

## Estandarización de celdas de Franz para la realización de ensayos de liberación de fármacos a partir de complejos con polielectrolitos

Yolima Baena<sup>1</sup>, Leidy J. Dallos<sup>1</sup>, Rubén H. Manzo<sup>2</sup>, Luisa F. Ponce D'León<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Grupo de investigación en sistemas de liberación modificada de moléculas biológicamente activas. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, carrera 30 N° 45-03, Bogotá, D. C., Colombia. \*Correo electrónico: [ybaenaa@unal.edu.co](mailto:ybaenaa@unal.edu.co).

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Tecnología Farmacéutica, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, edificio Ciencias 2, Ciudad Universitaria Córdoba, Argentina.

Recibido para evaluación: 29 de junio de 2011.

Aceptado para publicación: 8 de agosto de 2011.

### RESUMEN

En el presente estudio se realizó la estandarización de las condiciones de operación de algunas celdas de Franz, sistema que permite realizar la evaluación de la liberación de compuestos biológicamente activos como una de sus aplicaciones. Para ello se seleccionaron y caracterizaron dos complejos obtenidos entre Eudragit E y ácido benzoico como modelos a emplear, de acuerdo con su solubilidad. Se evaluó su comportamiento de liberación en diferentes condiciones operacionales del ensayo y los resultados se evaluaron empleando el modelo de Korsmeyer-Peppas y el análisis estadístico correspondiente. El análisis de Korsmeyer-Peppas demostró que el mecanismo de liberación del ácido benzoico se ajusta a la ley de difusión de Fick, en algunos casos. Las condiciones operacionales definidas para el ensayo de liberación en las celdas de Franz fueron las siguientes: la concentración del ácido benzoico en la dispersión de complejo en el compartimento donador, 0,07%; la velocidad de agitación, 400 rpm; el volumen de muestreo, 1 mL y la frecuencia de muestreo según un esquema determinado. Se demostró la reproducibilidad del ensayo de liberación en las condiciones operacionales definidas, mediante análisis de varianza.

*Palabras clave:* celdas de Franz, estandarización, complejos, ácido benzoico, liberación.

## SUMMARY

### Standardization of Franz cells to evaluate drugs release from drug-polyelectrolyte complexes

This paper presents the studies carried out about the standardization of the operational conditions of some Franz Cells; this system allows evaluating the drug release, among others. To this purpose, two Eudragit E<sup>-</sup> benzoic acid complexes were selected and characterized, as models due to their solubility. After that, the outstanding operational variables were established and evaluated at different levels. The delivery profiles analysis applying the Korsmeyer-Peppas model showed that the release mechanism of benzoic acid was Fick diffusion, in some cases. The operational conditions: benzoic concentration in the complex dispersion in the donor compartment, 0,07%; agitation speed, 400 rpm; volume (1 mL) and frequency sampling according to specific scheme, were determined. The delivery assay reproducibility was demonstrated in the established operational conditions by statistically analysis (ANOVA).

*Key words:* Franz cells, standardization, complexes, benzoic acid, delivery.

## INTRODUCCIÓN

Las celdas de Franz representan, desde su desarrollo en 1975, uno de los principales métodos utilizados para evaluar la penetración transepitelial y a partir de los últimos años, la liberación de fármacos (1). Constituyen un sistema compuesto por dos cámaras, una donora y otra aceptora, separadas por una membrana de origen animal, humana o sintética que permite evaluar la difusión de moléculas biológicamente activas de una cámara a otra. En el compartimento superior se adiciona una solución o dispersión que contiene el compuesto activo y en el inferior se toman las muestras correspondientes, que posteriormente son cuantificadas mediante técnicas analíticas como UV y HPLC (2). Entre los parámetros que influyen en la difusión de dicho compuesto, están la temperatura, la velocidad de agitación, el tipo y naturaleza de la membrana y el medio del compartimento receptor (3).

Las celdas de Franz permiten evaluar la cinética de liberación a partir de diferentes sistemas farmacéuticos, especialmente aquellos de cesión controlada de moléculas biológicamente activas (4); entre estos sistemas se encuentran los complejos obtenidos a partir de interacciones ácido-base entre un polielectrolito y una molécula con

capacidad de ionizar, dando lugar a materiales con propiedades fisicoquímicas diferentes a las de los compuestos precursores y, por ende, haciendo necesaria su caracterización en diferentes aspectos, incluyendo su comportamiento de liberación (5). Estos sistemas han sido objeto de múltiples investigaciones por su aplicabilidad en el diseño de nuevas formas farmacéuticas de liberación modificada (6-8), en el aumento de la estabilidad (9) y en el incremento de la solubilidad aparente (6, 8).

Con el fin de garantizar la confiabilidad de los resultados obtenidos en un estudio de liberación, a partir de los sistemas mencionados, es indispensable estandarizar las condiciones de operación de las celdas de Franz. En el presente estudio se emplean dos complejos con diferente solubilidad (formados entre el Eudragit E<sup>+</sup> y el ácido benzoico), como modelos de sistemas de liberación modificada de moléculas biológicamente activas.

