

Liberación de pravastatina sódica formulada en matrices poliméricas a base de Quitosan/Pluronic F-127

Release of pravastine sodium formulated in polymer chitosan/pluronic f-127 matrices

MSc. Pablo Serrano Castañeda,^I Lic. Omar Rodrigo Guadarrama Escobar,^I
Dr. José Juan Escobar Chávez,^I Dra. Luz María Melgoza Contreras,^{II}
Dra. Raquel López Arellano,^{III} Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez^{IV}

^I Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Unidad de Investigación Multidisciplinaria. Laboratorio 12: Sistemas transdérmicos y Materiales nanoestructurados. Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.

^{II} Departamento de Sistemas Biológicos Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. México D.F, México.

^{III} Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Unidad de Investigación Multidisciplinaria. Laboratorio 5 LEDEFAR: Ensayos de Desarrollo Farmacéutico. Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.

^{IV} Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Campon1 laboratorio 401: Desarrollo de Métodos Analíticos. Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.

RESUMEN

Introducción: el desarrollo de medicamentos transdérmicos manifiesta gran interés en los últimos años debido a las ventajas que ofrece; sin embargo, muchos de los sistemas desarrollados utilizan componentes solubles lo cual podría llevar a una ineficacia terapéutica si la matriz polimérica del sistema se solubiliza muy rápido, por ello se ensayan polímeros insolubles que permitan modular la liberación de un ingrediente farmacéuticamente activo.

Objetivo: evaluar la liberación de pravastatina sódica en matrices poliméricas insolubles de quitosan/PF-127 con el método de paleta sobre disco para obtener su perfil cinético de liberación, con la finalidad de proponerse como matrices viables para la elaboración de parches transdérmicos.

Métodos: se realizaron estudios de contenido químico, diámetro y espesor de las películas, calorimetrías de barrido diferencial y estudios de liberación. La cuantificación del principio activo se realizó mediante espectrofotometría UV-Vis a 238 nm.

Resultados: se obtuvieron parches transdérmicos con buena uniformidad de contenido, espesor, diámetro, con una buena estabilidad en base a los estudios de calorimetría. El uso de PF-127 incrementó o retardó la liberación de pravastatina de la matriz polimérica dependiendo de su concentración y al realizarse los perfiles cinéticos de liberación las formulaciones se ajustaron a una cinética de orden 0 que describe el comportamiento de algunos sistemas transdérmicos.

Conclusiones: los resultados manifiestan la posibilidad de usar esta matriz polimérica insoluble de quitosana con PF-127 para modular la liberación de pravastatina sódica y de fármacos con estructura similar a la misma por vía transdérmica, lo que generará de esta manera nuevas alternativas a las formas farmacéuticas orales para el tratamiento de padecimientos y enfermedades.

Palabras Clave: parche transdérmico, quitosán, PF-127, estudios de liberación, pravastatina.

ABSTRACT

Introduction: the development of transdermal drugs has aroused great interest in recent years due to their advantages, however many of the drug delivery systems use soluble matrix components which could trigger therapeutic problems due to a rapid release of the active ingredient. Therefore, insoluble polymers are being tested that can modulate the release of a pharmaceutically active ingredient.

Objective: to evaluate the release of pravastatin sodium in insoluble polymer chitosan/PF-127 matrices by VER to obtain kinetic profile of release in order to submit them as viable systems for the manufacture of transdermal patches.

Methods: studies on the chemical content, diameter and thickness of films, differential scanning calorimetry and release studies were performed. The UV-Vis spectrophotometry at 238 nm allowed quantitating the active principle.

Results: transdermal patches with adequate uniform drug content, suitable thickness and diameter with good stability, based on calorimetric studies, were obtained. The use of PF-127 increased or delayed the release of pravastatin sodium from the polymeric matrix depending on concentration. When performing the kinetic profiles of release, the formulations were regulated to zero kinetic that describes the behavior of some transdermal systems.

Conclusions: the results demonstrated the possibility of using these insoluble polymer chitosan/PF-127 matrices to modulate the release of pravastatin sodium and of other structurally similar drugs, thus creating new alternatives to existing pharmaceutical oral forms for treatment of diseases.

Keywords: transdermal patch, Chitosan, PF-127, release studies, Pravastatin sodium.

