase changes. Based on the conductivity and viscosity results, the microemulsion system ME1 is w/o type, ME2, ME3, ME4 and ME5 are bicontinuous and ME6 is o/w type.

**TABLA 3:** Medición de la conductividad eléctrica y la viscosidad de la formulación de las microemulsiones seleccionadas.

**TABLE 3:** Measurement of electrical conductivity and viscosity of the selected microemulsions formulation.

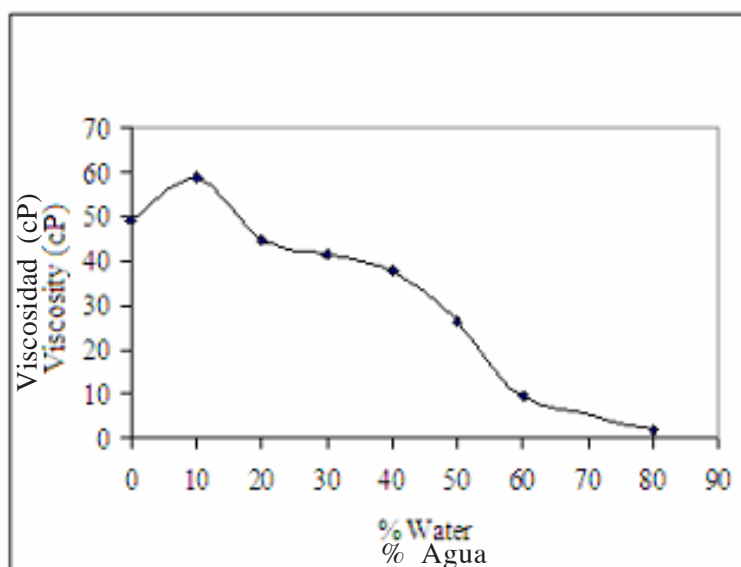
Lote Batch	Conductividad ( $\sigma$ ) Conductivity( $\sigma$ ) (micro siemens)	Viscosidad ( $\eta$ ) Viscosity( $\eta$ ) (cP)
MEP*	0.02	49.49
ME1	5.45	58.83
ME2	23.30	44.59
ME3	70.40	41.54
ME4	135.20	37.55
ME5	255.45	26.45
ME6	326.15	9.66

\* PME significa preconcentrado de microemulsión.

\* MEP means microemulsion preconcentrate.

**FIGURA 5:** Cambios de viscosidad con el aumento del contenido en agua.

**FIGURE 5:** Viscosity Changes with increasing water content.



### 3.5 Efecto de dilución y medición del tamaño de las partículas

Se calculó el tamaño medio de las partículas y el índice de polidispersidad a partir la intensidad, el volumen y el número de la distribución bimodal que adoptan las partículas esféricas. No obstante, para una mayor claridad, los resultados sólo se presentan como una distribución numérica. El índice de polidispersidad (IP) es una medición de la homogeneidad de las partículas y oscila entre 0,0 y 1,0. Cuanto más se acerque a cero el valor de polidispersidad más homogéneas serán las partículas.

A partir de la Tabla 4 se puede concluir que los sistemas ME1 y ME2 presentan tamaños de partículas muy pequeños ( $> 50$  nm), pero tras la adición de agua el tamaño de las partículas aumenta, como ocurre con los sistemas ME3 (98,5 nm) y ME4 (75,4 nm) con un índice de polidispersidad de 0,48 y 0,50 respectivamente. Esto sugiere que el sistema forma cilindros de agua en lugar de esferas en el aceite. Al añadir agua posteriormente, se redujo el tamaño de las partículas. Esto puede deberse a la formación de micelas inversas esféricas (gotitas de aceite en agua) que también se pueden confirmar por el bajo índice de polidispersidad. El preconcentrado de microemulsión que se diluyó en 100 partes de agua, mostró una emulsión blanquecina con un tamaño medio de partículas de  $\approx 548,6$  nm y un elevado índice de polidispersidad, que originó la formación de una microemulsión aceite/agua espesa y heterogénea y/o varias emulsiones (agua/aceite/agua)<sup>21</sup>. El preconcentrado de microemulsión que se diluyó en 100 partes de 0,1 N HCl, mostró un comportamiento similar al de la dilución con agua y formó una emulsión blanquecina con un tamaño de partículas de  $\approx 580$  nm. Esto puede deberse al componente no iónico (surfactante y aceite) del sistema de microemulsiones que es insensible al pH y/o a los cambios de fuerza iónica durante la dilución. Esto sugiere la idoneidad del sistema incluso cuando se diluye en fluido corporal como 0,1 N HCl (fluido gástrico simulado). Esto proporciona un conocimiento útil de la eficacia de estos sistemas como sistemas de transporte de fármacos, que permiten una dilución infinita

### 3.5 Dilution Effect and Particle Size measurements

The mean particle size and polydispersity index were calculated from intensity, volume and number bimodal distribution assuming spherical particles. For clarity, however, the results are presented only as number distribution. Polydispersity index (PI) is a measure of particle homogeneity and it varies from 0.0 to 1.0. The closer to zero the polydispersity value the more homogenous are the particles.