## METODOLOGÍA

### Materiales

Ácido benzoico (calidad USP); acetona (Merck Chemicals); ácido clorhídrico (Mallinckrodt Chemicals); Eudragit<sup>+</sup> E [polímero poli {butilmetacrilato (2-dimetil-aminoetil), metacrilato, metilmetacrilato} 1:2:1], donado por Almapal, Bogotá-Colombia; agua destilada (conductividad < 2  $\mu\text{S cm}^{-1}$ ).

### Preparación de los complejos

Los equivalentes de grupos amino del Eudragit<sup>+</sup> E (Eu) por gramo ( $3,27 \times 10^{-3}$ ) se determinaron previamente (8, 10).

Los complejos se prepararon mediante la dispersión de 3 g de Eu en 15 mL de acetona y la posterior adición de la cantidad correspondiente de ácido benzoico (B) para neutralizar el 50% de los grupos amino de Eu, para obtener el complejo EuB<sub>50</sub>. El complejo EuB<sub>50</sub>Cl<sub>50</sub> se preparó de manera similar al anterior, con la neutralización adicional de los grupos remanentes con HCl. A continuación, el solvente fue evaporado a temperatura ambiente, agitando a intervalos de tiempo establecidos, obteniéndose un producto sólido para ambos casos.

### Caracterización de los complejos

Los complejos EuB<sub>50</sub>, EuB<sub>50</sub>Cl<sub>50</sub>, el Eu, B y la mezcla física correspondiente (50% de Eu y 50% de B), se caracterizaron mediante espectroscopía de infrarrojo empleando el método de dispersión sólida, 1,5% del complejo en discos de KBr, en el equipo ATI Mattson Génesis SERIES.

### Evaluación cualitativa de la solubilidad de los complejos

Para realizar la evaluación cualitativa de la solubilidad de los complejos, previamente elaborados, se hicieron dispersiones acuosas en concentraciones de 0,01, 0,30, 0,50 y 0,60%, en volúmenes de 10 mL, observando si el sistema tenía una apariencia traslúcida o si existían partículas en suspensión o sedimentadas. De esta manera se clasificaron como solubles (S) o insolubles (I).

### Evaluación del comportamiento de liberación y estandarización de las celdas de Franz

Los ensayos se realizaron en las celdas de difusión de Franz de volumen nominal de 75 mL (del compartimento receptor), a una temperatura de  $37 \pm 0,05$  °C. Al compartimento receptor se le adicionó agua, previamente desgasificada. En todos los casos se empleó una membrana de acetato de celulosa (12000 D), de un área de  $6,5 \pm 0,2$  cm<sup>2</sup>, ubicada entre los compartimentos donador y receptor, previamente hidratada durante 15 minutos. La dispersión del complejo se adicionó en el primer compartimento en un volumen de 3 mL; luego se tomaron las alícuotas de muestreo del compartimento receptor, a los intervalos de tiempo determinados, con la respectiva reposición de medio. La cuantificación de ácido benzoico se realizó por espectroscopía UV a una longitud de onda de 226 nm en el equipo ATI UNICAM UV/Vis. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Los resultados se representaron en gráficas de porcentaje liberado en función del tiempo (perfiles de liberación), en las diferentes condiciones evaluadas. Con el fin de determinar el comportamiento de liberación, para posteriormente entender la influencia de las variables a estudiar en la fase de estandarización, se evaluaron los perfiles empleando el modelo de Korsmeyer-Peppas (11, 12). Este modelo relaciona la liberación del fármaco con el tiempo transcurrido elevado a un exponente  $n$ , empleando para ello los datos de liberación inferiores al 60%, mediante la ecuación:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = at^n \quad (1)$$

Donde  $M_t/M_\infty$  es la fracción del fármaco liberado a tiempo  $t$ ,  $a$  es la constante de liberación,  $t$  es el tiempo transcurrido y  $n$  es el exponente de liberación. Para la estandarización de los estudios de liberación, se realizaron los ensayos que se presentan en la tabla 1, variando aquellos factores, considerados como críticos en un estudio de esta naturaleza. Las variables evaluadas fueron las siguientes: la concentración de B en la dispersión de complejo en el compartimento donador, la velocidad de agitación, el volumen de muestreo y la frecuencia de muestreo. Para las dos últimas variables los ensayos se realizaron sólo con el complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$ .

Tabla 1. Condiciones operacionales de los ensayos evaluados.

Ensayo	Concentración de B en el compartimento donador (%)	Velocidad de agitación (rpm)	Volumen de muestreo (mL)	Frecuencia de muestreo*
1	0,10	400	2	A
2	0,07	400	2	A
3	0,03	400	2	A
4	0,07	200	2	A
5	0,07	600	2	A
6	0,07	400	1	A
7	0,07	400	1	B

\*La frecuencia de muestreo se evaluó en dos esquemas: uno sencillo, A (cada 10 minutos la primera hora, cada 15 minutos la segunda y cada hora hasta la sexta hora), y uno estricto, B (cada 10 minutos la primera y segunda horas, cada 15 minutos la tercera y cuarta, cada 30 minutos la quinta y sexta horas).