INTRODUCCIÓN

La administración transdérmica ofrece varias ventajas frente a la administración oral, ya que permite una administración del fármaco de una forma controlada y continua, siendo útil para fármacos con tiempos de vida media cortos, evita las

fluctuaciones de fármaco en el plasma que presenta la vía oral, reduce el número de dosis y evita el efecto metabólico de primer paso, entre las más importantes.¹⁻³

Debido a las ventajas que ofrece la administración transdérmica se usó como ingrediente farmacéutico activo pravastatina sódica, que es un hipolipemiente indicado para disminuir los niveles de colesterol total y lipoproteína de baja densidad (LDL), utilizado en pacientes con enfermedad coronaria e hipercolesterolemia, sirve para retardar la progresión de la enfermedad arterioesclerótica y para prevenir el infarto agudo de miocardio.⁴ La dosis inicial de pravastatina es de 10 a 20 mg al día, pudiéndose administrar como máximo 40 mg/día.⁵ La pravastatina inhibe la síntesis de colesterol como análogo del ácido 3-hidroxi-3-metilglutárico (HMG) compitiendo para bloquear a la reductasa de hidroximetilglutari-coenzima A (HMG-CoA reductasa), inhibe la conversión de la HMG-CoA a mevalonato, siendo un paso limitante en la biosíntesis de colesterol.^{4,6} Tiene una biodisponibilidad absoluta del 17 % y se elimina en heces en un 70 % y un 20 % en orina, teniendo un tiempo de vida media de 1.8 horas.⁷

Debido a las ventajas que presentan los parches transdérmicos se desea mantener una concentración plasmática constante del fármaco dentro del intervalo de concentración terapéuticamente eficaz. El uso de vehículos hidromiscibles de alta viscosidad, es uno de los diversos enfoques para la liberación controlada de fármacos, y representa una importante área de investigación y desarrollo farmacéutico. De estos sistemas, el Pluronic F-127 proporciona al farmacéutico un sistema de administración de fármacos excelente y es compatible con muchas sustancias.⁸ El Pluronic F-127 (Poloxámero 407 o PF-127) puede generar geles acuosos termorreversibles. Esta característica le permite utilizarse como un vehículo para la mayoría de las rutas de administración como la oral, tópica, intranasal, vaginal, rectal, ocular y vías parenterales.⁹ En los últimos años el PF-127 adquiere un interés particular en el diseño de sistemas de administración dérmica y transdérmica, con el fin de fomentar, mejorar o retardar la permeación del fármaco a través de la piel.¹⁰ Entre sus propiedades también se encuentra que es un agente activo de superficie, no iónico, compuesto por copolímeros de polioxietileno polioxipropileno.¹¹

Otro de los polímeros utilizado fue la quitosana, polímero natural que se obtiene a partir de la quitina, uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza; es soluble en soluciones ácidas diluidas y entre sus propiedades se destacan que es biodegradable, biocompatible, no tóxico, mucoadhesivo, tiene capacidad filmogénica y de gran importancia farmacéutica en el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos.¹²⁻¹⁵

MÉTODOS

La pravastatina sódica fue donada por la compañía Moléculas Finas de México S.A de C.V, se utilizaron reactivos grado analítico, que cumplen con especificaciones ACS y fueron los siguientes: por *Sigma-Aldrich*; la quitosana, propilenglicol, ácido acético glacial y Pluronic®PF-127; el agua destilada fue de calidad Mili-Q y difosfato de potasio *J. T Baker*.

La composición de cada sistema matricial elaborado se muestra en la tabla 1 utilizando tres formulaciones: parche transdérmico sin PF-127 (PT SIN), parche transdérmico con 1 % de PF-127 (PT 1%) y parche transdérmico con 3 % de PF-127 (PT 3 %).

Tabla 1. Composición de parches transdérmicos

Componentes	% p/p	% p/p	% p/p
Quitosa	1,5	1,5	1,5
Propilenglicol	15	15	15
Pluronic 127	0	1	3
Pravastatina sódica	300 mg	300 mg	300 mg
Sol. Ácido acético c. b. p			

El procedimiento de elaboración de los parches se realizó según la metodología descrita por Escobar Chávez y sus colaboradores.¹⁶

- Pesar los componentes de la formulación con el ingrediente farmacéutico activo, mezclar y dejar en agitación mecánica.
- Verter 10 g de cada formulación en placas de vidrio.
- Dejar secar las placas a temperatura ambiente.
- Desmontar las láminas.
- Caracterizar fisicoquímicamente cada sistema.

