



**UNIVERSIDAD
EL BOSQUE**

Desarrollo de una película delgada mucoadhesiva con características físicas, químicas y mecánicas que permita la incorporación uniforme de nanoencapsulamientos tipo hidrogel con candesartán.

**Jessica Andrea Ovalle Torres
Laura Camila Rios Pinto**

Universidad El Bosque
Facultad de ingeniería
Bioingeniería
Bogotá
2019

Desarrollo de una película delgada mucoadhesiva con características físicas, químicas y mecánicas que permita la incorporación uniforme de nanoencapsulamientos tipo hidrogel con candesartán.

**Jessica Andrea Ovalle Torres
Laura Camila Rios Pinto**

Trabajo de grado para optar por el título de:
Bioingeniero

Director:
José Francisco Ibla Gordillo

Línea de Investigación:
Tecnología para la salud de entes biológicos

Universidad El Bosque
Facultad de ingeniería
Bioingeniería
Bogotá
2019

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseamos expresar nuestro agradecimiento a nuestro tutor de trabajo de grado al, Dr. Francisco Ibla, por la dedicación y apoyo que ha brindado a esta investigación, por el respeto a nuestras sugerencias e ideas e igualmente por todo el conocimiento que nos ha aportado. Gracias por la confianza ofrecida desde que llegamos al programa, por demostrarnos que la investigación no es fácil, pero vale totalmente el esfuerzo cuando se ven los resultados y por darnos la oportunidad de aportar desde nuestro conocimiento a un proyecto tan maravilloso e interesante como este.

De igual manera agradecemos a la Dr. Sandra Morantes por su apoyo en la realización de la III fase del proyecto macro, ya que un trabajo de investigación es siempre fruto de ideas, investigaciones y esfuerzos previos que corresponden a otras personas, también agradecemos al personal del laboratorio que siempre estuvo dispuesto a colaborar.

Un trabajo de investigación es también resultado del apoyo y la confianza que nos ofrecen las personas que nos aprecian, sin el cual no tendríamos la fuerza que nos motiva a crecer como personas y como profesionales. De este modo damos gracias a nuestras familias, que confiaron en nosotros desde el inicio y nos prestaron un gran apoyo moral. Gracias a nuestros amigos, que siempre creyeron en nosotros y nos ayudaron cuando lo requerimos. Pero, sobre todo, agradecemos el buen trabajo en equipo que tuvimos, ya que, sin la colaboración, la paciencia, las ganas, el tiempo y el conocimiento de la otra no hubiéramos logrado culminar con tan buenos resultados este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
LISTA DE ECUACIONES	13
RESUMEN	14
ABSTRACT	15
INTRODUCCIÓN	16
CAPÍTULOS.....	18
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
2. JUSTIFICACIÓN.....	20
3. OBJETIVOS.....	22
3.1. Objetivo general	22
3.2. Objetivos específicos:	22
4. MARCO REFERENCIAL	23
4.1 Antecedentes	23
4.1.1 Hidrogeles como sistemas innovadores para la liberación de fármacos vía mucosa oral: Estudio de estabilidad fisicoquímica y efecto citotóxico de hidrogeles con candesartán solos o incluidos en un vehículo mucoadhesivo (Fase III)	23
4.1.2 Buccal administration of mucoadhesive blend films saturated with propranolol loaded nanoparticles.....	23
4.1.3 Effect of cryoprotection on particle size stability and preservation of chitosan nanoparticles with and without hyaluronate or alginate coating.	24
4.1.4 Experimental and FEM analysis of scratch behavior on polypropylene thin films: Effect of film orientation and ethylene monomer content.....	25
4.2 Marco teórico.....	25
4.2.1 Candesartán	25
4.2.2 Ventana farmacológica	26
4.2.3 Información toxicológica	26
4.2.4 Hidrogeles	26

4.2.5 Liofilización	27
4.2.6 Criopreservación.....	28
4.2.7 Mucosa Oral	29
4.2.8 Película delgada	30
4.2.9 Mucoadhesión	30
4.2.10 Biopolímero	31
4.2.11 Biopolímeros mucoadhesivos.....	32
4.2.12 Xantano	33
4.2.13 Glicerol	34
4.2.14 Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	34
4.2.15 Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)....	36
4.2.16 Análisis por medio de Elementos finitos (AEF).....	37
5. METODOLOGÍA	41
6. PROCEDIMIENTO	42
6.1 Fase I: Criopreservación.....	42
6.1.1 Revisión bibliográfica	42
6.1.2 Nanoencapsulamientos con Candesartán	42
6.1.3Proceso de criopreservación	42
6.1.4 Liofilización.....	43
6.1.5 Evaluación por medio de microscopía electrónica de barrido de la morfología y el tamaño de los nanoencapsulamientos realizados con adición de criopreservante al 5,0% y 10,0% p/v de glucosa.....	44
6.2 Fase II: Elaboración de película delgada mucoadhesiva por medio de Film casting	44
6.2.1 Diseño experimental.....	44
6.2.2 Pruebas previas	46
6.2.3 Hidratación del polímero.....	46
6.2.4 Tratamiento de pre-moldeado	46
6.2.5 Proceso de secado.....	47
6.3 Adición de nanoencapsulamientos con candesartán a las películas delgadas de xantano al 5,0% p/v y glicerol 1,0%	48
6.4 Caracterización de las películas	49

6.4.1 Evaluación de la adhesión	49
6.4.2 Evaluación del espesor	50
6.4.3 Evaluación de la hidratación de las películas	50
6.4.4 Evaluación de la composición de la película por medio de Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (EITF).....	52
6.4.5 Evaluación de la morfología y composición de las películas por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía digital	52
6.4.6 Evaluación de la distribución de los nanoencapsulamientos incorporados en las películas delgadas.....	53
6.4.7 Medición del pH de la superficie de las películas delgadas.....	53
6.5 Fase III: Análisis mecánico	54
6.5.1. Revisión bibliográfica.....	54
6.5.2 Diseño de modelo 3D de la película	54
6.5.3 Extracción de características.....	55
6.5.4 Alimentación del software	55
6.5.5 Tipo de enmallado.....	56
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
7.1 Fases previas.....	57
7.1.2 Evaluación del material de elaboración de los moldes	57
7.1.3 Determinación de concentración de xantano	59
7.2 Fase I: Criopreservación	61
7.2.1 Proceso de criopreservación	62
7.2.2 Evaluación por medio de microscopía electrónica de barrido de la morfología y el tamaño de los nanoencapsulamientos realizados con adición de criopreservante al 5,0% y 10,0% p/v de glucosa.....	62
7.2.3 Determinación de candesartán en las muestras criopreservadas	66
7.2.4 Incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán en las películas delgadas.....	68
7.3 Fase II: Análisis de películas delgadas obtenidas por medio de film casting	70
7.3.1. Evaluación de la adhesión.....	71
7.3.2 Evaluación del espesor	72
7.3.2.1 Evaluación del espesor de las películas delgadas.....	72
7.3.2.2 Evaluación del espesor de las películas delgadas con incorporación de nanoencapsulamientos de candesartán	74

7.3.3. Evaluación de la hinchazón y la masa	75
7.3.3.1 Evaluación de la hinchazón y la masa de las películas delgadas sin incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán.....	75
7.3.3.2 Evaluación de la hidratación y la masa de las películas delgadas con incorporación de nanoencapsulamientos de candesartán.....	79
7.3.4 Evaluación del pH de la superficie de las películas bucales	80
7.3.5 Evaluación de la morfología y composición de películas delgadas	81
7.3.5.1 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	81
7.3.5.2 Microscopía óptica digital de películas de xantano al 5,0% p/v ...	88
7.3.5.3 Microscopía electrónica de barrido de película de xantano al 5,0%p/v.....	91
7.3.5.4 Microscopía electrónica de barrido de película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5%v/v	93
7.3.5.5 Microscopía electrónica de barrido de película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0%v/v	95
7.3.5.6 Microscopía electrónica de barrido de película de xantano al 5,0% p/v, glicerol al 1,0%v/v con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán.....	100
7.4 Fase III: Análisis mecánico.....	106
7.3.1 Diagrama de fuerzas de la película delgada.....	106
7.3.2 Diseño 3D de la película delgada	107
7.3.3 Alimentación del software	109
7.3.4 Enmallado	111
7.3.5 Ubicación de vectores y soportes.....	115
7.3.6 Mapa de deformaciones	116
7.3.7 Mapa de deformación por cizallamiento	117
8. CONCLUSIONES	119
9. RECOMENDACIONES	122
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	123

LISTA DE TABLAS

Tabla 6- 1: Concentraciones utilizadas de los principales componentes de las películas delgadas.	44
Tabla 6- 2: Variaciones realizadas a los principales componentes de las películas delgadas	45
Tabla 6- 3: Materiales usados para la realización de moldes	45
Tabla 7- 1: Moldes empleados para la elaboración de películas delgadas.....	57
Tabla 7- 2: Concentración de candesartán contenido en muestras de nanoencapsulamientos liofilizados.....	68
Tabla 7- 3: Resultados de porcentaje de encapsulamiento de candesartán en los hidrogeles de quitosano-myglol elaborados.....	68
Tabla 7- 4: Espesores películas de xantano 5,0%p/v secadas en el horno a 30°C.	72
Tabla 7- 5: Espesores obtenidos de películas delgadas de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán	74
Tabla 7- 6: Porcentajes de hidratación (%H) de películas delgadas de xantano sin incorporación de nanoencapsulamientos.....	76
Tabla 7- 7: Porcentajes de hidratación de películas delgadas de xantano con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán.....	79
Tabla 7- 8: Resultados del pH medido de la superficie de las películas delgadas	81
Tabla 7- 9: Resultados numéricos obtenidos en el análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v	91
Tabla 7- 10: Resultados numéricos obtenidos en el análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v.	93
Tabla 7- 11: Resultados numéricos obtenidos en el análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v.	95
Tabla 7- 12: Valores utilizados para el análisis mecánico computacional de la película de xantano	110

LISTA DE FIGURAS

Figura 4- 1: Farmacocinética del Candesartán	26
Figura 4- 2: Ciclo de liofilización.....	27
Figura 4- 3: Composición de la mucosa oral	29
Figura 4- 4: Simulación película delgada mucoadhesiva; Mucosa oral, Nanoencapsulamientos de tipo hidrogel con candesartán (NHC) y Película delgada mucoadhesiva (PMO)	30
Figura 4- 5: Diagrama que muestra las principales propiedades de una forma de dosificación mucoadhesiva ideal.....	31
Figura 4- 6: Estructura química del xantano.....	33
Figura 4- 7: Estructura del glicerol.....	34
Figura 4- 8: Distribución de nodos por medio de elementos finitos.....	38
Figura 7- 1: Película obtenida por medio de film casting, glicerol al 5,0% p/v, sin glicerol (Blanco)	59
Figura 7- 2: Espesor de las películas de xantano al 3,0% p/v, secadas en horno y desecador	60
Figura 7- 3: Espesor de las películas de xantano al 5,0% p/v, secadas en horno y desecador	60
Figura 7- 4: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 5,0% p/v de glucosa, a una resolución de 116 kx y una escala de 1 μm	62
Figura 7- 5: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 5,0% p/v de glucosa, a una resolución de 34.9 kx y una escala de 5 μm	63
Figura 7- 6: Micrografía 2 obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 5,0% p/v de glucosa, a una resolución de 107 kx y una escala de 2 μm	63
Figura 7- 7: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 10,0% p/v de glucosa, a una resolución de 29.3 kx y una escala de 5 μm	64
Figura 7- 8: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 10,0% p/v de glucosa, a una resolución de 106 kx y una escala de 2 μm	65
Figura 7- 9: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos con candesartán al 10,0% p/v de glucosa, a una resolución de 52.3 kx y una escala de 2 μm	66
Figura 7- 10: Curva de calibración del método espectrofotométrico UV. Absorbancia en función de la concentración de candesartán en mg/mL	67
Figura 7- 11: Diagrama de ubicación de capas para la realización de la película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán	69
Figura 7- 12: Películas de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v con adición de nanoencapsulamientos con candesartán en etapa de secado.....	70
Figura 7- 13: Película delgada mucoadhesiva con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán.....	71

Figura 7- 14: Condición experimental para la determinación del porcentaje hidratación y tiempo de adhesión de la película delgada	72
Figura 7- 15: Espesor de películas de xantano al 5,0% p/v, con una incertidumbre de 0.03mm	73
Figura 7- 16: Comparación espesor de películas de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v sin y con adición de nanoencapsulamientos con candesartán	75
Figura 7- 17: Peso en miligramos de películas de xantano al 5,0% p/v	77
Figura 7- 18: Porcentaje de hidratación en buffer de pH 6.9, obtenido durante un lapso de tiempo de cada 10 minutos durante 1 hora	78
Figura 7- 19: Porcentaje de hidratación de películas con nanoencapsulamientos en buffer de pH 6.8, obtenido cada 10 minutos durante 1 hora.....	80
Figura 7- 20: Estructura xantano.....	81
Figura 7- 21: Espectro infrarrojo de xantano (sigma-aldrich), empleado en la elaboración de las películas	82
Figura 7- 22: Espectro infrarrojo del xantano reportado en bibliografía	82
Figura 7- 23: Espectro infrarrojo del glicerol usado para la elaboración de las películas.....	83
Figura 7- 24: Espectro infrarrojo del glicerol reportado en bibliografía	84
Figura 7- 25: Espectro infrarrojo película del xantano al 5,0% p/v (Blanco)	84
Figura 7- 26: Espectro infrarrojo película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5% v/v	85
Figura 7- 27: Espectro infrarrojo película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v	86
Figura 7- 28: Comparación del espectro infrarrojo de las películas con el espectro infrarrojo de sus compuestos	87
Figura 7- 29: Espectro infrarrojo película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v con Nanoencapsulamientos con candesartán	87
Figura 7- 30 : Micrografía óptica de las películas de xantano al 5,0% y xantano al 5,0% con adición de 0,5% y 1,0% de glicerol a una resolución de 3.7x.....	89
Figura 7- 31: Micrografía óptica de las películas de xantano al 5,0% y xantano al 5,0% p-7v con adición de 0,5% v/v y 1,0%v/v de glicerol a una resolución de 54x.	90
Figura 7- 32: Análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de goma de xantano al 5,0% p/v.	91
Figura 7- 33: Mapeo elemental de C,O,Na,P,S,K de las películas delgadas de xantano al 5,0% p/v por medio de MEB	92
Figura 7- 34: Análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5%v/v.....	93
Figura 7- 35: Mapeo elemental de C,O,Na,P,S,K de las películas delgadas de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5% v/v por medio de MEB.....	94
Figura 7- 36: Análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0%v/v.....	95
Figura 7- 37: Mapeo elemental de C,O,Na,P,S,K de las películas delgadas de xantano 5,0%p/v por medio de MEB.....	96

Figura 7- 38: Micrografía electrónica del perfil horizontal de la película delgada de xantano al 5,0% p/v con adición de glicerol del 1,0% v/v. Resolución de 13.1kx y escala de 10 μ m.....	97
Figura 7- 39: Micrografía electrónica del perfil horizontal de la película delgada de xantano al 5,0% p/v con adición de glicerol del 1,0% v/v, con resolución de 4.45kx y escala de 50 μ m.....	98
Figura 7- 40: Micrografía electrónica con resolución de 20.1kx y escala de 10 μ m. .	99
Figura 7- 41: Micrografía electrónica con resolución de 126kx y escala de 1 μ m. .	99
Figura 7- 42: Micrografía obtenida de la superficie de la película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán. Resolución de 3,77 kx y escala de 50 μ m.....	100
Figura 7- 43: Micrografía obtenida de la superficie de la película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán con resolución de 98 kx y escala de 2 μ m.....	101
Figura 7- 44: Micrografía obtenida de la superficie de la película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán con resolución de 106 kx y escala de 2 μ m	102
Figura 7- 45: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 11kx y escala de 20 μ m	102
Figura 7- 46: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 66.7 kx y escala de 2 μ m	104
Figura 7- 47: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 66.7kx y escala de 2 μ m	104
Figura 7- 48: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 31.1kx y escala de 5 μ m	105
Figura 7- 49: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 50kx y escala de 2 μ m	106
Figura 7- 50: Diagrama de fuerzas de la película delgada.....	107
Figura 7- 51: Planos con vista lateral, frontal y posterior en Fusion 360 de la película delgada.....	108
Figura 7- 52: Planos con vista isométrica en Fusion 360 de la película delgada.	109
Figura 7- 53: Alimentación del software	111
Figura 7- 54: Comparación entre elemento lineal y elemento cuadrático.....	112
Figura 7- 55: Enmallado por medio de método dominante hexadecimal.....	113
Figura 7- 56: Mapa de deformaciones con refinamiento tipo H-method.....	114
Figura 7- 57: Mapa de deformaciones sin refinamiento tipo H-method.....	114
Figura 7- 58: Ubicación de vectores y soporte en la película delgada. Vista frontal	115

Figura 7- 59: Ubicación de vectores y soporte en la película delgada. Vista lateral115

Figura 7- 60: Valores máximos y mínimos de deformación en la película delgada en cavidad oral..... 116

Figura 7- 61:Deformación de un objeto por cizallamiento 117

Figura 7- 62: Valor de la máxima y mínima presión ejercida por un esfuerzo de cizallamiento en la película. 118

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 4. 1: Teorema de representación de Riesz.....	39
Ecuación 4. 2: Función desconocida $u(x)$	39
Ecuación 6. 1: Porcentaje de hidratación	51
Ecuación 6. 2: Ecuación para definir el tamaño de los elementos finitos.....	56

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue diseñar y obtener una película delgada mucoadhesiva a base de xantano y glicerol, para su futuro uso como medio de liberación controlada de fármacos, empleando diferentes concentraciones de xantano (3,0% y 5,0%p/v) y glicerol (0,5% y 1,0%v/v), para lograr establecer la composición que proporcionará a la película las mejores cualidades mecánicas y físicas.

De igual manera se evaluaron las propiedades físicas, químicas y mecánicas presentes en la película, tales como la capacidad de hidratación, el tiempo de adhesión y el pH de la superficie, así como también se analizó la morfología de las películas elaboradas por medio de microscopía electrónica de barrido. Adicionalmente se optó por realizar un análisis de elementos finitos para simular el comportamiento de la película en cavidad oral y así predecir las posibles deformaciones que puedan afectarla, todo esto con el fin de complementar la información de las propiedades que posee el biomaterial y determinar su viabilidad y comportamiento físico, químico y mecánico.

Los mejores resultados obtenidos respecto a las propiedades del material, fueron los de la película con composición de xantano con una concentración del 5,0% p/v y glicerol con concentración de 1,0% v/v. En cuanto al tamaño de los nanoencapsulamientos obtenidos e incorporados en las películas se encontraban dentro de un rango de 32 nm a 245 nm. La concentración de glucosa al 5,0%p/v fue la que mantuvo la morfología y el tamaño de los nanoencapsulamientos.

Palabras clave- Biopolímero, Mucoadhesión, Películas mucoadhesivas, Biodisponibilidad, Reticulación, Nanosistemas, Elementos finitos

ABSTRACT

The objective of the present work was to design and obtain a thin mucoadhesive film based on xanthan and glycerol, for its future use as a controlled drug release medium, using different concentrations of xanthan (3,0% and 5,0%p/v) and glycerol (0,5% and 1,0%v/v), in order to establish the composition that would provide the film with the best mechanical and physical qualities.

The physical, chemical and mechanical properties present in the film, such as swelling capacity, adhesion time and surface pH, were also evaluated, as well as the morphology of the films elaborated by means of scanning electron microscopy. Additionally, it was decided to perform a finite element analysis to simulate the behavior of the film in an oral cavity and thus predict the possible deformations that could affect it, all this in order to complement the information of the properties that the biomaterial possesses and determine its viability and physical, chemical and mechanical behavior.

The best results obtained with respect to the properties of the material were those of the film with xanthan composition with a concentration of 5,0% w/v and glycerol with a concentration of 1,0% v/v. The size of the nano- biocomposites obtained and incorporated in the films ranged from 32 nm to 245 nm. The glucose concentration at 5,0%p/v maintained the morphology and size of the nano- biocomposites.

Keywords- Biopolymer, Mucoadhesion, Mucoadhesive films, Bioavailability, Cross-linking, Nanosystems, Finite elements

INTRODUCCIÓN

El presente proyecto está enmarcado en la última fase del proyecto macro avalado por Vicerrectoría de investigación de la Universidad El Bosque, titulado “Hidrogeles como sistemas innovadores para la liberación de fármacos vía mucosa oral: Estudio de estabilidad fisicoquímica y efecto citotóxico de hidrogeles con candesartán solos o incluidos en un vehículo mucoadhesivo (Fase III)”. De este modo el fin de este trabajo de investigación fue aportar al proyecto macro desde el diseño de un vehículo mucoadhesivo en el que fuera posible incorporar nanoencapsulamientos de candesartán.