Con el fin de establecer las condiciones de operación adecuadas, los resultados se evaluaron mediante el tratamiento estadístico correspondiente y se complementaron con el análisis del comportamiento de liberación. Una vez establecidas las condiciones operacionales, se realizaron tres ensayos, que posteriormente se analizaron mediante ANOVA para establecer su reproducibilidad.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de los complejos

Para confirmar la formación de los complejos en estudio, se buscaron las diferencias entre sus espectros: los de los compuestos puros y la mezcla física, con el fin de corroborar la existencia de la interacción ácido-base entre B y Eu. Para ello se analizaron las bandas correspondientes a la tensión del enlace OH del carboxilo de B, fuera ( $931\text{ cm}^{-1}$ ) y dentro del plano ( $2.557$  y  $3.070\text{ cm}^{-1}$ ), la tensión C=O de B ( $1.685\text{ cm}^{-1}$ ) y los grupos dimetilamino de Eu ( $2.771$  y  $2.821\text{ cm}^{-1}$ ).

Las bandas características correspondientes al polielectrolito y al ácido benzoico, así como los cambios que se observan en los complejos, se presentan en la tabla 2. Para el ácido benzoico se observa que las bandas correspondientes al grupo ácido carboxílico ( $2.557$ ,  $3.070$ ,  $931$  y  $1.686\text{ cm}^{-1}$ ), se presentan tanto en el compuesto puro como en la mezcla física y desaparecen en los espectros de los complejos. En cuanto al Eu, se encontró que las bandas que se asignan a los grupos dimetilamino no protonados

(2.771-2.821  $\text{cm}^{-1}$ ), se encuentran en los espectros del compuesto puro y en la mezcla física; estas bandas disminuyen de intensidad para el complejo  $\text{EuB}_{50}$ , debido a la presencia de grupos protonados y no protonados. Para el complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$ , las bandas mencionadas desaparecen totalmente, demostrándose la protonación de todos los grupos amino.

Los resultados anteriores comprueban la presencia del enlace iónico entre Eu y B de los dos complejos evaluados y estuvieron de acuerdo con otros resultados ya reportados (10).

Tabla 2. Señales características de las transiciones vibracionales de B, Eu, su mezcla física y los complejos  $\text{EuB}_{50}$  y  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$ .

Compuesto	COO-H de B ( $\text{cm}^{-1}$ )	COO-H fuera del plano de B ( $\text{cm}^{-1}$ )	C=O (COOH) de B ( $\text{cm}^{-1}$ )	Dimetilamino de Eu ( $\text{cm}^{-1}$ )
B	2.557-3.070	931	1.685	---
Eu	---	---	---	2.771-2.821
Mezcla física (B + Eu)	2.500-3.100	931	1.686	2.820
$\text{EuB}_{50}$	NO	NO	NO	2.770-2.800
$\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$	NO	NO	NO	NO

### Evaluación cualitativa de la solubilidad de los complejos

Al realizar la evaluación cualitativa de la solubilidad de los complejos preparados se observa que el complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  presenta una mayor solubilidad que el complejo  $\text{EuB}_{50}$ , comportamiento que se muestra en la tabla 3. La mayor solubilidad del complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  en comparación al complejo  $\text{EuB}_{50}$  se debe al incremento en el grado de protonación del Eu y, por tanto, al aumento de su hidrofiliidad (8, 10).

Tabla 3. Resultados de solubilidad cualitativa de los complejos.

Complejo	Concentración de B (%)	Solubilidad*	Complejo	Concentración de B (%)	Solubilidad*
$\text{EuB}_{50}$	0,01	S	$\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$	0,01	S
	0,30	S		0,30	S
	0,50	S		0,50	S
	0,60	I		0,60	S

\*Soluble: S. Insoluble: I.

## Evaluación del comportamiento de liberación y estandarización de las celdas de Franz

### Comportamiento de liberación

Comparando los perfiles de liberación de los dos complejos evaluados en las diferentes condiciones fijadas, se observa en todos los casos que el complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  presenta una mayor velocidad de liberación y un mayor porcentaje liberado que el complejo  $\text{EuB}_{50}$  (figuras 1 a 4).