CONTENIDO DE FÁRMACO

Se cortaron muestras de un área de 5.6 cm² de cada uno de los parches elaborados y se disolvieron en una solución de ácido acético 0.1 M en tubos de extracción, se someten a ultrasonido media hora y se mantienen en agitación constante durante 24 horas para asegurar la completa extracción del fármaco en los parches elaborados. Tras este período se filtraron y se analizaron las muestras mediante espectrofotometría UV-Visible (espectrofotómetro *Cary 100 Varian*). El experimento se realizó por triplicado y se calculó el valor medio.

DIÁMETRO Y ESPESOR DE LA PELÍCULA

El espesor de la película se determinó con un calibrador digital vernier (*Truper CALDI-GMP*), se registran diez mediciones de cada sistema transdérmico elaborado.

CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

Los estudios de calorimetría se realizaron con el DSC (*Mettler Toledo 822e*) en un intervalo de temperatura de - 25 a 250°C, con una rampa de calentamiento de 10 °C/min y atmósfera inerte de nitrógeno, para los componentes sólidos de los parches, así como para las formulaciones transdérmicas evaluadas.

PRUEBAS DE LIBERACIÓN DEL INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO

Se cortaron parches de un área de 5.6 cm² y se utilizó el Disolutor (*Varian VK7000*) con el método de paleta sobre disco (Aparato 5 de la USP). Se colocaron 900mL de solución buffer de fosfatos pH=7.4 como medio de disolución. La temperatura se mantuvo a 37.5 °C y a una agitación constante a 50 rpm durante toda la duración del experimento. Se tomaron muestras de cinco mililitros a los 3, 5, 10, 15, 20 y

30 minutos y cada 1 hora y hasta transcurrir 8 horas.^{17,18} La cuantificación de la cantidad de fármaco liberada en función del tiempo se realizó mediante espectrofotometría UV-Vis (*Cary 100 Varian*) a 238 nm con la finalidad de obtener los perfiles de liberación del activo en la matriz polimérica y el perfil cinético de liberación de las matrices formuladas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CONTENIDO QUÍMICO

Este parámetro es importante para obtener una dosificación y un efecto terapéutico deseado,¹⁹ el contenido químico de pravastatina sódica en este estudio fue aceptable para cada formulación (tabla 2).

Tabla 2. Contenido químico de cada formulación

Parche transdérmico	Pravastatina (mg)
sin PF-127	19,16±1.86
PF-127 al 1 %	17,05±1.88
PF-127 al 3 %	21,18±1.99

ESPESOR Y DIÁMETRO

El espesor y diámetro son propiedades que deben ser consideradas en el diseño y desarrollo de un PT; son más aprobados por parte del paciente por su comodidad y discreción, si poseen un tamaño y espesor pequeño.²⁰

Al efectuar un análisis de varianza con un 95 % de confianza y posteriormente una prueba de *Tukey* con el mismo valor de confianza, mediante el programa estadístico *STATGRAPHICS Centurion XVII*, se obtuvo, al adicionar el PF-127, un incremento del espesor de la película significativamente en comparación con el parche que no lo contiene, a causa del mayor desorden de las redes poliméricas²¹ y al incremento del volumen ocupado en la matriz de quitosana lo que resulta un mayor espesor en los parches transdérmicos conteniendo PF-127 (PT 1 % y PT 3 %) al compararse con el parche transdérmico que únicamente contiene quitosana (PT SIN).

Para el caso del diámetro de los sistemas transdérmicos evaluados, se utilizó un cortador de 26.7 mm que genera un diámetro constante para todos los parches transdérmicos.

CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

Los termogramas de los parches así como de los excipientes se muestran en la figura 1, se observan que los picos endotérmicos de la quitosana 174°C, para el PT SIN se encontró a los 174°C mientras que para el PT 1 % y PT 3 % se observa el pico a los 189°C. El pico a los 174°C, es debido al proceso de disociación del enlace de hidrógeno entre cadenas de quitosana formado entre el-NH₂ y -OH,^{22, 23} lo que

coincide con lo reportado para la descomposición de la quitosana por Zeng M, Esam A y Tripathi S.²²⁻²⁴