El candesartán es un antagonista del receptor de la angiotensina II tipo 1 (AT1). Este fármaco es ampliamente utilizado para el tratamiento de hipertensión e insuficiencia cardíaca en aplicaciones clínicas (Husain Asif, Azim Md Sabir, Mitra Moloy and Bhasin Parminder S., 2011). Actualmente su vía de administración es de forma peroral, lo que presenta una serie de desventajas, tales como baja biodisponibilidad, oscilando en un porcentaje promedio del 15,0%, un nivel menor en comparación a otros medicamentos de la misma clase, como Losartán (33,0%) y Azilsartan (60,0%); una baja absorción del medicamento debido a su escasa solubilidad dentro del rango de pH fisiológico (Zhang, Gao, Bu, Xiao, & Li, 2012), su alto nivel de hidrofobicidad (Deepthi & Murthy, 2015) y un alto metabolismo de primer paso, da como resultado una absorción intestinal incompleta y una exposición sistémica baja después de la administración. De igual forma más del 70,0% de los medicamentos comercializados se presentan en forma de dosificación oral debido a la evasión del dolor y la adaptabilidad. Sin embargo, alrededor del 50,0% de la población, generalmente pacientes pediátricos y ancianos, evitan tomar preparaciones orales sólidas, como tabletas y cápsulas, debido al peligro de asfixia, lo que lleva al incumplimiento por parte del paciente (Hanif, Zaman, & Chaurasiya, 2015).

Al igual, una buena forma de dosificación del fármaco es por medio del uso de hidrogeles, ya que garantizan el paso por la mucosa oral y posteriormente su difusión en el torrente sanguíneo; de este modo es necesario que la película sirva como vehículo mucoadhesivo que bajo determinadas condiciones permita garantizar la protección del microambiente de la cavidad oral, aumente el tiempo de residencia y controle las tasas de liberación de los nanoencapsulamientos (Morantes, et al., 2017).

De este modo surge la necesidad de explorar nuevas micro y nanotecnologías para la implementación de rutas alternas para la administración de fármacos que sean no invasivas, más efectivas y que permitan la incorporación de nanoencapsulamientos y a su vez garanticen la protección del microambiente bucal. Es así que se propone la incorporación de fármacos en un vehículo mucoadhesivo, el cual permita la liberación controlada del fármaco por vía de mucosa oral.

La cavidad bucal está conformada por tres tipos de mucosa oral, sin embargo, este proyecto se centrará específicamente en el revestimiento de la mucosa, que constituye el 60% de la mucosa total y cubre el piso de la boca, área sublingual, paladar blando, labios y carrillo. Participa en los procesos de deglución y fonación y posee un epitelio no queratinizado (Duvvuri, Majumdar, & Mitra, 2004).

Los sistemas de administración de fármacos mucoadhesivos interaccionan con la capa de moco que cubre la superficie epitelial de la mucosa y las moléculas de mucina, por lo tanto, las formas de dosificación mucoadhesivas son ventajosas para aumentar las concentraciones plasmáticas del fármaco y también la actividad terapéutica. Al igual los sistemas de administración de fármacos mucoadhesivos prolongan el tiempo de residencia de la forma de dosificación en el sitio de aplicación o absorción. (Boddupalli, Mohammed, Nath, & Banji, 2010)

De este modo se espera que con la elaboración de este vehículo mucoadhesivo se logre aportar para mejorar la dosificación y biodisponibilidad del candesartán y de igual manera, se aporte nueva información sobre biopolímeros y su comportamiento físico, químico y mecánico. De igual forma se busca dar a conocer las múltiples ventajas que garantiza usar este tipo de materiales en el campo de la ciencia de los biomateriales y la ingeniería, esto para aportar en el área de la salud de entes biológicos.

CAPÍTULOS

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para la administración de fármacos por mucosa oral una buena opción es implementar películas mucoadhesivas orales (PMO), que son formas de dosificación prometedoras las cuales se adhieren a la mucosa oral (Shaikh, Raj Singh, Garland, Woolfson, & Donnelly, 2011). En general, las películas mucoadhesivas con incorporación de hidrogeles son el método usado con mayor frecuencia (Morantes, et al., 2017), debido a que incluyen polímeros que exhiben buenas propiedades de biocompatibilidad, biodegradabilidad y de adhesividad en la membrana de mucosa oral.

Sin embargo, a la hora del diseño de las películas delgadas mucoadhesivas existen 4 principales factores que no garantizan que exista un diseño detallado que permita la incorporación uniforme de nanoencapsulamientos de tipo hidrogel con candesartán.

El primer factor aborda el alto número de variables críticas que se deben controlar a la hora de la elaboración de las películas delgadas, variables que pueden ser físicas, químicas, mecánicas o biológicas, las más importantes corresponden al pH, la composición, tipo y naturaleza del material y la estabilidad de las nanopartículas de candesartán que se introducirán en las películas, de este modo se explicará a continuación, la importancia de controlar las variables antes mencionadas.

Es necesario controlar el pH de la superficie de la película, puesto que tener un pH demasiado ácido o básico afecta el área de aplicación y causa daños a la membrana de la mucosa oral, lo que produce incomodidad en el paciente (Nair et al., 2013).

La segunda causa es la elección de la composición, tipo y naturaleza del material, es importante controlar esta variable puesto que la resistencia mucoadhesiva, la resistencia al desgarro, la porosidad, el grosor (Patel, Prajapati, & Patel, 2007) y la permeabilidad de la película depende de esta (Boddupalli et al., 2010).

Y por último es necesario tener un control adecuado de la estabilidad de las nanopartículas debido a que el mayor obstáculo que limita el uso de estas, es la inestabilidad física (agregación / fusión de partículas) y / o la inestabilidad química (hidrólisis de materiales poliméricos que forman las nanopartículas, filtración de nano partículas y reactividad química del medicamento durante el almacenamiento) que se observan con frecuencia cuando estas suspensiones acuosas de nanopartículas se almacenan durante períodos prolongados (Fonte et al., 2012).

De este modo, si se controlan de manera correcta las variables antes mencionadas, la elaboración de las películas delgadas será ejecutada de manera correcta, y por lo tanto permitirá la adecuada mucoadhesión y posterior liberación de fármaco.

El segundo factor se centra en que actualmente se pueden encontrar una cantidad significativa de trabajos originales y patentes en la literatura acerca de las películas delgadas, pero todavía hay una necesidad de estudios exhaustivos en cuanto a fabricación, caracterización y control de calidad, para optimizar el rendimiento de estas con precisión. Debido a esto ha surgido la necesidad de estudios desde el punto de vista no sólo farmacéutico, sino también desde el punto de vista ingenieril (Karki et al., 2016), puesto que al abordarse la temática solo desde un punto de vista farmacológico, no se tienen en cuenta las características mecánicas requeridas en una película delgada mucoadhesiva funcional.

El tercer factor aborda el amplio conocimiento que se debe adquirir en cuanto a las características de los biopolímeros, junto a la selección adecuada de procesos de fabricación de películas, la falta de este conocimiento genera dificultades asociadas con la formulación de cantidades y materiales en el diseño de la película delgada (Karki et al., 2016), lo que hace que en la etapa de diseño y elaboración de esta, exista una elevada cantidad de pruebas consecutivas; generando así que no muchos investigadores aborden la temática.

El último factor implicado en la problemática corresponde a la baja respuesta por parte de los equipos usados en la evaluación mecánica del material (Borges, Silva, Coelho, & Simões, 2015), lo que conlleva a que no se contemplen los puntos críticos causados por las fuerzas propias que perturban la mucosa oral y que interactúan con la película delgada; y se genere así, el desgaste y el despegue prematuro de la película, produciendo una disminución en la vida útil de la misma (Salamat-Miller & Johnston, 2005).

De este modo surge la necesidad de controlar los factores antes descritos, para lograr aportar desde el campo de la bioingeniería un método novedoso para la liberación controlada de fármacos, al igual que información al área de los biomateriales desde el diseño y caracterización del vehículo mucoadhesivo.

2. JUSTIFICACIÓN

El propósito de esta investigación es desarrollar una película delgada con características mucoadhesivas que permita la incorporación de nano encapsulamientos de tipo hidrogel con candesartán (NHC), siendo este uno de los propósitos buscados con el proyecto “Hidrogeles como sistemas innovadores para la liberación de fármacos vía mucosa oral: Estudio de estabilidad fisicoquímica y efecto citotóxico de hidrogeles con candesartán solos o incluidos en un vehículo mucoadhesivo (Fase III)”, este proyecto como su nombre lo menciona, se divide en III fases, en la fase I se diseñaron los hidrogeles; uno con naturaleza lipídica y otro con polímeros sintéticos. En la Fase II se estableció un modelo *in vitro* para el estudio de la permeabilidad de los encapsulamientos sobre mucosa oral y en la Fase III, que es la presente, se busca diseñar un vehículo mucoadhesivo que permita la incorporación uniforme de los hidrogeles obtenidos en la fase I.

La administración de medicamentos por medio de mucosa oral posee varias ventajas, dentro de las que se encuentra la evasión del metabolismo hepático de primer paso y la degradación del fármaco en el tracto gastrointestinal, lo que produce un aumento en la biodisponibilidad farmacológica. Al igual su considerable área de superficie y alto flujo sanguíneo (Shaikh, Raj Singh, Garland, Woolfson, & Donnelly, 2011) permiten una alta tasa de absorción del medicamento (Boddupalli et al., 2010).

En la literatura se han examinado un amplio número de polímeros para el diseño de formas de dosificación mucoadhesivas, tales como parches y geles, sin embargo las películas mucoadhesivas son el tipo de forma más recomendada para la administración por medio de mucosa oral, debido a su flexibilidad, suavidad, pequeño tamaño y bajo grosor (Trastullo et al., 2016); que demuestran una mejoría del cumplimiento del paciente en comparación con las formas de tabletas, al igual proporcionan una dosificación más precisa de fármaco en comparación a otros métodos (Abruzzo et al., 2012), teniendo en cuenta estas características es que surge una necesidad ingenieril por la cual se busca solucionar las deficiencias actuales de este método de liberación controlada de fármacos y a la vez proporcionar nueva información sobre el biomaterial utilizado y como es necesario que sus características físicas, químicas y mecánicas sean caracterizadas para aportar datos que ayuden a garantizar en el futuro la total funcionalidad de este vehículo de fármacos.

Otra ventaja que se encuentra es que estos medios de dosificación de fármacos proporcionan una adecuada incorporación de nanoencapsulamientos, los cuales son catalogados como novedosos métodos funcionales de dosificación de fármacos, siempre y cuando se cumpla con los requerimientos físicos, químicos y mecánicos necesarios. Para ello es necesaria la realización de pruebas mecánicas

que permitan la caracterización del biomaterial y el uso de herramientas computacionales que posibiliten el análisis del comportamiento del material frente a la fuerzas presentes en mucosa oral, tales como el análisis de elementos finitos (AEF), el cual es un método computarizado que permite predecir cómo reaccionan determinados objetos o materiales ante efectos físicos tales como: las fuerzas, la vibración, el calor, el flujo de fluidos, entre otros. (Thompson & Thompson, 2017).

Para el desarrollo de esta investigación deben tenerse en cuenta aspectos fundamentales que reúnen el conocimiento de un bioingeniero, desde principios de la biología, fisiología humana y biomateriales, hasta herramientas de la ingeniería, que permitan realizar el diseño de la película delgada mucoadhesiva, como también la evaluación del comportamiento físico y químico de los biomateriales poliméricos utilizados en su elaboración, al igual que la respectiva caracterización mecánica del material, mediante el uso del método de elementos finitos (AEF). Esto con el objetivo de proporcionar posibles soluciones en el desarrollo de nuevas tecnologías para la salud de entes biológicos, por medio del aporte del diseño detallado de una película delgada mucoadhesiva, que permita la administración de medicamentos de baja biodisponibilidad como el candesartán.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Desarrollar una película delgada mucoadhesiva para aplicación en mucosa oral, con características físicas, químicas y mecánicas que permitan la incorporación uniforme de nanoencapsulamientos de tipo hidrogel con candesartán.

3.2. Objetivos específicos:

- Determinar las condiciones para el proceso de criopreservación necesarias en la etapa de liofilización de los nanoencapsulamientos de tipo hidrogel con candesartán.
- Establecer las características físicas y químicas de la película delgada mucoadhesiva elaborada con y sin nanoencapsulamientos bajo el diseño experimental.
- Evaluar la respuesta mecánica bajo condiciones presentes en mucosa oral, de la película delgada con y sin nanoencapsulamientos, a través de un análisis de elementos finitos (AEF).

4. MARCO REFERENCIAL

4.1 Antecedentes

4.1.1 Hidrogeles como sistemas innovadores para la liberación de fármacos vía mucosa oral: Estudio de estabilidad fisicoquímica y efecto citotóxico de hidrogeles con candesartán solos o incluidos en un vehículo mucoadhesivo (Fase III)

Esta investigación surge como parte de la tercera fase de un proyecto de investigación perteneciente a los grupos de UIBO y Osiris & Bioaxis de la Universidad El Bosque. El proyecto macro está enfocado en el diseño de sistemas de liberación controlada de candesartán, medicamento usado para tratar la hipertensión, a través de la mucosa oral; para lograr este propósito es necesario el aporte a la investigación por medio del diseño de una película delgada mucoadhesiva con aplicación en mucosa oral, estableciendo sus condiciones de elaboración. Cabe resaltar que la vía de administración planteada en el proyecto macro es una vía alternativa que permite mejorar la biodisponibilidad de los fármacos, en este caso el candesartán.

4.1.2 Buccal administration of mucoadhesive blend films saturated with propranolol loaded nanoparticles

Desarrollado por Pakorn Kraisit, Sontaya Limmatvapirat, Manee Luangtana-Anan y Pornsak Sriamornsak, publicado en el 2018 en la capital de Shenyang, China, sus principales objetivos fueron preparar y caracterizar películas de combinación mucoadhesiva de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) / policarbofilo (PC) saturadas con nanopartículas cargadas con hidrocloreto de propanolol (PNL), medicamento usado para el tratamiento de diversas patologías, dentro de ellas la hipertensión, y películas combinadas HPMC / PC que contienen PNL sin nanopartículas (PP), esto con el fin de mejorar la permeabilidad de los fármacos que experimentan metabolismo de primer paso.

Se utilizó un método de entrecruzamiento iónico y film casting para preparar nanopartículas y películas de combinación mucoadhesiva, respectivamente. Este grupo de investigadores concluyó que el índice de hidratación de las películas PN y películas de PP aumentó en gran medida durante el primer punto de tiempo y alcanzó un equilibrio de hidratación en diferentes momentos. Al igual las películas de PN con mayores cantidades de PNL tendían a características mucoadhesivas más altas. En cuanto a los estudios de permeación, se observó una alta permeabilidad de PNL a través de la mucosa bucal en las películas de PN en

comparación con las películas de PP con concentraciones iguales de PNL. (Kraisit, Limmatvapirat, Luangtana-Anan, & Sriamornsak, 2018)

El trabajo antes mencionado se relacionó con la presente investigación, puesto que aportó información en cuanto al diseño de la película delgada, precisamente se enfocó en la técnica de elaboración titulada film casting, que es un proceso de fabricación ampliamente utilizado en la fabricación de películas a base de polímeros (Rao, 2012). Esta técnica tiene la ventaja de permitir la incorporación de manera sencilla de los hidrogeles.

Igualmente, el artículo permite la visualización de las condiciones utilizadas para lograr la adecuada incorporación de fármacos antihipertensivos en la película delgada, condiciones tales como el valor del grosor y el pH funcional en la película delgada.

4.1.3 Effect of cryoprotection on particle size stability and preservation of chitosan nanoparticles with and without hyaluronate or alginate coating

Su objetivo fue determinar el efecto de diferentes crioprotectores y su concentración en las características fisicoquímicas de nanopartículas de quitosano (CS-NP), para lograrlo se investigaron seis tipos diferentes de crioprotectores (sacarosa, glucosa, trehalosa, manitol, polietilenglicol-2000 y polietilenglicol-10,000) al 5,0%, 10%, 20% y 50% en niveles de concentración. como resultado obtuvieron que las muestras que se liofilizaron sin crioprotectores dieron como resultado un aumento en el tamaño promedio de las nanopartículas, debido a la alta aglomeración, lo que les permitió concluir que la liofilización de las CS-NP recubiertas en presencia de un crioprotector adecuado a un nivel de concentración óptimo da como resultado un tratamiento significativamente eficaz para controlar la distribución del tamaño de partícula y mantener el tamaño, la forma y la integridad de los CS-NP revestidos desarrollados y no revestidos (Almalik, Alradwan, Kalam, & Alshamsan, 2017).

Esta investigación contribuyó al presente trabajo ya que expone como es el comportamiento de las nanopartículas de quitosano en presencia de diferentes concentraciones de crioprotector; esta información aporta a la hora de realizar la formulación de los criopreservantes que se utilizaran antes del proceso de liofilización, y así garantizar la adecuada uniformidad en el tamaño, distribución, integridad y morfología de los hidrogeles; para que puedan posteriormente ser incorporados en la película delgada.

4.1.4 Experimental and FEM analysis of scratch behavior on polypropylene thin films: Effect of film orientation and ethylene monomer content

El objetivo de este estudio fue utilizar herramientas experimentales y numéricas para caracterizar el comportamiento frente al rayado de películas delgadas de polipropileno (PP). Se investigó el efecto de la orientación y el contenido de monómero de etileno en su resistencia al rayado. Además, se realizó un análisis paramétrico de AEF para examinar el impacto de los parámetros constitutivos modificados por la orientación de la película y la adición de etileno en la resistencia al rayado. Los resultados muestran que las propiedades de tracción de la película aumentan con una orientación más alta y un monómero de etileno más bajo, mejorando la resistencia al rayado. Esta mejora está asociada con el desplazamiento de la concentración de tensiones desde la interfaz hacia la superficie, y es causada principalmente por un mayor esfuerzo de deformación y endurecimiento por deformación (Hamdi, Puopolo, Pham, & Sue, 2016).

Este trabajo proporciona a la presente investigación un método por medio de análisis de elementos finitos; el cual permite la obtención de respuestas mecánicas causadas por perturbaciones en la película delgada, de modo que extrapolando esta información al contexto de la investigación se puede deducir que usando diferentes objetos y la aplicación de diversas fuerzas, como las que tiene la mucosa oral, es posible predecir el comportamiento de la película ante las perturbaciones a las que se vería afectada, de este modo se podrían analizar los puntos con mayor deformación en la película.

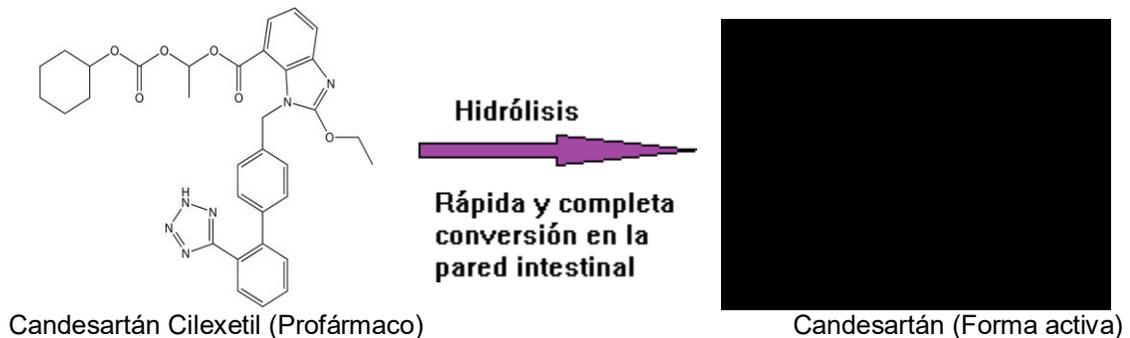
4.2 Marco teórico

4.2.1 Candesartán

Candesartán según su nombre IUPAC (Ácido 2-etoxi-3 - [[4- [2- (2H-tetrazol-5-il) fenil] fenil] metil] bencimidazol-4-carboxílico) es un antagonista oral de los receptores de angiotensina II tipo 1. Es empleado principalmente para el control de la hipertensión, en diferentes poblaciones de pacientes adultos. Actúa relajando los vasos sanguíneos, facilitando así el flujo sanguíneo. (Cernes, Mashavi, & ZimLichman, 2011).

Este medicamento se administra por vía oral, su efecto antihipertensivo se manifiesta a las 3-4 horas. Se absorbe en el tubo digestivo con una biodisponibilidad cercana al 15,0% para las presentaciones en tabletas y no se modifica con la comida. Debido a su biodisponibilidad, posee un profármaco el cual es el candesartán cilexetilo. Este medicamento se activa con su hidrólisis antes de su absorción en el tracto digestivo a candesartán en su forma activa. Debido a que posee el grupo de sal cilexetilo, incrementa su biodisponibilidad final. (Campos, et al., 2013).