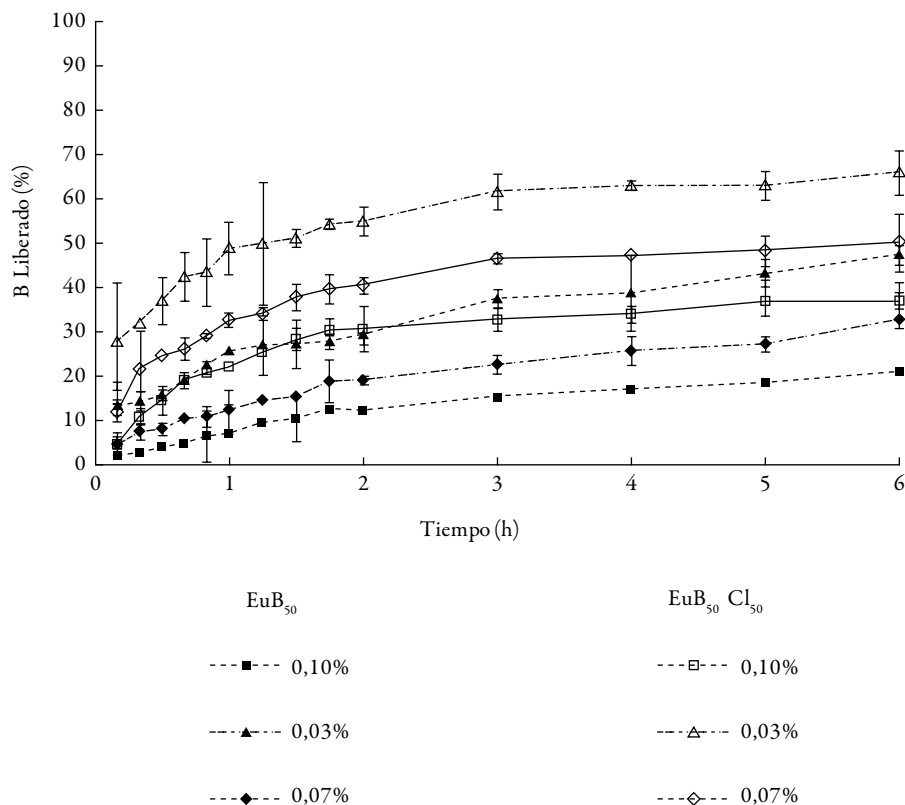


Figura 1. Perfiles de liberación de B, a partir de los complejos  $\text{EuB}_{50}$  y  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$ , al variar la concentración de B en la dispersión del complejo.

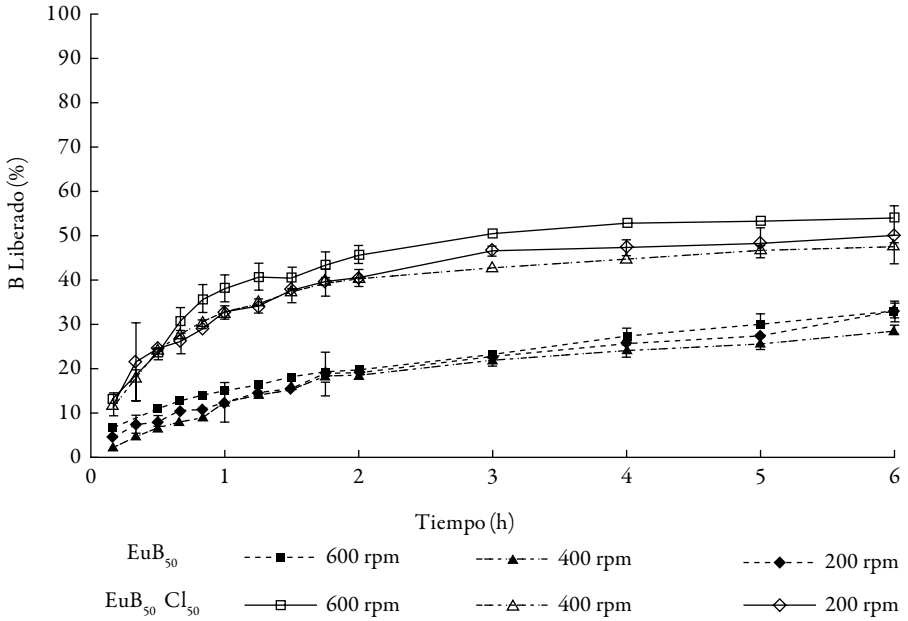


Figura 2. Perfiles de liberación de B, a partir de los complejos  $\text{EuB}_{50}$  y  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$ , al variar la velocidad de agitación en el sistema.