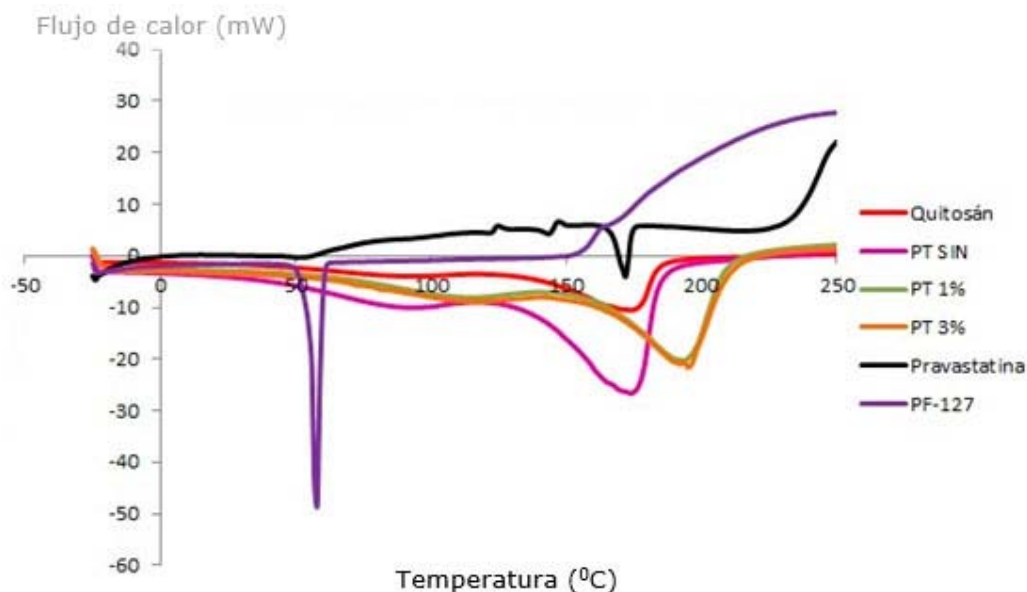


Fig. 1. Termogramas de los parches transdérmicos evaluados así como los excipientes por calorimetría diferencial de barrido.

Para la pravastatina el punto de fusión se localizó en los termogramas, a los 172 °C, similar a lo reportado por Yoges Garg y colaboradores.^{25, 26} En cuanto al poloxamer (PF-127), el grupo de *In-Yong* reporta un pico a los 53 °C²⁶ y el que se obtiene experimentalmente en este trabajo fue de 58 °C.

Con relación a las formulaciones PT 1 % y PT 3 %, se corrobora que el PF-127 queda atrapado en la matriz polimérica de quitosana, y se observa solo el pico correspondiente de quitosana. En la estabilidad se necesitó una mayor temperatura para poder descomponer las formulaciones PT 1 % y PT 3 % en comparación con la formulación de PT SIN, lo que indica que las formulaciones PT 1 % y PT 3 % (189 °C) pudieran poseer una mayor estabilidad respecto a la formulación PT SIN (174 °C).²⁸

ESTUDIOS DE LIBERACIÓN

Para los estudios de liberación se evaluó el efecto del Pluronic F-127 sobre la liberación del principio activo, se utilizan dos concentraciones diferentes (1 % y al 3 %) de PF-127 y se comparan con un parche SIN PF-127 con la finalidad de averiguar si el PF-127 podría formar reticulados y ayudar en la modulación de la liberación.

Los resultados obtenidos de los estudios de liberación, muestran que se obtuvo una mayor liberación al usar PF-127 al 1 % con respecto a las formulaciones SIN PF-127 y con PF-127 al 3 %. También se evidenció, que al usar PF-127 al 3 % se retarda la liberación con respecto a las formulaciones SIN PF-127 y con PF-127 al 1 % (figura 2). Los resultados indican que la liberación de fármaco desde los parches aumenta al disminuir la concentración de PF-127.