From the Table 4 it may be concluded that ME1 and ME2 shows very small particle size ( $>50$ nm) but on addition of water it shows an increase in particle size like for ME3 (98.5nm) and ME4 (75.4nm) with a polydispersity index of 0.48 and 0.50 respectively. This suggest that the system forms water cylinder rather than spherical in oil. Further addition of water shows a decrease in particle size. This may be due to the formation of spherical reverse micelles (oil droplets in water) which is also confirmed by low polydispersity index. Upon 100fold dilution with water, microemulsion pre-concentrate shows a milky white emulsion with an average particle size  $\approx 548.6$  nm and high polydispersity index which suggest the formation of heterogeneous coarse o/w microemulsion and / or multiple emulsions (w/o/w)<sup>21</sup>. Microemulsion pre-concentrate upon 100 fold dilution with 0.1N HCl shows similar behaviour as with water and form milky white emulsion with a particle size of  $\approx 580$ nm. This may be due to the non ionic component (surfactant and oil) of the microemulsion system which is insensitive to pH and /or ionic strength changes during dilution. This suggests that system suitability even when it is diluted by body fluid like 0.1N HCl (simulated gastric fluid). This provided useful background on the efficiency of these systems as drug carriers that allow infinite microemulsion dilution when the systems are diluted with body fluids.



de la microemulsión cuando los sistemas se diluyen con fluidos corporales.

**TABLA 4:** Datos de polidispersidad y tamaño de partículas de la formulación de las distintas microemulsiones.

**TABLE 4:** Particle size and polydispersity data of different microemulsions formulation.

Nº de lote <i>B. No.</i>	Tamaño de las partículas ± D.E. (nm) <i>Particle size ± S.D.</i> (nm)	IP* ± D.E. <i>PI* ± S.D.</i>
ME1	15.2 ± 5.2	0.262 ± 0.009
ME2	26.7 ± 7.1	0.315 ± 0.021
ME3	98.5 ± 10.2	0.482 ± 0.012
ME4	75.4 ± 8.4	0.50 ± 0.025
ME5	38.6 ± 6.3	0.025 ± 0.014
ME6	49.8 ± 8.9	0.015 ± 0.030
Dilución del PME <sup>a</sup> en 100 partes de agua <i>MEP<sup>a</sup> dilution with 100 times water</i>	548.6 ± 60.5	0.452 ± 0.031
Dilución del PME en 100 partes de 0,1N HCl <i>MEP dilution with 100 times 0.1N HCl</i>	580.5 ± 40.5	0.516 ± 0.041

\*IP significa índice de polidispersidad

<sup>a</sup>PME significa preconcentrado de microemulsión que consta de ST + COST y aceite

\*PI means Polydispersity Index

<sup>a</sup>MEP means microemulsion pre-concentrate which consists of ST+ COST and oil.

### 3.6 Mediciones de potencial zeta

Los surfactantes pueden estabilizar la emulsión, no sólo porque constituyen una barrera mecánica, sino porque también crean una carga de superficie o una barrera eléctrica (electrostática). La carga de superficie eléctrica de las gotitas se produce por la ionización de los componentes que forman la película interfacial. El potencial de superficie y el potencial zeta resultante de las gotitas de emulsión dependerán del grado de ionización de los surfactantes<sup>22</sup>.

Todas las formulaciones estudiadas estaban compuestas por constituyentes con car-

### 3.6 Zeta potential measurements

Surfactants can stabilise the emulsion, not only just by forming a mechanical barrier, but also by producing an electrical (electrostatic) barrier or surface charge. The electrical surface charge of the droplets is produced by the ionization of interfacial film-forming components. The surface potential and the resulting zeta-potential of emulsion droplets will depend on the extent of ionization of surfactants<sup>22</sup>.