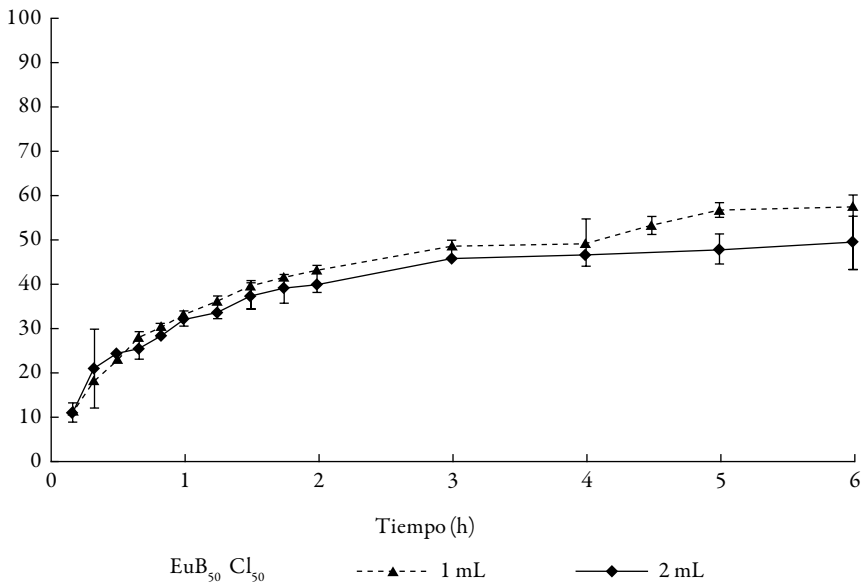


Figura 3. Perfiles de liberación de B, a partir del complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$ , al variar el volumen de muestreo.



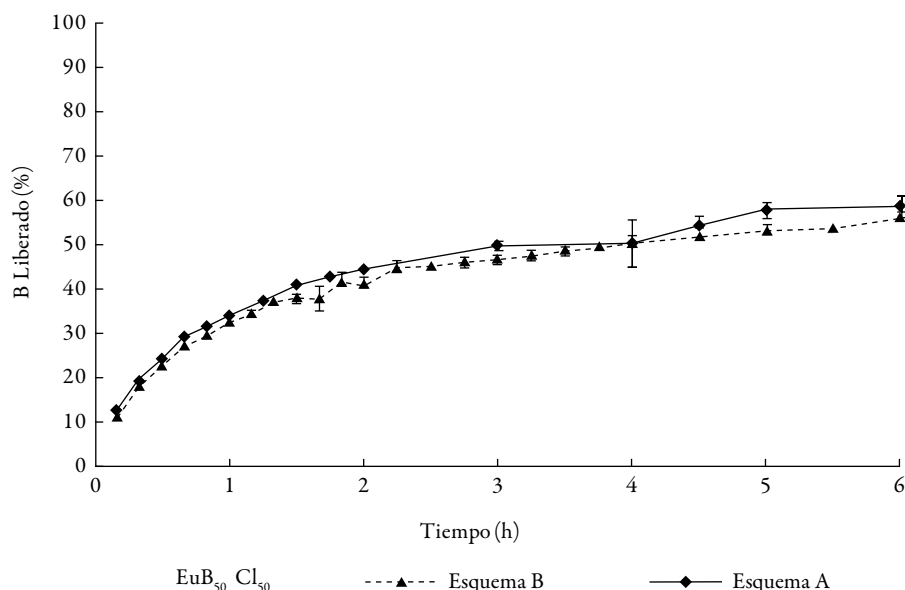


Figura 4. Perfiles de liberación de B, a partir de los complejos  $\text{EuB}_{50}$  y  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$ , al variar la frecuencia de muestreo.

Para poder explicar este comportamiento, es necesario entender los equilibrios involucrados en el proceso de liberación del ácido benzoico a partir de cada uno de los complejos (figura 5).

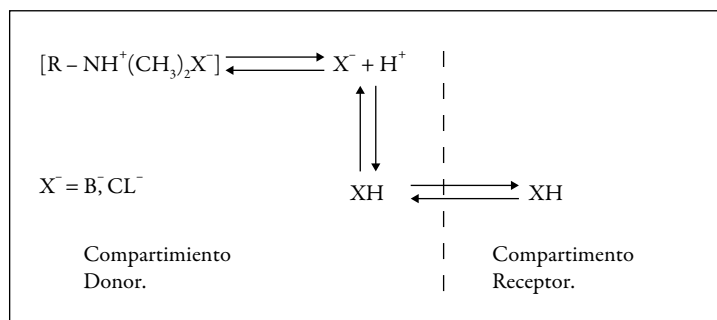


Figura 5. Representación del equilibrio involucrado en la liberación del ácido benzoico a partir del complejo.

En primer lugar está el equilibrio del complejo con sus correspondientes formas disociadas. A partir de ellas, se establece el equilibrio con la especie neutra del ácido benzoico, que es capaz de atravesar la membrana de acetato de celulosa. La diferencia en el comportamiento de los dos complejos mencionados se atribuye a que el pH de sus dispersiones acuosas iniciales es diferente, siendo menor para  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  (pH 3,26 a 0,07%

de B) que para  $\text{EuB}_{50}$  (pH 5,94 a 0,07% de B), debido a la neutralización adicional con HCl para el primer caso. El menor pH de la dispersión acuosa de  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  frente a  $\text{EuB}_{50}$  aumenta la velocidad de difusión a través de la membrana, puesto que se favorece el desplazamiento del equilibrio del ácido benzoico hacia la especie neutra, teniendo en cuenta que este valor de pH es menor al pKa del compuesto, que es de 4,2 (13, 14).