Figura 4- 1: Farmacocinética del Candesartán



Fuente:(TCI Chemicals Pvt., s.f)

4.2.2 Ventana farmacológica

La dosis de inicio recomendada es 4 mg/día. Se puede doblar la dosis cada 2 semanas hasta un máximo de 32 mg/día. La dosificación puede ser cada 24 horas o dos veces por día teniendo en cuenta no sobrepasar la dosis máxima. (Campos, et al., 2013)

4.2.3 Información toxicológica

- Oral (rata) LD50: >2000 mg/kg
- Intraperitoneal (rata) LD50: 940 mg/kg
- Oral (ratón) LD50: >2000 mg/kg
- Intraperitoneal (Raton) LD50: 807 mg/kg (Cayman Chemical Company, 2013)

4.2.4 Hidrogeles

Los hidrogeles son redes de polímeros que captan y almacenan grandes cantidades de agua. Hay grupos hidrófilos en la red polimérica, que se hidratan en medios acuosos formando así una estructura de hidrogel. La capacidad de retención de una gran cantidad de agua dentro de sus estructuras da como resultado un alto contenido de agua y propiedades de superficie blanda que es el carácter que los compromete en los tejidos circundantes y conduce a una buena biocompatibilidad (Liu, Gao, Lu, & Zhou, 2016). Debido a esto, los hidrogeles están bajo investigación para explorar los fundamentos de las redes de polímeros hinchados, teniendo una amplia aplicación en varias áreas técnicas, como materiales para separación de

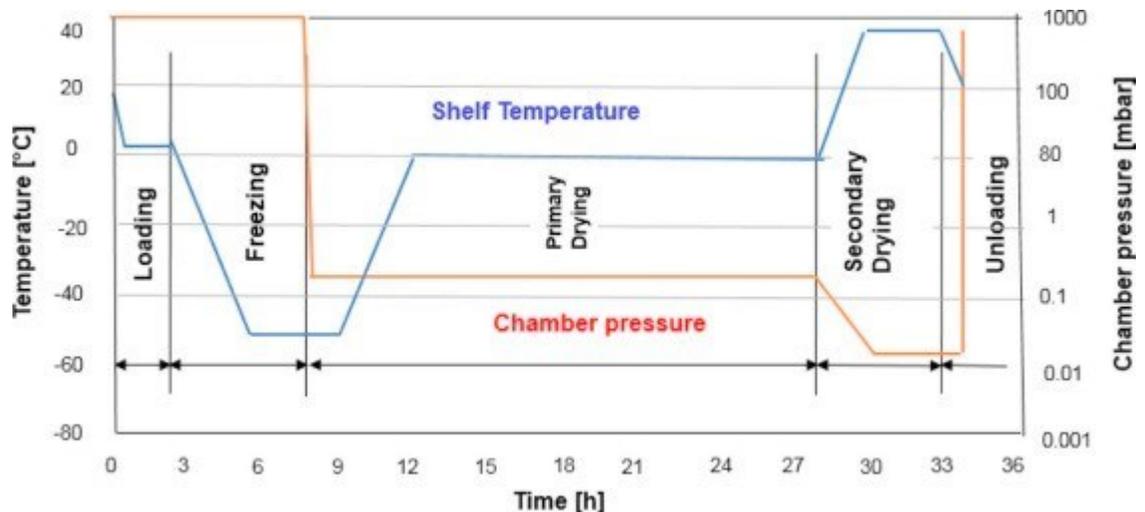
proteínas y lentes de contacto, matrices para encapsular células y dispositivos para la liberación controlada de proteínas y drogas (Akhtar, Hanif, & Ranjha, 2016).

Los hidrogeles pueden administrar fármacos a cuatro sitios específicos principales; boca, estómago, intestino delgado y colon. Al controlar sus propiedades de hidratación o características bioadhesivas en presencia de un fluido biológico, los hidrogeles pueden ser un dispositivo útil para liberar fármacos de una manera controlada en estos sitios deseados. Como portadores de fármacos, los hidrogeles poseen una excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad, la capacidad de transportar moléculas hidrofóbicas / hidrofílicas, la capacidad de responder al entorno, la absorción de agua y la inyectabilidad. (Morantes, et al., 2017).

4.2.5 Liofilización

La liofilización es un proceso ampliamente utilizado para secar y mejorar la estabilidad de diversos productos farmacéuticos, proteínas, enzimas, microorganismos y de otros productos naturales, como en la industria alimenticia y la agricultura. (Abdelwahed, Degobert, Stainmesse, & Fessia, 2006). El ciclo de liofilización se puede dividir en tres pasos como se observa en la Figura 2:

Figura 4- 2: Ciclo de liofilización



Fuente: (Wahl, Khinast, & Paudel, 2016)

4.2.5.1 Paso de congelación

La congelación es el primer paso de la liofilización. Durante este paso, la suspensión líquida se enfría y se forman cristales de hielo. A medida que el proceso de congelación continúa, más y más agua contenida en el líquido se congela. A medida

que la suspensión líquida se vuelve más concentrada, su viscosidad aumenta induciendo la inhibición de la cristalización adicional. Este líquido altamente concentrado y viscoso se solidifica, produciendo una fase cristalina amorfa, cristalina o amorfa combinada (Abdelwahed, Degobert, Stainmesse, & Fessia, 2006).

4.2.5.2 Paso de secado primario

La etapa de secado principal implica la sublimación de hielo del producto congelado. En esta etapa, las moléculas de agua congeladas se eliminan a través de sublimación inferior a la temperatura de transición vítrea (T_g). Por lo tanto, la rampa de temperatura de la plataforma debe estar bien diseñada para evitar el colapso y la contracción del producto debido al sobrecalentamiento.

Durante este proceso el hielo se sublima y el vapor de agua formado pasa a través de la porción seca del producto a la superficie de la muestra, este vapor se transfiere desde la superficie del producto a través de la cámara hasta el condensador, y allí se condensa. Al final de la etapa de sublimación, se forma un tapón poroso. Sus poros corresponden a los espacios que fueron ocupados por cristales de hielo (Abdelwahed, Degobert, Stainmesse, & Fessia, 2006).

4.2.5.3 Paso de secado secundario

El secado secundario implica la eliminación del agua absorbida del producto. Esta es el agua que no se separó como hielo durante la congelación y no se sublimó. Por tanto, el agua adsorbida restante (10-20%) se elimina por difusión y desorción a temperaturas más altas. El contenido de agua residual en los materiales finales liofilizados varía de 1,0% a 3,0% (Abdelwahed, Degobert, Stainmesse, & Fessia, 2006).

4.2.6 Criopreservación

La liofilización puede generar muchas tensiones que podrían desestabilizar la suspensión coloidal de nanopartículas, especialmente el estrés de la congelación y la deshidratación, por tanto, se requiere de un crioprotector. Estos excipientes generalmente se agregan para proteger el producto del estrés por congelamiento y también para aumentar su estabilidad durante el almacenamiento. Los crioprotectores más populares que se encuentran en la literatura para liofilizar nanopartículas son azúcares. Esto debido a que los azúcares se vitrifican a una temperatura específica denominada T_g' (temperatura de cristalización eutéctica) y la congelación se realiza por debajo de T_g' , que es la temperatura de cristalización del componente soluble como una mezcla con hielo, si está en estado cristalino para

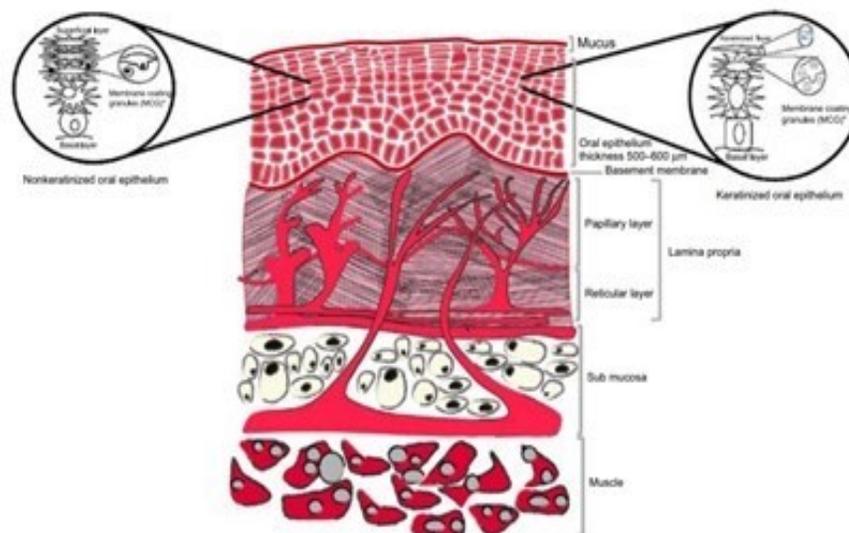
garantizar la total solidificación de la muestra. (Abdelwahed, Degobert, Stainmesse, & Fessia, 2006).

4.2.7 Mucosa Oral

La cavidad oral incluye los labios, la lengua, la mejilla (bucal), el paladar duro, el paladar blando y el piso de la boca. (Silva, Borges, C. Silva, Coelho & Simoes, 2015).

La mucosa de interés en el presente proyecto es la mucosa de revestimiento, que constituye el 60% de la mucosa total y cubre el piso de la boca, el área sublingual, el paladar blando, los labios y las mejillas. Está involucrado en los procesos de deglución y fonación y posee un epitelio no queratinizado (Morantes, et al., 2017).

Figura 4- 3:Composición de la mucosa oral



Fuente:(Morantes, et al., 2017)

El grosor del tejido del carrillo varía dependiendo de su ubicación. La mucosa bucal tiene un grosor que oscila entre 500 y 600 μm (Morantes, et al., 2017).

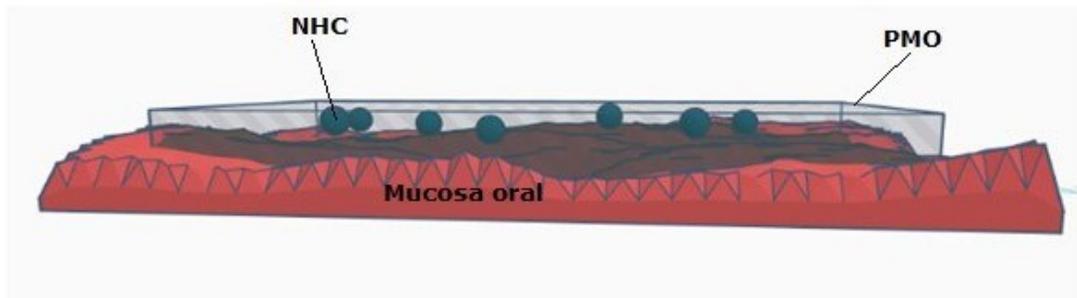
Otro factor que se debe tener en cuenta es la barrera de la permeabilidad de la mucosa oral. Esta permeabilidad se debe predominantemente a los materiales intercelulares derivados de los llamados "gránulos de revestimiento de membrana" (MCG) (Chinna Reddy, Chaitanya, & Madhusudan Rao, 2011) .

4.2.8 Película delgada

Las películas orales normalmente están compuestas por polímeros formadores de película, plastificantes y estabilizadores. Para las películas mucoadhesivas orales es necesario incluir polímeros que exhiban buenas propiedades adhesivas para las membranas mucosas (Silva, Borges, Silva, Coelho & Simoes, 2015).

Se ha prestado gran atención a esta forma de dosificación debido a su alta flexibilidad de diseño, buena adaptación a la superficie de la mucosa y espesor reducido, así como el cumplimiento del paciente (Morales, McConville, 2011). Además, las películas mucoadhesivas son particularmente convenientes en pacientes que presentan dificultades para tragar, principalmente en los campos pediátricos y ancianos (Dixit & Puthli, 2009).

Figura 4- 4: Simulación película delgada mucoadhesiva; Mucosa oral, Nanoencapsulamientos de tipo hidrogel con candesartán (NHC) y Película delgada mucoadhesiva (PMO)



Fuente: (Rios, 2018)

4.2.9 Mucoadhesión

La mucoadhesión ocurre debido a un rango de interacciones fisicoquímicas entre el material polimérico y el ambiente de la mucosa. Las propiedades del entorno, como el pH y la velocidad de flujo de la secreción de la mucosa, determinarán las interacciones polímero-mucina (Duchene, Touchard & Peppas, 1988). En primer lugar, se requiere el contacto íntimo inicial entre el material polimérico y la superficie de la mucosa. En segundo lugar, puede seguir el período de consolidación que refuerza la unión mucoadhesiva. Las dos principales teorías para definir la mucoadhesión son:

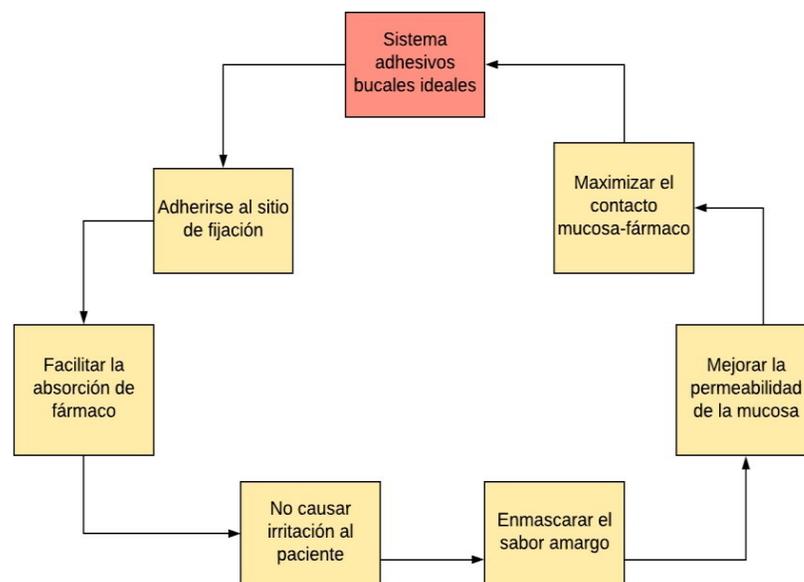
-La teoría de la **difusión** considera el entrelazamiento de las cadenas de polímero y mucina debido a la interpenetración, lo que permite la formación de enlaces

primarios y potencialmente secundarios, fortaleciendo la adhesión (Jabbari et al., 1993; Peppas & Buri, 1985).

-La teoría de **adsorción** considera las interacciones entre la superficie de la mucosa y el polímero; incluyendo fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (Peppas, Thomas & McGinty, 2009).

Un sistema adhesivo bucal se logra teniendo en cuenta las siguientes características:

Figura 4- 5:Diagrama que muestra las principales propiedades de una forma de dosificación mucoadhesiva ideal.



Fuente: (Russo et al., 2016)

4.2.10 Biopolímero

Los polímeros naturales se producen en los ciclos de crecimiento de las células de los organismos vivos. Su síntesis incluye reacciones de polimerización catalizadas por enzimas de monómeros activados, que se producen en el interior de las células como productos de procesos metabólicos complejos.

Todos los polímeros naturales representan la energía y la materia almacenada, que se encuentra en descomposición (metabolismo) liberada y puesta a disposición para

Reutilización. Por lo tanto, en la naturaleza, para los polímeros naturales, existen sistemas enzimáticos para su degradación.

Para aplicaciones de materiales, la celulosa y el almidón son los más interesantes. Sin embargo, hay una atención creciente en polímeros de hidrocarburos más complejos producidos por bacterias y hongos, particularmente polisacáridos como xantano, pululano, quitosano y ácido hialurónico (Šprajcar, Horvat, & Kržan. ,2010).

Existen diferentes formas de producir biopolímeros con el fin de ponerlos a disposición de diferentes grupos de consumidores:

i) Muchos biopolímeros se encuentran en abundancia en la naturaleza y están aislados de plantas y algas, que crecen en ambientes naturales. El agar y los alginatos son aislados de algas rojas pertenecientes al género *Gelidium* o de diversas algas pardas, también conocidas como algas marinas.

ii) Pocos biopolímeros están aislados de fuentes en su totalidad naturales. Un ejemplo de este tipo de

La excepción es el ácido hialurónico, que se extrae de los cordones umbilicales de los recién nacidos.

iii) La síntesis *in vitro* de biopolímeros con enzimas aisladas en sistemas libres de células ofrece otra alternativa.

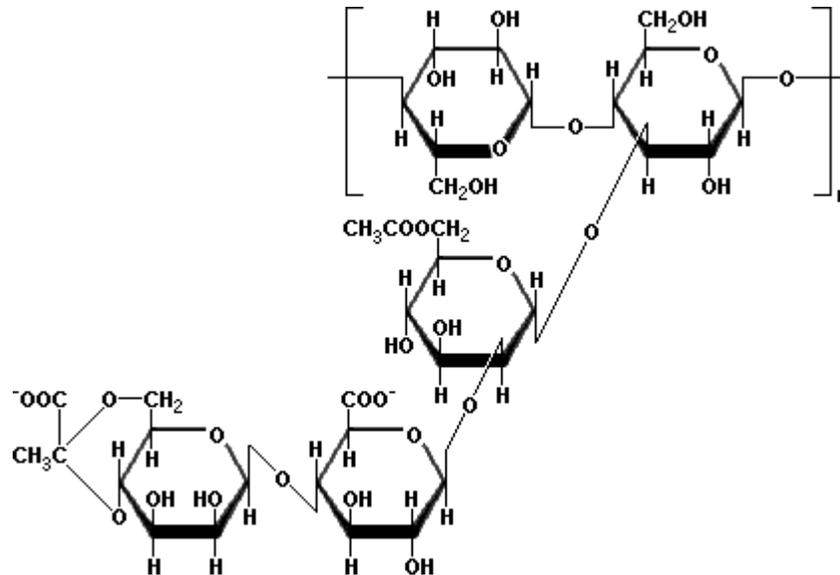
iv) La producción fermentativa de biopolímeros se utiliza en la industria, por ejemplo, como polisacáridos (Rao, Bharathi & Akila, 2014)

4.2.11 Biopolímeros mucoadhesivos

Los biopolímeros han sido ampliamente estudiados en aplicaciones farmacéuticas para modificar la liberación de principios activos, localización de los fármacos en su diana terapéutica, sobrepaso de barreras fisiológicas (tisulares y celulares) y la protección de agentes terapéuticos inestables a las condiciones fisiológicas presentes en las vías de administración menos invasivas. Así mismo, es notable la importancia en el uso de biopolímeros para el diseño de los nuevos dispositivos biomédicos combinados, en los cuales la necesidad de incorporar sustancias con actividad farmacológica ha llevado a la generación de novedosas alternativas para el tratamiento de enfermedades en el ser humano. (Rojas, Vallejo & Perilla, 2008)

4.2.12 Xantano

Figura 4- 6: Estructura química del xantano



Fuente: (Zamora, 2019)

El xantano es un exopolisacárido producido por *Xanthomonas campestris*, un patógeno de las coles. Su estructura está formada por un esqueleto de unidades de D-glucosa unidas entre sí por enlaces β (1-4), idénticos a los presentes en la celulosa. Una de cada dos glucosas se encuentra unida por un enlace α1-3 a una cadena lateral formada por dos manosas con un ácido glucurónico entre ellas. Alrededor de la mitad de las manosas terminales de la cadena lateral están unidas a un grupo de piruvato, y el 90% de las manosas más próximas a la cadena central están acetiladas en el carbono 6. Las cargas negativas en los grupos carboxilos de las cadenas laterales causan que las moléculas formen fluidos muy espesos al ser mezclados con agua. El xantano se usa como espesante para salsas, para prevenir la formación de cristales de hielo en los helados, y como sustitutos de grasa con pocas calorías.

En cuanto a grupos funcionales se puede evidenciar el grupo hidroxilo, carboxilo debido a la presencia de puentes de hidrógeno entre el carbono y el oxígeno. Presencia del grupo carbonilo por el doble enlace entre el carbono y el oxígeno. También en toda la estructura hay presencia de alcanos debido a la unión entre el carbono-carbono y carbono- hidrógeno y con los carbonos cíclicos provenientes del grupo aromático. También se puede observar la presencia de un ácido, proveniente del ácido glucurónico, que hace parte de la cadena polimérica del xantano.

El xantano presenta características peculiares, debido precisamente a la peculiaridad de su estructura. Es soluble tanto en agua fría como en agua caliente, su viscosidad depende poco de la temperatura o del pH, y tampoco se ve muy influida por la presencia de concentraciones elevadas de sales. Su peso molecular es muy elevado, del orden de un millón.

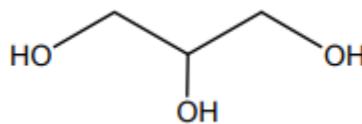
El xantano imparte una viscosidad elevada (en reposo) con pequeñas concentraciones del orden del 1,0%, y presenta además un comportamiento pseudoplastico muy marcado (Universidad de Zaragoza).

4.2.13 Glicerol

El glicerol ($C_3H_8O_3$) (ver figura 4-7), denominado también, 1,2,3-trihidroxipropano o 1,2,3- propanotriol, es un polialcohol, un alcohol que posee tres grupos hidroxilos (-OH) y que es conocido comercialmente como glicerina. Se trata de un compuesto líquido a temperatura ambiente, viscoso (1,5 Pa), incoloro, inodoro y ligeramente dulce. La presencia de los tres grupos hidroxilo le hace ser higroscópico, fácilmente soluble en agua y alcoholes, ligeramente soluble en disolventes orgánicos como éteres y dioxanos, e insoluble en hidrocarburos. En estado anhidro y puro, el glicerol tiene una densidad de 1,261 g.cm⁻³, un punto de fusión de 18,2 °C y un punto de ebullición de 290 °C.