All the formulations studied were composed of constituents of similar surface charge and so the dilution of the microemulsion systems with water did not significantly change

gas de superficie similares, por lo que la dilución de los sistemas de microemulsiones en agua no modificó de forma significativa sus valores de potencial zeta, que se quedaron en valores intermedios ( $16,5 \pm 1,2$ ). Aunque la formulación de las microemulsiones estaba formada por componentes no iónicos, mostró una elevada carga de superficie, lo que sugirió la posibilidad de una mejor adherencia a la mucosa intestinal ya que ésta está cargada negativamente. Es posible que este hecho también permita aumentar la biodisponibilidad de los fármacos con una mayor dificultad de absorción en el intestino, gracias a que aumenta el tiempo de permanencia del fármaco en el estómago así como en el intestino<sup>23</sup>.

### 3.7 Estudios de estabilidad

Para realizar los estudios de estabilidad de las muestras de microemulsiones, éstas se sometieron a una inspección visual (sin tensión) y a una centrifugación (bajo tensión). La prueba de inspección visual se realizó durante 3 meses mediante la extracción de las muestras semanalmente durante el primer mes y mensualmente durante los dos meses posteriores. La observación visual realizada no mostró ninguna prueba de separación de fases ni de floculación o precipitación. Estas muestras tampoco mostraron ninguna señal de separación de fases bajo tensión cuando fueron centrifugadas a 1.000 rpm durante 30 minutos.

## 4. RESUMEN

La investigación demostró la capacidad de los macrogol -8- glicéridos de caprilcaproilo para formar una extensa área de microemulsión y la microemulsión demostró ser estable incluso a baja concentración de surfactante. La investigación del comportamiento de las fases del sistema de macrogol -8- glicéridos de caprilcaproilo/poligliceril 6-dioleato/triglicérido de cadena media/agua demostró que la aproximación para reducir el contenido de surfactante mediante la variación en la proporción de aceite en la mezcla de surfactante era acertada. La transición estructural continua basada en la adición gradual de agua se

their zeta potential value which is in between ( $16.5 \pm 1.2$ ). The microemulsion formulation although consist of non-ionic component, showed high positive surface charge which suggest the possibility of better adherence to the intestinal mucosa which is negatively charged. This may also increase the bioavailability of poorly absorbable drugs incorporated in it, by increasing the residence time into the stomach as well as in intestine<sup>23</sup>.

### 3.7 Stability studies

Stability studies of the microemulsion samples were carried out by subjecting them to visual inspection (without stress) and centrifugation (under stress). The visual inspection test was carried out for 3 month by drawing sample at weekly interval for the first month and monthly interval for the subsequent months. The visual observation conducted by showing no evidence of phase separation or any flocculation or precipitation. These samples also show no sign of phase separation under stress when subjected to centrifugation at 10000 rpm for 30 minutes.

## 4. SUMMARY

The investigation demonstrates the ability of caprylocapryl macrogol -8- glycerides to form an extended microemulsion area and the formulated microemulsion is stable even at low concentration of surfactant. Phase behaviour investigation of the system caprylocapryl macrogol -8- glycerides / Polyglyceryl 6-dioleate / medium chain triglyceride/water, demonstrated the suitable approach to reduce the surfactant content by variation in oil to surfactant mixture ratio. The continuous structural transition upon gradual addition of water was confirmed by conductivity, particle size, and viscosity data. Positive surface charge on the globules as measured by the zeta potential measurements shows that the potentiality of the system as oral dosage form for increasing the bioavailability of poorly absorbed drugs. Particle size upon dilution of the system with simulated gastric fluid suggests the suitability of the system for oral drug delivery also.

confirmó a través de los datos de viscosidad, tamaño de las partículas y conductividad. La carga de superficie positiva de los glóbulos, según los resultados obtenidos con las mediciones de potencial zeta, mostró la posibilidad de utilizar el sistema como medio de dosificación oral para aumentar la biodisponibilidad de los fármacos con una mayor dificultad de absorción. El tamaño de las partículas tras la dilución del sistema en fluido gástrico simulado también sugirió la idoneidad del sistema como medio para la administración oral de fármacos.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores manifiestan su agradecimiento al Consejo de Investigación Científica e Industrial (Council of Scientific and Industrial Research, CSIR) de Nueva Delhi, India, por la financiación de este proyecto. Los autores también manifiestan su agradecimiento a TIFAC- CORE por facilitar las infraestructuras y a Colorcon (Asia) Pvt. Ltd., India, por suministrar los surfactantes (fabricante: Gattefosse, Francia).

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Council of Scientific and Industrial Research (CSIR), New Delhi, India for funding the project work. The authors are also thankful to TIFAC- CORE for providing the infrastructure and Colorcon (Asia) Pvt. Ltd. India for supplying the surfactants (Mfg. Gattefosse, France).