Con el fin de analizar la liberación del ácido benzoico a partir de los complejos y posteriormente relacionarla con las variables evaluadas, se realizó el modelamiento de acuerdo con lo planteado por Korsmeyer-Peppas, como se explicó en la metodología y cuyos resultados se presentan en la tabla 4. Es de recordar, que para los ensayos de volumen de muestreo y frecuencia de muestreo (6, y 7) se seleccionó el complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  que fue el que presentó mayor liberación, razón por la cual, para el complejo  $\text{EuB}_{50}$ , no se muestran resultados para estos ensayos.

Tabla 4. Valores asociados al modelamiento matemático de Korsmeyer-Peppas para los resultados obtenidos en todos los ensayos.

Complejo $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$				Complejo $\text{EuB}_{50}$			
Ensayo	n	a	$r^2$	Ensayo	n	a	$R^2$
1	0,900	0,250	0,966	1	0,823	0,071	0,972
2	0,541	0,334	0,942	2	0,583	0,125	0,986
3	0,311	0,468	0,979	3	0,378	0,231	0,917
4	0,602	0,349	0,997	4	0,860	0,115	0,993
5	0,659	0,460	0,976	5	0,431	0,149	0,997
6	0,593	0,356	0,996	6	-	-	-
7	0,575	0,321	0,992	7	-	-	-

Los resultados de los coeficientes de correlación obtenidos, evidencian que los comportamientos de liberación se ajustan al modelo matemático evaluado. El valor de  $n$  es variable, oscila entre 0,3 y 0,9. Para algunos ensayos (ensayos 2, 6 y 7) dicho valor es cercano a 0,5, lo que podría ser un indicio de que el mecanismo de liberación que predomina en estos casos es el difusional (15-17).

#### *Estandarización de las celdas*

A continuación se muestran los resultados de los ensayos de la estandarización de las celdas de Franz, que involucran el estudio de la influencia de las diferentes variables operacionales sobre el comportamiento de liberación de B.

Las variables operacionales estudiadas: concentración de B en la dispersión del complejo en el compartimento donador, velocidad de agitación, volumen de muestreo y frecuencia de muestreo, se evaluaron a diferentes niveles y mediante el análisis estadístico correspondiente se seleccionaron las más adecuadas, como se indica a continuación.

#### *Concentración de B en la dispersión de complejo en el compartimento donador*

Para evidenciar la influencia de la concentración de la dispersión del complejo sobre el comportamiento de liberación de B, se evaluaron tres niveles: 0,10, 0,07 y 0,03%, (ensayos 1, 2 y 3, respectivamente, presentados en la tabla 1). Los perfiles de liberación resultantes se ilustran en la figura 1.

Estos perfiles de liberación muestran una dependencia con la variación en la concentración del compartimento donador, encontrándose que a mayor concentración de B en el complejo, menor es el porcentaje liberado, para ambos casos. Este comportamiento se confirma mediante el análisis estadístico de varianza (ANOVA), que con un  $p < 0,05$  indica diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes concentraciones estudiadas, para los dos complejos. Complementando los resultados anteriores con el análisis realizado acerca del comportamiento de liberación, mediante el modelamiento de Korsmeyer-Peppas, se evidencia la variación del exponente  $n$  (ensayos 1 a 3 de la tabla 4), por influencia de este parámetro, demostrando que cuando la concentración de B en el complejo es alta (0,1%) cambia el mecanismo de liberación tipo difusional esperado, puesto que  $n$  se hace igual a 0,9 para el complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  y 0,823 para  $\text{EuB}_{50}$ .

Es de aclarar que el comportamiento difusional se cumple siempre y cuando en el sistema se mantengan las condiciones "sink" (15-17). Estas condiciones cambian en la medida en que la concentración del ácido benzoico se hace mayor, ya sea por estar presente en mayor porcentaje en el complejo (llevando a una saturación más rápida del medio), o porque con el transcurrir del tiempo se alcanza este nivel, haciendo más difícil el proceso por difusión. Es así, como al disminuir la concentración en el compartimento donador, esta saturación se alcanza a un tiempo mayor y es posible llegar a valores más altos de liberación. Cuando la concentración fue muy baja (0,03%), el error asociado a la cuantificación aumentó, lo que se reflejó en el mayor grado de dispersión de los resultados.

Se seleccionó la concentración de 0,07% como la adecuada, debido a que su liberación demostró seguir una liberación difusional ( $n$  cercano a 0,5) y los datos de liberación mostraron un menor grado de dispersión.

### *Velocidad de agitación*

En la figura 2 se muestran los resultados de la liberación del ácido benzoico empleando tres niveles de agitación, 200, 400 y 600 rpm (ensayos 4, 2 y 5, respectivamente, de la tabla 1).