El glicerol es una molécula altamente flexible, capaz de formar enlaces de hidrógeno intra e intermoleculares (Lafuente,2017)

Figura 4- 7: Estructura del glicerol



Fuente: (Lafuente, 2017)

4.2.14 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

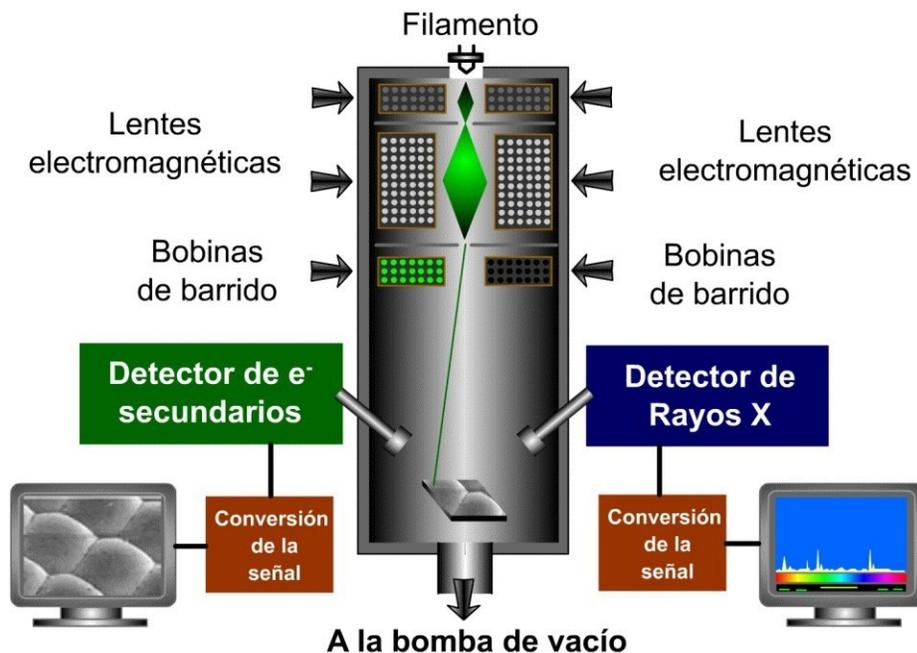
La microscopía de barrido de electrones (MEB) es una técnica de análisis superficial, que consiste en enfocar sobre una muestra electrodensa (opaca a los electrones) un fino haz de electrones acelerado con energías de excitación desde 0.1kV hasta 30 kV (Andes, s.f).

El haz de electrones se desplaza sobre la superficie de la muestra realizando un barrido que obedece a una trayectoria de líneas paralelas. La interacción del haz de electrones con la muestra produce diversas señales (electrones secundarios, electrones retrodispersados, emisión de rayos X, etc.), que son recogidas por distintos detectores; los cuales permiten la observación, caracterización y microanálisis superficial de materiales tanto orgánicos como inorgánicos (Andes, s.f) (Ver figura 4-8).

Ventajas del MEB:

- Su gran profundidad de campo que le da apariencia tridimensional a las imágenes permitiendo enfocar y observar amplias zonas de la muestra al mismo tiempo.
- Puede producir imágenes de alta resolución (de hasta 3 nm), es decir, que detalles muy cercanos en la muestra pueden ser observados separadamente a alta magnificación.
- La relativamente sencilla preparación de las muestras.
- Se pueden observar muestras de tamaños desde centímetros hasta muestras del orden de nanómetros (Andes, s.f).

Figura 4- 8: Estructura microscopio electrónico de barrido



Fuente: Dep. ciencias químicas UNAB

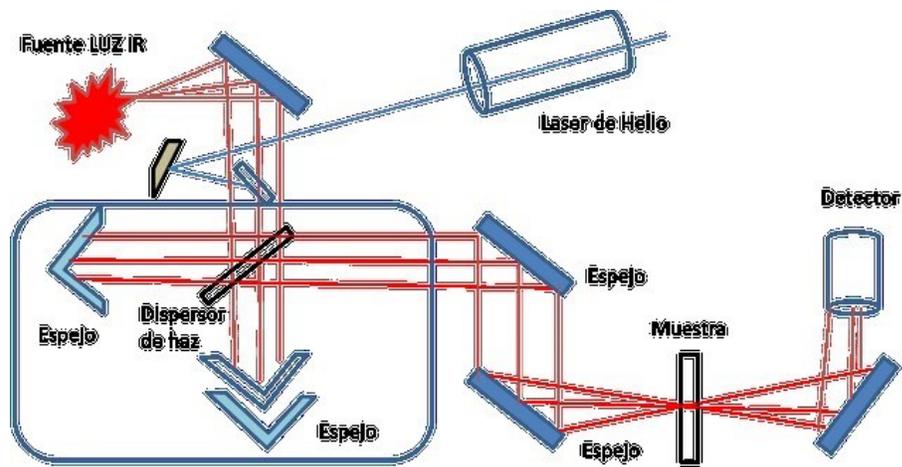
4.2.15 Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR)

La espectrometría infrarroja se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias dependen de la forma de la superficie de energía potencial de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas y, posiblemente, el acoplamiento vibracional.

Con el fin de hacer medidas en una muestra, se transmite un rayo monocromo de luz infrarroja a través de la muestra, y se registra la cantidad de energía absorbida. Repitiendo esta operación en un rango de longitudes de onda de interés (por lo general, $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) se puede construir un gráfico. Al examinar el gráfico de una sustancia, se puede obtener información química sobre la misma. (Robaina et al., 2013).

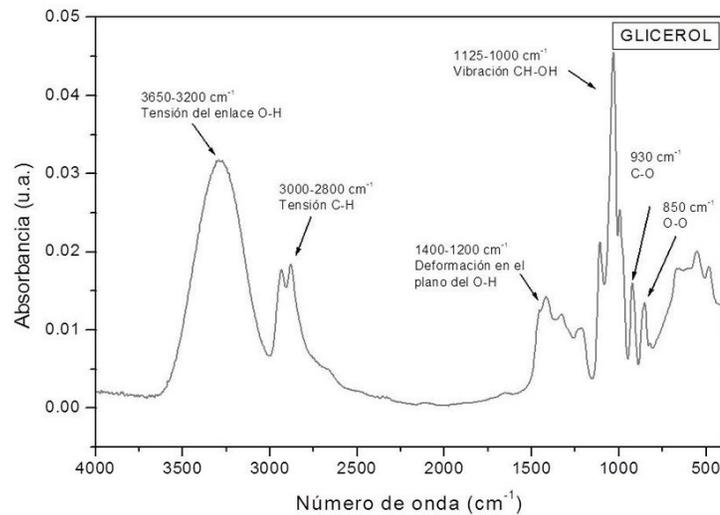
Como ventaja es que los diferentes tipos de moléculas y grupos funcionales, absorben luz infrarroja en diferentes longitudes de onda. Por lo tanto, es posible determinar su presencia en una muestra mediante la prueba FTIR, simplemente midiendo la absorción a diferentes longitudes o números de onda. (Robaina et al., 2013). La espectrometría infrarroja se ha utilizado en gran medida para el análisis cualitativo y estructural, de compuestos químicos (Robaina et al., 2013) (ver figura 4-9).

Figura 4- 9: Funcionamiento de espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier



Fuente: (Steemit, sf)

Figura 4- 10: Espectro de absorbanza obtenido por espectrómetro infrarrojo por transformada de Fourier



Fuente: (Miran, Mumtaz, Mukhtar, & Danish, 2017).

4.2.16 Análisis por medio de Elementos finitos (AEF)

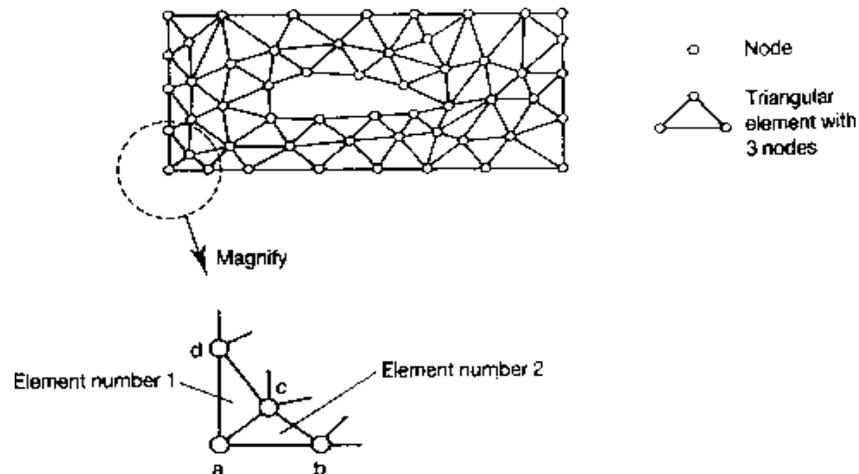
El Método de los Elementos Finitos es un método numérico de resolución de problemas de Mecánica de Sólidos que resulta de gran importancia por su utilidad práctica. Sin embargo, es un método que no proporciona la solución exacta a un problema dado, sino que, en realidad, posibilita obtener una solución aproximada que, con el juicio ingenieril que se le supone al calculista, puede ser más que suficiente para la resolución de un problema práctico (Zhang & Bathe, 2017).

Los elementos finitos se dividen en un número finito de partes, “elementos”, cuyo comportamiento se especifica mediante un número finito de parámetros asociados a ciertos puntos característicos denominados “nodos”. Estos nodos son los puntos de unión de cada elemento con sus adyacentes (ver figura 4-8) de igual forma las incógnitas del problema dejan de ser funciones matemáticas y pasan a ser el valor de estas funciones en los nodos, por lo tanto, el comportamiento en el interior de cada elemento queda definido a partir del comportamiento de los nodos mediante las adecuadas funciones de interpolación o funciones de forma.

El conjunto completo, o conjunto de elementos, se conoce como una malla. El proceso de representar un componente como un conjunto de elementos finitos, se

conoce como discretización, el cual es uno de los primeros pasos para entender el método de análisis de elementos finitos. (Zhang & Bathe, 2017).

Figura 4- 8: Distribución de nodos por medio de elementos finitos



Fuente: (Cohen, Joly, Roberts & Tordjman, 2001)

Un principio que se debe tener en cuenta a la hora de trabajar con AEF es el principio de minimización de la energía, esta forma la columna vertebral primaria del método de elementos finitos. En otras palabras, cuando una condición de contorno particular se aplica a un cuerpo, esto puede conducir a varias configuraciones, pero, sin embargo, solo una configuración particular es posible o lograda de manera realista. Incluso cuando la simulación se realiza varias veces, prevalecen los mismos resultados.

Este principio establece que cuando se aplica una condición límite (como desplazamiento o fuerza), de las numerosas configuraciones posibles que el cuerpo puede tomar, solo aquella configuración donde la energía total es mínima es la que se elige (Ajay Harish, 2016).

4.2.16.1 Descripción técnica general del método de elementos finitos

Uno de los primeros pasos en FEM es identificar el PDE asociado con el fenómeno físico. El PDE (ecuaciones en derivadas parciales) se conoce como la forma fuerte y la forma integral se conoce como la forma débil, esto se describe por medio de la ecuación 4.1, que representan el teorema de representación Riesz, utilizado para el análisis por medio elementos finitos:

Ecuación 4. 1: Teorema de representación de Riesz.

$$u'(x)v(x) \Big|_0^1 - \int u'(x)v'(x) = \int f(x)v(x) \quad (4.1)$$

El teorema de la representación de Riesz puede demostrar que hay una solución única para $u(x)$ para la forma integral y, por lo tanto, diferencial (Ajay Harish, 2016).

4.2.16.2 Discretización

Una vez que se ha configurado la forma integral o débil, el siguiente paso es la discretización de la forma débil. Uno de los objetivos principales de la discretización es también convertir la forma integral a un conjunto de ecuaciones matriciales que se pueden resolver utilizando teorías bien conocidas del álgebra matricial. (Ajay Harish, 2016).

En donde las piezas conocidas como "elementos" y el punto de esquina de cada elemento se conoce como "nodo".

La función desconocida $u(x)$ se calcula en los puntos nodales. Las funciones de interpolación se definen para que cada elemento se interpole, para valores dentro del elemento, usando valores nodales. Por lo tanto, la función desconocida $u(x)$ se puede reducir a:

Ecuación 4. 2: Función desconocida $u(x)$.

$$u(x) = \sum_{n=1}^{nen} N_i u_i \quad (4.2)$$

Donde nen es el número de nodos en el elemento, N_i y u_i son la función de interpolación y las incógnitas asociadas con el nodo i , respectivamente. (Ajay Harish, 2016)

4.2.16.3 Solucionadores

Una vez que se han establecido las ecuaciones matriciales, las ecuaciones se pasan a un solucionador para resolver el sistema de ecuaciones. Dependiendo del tipo de problema, generalmente se usan solucionadores directos o iterativos. En el solucionador directo es una forma simple y directa, aunque no recomendada, invirtiendo la matriz $[K]$ y multiplicar con el vector de fuerza $\{f\}$. Al contrario, con el solucionador iterativo comienza asumiendo una solución aproximada para las incógnitas $\{u\}$. La solución se reitera para alcanzar una solución "exacta" (Ajay Harish, 2016).

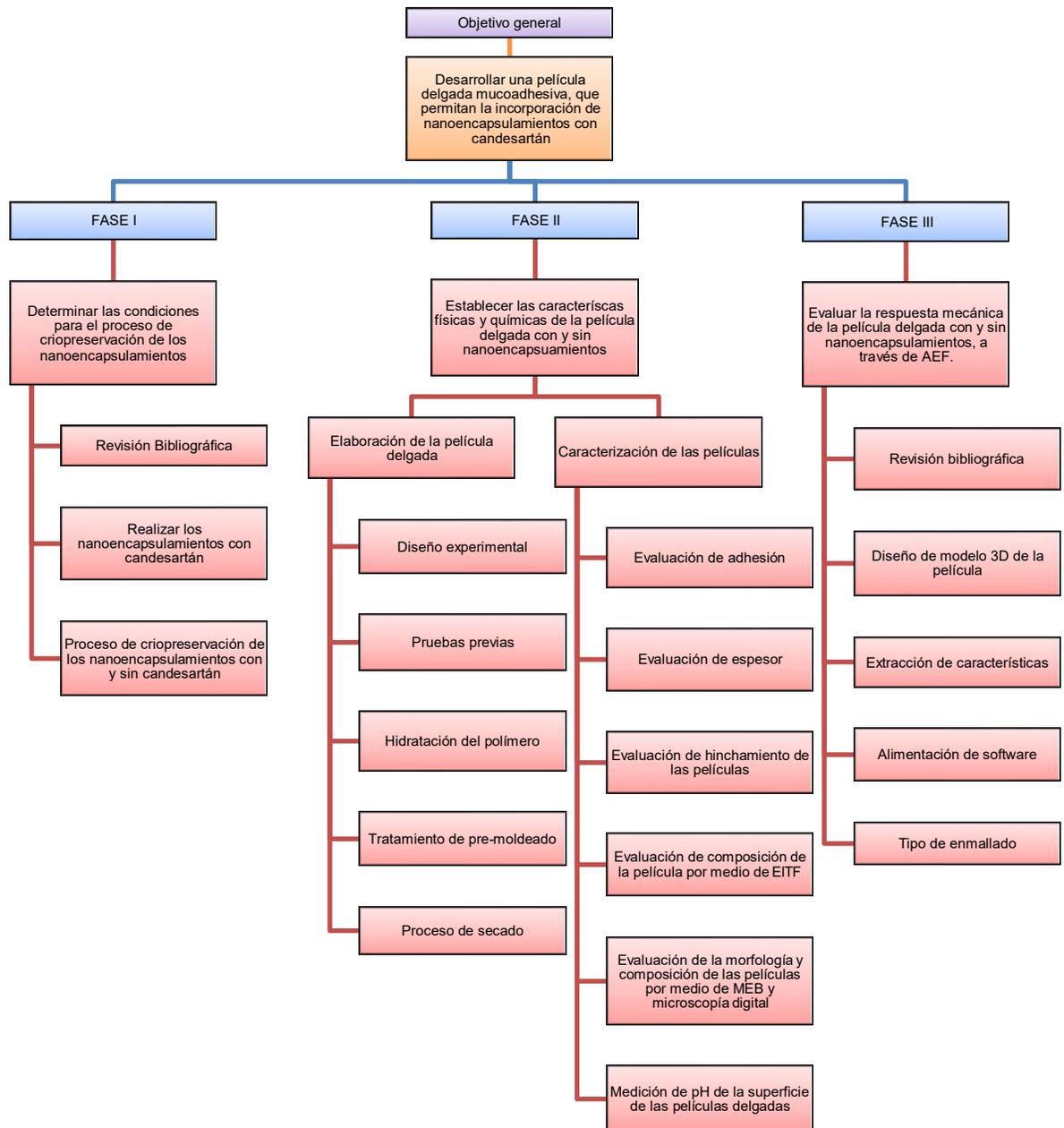
4.2.16.4 Elementos finitos para membranas elásticas

La ecuación gobernante de una membrana superficial elástica, que describe la altura de la membrana debido a la presión interna, es la ecuación de Poisson. De acuerdo con la técnica de elementos finitos, el dominio de la membrana se describe mediante una serie de elementos, y la altura de la membrana sobre cada elemento se aproxima con una función de forma dada.

5. METODOLOGÍA

Para el desarrollo de los objetivos específicos, fue necesario el planteamiento de la metodología descrita en la Diagrama 5-1.

Diagrama 5- 1: Metodología propuesta para el cumplimiento del objetivo general



6. PROCEDIMIENTO

A continuación, se describirán las actividades implicadas en cada una de las fases metodológicas del proyecto de investigación, seguir estos pasos permitió el cumplimiento de los objetivos específicos planteados en el proyecto:

6.1 Fase I: Criopreservación

Para el cumplimiento del primer objetivo específico fue necesario realizar la etapa de criopreservación, para ello se siguió el procedimiento descrito a continuación.

6.1.1 Revisión bibliográfica

Se realizó una revisión bibliográfica que permitió identificar a la glucosa como el criopreservante a utilizar en concentración del 5,0% y 10,0 % p/v. Las concentraciones antes mencionadas fueron seleccionadas teniendo en cuenta información bibliográfica relacionada con criopreservación de nanopartículas expuesta por diversos autores, tales como (Abdelwahed, Degobert, Stainmesse, & Fessia, 2006) y (Lee, Kim, Kim, & Lee, 2009).

6.1.2 Nanoencapsulamientos con Candesartán

Los nanoencapsulamientos de quitosano- miglyol 812- candesartán, se realizaron basándose en la metodología descrita por (Morantes & Ibla, 2017), se obtuvieron de este proceso 40 tubos eppendorf con nanoencapsulamientos, de los cuales la mitad tenían candesartán incorporado y la otra mitad solo contenían quitosano – miglyol 812.

Estos tubos se separaron en grupos de 10, los cuales se usaron en el proceso de criopreservación.

6.1.3 Proceso de criopreservación

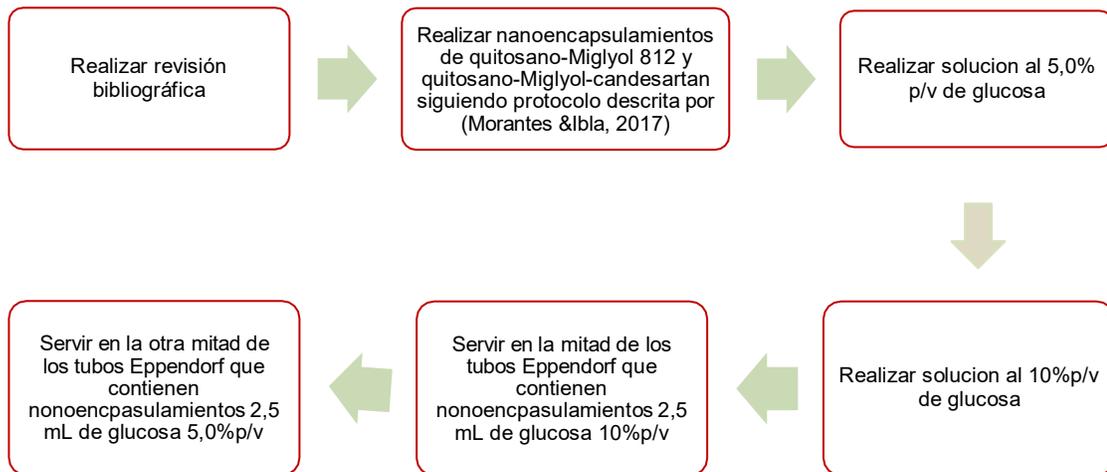
Para realizar la criopreservación de los nanoencapsulamientos se realizaron previamente dos soluciones de glucosa (SIGMA-ALDRICH,99.5%) del 5,0% p/v y del 10,0% p/v.