### BIBLIOGRAFÍA/REFERENCES

1. Attwood A. Colloidal drug delivery systems, In: Kreutzer, J.(Eds.) Microemulsions. Marcel Dekker, New York, 1994; 33-71.
2. Lawrence M J. Current Opinion in Microemulsions as drug delivery vehicles. Colloid Interface Sci.1994; 1: 826-832.
3. Kumar P, Mital KL. Handbook of microemulsion: Science and Technology, Marcel Dekker, New York, Basel. 1999.
4. Prince LM. Microemulsions? A technical explanation, In: Microemulsions: Theory and Practice, New York, NY: Academic Press: 1977; 51-56.
5. Schulman JH, Stoeckenius W, Prince LM. Mechanism of formation and structure of microemulsions by electron microscopy. J. Phys. Chem. 1959;63: 1677-1680.
6. Lawrence MJ, Rees GD. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. Adv. Drug Delivery Rev. 2000;45: 89-121.
7. Hu Z, Tawa R, Konishi T, Shibata N, Takada K. A novel emulsifier, labrasol, enhances gastrointestinal absorption of gentamicin. Lince Sci.2001; 69: 2899-2910.
8. Kommuru TR, Gurley B, Khan MA, Reddy IK. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) of coenzyme Q10: formulation development and bioavailability assessment. Int. J. Pharm. 2001; 212: 233- 246.
9. Gasperlin M, Spiclin P. Caprylocaproyl macrogolglycerides based microemulsion: Physicochemical and phase behaviour properties. Scientia Pharmaceutica.2001;69:157-158.
10. Kim HJ, Yoon KA, Hahn M, Park ES, Chi SC. Preparation and in vitro evaluation of self-microemulsifying drug delivery systems containing idebenone. Drug Dev Ind Pharm. 2000; 5: 523-529.
11. Abbofazeli R, Lawrence MJ. Investigation into the formation and characterisation of phospholipid microemulsion. II: pseudoternary phase diagram of system containing water-lecithin-isopropyl myristate and alcohol: influence of purity of lecithin. Int. J Pharm. 1994; 106: 51-61.
12. L. E. Scriven, K.L. Mittal (Eds.), Micellisation, Solubilization and Microemulsion, Vol. 2, Plenum Press, New York.1977; 877.
13. Olsson U, Shinoda K, Lindman B. Change of the structure of microemulsions with the hydrophile-lipophile balance of nonionic surfactant as revealed by NMR self-diffusion studies. J. Phys. Chem. 1986; 93: 4083.

14. Ogino K, Nakamae M, Abe M. Properties and structure of microemulsions of the system sodium octyl sulfate/n-hexyl alcohol/n-decane /brine. *J. Phys. Chem.*1989; 93: 3704.
15. Lagues M, Sauterey C. Percolation transition in water in oil microemulsions electrical conductivity measurements. *J. Phys. Chem.*1980; 84: 3503-3508.
16. Safran SA, Grest GS, Bug ALM, Webma I. Percolation in interacting system systems. In: Rosano HL, Clause M. eds. *Microemulsion systems*. New York, NY: Marcel Dekker. 1987; 235-245.
17. Lagourette B, Peyrelasse J, Boned C, Clause M. *Nature*.1979 ;61 :281.
18. Fletcher PDI, Robinson BH, Bunsenges B. Dynamic process in water-in-oil microemulsion. *Phys. Chem.* 1981; 85:863-867.
19. Chunsheng M, Minghua Z, Qian Z. Investigation of structure and structural transition in microemulsion systems of sodium Dodecyl sulfonate\_ *n*-heptane\_ *n*-butanol\_ water by cyclic Volta metric and electrical conductivity measurements. *Journal of Electro analytical Chemistry*.2000; 493:100–107.
20. Weigert S, Hans-Friedrich E, Wolfgang M. Electric conductivity near the percolation transition of a nonionic water-in-oil microemulsion. *Physica A*.1997; 242: 95-103.
21. Constantinides PP, Seahg HY. Particle size determination of phase inverted water-in-oil microemulsion under different dilution and storage condition. *Int. J. Pharm.* 1995; 115: 225-234.
22. Benita S, Friedman D, Weinstock M. Physostigmine emulsion: a new injectable controlled release delivery system. *Int J Pharm.* 1986; 30: 47-55.
23. Gershanik T, Benzeno S, Benita S. Interaction of a self-emulsifying lipid drug delivery system with everted rat intestinal mucosa as a function of droplet size and surface charge. *Pharm. Res.*1998; 15: 863-869.