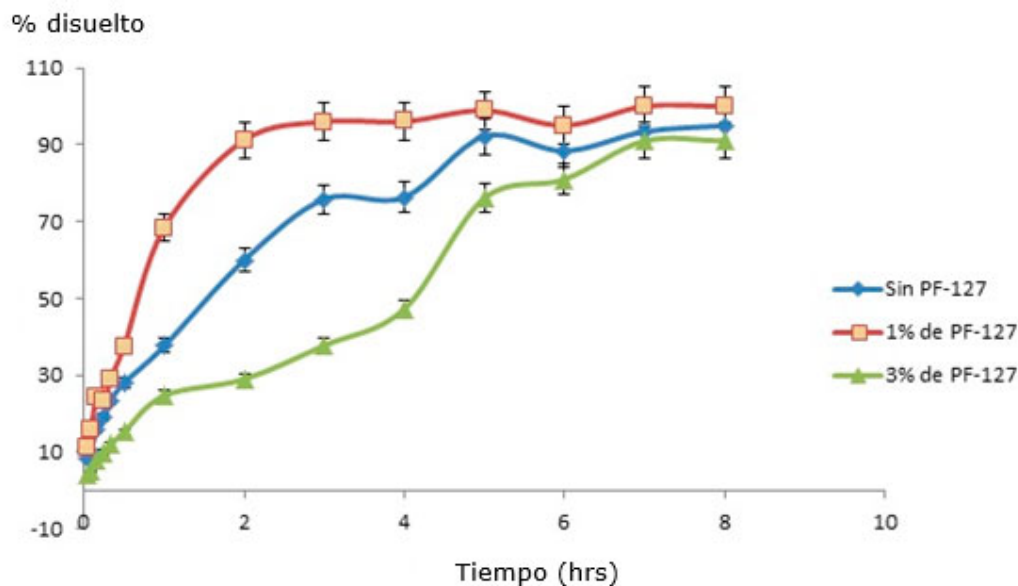


Fig. 2. Perfiles de liberación de pravastatina al variar el porcentaje de PF-127 (Sin PF-127 al 1 y 3 %).

Las tres formulaciones (PT SIN PF-127, al 1 % y 3 % de PF-127) presentan una rápida liberación al comienzo, debido a la distribución uniforme en la matriz polimérica, tanto en la parte interna como externa, de la pravastatina, la que en la parte externa está directamente en contacto con el medio de disolución permitiendo una liberación rápida al comienzo (ver figura 2 y 3). El comportamiento del perfil de liberación del PT al 1 % de PF-127, se debe a que es un tensoactivo no iónico, con una estructura anfifílica que permite la interacción entre la parte polar y no polar de su estructura.²⁹ La parte polar del PF-127 permite una mayor interacción entre el ingrediente farmacéutico activo y el medio de disolución, lo que incrementa la velocidad de liberación de este, sin embargo, cuando se adicionan cantidades mayores el comportamiento de conformación cambia, y genera un enrejado o reticulado³⁰ que impide la liberación de la pravastatina (figura 3). Este fenómeno pudiera explicar el retardo en la liberación del ingrediente farmacéutico activo hacia el medio de disolución que sucedió con el parche en dicho proceso.

En el análisis del PT SIN PF-127, se observa una liberación característica de la quitosana, ya que parte de la pravastatina queda en la superficie y otra parte en túneles de la matriz polimérica cuando esta se forma, provocando que el fármaco se libere rápido o se retarde la liberación dependiendo donde se encuentre el fármaco en la matriz polimérica.³¹

La velocidad de liberación es un parámetro que expresa la mayor o menor rapidez con que un soluto se disuelve en un disolvente en determinadas condiciones. Para ello se determinó el perfil cinético de liberación de la pravastatina en los parches formulados y evaluados (tabla 3). Estos resultados se ajustan a un modelo de orden cinético 0, el cual describe la disolución del fármaco en sistemas de administración transdérmica.³²

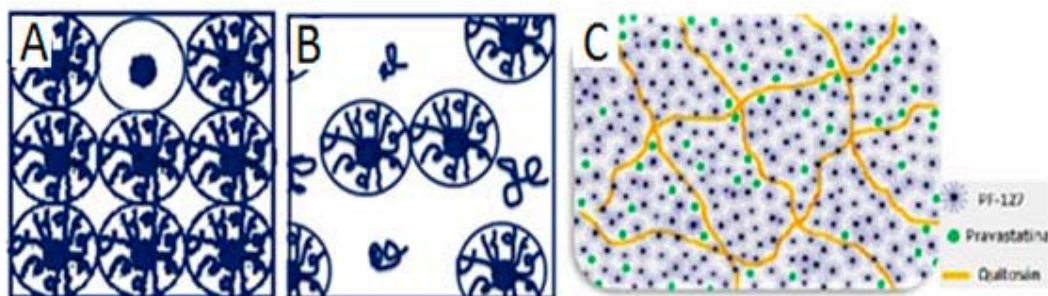


Fig. 3. La figura A muestra el fenómeno de enrejado o bloque el cual impide la libedración del activo, en la figura B se muestra el fenómeno de formación de micelas. Figura modificada de Escobar-Chávez et al., (2006). Figura C muestra la red polimérica de quitosan con PF-127 modificado de Chunga T et al., (2009).^{8,30}