Para realizar la solución de glucosa al 5,0% p/v se añadió con una pipeta (BRAND, ETERNA) 5 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 50 mL (PYREX, No 1000) y posteriormente se adiciono una masa de 0,2552 g (Ohaus, Pionner PA114) de glucosa (SIGMA-ALDRICH,99.5%), se agitó con una varilla de vidrio durante un minuto hasta obtener una solución homogénea, posterior a esto se pipeteo (NICHIRYO, Nichipet EX II, Japón) 0,25 mL de solución de glucosa al 5,0% p/v en cada uno de los 10 tubos Eppendorf del primer grupo que contenían nanoencapsulamientos con candesartán y 0,25 mL de solución de glucosa al 5,0%

p/v en cada uno de los 10 tubos Eppendorf del primer grupo que contenían los nanoencapsulamientos sin candesartán, usando así la mitad de los tubos eppendorf obtenidos en el numeral 6.1.2.

Para realizar la solución de glucosa al 10,0% p/v se añadió con una pipeta (BRAND, ETERNA) 5 mL de agua destilada en un vaso de precipitado de 50 mL (PYREX, No 1000) y posteriormente una masa de 0,5003 g (Ohaus, Pionner PA114) de glucosa (SIGMA-ALDRICH,99.5%) y se agitó con una varilla de vidrio durante un minuto hasta obtener una mezcla homogénea, posterior a esto se pipeteo (NICHIRYO, Nichipet EX II, Japón) 0,25 mL de solución de glucosa al 10,0% p/v en cada uno de los 10 tubos Eppendorf del segundo grupo que contenían nanoencapsulamientos con candesartán y 0,25 mL de solución de glucosa al 10,0% p/v en cada uno de los 10 tubos Eppendorf del segundo grupo que contenían los nanoencapsulamientos sin candesartán, así se adicionó criopreservante a cada uno de los 40 tubos Eppendorf obtenidos en el numeral anterior.

Diagrama 6- 1: Diagrama de flujo del proceso de criopreservación



6.1.4 Liofilización

Las muestras se liofilizaron durante un lapso de 12 horas (Freezone 4.5, LABCONCO) a una temperatura de -51°C.

6.1.5 Evaluación por medio de microscopía electrónica de barrido de la morfología y el tamaño de los nanoencapsulamientos realizados con adición de criopreservante al 5,0% y 10,0% p/v de glucosa

Para evaluar la morfología de los nanoencapsulamientos con cada concentración de criopreservante utilizada, se hizo un análisis por medio de microscopía electrónica de barrido, de este modo las muestras fueron recubiertas en oro y grafito para brindarles características conductoras, y luego evaluadas en un microscopio electrónico de barrido (LYRA3, Tescan). Este análisis brindó información que aportó en la selección del mejor criopreservante.

6.2 Fase II: Elaboración de película delgada mucoadhesiva por medio de Film casting

Para el desarrollo y cumplimiento del segundo objetivo específico “Establecer las características físicas y químicas de la película delgada mucoadhesiva elaborada con y sin nanoencapsulamientos bajo el diseño experimental”, fue necesario seguir la metodología descrita a continuación.

6.2.1 Diseño experimental

El diseño experimental es una estructura de investigación donde al menos se manipula una variable y las unidades son asignadas aleatoriamente a los distintos niveles o categorías de la variable o variables manipuladas (Universidad de Barcelona), de este modo fue necesario elaborar una selección de materiales y variabilidades en ellos que permitieron encontrar la metodología final de esta investigación. Las variaciones y materiales están expuestos en la tabla 6-1 y 6-2.

Tabla 6- 1: Concentraciones utilizadas de los principales componentes de las películas delgadas.

Material	Concentración
Xantano (SIGMA-ALDRICH,99.5%)	3,0% p/v
	5,0%p/v
Glicerol (SIGMA-ALDRICH, 99.5%)	0,5%v/v
	1,0%v/v

Tabla 6- 2: Variaciones realizadas a los principales componentes de las películas delgadas

# Experimento	[(p/v)]Xantano	[(v/v)]Glicerol
1	3,0%	Sin glicerol
2	3,0%	0,5%
3	3,0%	1,0%
4	5,0%	Sin glicerol
5	5,0%	0,5%
6	5,0%	1,0%

En la tabla 6-2 se puede evidenciar como se estableció la variación en la concentración de los componentes usados en la presente investigación. Para disminuir las variables del experimento se comprobó primero que concentración de xantano era la que garantizaba mejores resultados de manera cualitativa en cuanto a tenacidad, que es la capacidad de un material de no deformarse ni romperse al aplicarle una fuerza, y elasticidad, que es la capacidad de un material de recuperar su forma original al cesar la fuerza que lo deforma, optando así por utilizar la concentración de xantano al 5,0%p/v con 3 variaciones en la concentración del plastificante, para escoger así, una formulación que al final proporcionara los mejores resultados en cuanto a elasticidad, tenacidad, hidratación y adhesión se refería.

De igual manera se probaron tres diferentes moldes en 3 distintos materiales para evidenciar cual permitía obtener películas con mejores características, estos se pueden observar en la tabla 6-3.

Tabla 6- 3: Materiales usados para la realización de moldes

Número de prueba	Material del molde
1	ABS (Acrylonitrilo butadieno estireno)
2	PLA (Ácido Poliláctico)
3	Silicona de grado médico y alimenticio

6.2.2 Pruebas previas

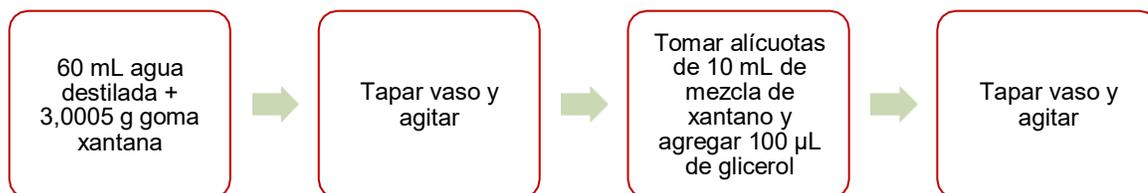
Para definir la concentración adecuada de componentes para la realización de las películas delgadas, se realizaron experimentos previos (ver tabla 6-2), sin embargo, los mejores resultados obtenidos fueron los proporcionados por la película con composición de xantano al 5,0%p/v y adición de glicerol al 1,0%v/v.

6.2.3 Hidratación del polímero

Para hidratar el polímero y lograr una concentración del 5,0% p/v del mismo, se agregó un volumen de 60 mL de agua destilada, usando una probeta de 50 mL (BRAND 32128), en un vaso de precipitado de 100 mL (Boeco,Germany), el vaso se colocó en una placa de agitación y calentamiento (IKA C-MAG HS 7), a una temperatura de 60°C, posteriormente y usando un termómetro (Boeco ZL 260) se midió la temperatura del agua, cuando esta se encontró en 60°C se procedió a adicionar 3,0005 g de xantano (SIGMA-ALDRICH, 99.5%) y se agitó usando un agitador magnético de 45 mm a una velocidad de 250 min⁻¹ por un tiempo de 30 min (Hazirah, Isa, & Sarbon, 2016), la muestra se selló con papel vinipel para evitar la evaporación del solvente

Posterior a esto con una pipeta Pasteur se tomaron alícuotas de 10 mL de mezcla de xantano y se agregó en un vaso de precipitado de 100 mL (Boeco,Germany), posteriormente se adiciono con una micropipeta (BIOPETTE™ A) 100µl ± 1.6µl de glicerol, Anhidro (J.T. BAKER) equivalente a una concentración de 1,0% v/v de glicerol (Hazirah, Isa, & Sarbon, 2016) luego la mezcla se agitó usando una placa de agitación (IKA C-MAG HS 7) y un agitador magnético de 45 mm a una temperatura de 80°C (Boeco ZL 260) a 150 min⁻¹ por un lapso de 10 minutos, hasta obtener una mezcla homogénea (Bilanovic, Starosvetsky, & Armon, 2015).

Diagrama 6- 2: Diagrama de flujo del proceso de hidratación del polímero



6.2.4 Tratamiento de pre-moldeado

A los geles poliméricos obtenidos del proceso de hidratación se les aplicaron procesos de pre-moldeado con el objetivo de reducir la cantidad de burbujas generados en la fase de hidratación. Para ello se empleó un proceso denominado sonicación, el cual se emplea para agitar las partículas del polímero y liberar las burbujas de aire.

De este modo teniendo la mezcla homogénea se procedió a realizar un proceso de sonicación a 40KHz (Branson 1800) por un lapso de 8 horas, esto se realizó a una temperatura de 60°C (Boeco ZL 260).

Es recomendable dejar la muestra en reposo hasta que no se evidencie la presencia de burbujas en la mezcla, el reposo en frío tarda más que el reposo en temperatura ambiente (14°C). El xantano a temperatura ambiente puede tardar hasta una semana completa (7 días) para que libere la mayor cantidad de burbujas posible y poderlo servir.

Diagrama 6- 3: Diagrama de flujo de tratamiento de pre-moldeado del xantano



6.2.5 Proceso de secado

El gel de xantano se vertió en un molde de silicona de grado médico y alimenticio (Dmaxia) con medidas de 20 x 20 x 4 mm que previamente había sido lavado con agua destilada y una solución del 10,0% v/v de hipoclorito de sodio, y secado en horno a 100°C.

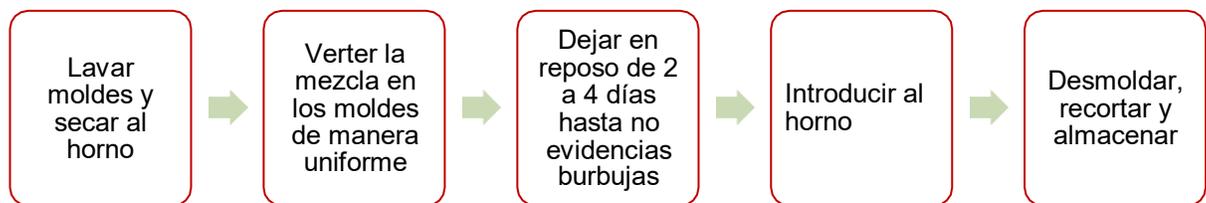
Luego de esto se realizó el modelado, en donde fue necesario usar una linterna o fuente de luz que iluminara el puesto de trabajo, esto para que al verter el xantano en el molde quedará distribuido de una manera uniforme y sin la presencia de burbujas en el fondo, así con la fuente de luz se podía evidenciar el fondo del molde y observar cómo se iba distribuyendo el xantano. Hay que tener en cuenta que se debe tener herramientas como espátula y micro espátula para distribuir el xantano uniformemente y liberar burbujas en el caso que sea necesario.

Por último, el molde debe quedar lleno en su totalidad de xantano, y con la mínima presencia de burbujas. Debido a que al momento de servir pueden quedar pequeñas burbujas en la mezcla del molde, se recomienda dejar los moldes con xantano a temperatura ambiente, para que se libere el aire y las burbujas desaparezcan, de igual forma este proceso sirve para obtener en la película una superficie lisa y uniforme; este tiempo de reposo dependerá de la cantidad de burbujas que hayan

quedado en el momento de servido, aproximadamente en un rango de 2 a 4 días para liberar la mayor cantidad de burbujas posible, es importante resaltar que debe existir un control básico de limpieza y almacenamiento de la muestra para evitar contaminación cruzada.

Posterior a esto se introdujeron en el horno (memmert VOcool) a una temperatura de 30°C durante un lapso de 24 horas para obtener películas secas (Desai, Basu, 2012); cuando finalizó este tiempo se realizó el desmolde de las películas, en este paso se recortaron los bordes de las películas debido a que al secarse el xantano parte de él queda adherido a la superficie de los bordes del molde, por lo tanto, hay que recortar esos bordes para que quede una superficie plana y uniforme en forma de cuadrado de 20x20 mm, luego de esto finalmente se almacenan en bolsas herméticas rotuladas (Composición de la película y fecha de desmolde) para su posterior evaluación química y física.

Diagrama 6- 4: Diagrama de flujo del proceso de secado de las películas delgadas



6.3 Adición de nanoencapsulamientos con candesartán a las películas delgadas de xantano al 5,0% p/v y glicerol 1,0%

Luego de realizar la liofilización de los nanoencapsulamientos se procedió a determinar el porcentaje de nanoencapsulamiento en la muestra. Para esto se re suspendió 30 mg de las dos muestras liofilizadas de 5,0% y 10,0% p/v de glucosa en 1,0 mL de etanol absoluto (JT. Baker) y se agitó durante 24 horas en un vortex y posterior a esto se midió la absorbancia a una longitud de onda a 304 nm, por medio de un espectrofotómetro (Genesys 5, Thermo Electron) usando una celda de cuarzo. Con la curva de calibración construida con soluciones de candesartán en etanol entre 0,0 a 1,0 mg/mL, se calcula la concentración de candesartán no encapsulado, lo que permite calcular el porcentaje de encapsulamiento.

Para la elaboración de la película con incorporación de nanoencapsulamientos se tomó una alícuota de xantano y una parte del producto liofilizado, se incorporaron en un vaso de precipitado y se agitaron (IKA C-MAG HS 7) a 250 min⁻¹ hasta evidenciar que el producto liofilizado estuviera disperso en la muestra del polímero. Luego de esto, para realizar el secado, se siguió el mismo proceso descrito en el numeral 6.2.5.

6.4 Caracterización de las películas

La caracterización de las películas fue un paso fundamental en el desarrollo y cumplimiento del segundo objetivo específico, puesto que permitió analizar cual composición proporcionaba las mejores propiedades a las películas delgadas.

6.4.1 Evaluación de la adhesión

Según morales y McConville, 2011., no existe una prueba de mucoadhesión estandarizada en la literatura, lo que hace que las condiciones experimentales sean diferentes de papel a papel, por lo que la extrapolación y la comparación de los resultados deben ser prudentes. Además, los métodos que dependen del tejido extirpado son propensos a exhibir desviaciones estándar más grandes en comparación con las condiciones *in vitro*.

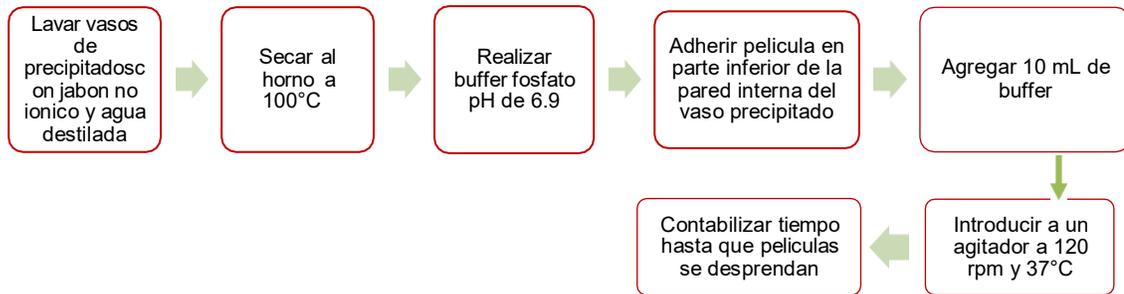
El tiempo de adhesión se halló siguiendo la metodología descrita por (Jay, Fountain, Cui, & Mumper, 2002) en la cual se tomaron 3 vasos de precipitados de 50 mL (Boeco, Germany), los cuales se sometieron previamente a un proceso de lavado con jabón no iónico (Extran, Merck) y agua destilada, posteriormente se secaron en el horno (memmert VOcool) a 100°C y se rotularon (Nombre muestra y fecha).

Terminado el proceso de secado y rotulado se adhirió en la parte inferior de la pared interna de cada vaso de precipitado (Boeco, Germany) una película de solo xantano al 5,0 %p/v (20mm x 20mm).

Posterior a esto se realizó un buffer de fosfatos de pH (DENVER INSTRUMENT, ub-10) 6.8 , que es el pH aproximado de la saliva, (Fosfato de sodio, Dibásico , Anhidro (99,6115%). J.T. Baker) (Sodio dihidrogenofosfato monohidratado (99,3093%). J.T. Baker), para realizar una simulación en la que la película se encontrase expuesta a condiciones orales, teniendo el buffer se añadió 10 mL del mismo a cada vaso de precipitado (Boeco, Germany), luego de esto se introdujeron las muestras en un agitador (Nan Bei MIX-1500) a 120 min⁻¹ a 37°C. Se dio por terminada esta prueba cuando se evidencio el desprendimiento total de las películas de la pared del vaso de precipitado (Morales, McConville, 2011), (Ver figura 7-14).

Este procedimiento se realizó con las películas de xantano al 5,0% p/v más glicerol al 0,5% v/v y xantano al 5,0%p/v más glicerol al 1,0% v/v para evaluar cual presentaba mejores resultados. Al igual, esta prueba se realizó con las películas que tenían incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, para evidenciar si el material (xantano) presentaba alteraciones notables por la incorporación de las nanopartículas a la composición.

Diagrama 6- 5: Diagrama de flujo de la evaluación de la adhesión de las películas



6.4.2 Evaluación del espesor

Para evaluar el espesor de las películas delgadas se usó un calibrador digital (STAINLESS HARDENED 150mm±0,02 mm), para realizar la medida se tomó una de las películas obtenidas y se ubicó entre las mordazas del calibrador digital, posterior a esto las mordazas se fueron cerrando hasta encontrar el punto en el que la mordaza retuviera la película, cabe resaltar que todos los procedimientos se realizaron con guantes de nitrilo para evitar cualquier daño en la superficie de las películas.

Este procedimiento se realizó con las películas de xantano al 5,0% p/v más glicerol al 0,5% v/v y xantano al 5,0%p/v más glicerol al 1,0% v/v para evaluar cual presentaba mejores resultados. Al igual, esta prueba se realizó con las películas que tenían incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, para evidenciar si el material (xantano) presentaba alteraciones notables por la incorporación de las nanopartículas a la composición.

6.4.3 Evaluación de la hidratación de las películas

El grado de hidratación de los polímeros bioadhesivos es un factor importante, puesto que afecta la bioadherencia de la película, al igual cuanto más rápido es la hidratación del polímero más rápido es el inicio de la difusión del fármaco y la formación de enlaces adhesivos dando como resultado un inicio más rápido de la bioadherencia.

Adaptando la metodología descrita por (Gajdošová et al., 2016), se realizó la prueba y el posterior análisis de la evaluación del porcentaje de hidratación que lograron las películas elaboradas, esta prueba aportó información necesaria para determinar el valor de la concentración adecuada de glicerol que necesitaba la muestra para lograr una correcta bioadherencia y un adecuado nivel de hidratación.

El procedimiento se realizó por triplicado para validar estadísticamente los resultados, de este modo se tomaron 3 vasos de precipitados de 50 mL (Boeco, Germany), los cuales se sometieron previamente a un proceso de lavado con jabón no iónico (Extran, Merck) y agua destilada, posteriormente se secaron en el horno (memmert VOcool) a 100°C y se rotularon (Nombre muestra, masa del vaso y fecha).

Terminado el proceso de secado y rotulado se adhirió en la parte baja de la pared interna del primer vaso de precipitado (Boeco, Germany) la película de xantano al 5,0% p/v (20mm x 20mm), luego de esto se tomó nuevamente la masa (Ohaus, Pioneer PA114) de los vasos con las películas adheridas y al igual, el valor de la masa de las películas solas y se añadió al rótulo del vaso este valor.

Posterior a esto se realizó un buffer de fosfatos de pH 6.9, que es el pH aproximado de la saliva, (Fosfato de sodio, Dibásico, Anhidro (99,6115%). J.T. Baker) (Sodio dihidrogenofosfato monohidratado (99,3093%). J.T. Baker), para realizar una simulación en la que la película se encontrara expuesta a condiciones orales, teniendo el buffer se añadió 25 mL en cada vaso, garantizando que las películas quedarán cubiertas en su totalidad con el buffer.

El siguiente paso se basó en la metodología usada por (Malpure & Deore, 2016) que consistió en introducir los 3 vasos de precipitados con la película en su interior en un agitador (Nan Bei, MIX-1500) a 37°C (para simular las condiciones presentes en cavidad oral) a 120 min⁻¹ por un tiempo de 1 hora, en donde cada 10 minutos se trasvaso de cada vaso de precipitado el buffer, se pesó la película y el vaso de precipitado (SIGMA-ALDRICH) y se anotó el dato correspondiente para posteriormente evaluar el porcentaje de hidratación del polímero (Kraisit, Limmatvapirat, Luangtana-Anan, & Sriamornsak, 2018), luego de tomar la masa, se devolvió al vaso de precipitado el buffer y se llevó nuevamente a agitación hasta completar el ciclo de 1 hora.

Este procedimiento se realizó con las películas de xantano al 5,0% p/v más glicerol al 0,5% v/v y las películas de xantano al 5,0% p/v más glicerol al 1,0% v/v para evaluar cual presentaba mejores resultados. Al igual, esta prueba se realizó con las películas que tenían incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, para evidenciar si el material (xantano) presentaba alteraciones notables por la incorporación de las nanopartículas a la composición.