Se observa que los perfiles de liberación son similares al variar la velocidad de agitación, con cada uno de los complejos. Para confirmar estas aparentes similitudes se realizó el respectivo ANOVA, mostrando que con un  $p < 0,05$  no se evidencian diferencias estadísticamente significativas en las condiciones estudiadas. De acuerdo con estas consideraciones, sería posible elegir cualquier nivel de agitación entre los valores evaluados. Se eligió el valor de 400 rpm, por ser el valor medio entre las distintas condiciones ensayadas. Es de resaltar, que de acuerdo con los resultados de la tabla 4, el valor de  $n$  se aleja marcadamente de 0,5, para el caso del complejo  $\text{EuB}_{50}$ , no siendo tan evidente para  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$ , por influencia de una baja velocidad de agitación (200 rpm). Esto podría reflejar el cambio que se podría dar sobre el mecanismo de liberación por efecto de este parámetro, cuando el complejo en estudio presenta una menor solubilidad.

### *Volumen de muestreo*

En la figura 3 se presentan los perfiles de liberación para el complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$ , al variar el volumen de la alícuota muestreado, tal como se presentó en la metodología (ensayos 2 y 6 de la tabla 1).

El análisis de  $t$  de *student*, con un  $p < 0,05$ , estableció que no existen diferencias significativas en los perfiles de liberación al emplear cualquiera de los dos volúmenes de muestreo. Se seleccionó el muestreo de 1 mL como el más adecuado, puesto que a un menor volumen de muestreo, se vería menos afectado el equilibrio del sistema, en un estudio a más largo plazo.

### *Frecuencia de muestreo*

En la definición de la frecuencia de muestreo para llevar a cabo los estudios de liberación en las celdas de Franz, se evaluaron dos esquemas: uno sencillo (A) y uno riguroso (B), en cuanto a los intervalos de tiempos, correspondiente a los ensayos 6 y 7 de la tabla 1. En la figura 4 se presentan los perfiles obtenidos, evidenciándose un comportamiento similar entre los dos esquemas empleados.

La aparente similitud detectada, se confirmó al realizar la prueba de  $t$ , que con un  $p < 0,05$  evidenció que no se detectan diferencias estadísticamente significativas en la liberación, en las condiciones evaluadas. Se establece que la frecuencia de muestreo, correspondiente al esquema sencillo (A), es adecuada para definirse como condición

de operación; pues además de afectar en una menor magnitud al equilibrio del sistema, ésta representa una rutina de muestreo más cómoda para el experimentador.

### Evaluación de la reproducibilidad de las condiciones establecidas

Una vez establecidas las condiciones de operación para cada una de las variables estudiadas: a) concentración de B en la dispersión de complejo en el compartimento donador, 0,07%, b) velocidad de agitación, 400 rpm, c) volumen de muestreo, 1 mL y d) frecuencia de muestreo, esquema A, se procedió a demostrar la reproducibilidad de las mismas realizando ensayos por triplicado, para cada uno de los complejos, tal como se presenta en la figura 6.

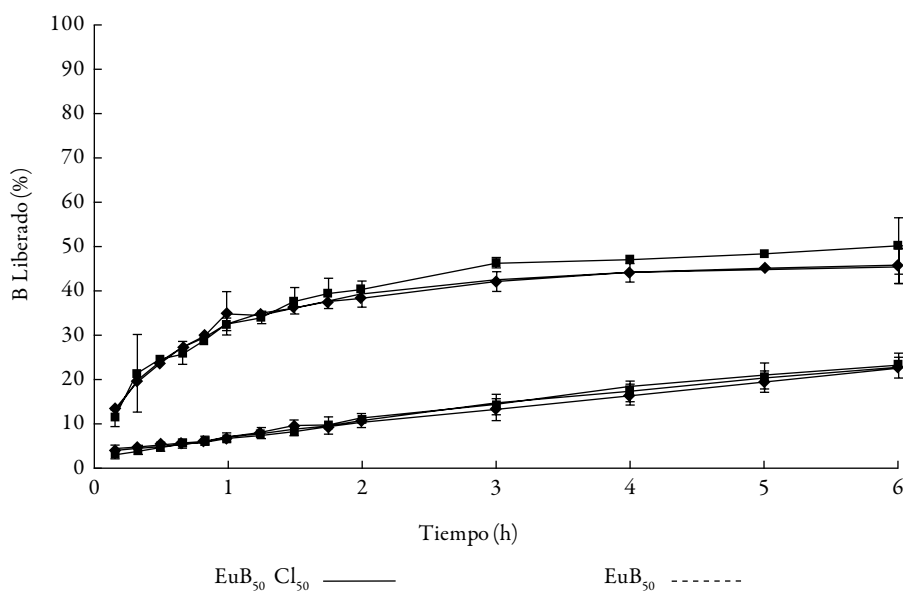


Figura 6. Perfiles de liberación de B, a partir de los complejos  $\text{EuB}_{50}$  y  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  en las condiciones estandarizadas.