Tabla 3. Perfil cinético de liberación de pravastatina

Formulación	Orden 0		Orden 1		Higuchi		Peppas	
	Vel lib (mg/h)	r ²	Vel lib (mg/h)	r ²	Vel lib (mg/h)	r ²	Vel lib (mg/h)	r ²
PT SIN	14,053	0,9833	0,108	0,9120	31,871	0,9297	0,6932	0,9715
PT 1%	18,811	0,9912	0,193	0,9031	50,534	0,9706	0,7558	0,9783
PT 3%	13,155	0,9883	0,092	0,9437	35,101	0,9546	0,7308	0,9724

*Vel lib = velocidad de liberación

Las tres formulaciones mostraron tener buena uniformidad de contenido que garantiza una adecuada dosificación.¹⁹

Por otra parte, los espesores de las películas fueron delgados, las películas más delgadas son las de quitosana, mientras las que contenían PF-127 poseyeron un mayor espesor. El diámetro de las formulaciones fue constante de 26.7 mm con películas de un área pequeña de 5.6 cm².

La calorimetría diferencial de barrido mostró una buena compatibilidad entre fármaco y excipientes y se manifiesta que las formulaciones que contenían PF-127 pueden ser más estables que la formulación que solo contenía quitosana al requerir una mayor temperatura para descomponer ambas formulaciones.²⁸

Los estudios de liberación determinaron que el PF-127 sirve como un agente modulador de la liberación de pravastatina, pudiera incrementar o retardar la liberación de este activo y el perfil cinético de liberación de las formulaciones se ajustaron al orden 0, el cual puede describir la liberación del fármaco en formas farmacéuticas de liberación modificada.

Agradecimientos

El Dr. José Juan Escobar Chávez agradece al proyecto PAPIME 200414 y al PAPIIT TA 200312, así como al Sr. Draucín Jiménez Celi responsable del Taller de vidrio de la FES Cuautitlán.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ghosh K, Pfister F. Transdermal and Topical Delivery Systems: An overview and future trends. Florida: CRC Press; 1997;p.1-32.
2. Ling A, Shearwood C, Chye K, Lua J, Mochhala S. Transdermal microneedles for drug delivery applications. *Mat Sci Eng B*. 2006; 132: 151–154.
3. Flores Peña S. La electroporación: Método físico para la penetración transdérmica de fármacos. [Tesis de Licenciatura]. Asesor: Dr. José Juan Escobar Chávez. Cuautitlán Izcalli, Estado de México: FESC UNAM; 2010.
4. Hock S, William R. Pfister. Pressure-sensitive adhesives for transdermal drug delivery systems. *Pharm Sci Technol*. 1999; 2(2): 60-69.
5. Donatas S. Handbook of pressure sensitive adhesive technology 1. Michigan, USA, Satas & Associates; 1999; p.36-61.
6. Mycek J, Harvey R, Champe P. Farmacología. 2 ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2007, p.247-256.
7. Ramírez E, Laosa O, Guerra P, Duque B, Mosquera B, Borobia A, Lei S, Carcas A, Frias J. Acceptability and characteristics of 124 human bioequivalence studies with active substances classified according to the Biopharmaceutic Classification System. *Br J Clin Pharmacol*. 2010; 70(5):694-702.
8. Escobar Chávez JJ, López Cervantes M, Naik A, Quintanar Guerrero D, Ganem Quintanar A. Applications of thermoreversible pluronic F-127 gels in Pharmaceutical Formulations. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 2006; 9(3): 339-358.
9. Almeida H, Amaral H, Lobão P. Temperature and pH stimuli-responsive polymers and their applications in controlled and selfregulated drug delivery. *JAPS*. 2012; 02(06): 1-10.
10. Serrano Castañeda P, Escobar Chávez JJ, Morales Hipólito E, Domínguez Delgado C, Abrego Reyes H. Microagujas y Transcutol® como promotores de la penetración transdérmica de sibutramina formulada en parche transdérmico. *Rev Cubana Farm*. 2013; 47(3).
11. Sigma Aldrich 2012. [citado 07 Oct 2012]; Disponible en: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/16758?lang=es®ion>
12. Okuyama K, Noguchi K, Kanenari M, Egawa T, Osawa K, Ogawa K. Structural diversities of chitosan and its complexes. *Carbohydr Polym*. 2000; 41(3): 237-247.