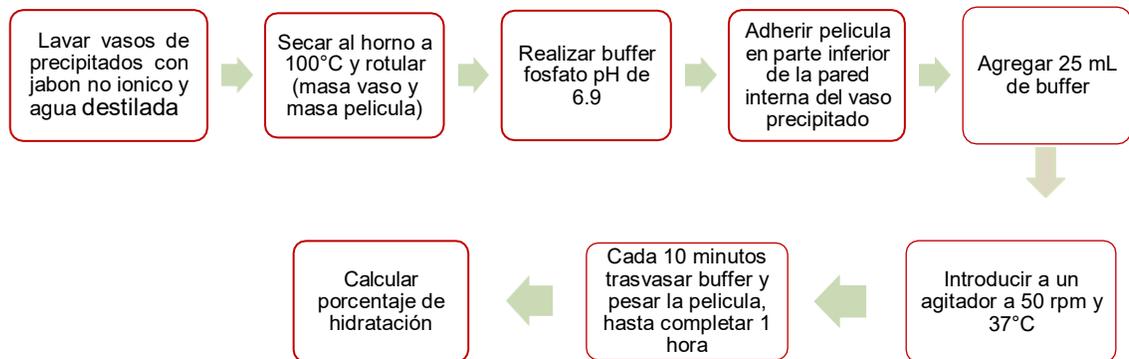
El grado de hidratación del polímero en 1 hora se calculó usando la ecuación (6.1) (Gajdošová et al., 2016):

Ecuación 6. 1: Porcentaje de hidratación

$$IC(\%) = \frac{W2 - W1}{W1} * 100 \quad (6.1)$$

Donde IC (%) corresponde al porcentaje de hidratación de las películas delgadas transcurrido x tiempo en sustancia buffer pH 6.8, $W2$ corresponde al peso final de la película luego de transcurrido x tiempo en sustancia buffer pH 6.8 y $W1$ corresponde al peso inicial de la película, es decir el peso de la película al inicio de la prueba en donde se encontraba totalmente seca.

Diagrama 6- 6: Diagrama de flujo evaluación del porcentaje de hidratación



6.4.4 Evaluación de la composición de la película por medio de Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (EITF)

Por medio del método de Espectrometría Infrarroja con Transformada de Fourier (EITF) descrito por (Robaina et al., 2013), se identificaron los grupos funcionales presentes en la película delgada. Para esto se colocó y evaluó una a una las muestras de xantano, glicerol, candesartán y las diferentes películas realizadas en la celda infrarroja del espectrofotómetro infrarrojo (BRUKER, ALPHA II) Las muestras estuvieron sometidas a una fuente de luz infrarroja, la cual hizo un barrido desde el número de onda de 400 cm^{-1} hasta 1000 cm^{-1} . Dependiendo del espectro infrarrojo obtenido de la muestra se determinaron los grupos funcionales presentes en las muestras y por medio del análisis de resultados se interpretó la estabilidad química de los componentes que conforman la película delgada.

6.4.5 Evaluación de la morfología y composición de las películas por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía digital

Se analizó la morfología y la composición elemental de las películas delgada obtenidas del método de Film Casting por medio de la microscopía electrónica de barrido (MEB) (JEOL, JSM-6490LV).

Para preparar las muestras se debieron secar y limpiar muy bien antes de realizar la prueba, luego de esto las películas (xantano 5,0% solo y con glicerol al 0,5%v/v

y 1,0% v/v) se recortó cada película en 4 pedazos del mismo tamaño (20 mm x10 mm), luego de esto se fijaron empleando una cinta adhesiva de doble cara a un cubo de metal. Posteriormente las muestras se colocaron en la cámara del microscopio electrónico de barrido (JEOL, JSM-6490LV) para el análisis de su composición.

El análisis morfológico solo se hizo a la película delgada con composición de xantano al 5,0%p/v y glicerol al 1,0%v/v, usando un Microscopio electrónico de barrido (LYRA3, Tescan), para esto la primera muestra se cortó en forma de un cuadrado de 10 mm x 10 mm y se adhirió con la ayuda de cinta doble faz a un cubo de metal, mientras que la segunda muestra se introdujo en nitrógeno líquido durante un minuto y posterior a esto, con el uso de pinzas de laboratorio, se realizó una fractura horizontal en la película, lo que permitió observar su composición interna. Realizada la fractura, la película se adhirió con la ayuda de cinta doble faz a otra cara del cubo de metal y se introdujo en la cámara del microscopio electrónico de barrido para realizar el análisis de superficie de la película delgada.

En cuanto a la observación de las películas delgadas por medio de un microscopio óptico digital (CELESTRON) se realizó para evidenciar la superficie de las películas delgadas en 3.7X y 54X y obtener mayor información acerca de la superficie obtenida en las muestras.

6.4.6 Evaluación de la distribución de los nanoencapsulamientos incorporados en las películas delgadas

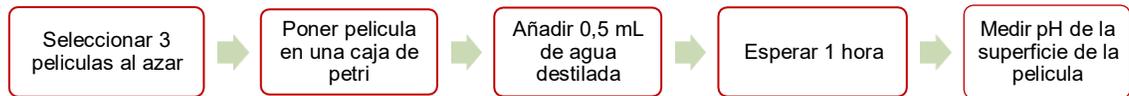
La evaluación de la distribución de los nanoencapsulamientos se realizó por medio de microscopía electrónica de barrido, para esto se tomó una película delgada y se introdujo en nitrógeno líquido durante un lapso de 30 minutos, luego de transcurrido este tiempo y sin sacar la muestra del nitrógeno líquido se realizó la fractura de la película, con la ayuda de pinzas para laboratorio, en 4 pedazos que fueran lo más parecidos posibles, esto para evaluar que los nanoencapsulamientos no se estuvieran concentrando en una sola área de la película si no que estuvieran distribuidos por toda ella, luego de esto se realizó un recubrimiento a la muestra en oro y grafito para brindarle características conductoras y finalmente la muestra se introdujo en el microscopio electrónico de barrido (LYRA3, Tescan).

6.4.7 Medición del pH de la superficie de las películas delgadas

Se determinó el pH de la superficie de la película para evaluar si esta podría causar irritación en la mucosa bucal. El estudio del pH de la superficie se llevó a cabo seleccionando 3 películas al azar y la medición del pH se realizó con un medidor de pH (DENVER INSTRUMENT, ub-10). La película se colocó en una caja de Petri que contenía 0,5 mL (Brand, Duran, Germany) de agua destilada y se dejó durante 1 h. Después de completar la hinchazón, la sonda de pH se colocó en contacto

cercano con la superficie del parche humedecido y se registró el pH para cada película (Shiledar, Tagalpallewar, & Kokare, 2014).

Diagrama 6- 7: Diagrama de flujo para la determinación del pH de la superficie de las películas



6.5 Fase III: Análisis mecánico

6.5.1. Revisión bibliográfica

El análisis mecánico de la película delgada, fue necesario para aportar al desarrollo y cumplimiento del tercer objetivo específico “Evaluar la respuesta mecánica bajo condiciones presentes en mucosa oral, de la película delgada con y sin nanoencapsulamientos, a través de un análisis de elementos finitos (AEF)”, para lograrlo se siguió el procedimiento descrito a continuación.

Para el desarrollo de esta fase fue fundamental realizar una revisión previa en bibliografía y en diferentes bases de datos para establecer el software que permitiera realizar la simulación de la película y al igual que permitiera la alimentación externa de datos por parte del usuario.

Al igual esta revisión permitió identificar los valores de las fuerzas presentes en la cavidad oral, que inducían perturbaciones en la película delgada.

6.5.2 Diseño de modelo 3D de la película

Posterior a la revisión bibliográfica fue necesario realizar un modelo 3D (SolidWorks 2016) de la película mucoadhesiva, este modelo fue el que se sometió a las diferentes perturbaciones, y al que se le hallaron los puntos de máxima perturbación.

Las dimensiones más encontradas en bibliografía y que presentaban los mejores resultados a la hora de la implementación era de 20 mm de largo, 20 mm de ancho y 0,2 mm de espesor.

6.5.3 Extracción de características

Para realizar el análisis por medio de elementos finitos de la respuesta mecánica que tiene la película en cavidad oral, se tuvo en cuenta la metodología planteada por (Hamdi, Puopolo, Pham, & Sue, 2016), en donde se extraen las principales características del material; datos como densidad, peso, grosor, constante elástica y valor del coeficiente de mucoadhesión en cavidad oral, al igual que el valor de las fuerzas descritas en la literatura que pueden perturbar la película mucoadhesiva en la mucosa oral de carrillo, fuerzas como la ejercida por la lengua, los premolares, la saliva, entre otros.

Cabe resaltar que módulo de Young y el coeficiente de Poisson son dos de los parámetros más importantes para realizar este análisis, puesto que caracterizan y relacionan el comportamiento de un material elástico según la dirección en las que se aplican las fuerzas y las deformaciones que se generan como resultado de estas.

De igual forma fue necesario tener en cuenta el valor del ángulo de inclinación del carrillo, puesto que este ángulo podría afectar los resultados en las deformaciones de la película al realizar el análisis computacional.

En cuanto a los datos básicos del xantano fue necesario dirigirse a bibliografía para encontrar valores aproximados en cuanto a resistencia de tracción y tensión de corte, estos valores eran de gran importancia puesto que permitieron determinar el máximo valor de tracción y tensión que podría llegar a resistir la película diseñada, para evidenciar todos los valores utilizados ver tabla 7-11.

Cabe resaltar que algunos de los valores reportados son aproximaciones basadas en bibliografía.

Por último, fue necesario ubicar todas las fuerzas encontradas en un diagrama de cuerpo libre, el cual sirvió para definir los vectores en el software.

6.5.4 Alimentación del software

El software seleccionado debido a que posee licencia gratuita y permite alimentación externa fue Ansys 19.1, de esta forma se insertaron los datos encontrados en el numeral previamente descrito y se creó un nuevo material llamado xantano. Posterior a esto se ubicaron los vectores siguiendo el diagrama de cuerpo libre elaborado anteriormente.

Para que el software permitiera la correcta simulación se debió ajustar una variable denominada soporte, la función de estos soportes permitieron estabilizar el material sobre un eje.

6.5.5 Tipo de enmallado

Para el análisis por medio de elementos finitos se optó por usar el método basado en un enmallado por medio de elementos de tipo dominante hexadecimal, con elementos de segundo orden.

Para establecer el tamaño de los elementos fue necesario el uso de la ecuación descrita por Sandia National Laboratories (6.2).

Ecuación 6. 2: Ecuación para definir el tamaño de los elementos finitos

$$Te = 3 \sqrt{\frac{V_{mod}}{N_{Hex}}} \quad (6.2)$$

Donde:

Te; Tamaño del elemento.

Vmod; Volumen del modelo a analizar.

N Hex; Valor del límite del borde del sólido a analizar.

Teniendo el tamaño de los elementos, el mismo software se encargó de distribuirlos en el volumen total del sólido.

Luego de seguir los pasos antes mencionados se simuló y se evaluaron los resultados obtenidos.

Este análisis mecánico permitió analizar si el biopolímero usado y las dimensiones de la película fueron las ideales para operar en la mucosa del carrillo, y cuales fueron los puntos que más se vieron afectados, esto para entender su funcionamiento mecánico y predecir posibles fallas (Rao, 2014).

Diagrama 6- 8: Diagrama de flujo para el proceso de evaluación de la película por medio de análisis de elementos finitos.



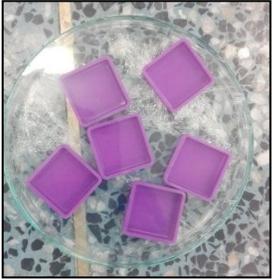
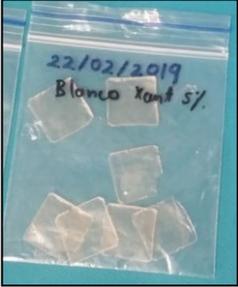
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Fases previas

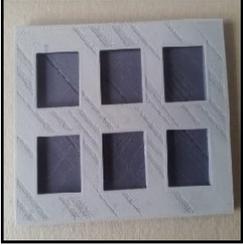
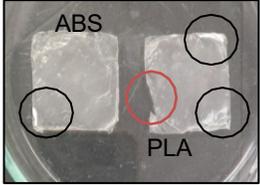
7.1.2 Evaluación del material de elaboración de los moldes

Los materiales utilizados para el diseño de los moldes fueron seleccionados debido a la disponibilidad de materiales, de este modo luego de realizar una búsqueda de materiales disponibles para impresión en 3D, los más asequibles fueron el PLA y el ABS, luego de elaborar dos moldes y probarlos se observó que no funcionaban debido a su rigidez y otros factores que se explican en la tabla 7-1, de este modo se optó por realizar una nueva búsqueda en donde lo más importante fuera el material y se dejó de lado la asequibilidad, de este modo se adquirió un tercer molde en silicona, esta proporcionó mejores resultados que se evidenciaron en la morfología de las películas.

Tabla 7- 1: Moldes empleados para la elaboración de películas delgadas

Material y molde empleado	Ventajas y desventajas	Resultado obtenido
<p data-bbox="391 1031 722 1094">Silicona de grado médico y alimenticio</p>  <p data-bbox="412 1381 704 1409">Fuente: Autores, 2019</p>	<p data-bbox="755 1031 885 1058">Ventajas:</p> <ul data-bbox="755 1062 1068 1293" style="list-style-type: none">-Soporta altas temperaturas (300°C).-Biocompatible-Alta flexibilidad-Facilita desmolde-Fácil de limpiar-No altera el material <p data-bbox="755 1331 933 1358">Desventajas:</p> <ul data-bbox="755 1362 893 1390" style="list-style-type: none">-Alto costo	 <p data-bbox="1094 1323 1393 1818">Fuente: Autores, 2019 Las películas obtenidas con el molde de silicona presentaban una superficie sin trazas de otros materiales, lisa y regular. El desmolde de las películas de los moldes de silicona fue fácil lo cual generó que no se presentaran fracturas en las películas.</p>

Continuación de **Tabla 7-1.**

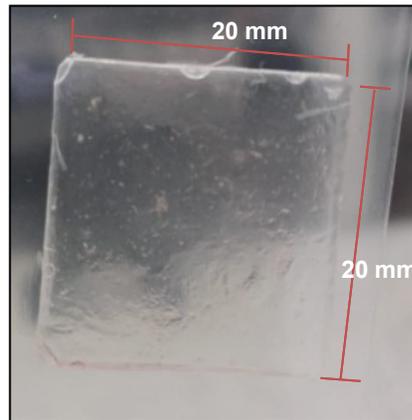
Material y molde empleado	Ventajas y desventajas	Resultado obtenido
<p style="text-align: center;">ABS</p>  <p style="text-align: center;">Fuente: Autores, 2018</p>	<p>Ventajas:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Soporta altas temperaturas (130°C). -Resistente a la humedad. -Económico. <p>Desventajas:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Alta rigidez. -Fue necesario recubrir el molde con aluminio para que las películas se pudieran desmoldar. -No presenta biocompatibilidad, presenta alta toxicidad. - Baja porosidad, mayor definición en cuanto a la forma del molde. 	 <p style="text-align: center;">Fuente: Autores, 2018</p> <p>Los resultados obtenidos con el uso de los moldes de PLA y ABS provocaron que después del secado quedarán trazas de aluminio, esto debido a que en la etapa del secado la película de xantano incorporó al papel aluminio a su morfología, como se señala en negro, lo cual incentivó a realizar una nueva búsqueda de materiales para la elaboración de los moldes.</p> <p>Otro inconveniente fue causado por la alta dureza del material, esto generaba que en el momento de desmolde las películas se fracturaran, como se señala en rojo en la figura antes expuesta.</p>
<p style="text-align: center;">PLA</p>  <p style="text-align: center;">Fuente: Autores, 2018</p>	<p>Ventajas:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Soporta altas temperaturas (96°C). -Fácil adquisición -Económico <p>Desventajas:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Alta rigidez -Deformación cuando se expone a altas temperaturas. -Fue necesario recubrir el molde con aluminio para que las películas se pudieran desmoldar y la mezcla de xantano no se filtrara por los poros que quedaron en el molde. 	<p>Otro inconveniente fue causado por la alta dureza del material, esto generaba que en el momento de desmolde las películas se fracturaran, como se señala en rojo en la figura antes expuesta.</p>

Fuente: (Autores. 2019)

7.1.3 Determinación de concentración de xantano

Para determinar la concentración adecuada para la elaboración de las películas de xantano se eligieron dos concentraciones del 3,0 y del 5,0% p/v respectivamente. Estas películas se realizaron por medio del método de film casting, se analizaron físicamente y se determinó cuales presentaban mejores condiciones de plasticidad, grosor y uniformidad. Las mediciones de grosor de las películas secadas en dos ambientes (en horno y desecador), se realizaron con un calibrador Electronic Digital Caliper 150 mm Precision Measuring, obteniendo los resultados expuestos en la figura 7-1 y 7-2, esto se realizó para evidenciar cual era el método de secado que brindaba mejores características a las películas.

Figura 7- 1: Película obtenida por medio de film casting, glicerol al 5,0% p/v, sin glicerol (Blanco)

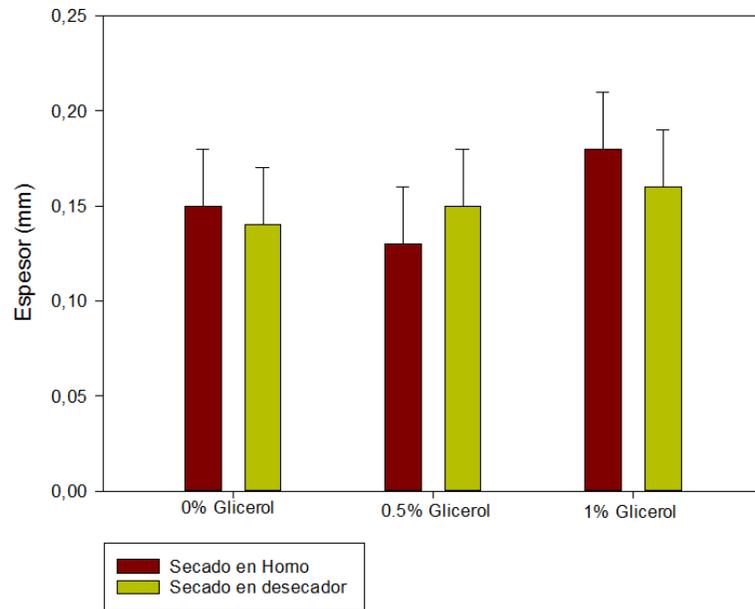


Fuente: (Autores. 2019)

Las películas obtenidas poseían una dimensión de 20 mm x 20 mm \pm 0,02 mm, medidas con el calibrador digital (STAINLESS HARDENED 150 mm \pm 0,02 mm), estas dimensiones se eligieron teniendo en cuenta películas mucoadhesivas bucales planteadas anteriormente en bibliografía (Malpure & Deore, 2016).

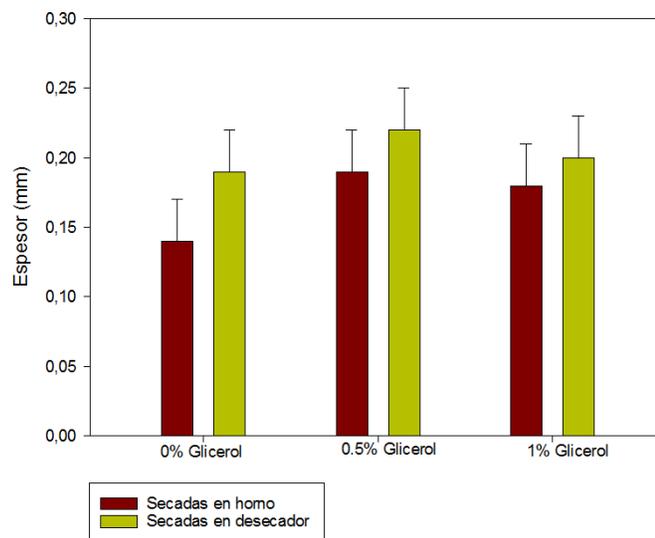
De igual manera los grosores de todas las películas en todas las composiciones fueron evaluadas, los resultados se graficaron y compararon en las gráficas mostradas a continuación.

Figura 7- 2: Espesor de las películas de xantano al 3,0% p/v, secadas en horno y desecador.



Fuente: (Autores. 2019)

Figura 7- 3: Espesor de las películas de xantano al 5,0% p/v, secadas en horno y desecador.