El ANOVA estableció con un  $p < 0,05$ , que no se evidencian diferencias estadísticamente significativas entre los tres ensayos realizados, para cada uno de los complejos, demostrando la reproducibilidad del ensayo de liberación en las celdas de Franz, en las condiciones establecidas.

## CONCLUSIONES

La caracterización de los complejos  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  y  $\text{EuB}_{50}$ , mediante IR, demostró la formación del enlace iónico, propio de los complejos, y la mayor solubilidad para el complejo  $\text{EuB}_{50}\text{Cl}_{50}$  en medio acuoso. Por otro lado, a los diferentes perfiles de liberación obtenidos, en celdas de Franz, variando las condiciones operacionales propias del ensayo, se les realizó el análisis matemático aplicando el modelo de Korsmeyer-Peppas, demostrando seguir un comportamiento difusional en la mayoría de los casos. Finalmente, se podría afirmar que este estudio permitió establecer las condiciones operacionales más adecuadas y reproducibles en cuanto a la concentración de B en la dispersión de complejo en el compartimento donador, la velocidad de agitación, el volumen de muestreo y la frecuencia de muestreo, mediante los análisis estadísticos correspondientes.

## AGRADECIMIENTOS

Muy formalmente agradecemos a la División de Investigación sede Bogotá (DIB) de la Universidad Nacional de Colombia, por el apoyo financiero dado para la realización del presente estudio. Al Grupo de Investigación en Sistemas de Liberación modificada de moléculas biológicamente activas (SILICOMOBA) del Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia y al Grupo de Investigación en Tecnología Farmacéutica de la Universidad Nacional de Córdoba (Argentina) por el apoyo dado para la realización del presente trabajo.

## REFERENCIAS

1. N. Villarino, M. Landoni, Administración transdérmica de fármacos: Una alternativa terapéutica, *Analecta Veterinaria*, **26**, 28-37 (2006).
2. S. Chattaraj, J. Swarbrick, I. Kanfer, A simple diffusion cell to monitor drug release from semi-solid dosage forms, *Int. J. Pharm.*, **120**, 119-124 (2005).
3. T. Estévez, A. Aguilera, A. Sáez, E. Hardy, Diseño y validación de una celda de difusión para estudios de liberación *in vitro* de biomoléculas, *Bioteconología Aplicada*, **17**, 187-190 (2000).
4. M.E. Aulton, "Pharmaceutics, The science of dosage form design", 2<sup>nd</sup> ed., Churchill Livingstone Eds., London, 2002, p. 294, 506

5. A. Jimenez-Kairuz, J. Llabot, D. Allemandi, R. Manzo, Swellable drug-polyelectrolyte matrices (SDPM). Characterization and delivery properties, *Int. J. Pharm.*, **288**, 87-99 (2003).
6. A. Vilches, A. Jimenez-Kairuz, F. Alovero, M. Olivera, D. Allemandi, R. Manzo, Release kinetics and up-take studies of model fluoroquinolones from carbomer hydrogels, *Int. J. Pharm.*, **246**, 17-24 (2002).
7. A. Jimenez-Kairuz, D. Allemandi, R. Manzo, Equilibrium properties and mechanism of kinetic release of metoclopramide from carbomer hydrogels, *Int. J. Pharm.*, **250**, 129-136 (2003).
8. Y. Baena, Estudio fisicoquímico de la liberación del diclofenac a partir de complejos polielectrolito-fármaco, tesis doctoral, Universidad Nacional de Colombia, 2011.
9. A. Jimenez-Kairuz, D. Allemandi, R. Manzo, The improvement of aqueous chemical stability of a model basic drug by ion pairing with acid groups of polyelectrolytes, *Int. J. Pharm.*, **269**, 149-156 (2003).
10. A. Quinteros, V. Ramirez, A. Jimenez Kairuz, M. Olivera, R. Manzo, D. Allemandi, Interaction between a cationic polymethacrylate (Eudragit E100) and anionic drugs, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **33**, 72-79 (2008).
11. P. Costa, J. Sousa, Review modeling and comparison of dissolution profiles, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **13**, 123-133 (2001).
12. A.T. Florence, D. Attwood, "Physicochemical principles of pharmacy", 4<sup>th</sup> ed., The Pharmaceutical Press, London, 2006, p. 304, 467.
13. R. Rowe, P. Sheskey, M. Quinn. "Handbook of pharmaceutical excipients", 6<sup>th</sup> ed., The Pharmaceutical Press, London, 2009, pp. 525-533, 712-714.
14. J. Wells, "Pharmaceutical preformulation. The physicochemical properties of drug substances", Ellis Horwood Eds., New York, 1988, p. 39.
15. Ch.-J. Kim, "Advanced pharmaceutics. Physicochemical principles", CRC Press, New York, 2004, pp. 341-343.
16. P.J. Sinko, "Martin's physical pharmacy and pharmaceutical sciences", 5<sup>th</sup> ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2006, p. 308.
17. J.T. Cartensen, "Pharmaceutical preformulation", CRC Press, Washington, 1998, pp. 186-196.