13. Malette W, Quigley H, Adickes E. In Chitin in Nature and Technology. New York, USA, Plenum Press; 1986,p.435–442.
14. Illum L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient. *Pharm Res.* 1998; 15: 1326-1331.
15. Shu X, Zhu K. A novel approach to prepare tripolyphosphate/chitosan complex beads for controlled release drug delivery. *Int J Pharm.* 2000;201: 51-58.
16. Escobar Chávez JJ, Merino V, Díez Sales O, Nácher Alonso A, Ganem Quintanar A, Herráez Merino Sanjuán M. Transdermal nortriptyline hydrochloride patch formulated within a chitosan matrix intended to be used for smoking cessation. *Pharm Dev Technol.* 2011;16(2): 162-169.
17. López Cervantes M, Escobar Chávez JJ, Casas Alancaster N, Quintanar Guerrero D, Ganem Quintanar A. Development and characterization of a transdermal patch and an emulgel containing kanamycin intended to be used in the treatment of mycetoma caused by *Actinomyces madurae*. *Drug Dev Ind Pharm.* 2009; 35(12): 1511-1521.
18. Lakshmana P, Shirwaikar A, Shirwaikar A, Jacob A. Design and Evaluation of Matrix Diffusion Controlled Transdermal Patches of Diltiazem Hydrochloride. *Ars Pharm.* 2008;49(3):211-227.
19. Gennaro A. Remington Farmacia. 20ª. Ed. México: Panamericana; 2000.
20. Serrano Castañeda P. Desarrollo y caracterización de un parche transdérmico de pravastatina acoplado a microagujas como promotor físico de la penetración transdérmica [Tesis de Maestría]. México D.F: UAM Xochimilco; 2013.
21. Lakshmana P, Shirwaikar A, Shirwaikar A, Jacob A. Design and Evaluation of Matrix Diffusion Controlled Transdermal Patches of Diltiazem Hydrochloride. *Ars Pharm.* 2008;49(3):211-227.
22. Zeng M, Fang Z, Xu C. Effect of compatibility on the structure of the microporous membrane prepared by selective dissolution of chitosan/synthetic polymer blend membrane. *J Membr Sci.* 2004; 230: 175-181.
23. Esam A, Elham S, Azizah M, Abdul H. Characterization of chitosan in acetic acid: Rheological and thermal studies. *Turk J Chem.* 2010;34: 47-56.
24. Tripathi S, Mehrotra G, Dutta P. Physicochemical and bioactivity of cross-linked chitosan–PVA film for food packaging applications. *Int J Biol Macromol.* 2009;45: 372-376.
25. Yogesh G, Kamla P. Design and In Vitro Performance Evaluation of Purified Microparticles of Pravastatin Sodium for Intestinal Delivery. *Pharm Sci Tech.* 2011; 12(2): 673-682.
26. Keri V, Nagyne A, Czovek H, Mezei K, Katai I, Racz C. Methods of making pravastatin sodium. US. US20060194984A1. 2006 aug 31.
27. Kima I, Yoo M, Kima B, Kimb S, Lee H, Choa C. Preparation of semi-interpenetrating polymer networks composed of chitosan and poloxamer. *Int J Biol Macromol.* 2006; 38: 51-58.

28. Yu K. Devising a Protein Formulation Strategy. *Genet Eng Biotechnol*. 2012;32(16):38-40.
29. Aulton ME. *Pharmaceutics The Science of Dosage Form Design*. 2^a Ed.: London. Churchill Livingstone; 2001.
30. Chunga T, Lind S, Liub D, Tyanc Y, Yanga J. Sustained release of 5-FU from Poloxamer gels interpenetrated by crosslinking chitosan network. *Int J Pharm*. 2009;238:39-44.
31. Elham K, Mohsen T, Fariba G, Khalil A, Hanie N. *In vitro* Insulin Release from Thermosensitive Chitosan Hydrogel. *AAPS Pharm Sci Tech*. 2012;13(2):460-466.
32. Costa P, Sousa J. Modeling and comparison of dissolution profiles. *EUR J PharmSci*. 2001;13:123-133.

Recibido: 23 de enero de 2014

Aprobado: 13 de junio de 2014

Pablo Serrano Castañeda. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Carretera Cuautitlán -Teoloyucan, Km. 2.5, San Sebastián Xhala 54700, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México.