Fuente: (Autores. 2019)

Los valores graficados, se tomaron con un calibrador digital (STAINLESS HARDENED 150 mm \pm 0,02 mm). Comparando las figuras 7-2 y 7-3 se puede evidenciar que los espesores de las películas de xantano de 3,0% p/v fueron menores en comparación con la concentración del 5,0% p/v. Igualmente las películas elaboradas con 3,0% p/v de xantano mostraron una baja tenacidad y elasticidad puesto que al manipularlas se fracturaban con facilidad, debido a la baja concentración de polímero utilizada, esto fue suficiente para descartar esta concentración de polímero y aumentarlo al 5,0% p/v, la cual brindó muy buenos resultados, por lo tanto fue la seleccionada. En cuanto a la concentración de glicerol definida, se descartó la mezcla de xantano sin glicerol y el 0,5% v/v debido a la baja resistencia mecánica, alta fragilidad y baja flexibilidad de estas películas, en comparación con la película elaborada con 1,0% v/v de glicerol.

Por otro lado, en las películas de xantano del 5,0% p/v se observó un mayor grosor cuando eran secadas a temperatura ambiente en desecador, estas películas a pesar que duraban aproximadamente 3 o 4 días en etapa de secado, resultaban con un mayor espesor debido a que el xantano aumentaba su viscosidad a medida que se evaporaba el agua. En cuanto a las películas secadas en el horno a 55°C el proceso de secado fue más rápido, pero no uniforme, por lo tanto, la superficie de las películas quedaba irregular y frágil. En general no hubo una diferencia significativa en cuanto al espesor en las películas secadas en desecador como en horno, excepto en las películas de solo xantano al 5,0% p/v debido a que no contenían glicerol, se fragmentaban más fácilmente durante el desmolde.

Analizando los espesores obtenidos, se puede evidenciar que en comparación con los registrados por (Shiledar, Tagalpallewar, & Kokare ,2014), que corresponden a un parche bucal mucoadhesivo de zolmitriptán que emplean el xantano como polímero mucoadhesivo obteniendo promedios de espesor entre 0,14 a 0,17mm, estos valores medidos con un calibrador a vernier (Mitutoya, Japón). Los valores obtenidos en las películas de xantano no se alejan de esos valores referencia. Esto indica que la metodología usada presenta resultados favorables para la obtención de espesores dentro de los rangos permitidos en la implementación de películas mucoadhesivas.

7.2 Fase I: Criopreservación

El proceso más comúnmente utilizado que permite convertir soluciones o suspensiones en sólidos de suficiente estabilidad para su distribución y almacenamiento en el campo farmacéutico es la liofilización. El secado por congelación, también conocido como liofilización, es un proceso industrial que consiste en eliminar el agua de una muestra congelada por sublimación y desorción al vacío. Sin embargo, este proceso genera varias tensiones durante las etapas de congelación y secado. Por lo tanto, generalmente se agregan protectores a la

formulación para proteger las nanopartículas del estrés por congelación y desecación (Abdelwahed, Degobert, Stainmesse, & Fessia, 2006).

El crioprotector empleado fue la glucosa debido a que es uno de los crioprotectores más populares encontrados en la literatura para secado por congelación de nanopartículas y es comúnmente empleado como estabilizador durante la liofilización de productos farmacéuticos. Además, tiene características como posee un bajo punto de transición vítrea ($T_g < 60$) y una presión osmótica ($\pi > 0.2$), (Yue, Li, Dan, et al. 2014), además a concentraciones bajas mantiene la morfología y el tamaño de las nanopartículas y no permite su agregación. Por tanto, se optó por tomar dos concentraciones de glucosa al 5,0%p/v y 10,0%p/v según condiciones registradas en bibliografía (Saez, Guzmán, Molpeceres, & Aberturas, 2000).

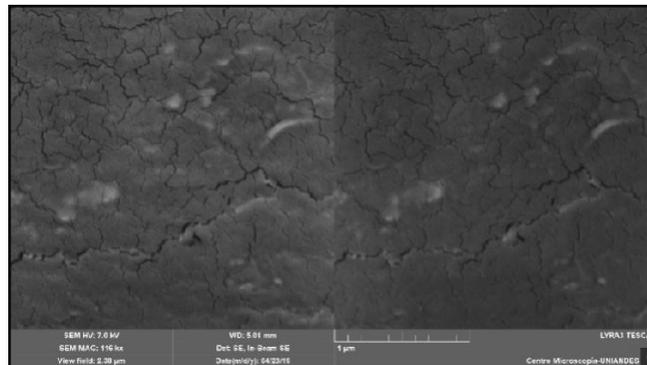
7.2.1 Proceso de criopreservación

Luego de obtener los nanoencapsulamientos se le adicionaron las soluciones de glucosa (SIGMA-ALDRICH, 99,5%) del 5,0% p/v y del 10,0% p/v y se llevaron a liofilizar las muestras, durante un tiempo de 12 horas y a una temperatura de -51°C .

7.2.2 Evaluación por medio de microscopía electrónica de barrido de la morfología y el tamaño de los nanoencapsulamientos realizados con adición de criopreservante al 5,0% y 10,0% p/v de glucosa

Para evidenciar cual fue la concentración de criopreservante que mostraba mejores resultados se realizó a las muestras una evaluación morfológica por medio de microscopía electrónica de barrido, obteniendo las micrografías expuestas de las figuras 7-4 a 7-9. Se realizó un proceso de análisis de imagen para obtener el tamaño de los nanoencapsulamientos por medio del software Fiji de ImageJ.

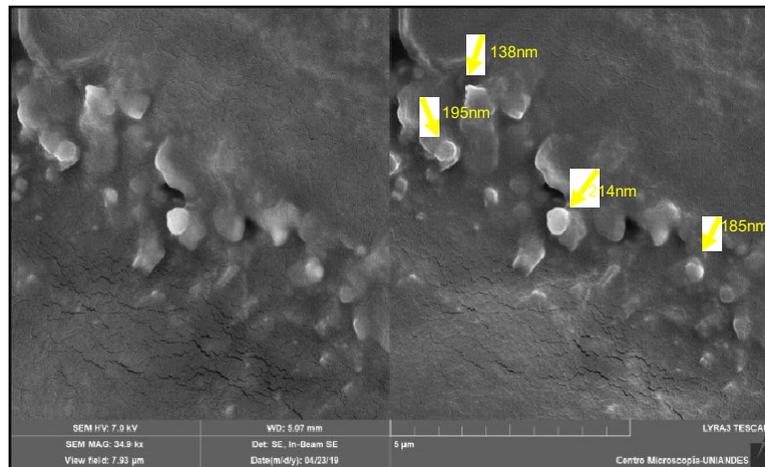
Figura 7- 4: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 5,0% p/v de glucosa, a una resolución de 116 kx y una escala de $1\ \mu\text{m}$



Fuente: (Autores. 2019)

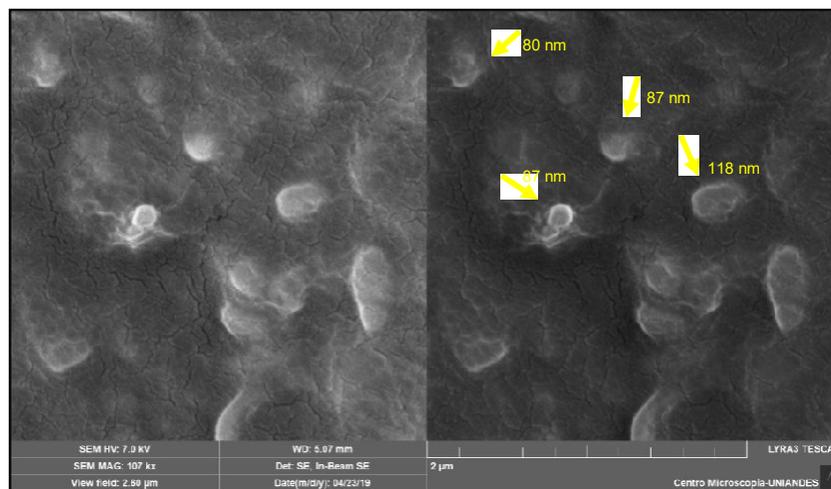
Se puede evidenciar en la figura 7-5 la distribución de los nanoencapsulamientos sin candesartán obtenida luego de realizar la liofilización de los nanoencapsulamientos con un 5,0% p/v de glucosa. De este proceso se lograron obtener nanopartículas con tamaños entre los 138 nm hasta los 214 nm aproximadamente.

Figura 7- 5: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 5,0% p/v de glucosa, a una resolución de 34.9 kx y una escala de 5 μm



Fuente: (Autores. 2019)

Figura 7- 6: Micrografía 2 obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 5,0% p/v de glucosa, a una resolución de 107 kx y una escala de 2 μm

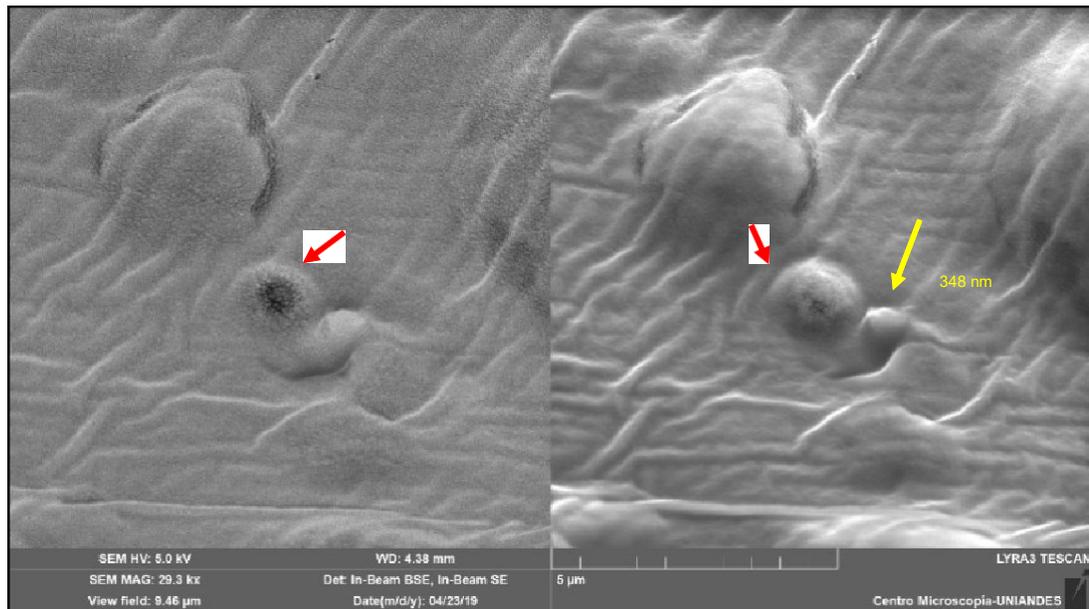


Fuente: (Autores. 2019)

Luego de analizar por medio de microscopía electrónica de barrido varias secciones de la muestra de nanoencapsulamientos sin candesartán liofilizadas con el uso de 5,0% p/v de glucosa como criopreservante, se hallaron nanopartículas de menor tamaño, como las expuestas en la figura 7-6, se observa que la mayoría de los nanoencapsulamientos mantuvieron su morfología, debido a su naturaleza lipídica, mantuvieron su forma ovalada y marcada en los bordes. En cuanto al tamaño estas partículas se encontraban dentro de un rango de 80 nm a 118 nm, al igual, se mantuvo su proporción y los tamaños establecidos para los nanoencapsulamientos, sin agregarse, que son factores que pueden afectar su funcionalidad, lo que demuestra que el proceso de criopreservación glucosa al 5,0%p/v fue suficiente para mantener la morfología y el tamaño de los nanoencapsulamientos durante el proceso de liofilización.

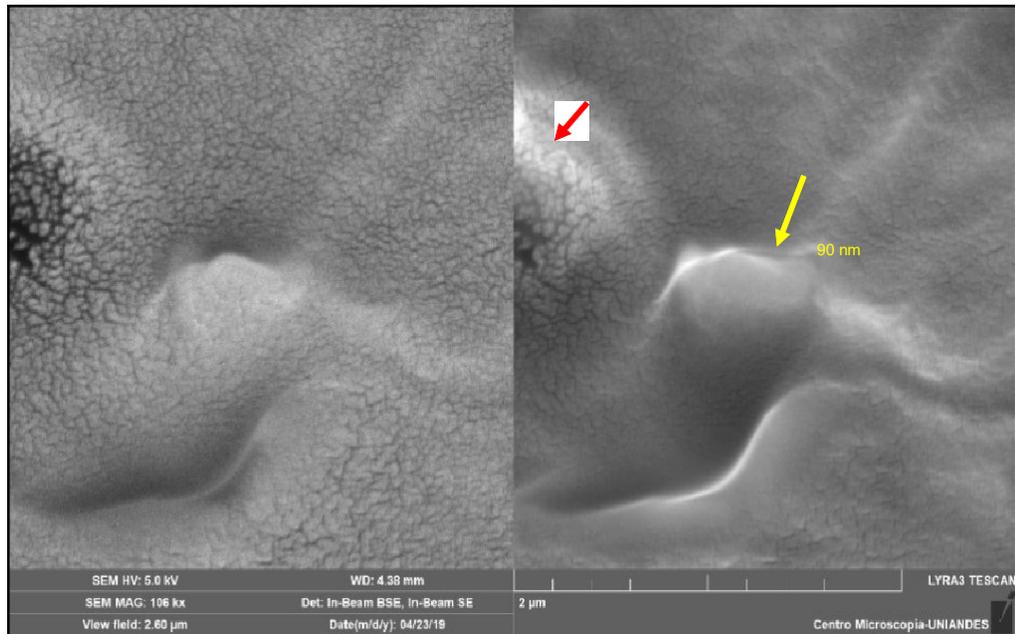
Posteriormente se evaluaron las muestras liofilizadas con el uso de glucosa al 10,0%p/v como criopreservante.

Figura 7- 7: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 10,0% p/v de glucosa, a una resolución de 29.3 kx y una escala de 5 μ m



Fuente: (Autores. 2019)

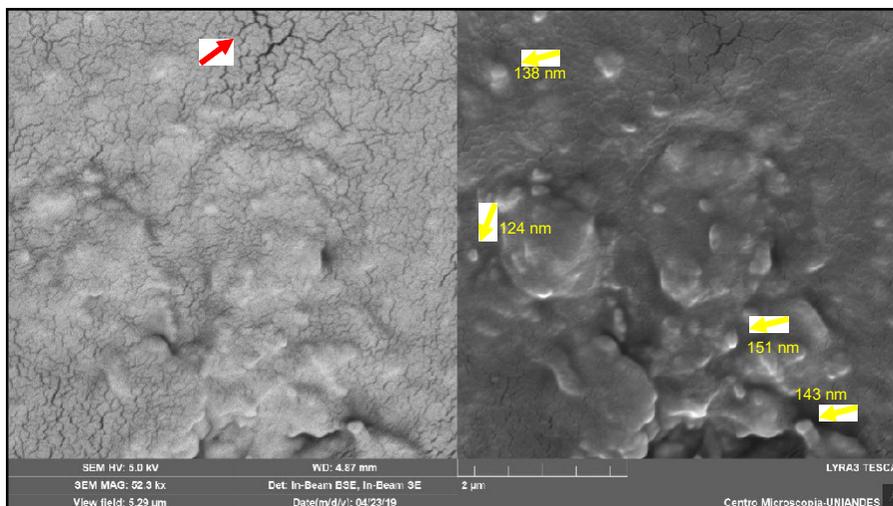
Figura 7- 8: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos sin candesartán al 10,0% p/v de glucosa, a una resolución de 106 kx y una escala de 2 μm



Fuente: (Autores. 2019)

En la figura 7-7 y 7-8 se observan micrografías de los nanoencapsulamientos sin candesartán liofilizados con el uso de 10,0% p/v de glucosa, en estas imágenes se puede evidenciar señalado en rojo la existencia de un proceso de degradación de la muestra, esto se debe a que el material del que se encontraban compuestos los nanoencapsulamientos se vio irradiado por un valor de energía mayor al valor que era capaz de soportar, esta degradación provocó un daño en parte de la muestra, de tal manera que no se lograron observar los nanoencapsulamientos en su totalidad, sin embargo se pudieron obtener las micrografías antes expuestas en las cuales se evidencian nanoencapsulamientos con tamaño de 348 nm, este valor relativamente alto y la poca uniformidad morfológica de los nanoencapsulamientos, hacen pensar que la concentración de criopreservante utilizado no fue tan eficiente al momento de mantener el tamaño de los nanoencapsulamientos en el proceso de liofilización, en comparación con el uso de glucosa al 5,0% p/v como criopreservante y los tamaños de nanoencapsulamientos expuestos en la figura 7-6.

Figura 7- 9: Micrografía obtenida de muestra liofilizada de nanoencapsulamientos con candesartán al 10,0% p/v de glucosa, a una resolución de 52.3 kx y una escala de 2 μm



Al realizar la observación de los nanoencapsulamientos con candesartán liofilizados usando 10,0 %p/v de glucosa como criopreservante, las muestras nuevamente entraron en un proceso de degradación que no facilitó la observación de las nanopartículas, sin embargo, se logró obtener una micrografía expuesta en la figura 7-9, en donde se evidencia la presencia de nanoencapsulamientos con tamaños entre los 124 nm y 151 nm aproximadamente, que se encuentran señalados en amarillo y la degradación en proceso, que se puede evidenciar señalada en rojo.

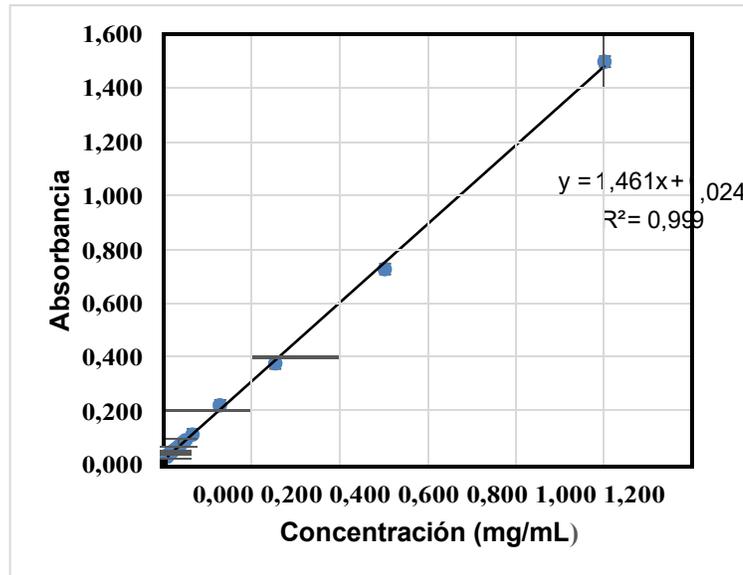
De igual forma estudios previos realizados por De Chasteigner informaron la liofilización de nanocápsulas de polilactida con 10,0%p/v de glucosa, pero los liofilizados producidos mostraron un aumento de dos veces su tamaño después de la redispersión en agua. Los autores explicaron este resultado mediante un agrupamiento de nanoencapsulamientos (De Chasteigner et al.1995). Esto puede explicar el aumento del tamaño en un 46,0% de los nanoencapsulamientos realizados con criopreservación de glucosa al 10,0%p/v en comparación con los preparados con glucosa al 5,0% p/v.

7.2.3 Determinación de candesartán en las muestras criopreservadas

Partiendo de la información encontrada en investigaciones previas del proyecto macro, las cuales abarcaron el estudio de la concentración de candesartán libre después de la preparación de los hidrogeles de Quitosano-miglyol, y teniendo en cuenta la curva de calibración de candesartán ya determinada en el estudio antes mencionado y expuesto en la Figura 7-10, se procedió a determinar la concentración

de candesartán que fue encapsulada en las muestras de nanoencapsulamientos liofilizados.

Figura 7- 10: Curva de calibración del método espectrofotométrico UV. Absorbancia en función de la concentración de candesartán en mg/mL.



De este modo, teniendo la gráfica expuesta en la figura 7-10 se procede a despejar de la ecuación de linealización la variable “x” que corresponde a la concentración (mg/mL) de candesartán presente en la muestra. Posterior a esto se reemplaza en “y” el valor de la absorbancia y se resuelve la ecuación (ver ecuación 7.1) de este modo se obtienen los resultados expuestos en la tabla 7-2.

Ecuación 7. 1: Determinación de la concentración de candesartán

$$x = \frac{y}{1,461} - 0,024$$
$$x = \frac{0,712}{1,461} - 0,024$$
$$x = 0,47 \frac{mg}{mL}$$

Tabla 7- 2: Concentración de candesartán contenido en muestras de nanoencapsulamientos liofilizados

Tipo de muestra	Absorbancia	Concentración de candesartán libre
Nanoencapsulamientos con candesartán criopreservados con 5,0% p/v glucosa	0,712	0,47 mg/mL
Nanoencapsulamientos con candesartán criopreservados con 10,0% p/v glucosa	0,814	0,54 mg/mL

Teniendo en cuenta la concentración de candesartán libre, se halló el porcentaje de candesartán encapsulado en la muestra, como se puede observar en la gráfica 7-3.

Tabla 7- 3: Resultados de porcentaje de encapsulamiento de candesartán en los hidrogeles de quitosano-miglyol elaborados.

Masa inicial de candesartán (mg) en 33,3 mL de suspensión de hidrogel	Concentración de candesartán en sobrenadante (mg/mL)	Porcentaje de encapsulamiento (mg/mL)
25,8 mg/mL	0,47	38,96%
	0,54	29,87%
Promedio encapsulado		34.40%

7.2.4 Incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán en las películas delgadas.

Debido a que el procedimiento planteado en el numeral 6.3 para incorporar los nanoencapsulamientos en la película no brindó resultados favorables debido a que el producto liofilizado no se distribuyó en la mezcla de xantano, si no por el contrario se aglomero dentro del polímero, se optó por modificarlo, de este modo se realizó primero la determinación de la cantidad de nanoencapsulamientos que se debía incorporar en la película, esta vez en solución acuosa ya que tenían una mayor facilidad de incorporarse en la mezcla de xantano, luego se sirvió la mezcla en el molde y por último se dejó secar.

Para determinar la cantidad de solución de nanoencapsulamientos que debían incorporarse a la película se partió de información del porcentaje de encapsulamiento obtenido en un proyecto previo ligado al proyecto de investigación macro, en donde se obtuvieron porcentajes de encapsulamiento de candesartán del 33%, teniendo en cuenta este estudio se halló el valor el porcentaje de encapsulamiento de candesartán que corresponde a 34,4% (Ver tabla 7-3). De igual

manera se sabe que el candesartán tiene una ventana farmacológica de 4 a 32 mg/día (Husain et al., 2011).

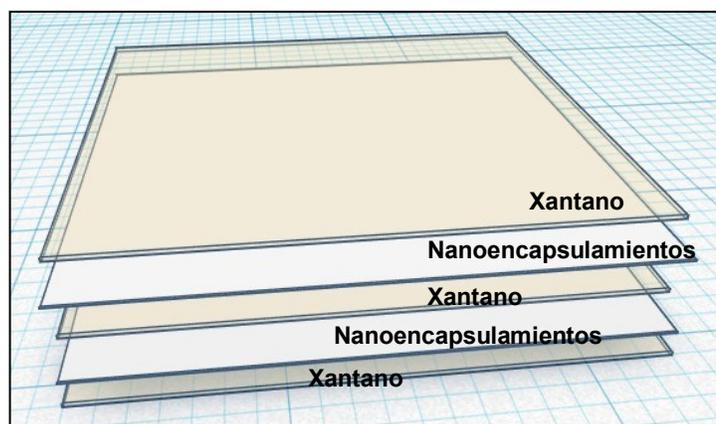
De esta manera se incorporó un valor aproximado de 100 mg de nanoencapsulamientos con candesartán por película (Ver figura 7-6), que corresponde a una película con 8,87 mg de candesartán (Ver ecuación 7.2).

Ecuación 7. 2: Valor de candesartán por película

$$\begin{aligned} \text{Masa candesartán} \times \% \text{ encapsulamiento} &= \text{concentración candesartán película} \\ 25,8\text{mg} \times 0,3440 &= 8,87\text{mg} \end{aligned}$$

Finalmente para la elaboración de las películas, primero se adicionó una capa delgada de xantano que no presentaba burbujas, con la ayuda de una micro espátula, luego de esto se usó una cuchara para laboratorio y se tomó aproximadamente la mitad de la solución de nanoencapsulamientos antes pesada, se adiciono sobre el centro de la película y se esparció con la parte convexa de la cuchara, de manera cuidadosa para no causar la agregación de los nanoencapsulamientos, para lograr esto fue necesario que no se pasara la cuchara dos veces sobre el mismo lugar en donde ya se habían esparcido nanoencapsulamientos, luego se procedió a agregar nuevamente otra capa delgada de xantano, seguida nuevamente de otra capa conformada por la mitad restante de solución de nanoencapsulamientos y se finalizó con una capa de xantano que llenó el espacio restante del molde (ver figura 7-11).

Figura 7- 11: Diagrama de ubicación de capas para la realización de la película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán



Fuente: (Autores. 2019)

Posteriormente se dejó reposar la muestra durante media hora (ver figura 7-12), pasado este tiempo las muestras se introdujeron en el horno (memmert VOcool) a una temperatura de 30°C durante 24 horas para obtener películas secas (Desai, Basu, 2012); cuando finalizó este tiempo se realizó el desmolde de las películas, en este paso se recortaron los bordes de las películas debido a que al secarse el xantano parte de él queda adherido a la superficie de los bordes del molde, por lo tanto, hay que recortar esos bordes para que quede una superficie plana y uniforme en forma de cuadrado de 20x20 mm, luego de esto finalmente se almacenan en bolsas herméticas rotuladas (Composición de la película y fecha de desmolde) para su posterior evaluación química y física.

Figura 7- 12: Películas de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v con adición de nanoencapsulamientos con candesartán en etapa de secado.



Fuente: (Autores. 2019)

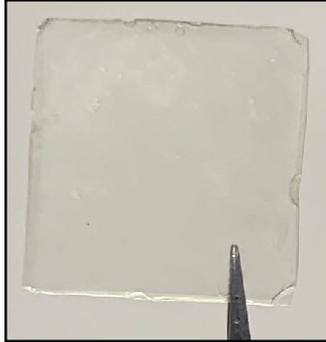
7.3 Fase II: Análisis de películas delgadas obtenidas por medio de film casting

El polímero elegido para realizar las películas mucoadhesivas fue el xantano. Químicamente, el xantano es un polisacárido que tiene propiedades polianiónicas debido a los grupos carboxílicos y tiene una muy buena resistencia bioadhesiva (Kaur, Singh y Tiwary, 2010). Como tiene excelentes propiedades reológicas, este polímero se utiliza en muchas aplicaciones, principalmente en la industria alimentaria como agente espesante, de suspensión y estabilizante (Psomas, Liakopoulou-kyriakides, & Kyriakidis, 2007). El xantano también se ha utilizado como aglutinante y excipiente mucoadhesivo de liberación controlada para la administración de fármacos bucales. Además, se considera no tóxico y no irritante a los niveles empleados como excipiente farmacéutico (Shiledar, Tagalpallewar, & Kokare ,2014).

De este modo se realizaron películas delgadas mucoadhesivas de xantano con y sin nanoencapsulamientos como las que se muestran en la figura 7-13, a estas películas se les realizaron pruebas para evaluar la adhesión, el hidratación, el pH, el grosor y el peso, esto para evidenciar si existían cambios en el comportamiento del material a causa de la incorporación de nanoencapsulamientos, cambios tales

como menor adhesión o menor capacidad de hidratación, los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Figura 7- 13: Película delgada mucoadhesiva con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán.



Fuente: (Autores. 2019)

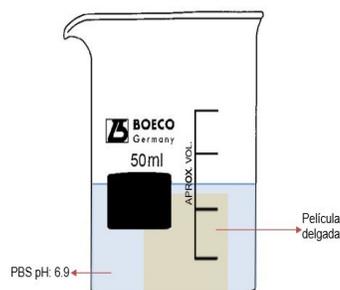
7.3.1. Evaluación de la adhesión

Las películas colocadas en el fondo de un vaso de precipitado de 50 mL y ubicadas dentro del agitador a 120 min^{-1} y 37°C , se revisaron a diario, obteniendo como resultado un tiempo de adhesión de 6.16 días (148 horas).

Al inicio de la prueba se evidenció la hidratación del polímero que se encontraba en contacto con el buffer de fosfatos 6.8, en el transcurso de los 3 primeros días (72 horas) de la prueba no se evidenció desprendimiento alguno de las películas adheridas a los vasos, al día 4 (100 horas) los bordes de las películas fueron disolviéndose y desprendiéndose de las paredes de los vasos de precipitado, esto por la acción de la temperatura y el buffer. Finalmente, luego de transcurridos los 6 días (138 horas) parte del buffer se evaporó y se evidenció que ninguna película estaba adherida a la pared de los vasos.

En cuanto a las películas con incorporación de nanoencapsulamientos, tuvieron un tiempo de adhesión total de 120 horas (5 días). Se puede inferir que la reducción en el tiempo de adhesión comparada con el tiempo que se obtuvo con las películas sin nanoencapsulamientos, se debió a que la composición de la película no solo estaba constituida por xantano si no por una parte de nanoencapsulamientos lo que generaba un aumento en el peso de la película, este aumento en el peso pudo ser el causante de la diferencia entre el tiempo de adhesión de las películas con y sin nanoencapsulamientos.

Figura 7- 14: Condición experimental para la determinación del porcentaje hidratación y tiempo de adhesión de la película delgada



Fuente: (Autores. 2019)

En la figura 7-14 se puede evidenciar la correcta ubicación de la película para realizar las pruebas de adhesión e hinchazón.

7.3.2 Evaluación del espesor

7.3.2.1 Evaluación del espesor de las películas delgadas

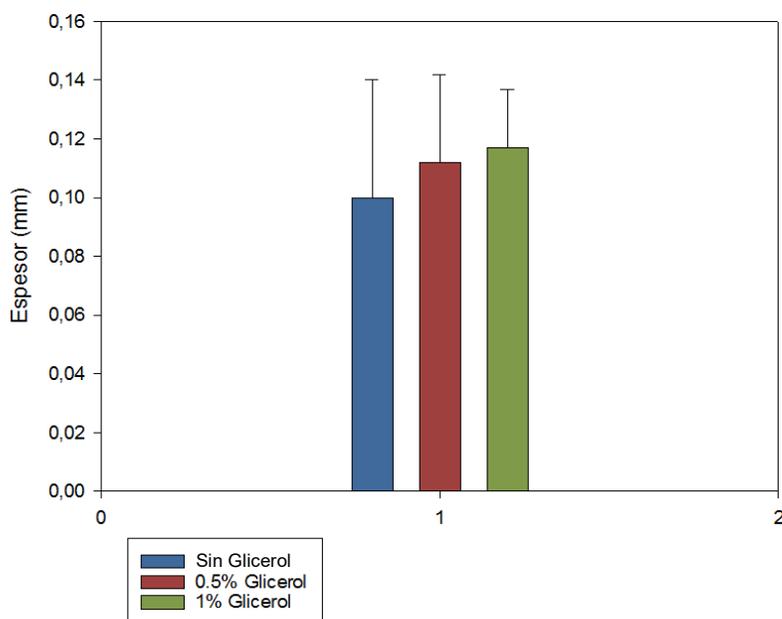
La evaluación del espesor se realizó en promedio a seis películas de xantano al 5,0% p/v de cada concentración de glicerol (0,5% y 1,0% v/v) y la mezcla de xantano sin glicerol, obteniendo los espesores mostrados en la tabla 7-4.

Tabla 7- 4: Espesores películas de xantano 5,0%p/v secadas en el horno a 30°C.

N° prueba	[Sin glicerol] mm±0,02 mm	[Glicerol] (0,5%v/v) mm±0,02 mm	[Glicerol] (1,0%v/v) mm±0,02 mm
1	0,12 mm	0,07 mm	0,15 mm
2	0,10 mm	0,12 mm	0,12 mm
3	0,14 mm	0,14 mm	0,12 mm
4	0,12 mm	0,16 mm	0,11 mm
5	0,09 mm	0,08 mm	0,09 mm
6	0,03 mm	0.10mm	0,11 mm

Los valores de la tabla 7-4 se graficaron y compararon en la figura 7-15, cabe resaltar que no se encuentran diferencias significativas entre sus medidas, a pesar de que el espesor aumente a medida que se le adiciona glicerol en las diferentes concentraciones a cada mezcla de xantano.

Figura 7- 15: Espesor de películas de xantano al 5,0% p/v, con una incertidumbre de 0.03mm



Fuente: (Autores. 2018)

La media de las películas de solo xantano fue 0,10 mm \pm 0,02 mm, con 0,5% de glicerol fue de 0,11 mm \pm 0,02 mm y del 1% de 0,12 mm \pm 0,02 mm. El promedio del espesor de las películas fue tomado a 6 películas por composición y se determinó una distribución t-student del 95% de confiabilidad.

La distribución t-student proporcionó un espesor que se encontraba dentro de un rango de entre 0,095 a 0,125 mm, estos valores en comparación con los expuestos por (Shiledar, Tagalpallewar, & Kokare ,2014) de un parche bucal mucoadhesivo de zolmitriptán que emplean el xantano como polímero mucoadhesivo en donde el espesor promedio estos parches varió de 0,14 a 0,17 mm, se puede deducir que se obtuvo un espesor menor en las películas del artículo, ya que esta se realizó sin agregar el fármaco.

La incertidumbre fue mayor para las películas con composición de xantano al 5,0% p/v y sin adición de glicerol debido a que su fragilidad y aleatoria distribución del xantano al momento de secado, generaron valores que oscilaron desde el mínimo espesor hasta valores de espesor cercanos a los obtenidos en las películas con adición de 0,5% y 1,0% v/v de glicerol.

7.3.2.2 Evaluación del espesor de las películas delgadas con incorporación de nanoencapsulamientos de candesartán

Se midió el grosor de las películas con incorporación de nanoencapsulamientos por triplicado obteniendo los resultados expuestos en la tabla 7-5.

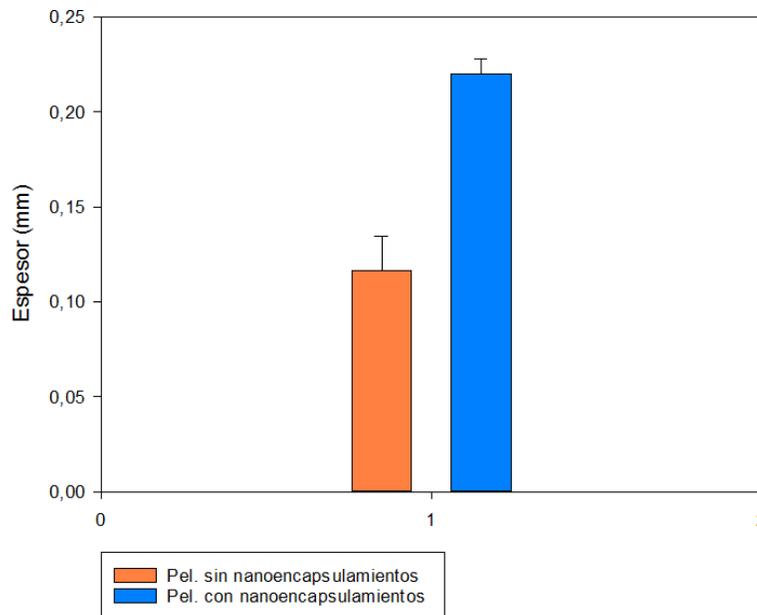
Tabla 7- 5: Espesores obtenidos de películas delgadas de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán

N° prueba	Masa agregada de solución de nanoencapsulamientos	Espesor (mm±0,02 mm)
P1	101,1 mg	0,22 mm
P2	104,1 mg	0,23 mm
P3	102,0 mg	0,21 mm

Las películas elegidas para la incorporación de nanoencapsulamientos fue de xantano al 5,0%p/v y glicerol al 1,0% v/v. En la figura 7-16 se puede observar la comparación del espesor de las películas con y sin incorporación de nanoencapsulamientos, la gráfica permite evidenciar que existió un aumento en el espesor de las películas con nanoencapsulamientos con respecto a las películas sin nanoencapsulamientos, esto debido a que al agregar estas nanopartículas, hubo una adición de masa a la película, la cual se evidenció con un aumento en el espesor de las mismas.

En cuanto al espesor promedio de las películas con nanoencapsulamientos fue de 0,22 mm ±0,02 mm y sin nanoencapsulamientos 0,12 mm ±0,02 mm. El promedio de espesor se realizó a 3 películas con nanoencapsulamientos y se determinó una distribución t-student del 95% de confiabilidad, el cual estuvo en un rango de entre 0,20 a 0,24 mm. En comparación con los registrados en literatura (Shiledar, Tagalpallewar, & Kokare ,2014) en donde el espesor promedio de todas las películas mucoadhesivas varió entre 0,14 a 0,17 mm, lo que indica que los resultados obtenidos superaron el rango promedio de las películas registradas en literatura, teniendo en cuenta la cantidad de fármaco agregado a cada película fue de 100,0 mg en comparación a la registrada en literatura (Shiledar, Tagalpallewar, & Kokare ,2014), que fue 40 veces menor. Por tanto, se puede decir que el promedio de espesores obtenidos de la película de xantano con nanoencapsulamientos aumentaron casi al doble que las películas sin nanoencapsulamientos, además se encuentran dentro los rangos normales para una película mucoadhesiva con el fármaco nanoencapsulado para la cavidad oral.

Figura 7- 16: Comparación espesor de películas de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v sin y con adición de nanoencapsulamientos con candesartán.



Fuente: (Autores. 2019)

7.3.3. Evaluación de la hinchazón y la masa

7331 Evaluación de la hinchazón y la masa de las películas delgadas sin incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán

El grado de hidratación de los polímeros bioadhesivos es un factor importante ya que afecta la bioadherencia de la película, es decir cuánto más rápido es la hidratación del polímero más rápido se da el inicio de la difusión del fármaco y la formación de enlaces adhesivos. (Morales, McConville, 2011)

Teniendo en cuenta lo antes mencionado, en la tabla 7-6 se puede evidenciar como la película a base de xantano aumenta su peso de manera proporcional al tiempo, esto se debe a la alta capacidad de absorción de líquido que posee este polímero, lo que a su vez le permite adherirse a la superficie del vaso. Cabe resaltar que la película durante el tiempo del experimento nunca se degradó en su totalidad y se mantuvo adherida en el fondo del vaso.

Por medio de la ecuación 6.1, se pudo determinar el porcentaje de hidratación, los resultados pueden observarse en la tabla 7-6.

Tabla 7- 6: Porcentajes de hidratación (%H) de películas delgadas de xantano sin incorporación de nanoencapsulamientos.

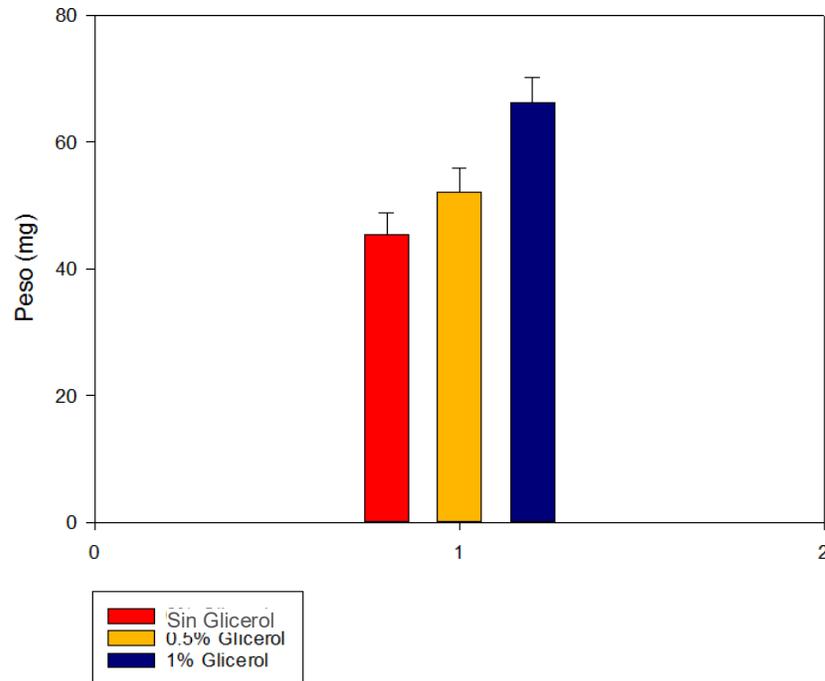
N° prueba	[Glicerol] (%v/v)	Peso películas (mg±0.2)	% H (0min)	% H (10min)	% H (20min)	% H (30min)	% H (40min)	% H (50min)	% H (60min)
1	1,0	71.3	0	7,83	10,04	10,94	11,74	12,57	12,59
2	1,0	61.7	0	10,57	10,92	11,03	11,85	12,69	13,27
3	1,0	65.7	0	8,32	10,56	11,08	11,73	17,35	20,69
1	0,5	51.	0	13,15	15,30	17,51	19,05	22,11	23,23
2	0,5	47.8	0	26,35	19,60	20,36	25,96	28,90	33,11
3	0,5	57.1	0	18,46	26,05	25,84	31,00	31,92	32,34
1	0	43.3	0	13,95	17,10	19,83	22,16	25,77	26,73
2	0	42.3	0	13,45	15,38	16,12	19,85	25,87	29,27
3	0	50.2	0	11,97	15,58	16,11	17,84	22,36	23,14

En cuanto al peso promedio de las películas mucoadhesivas sin nanoencapsulamientos se obtuvieron valores que variaban de película a película dependiendo de su composición respecto a las concentraciones de glicerol (sin glicerol, 0,5% y 1,0% v/v), las pruebas estadísticas se realizaron por triplicado, tomando el peso de tres películas de la misma concentración para luego realizar una distribución t-student del 95,0% de confiabilidad dando como resultado un rango entre 47.30 a 61.84 mg.

Estos resultados, en comparación con los resultados obtenidos por (Shiledar, Tagalpallewar, & Kokare ,2014) en donde se obtuvieron películas delgadas a base de xantano con adición de otros componentes, en un rango de 64 a 80 mg, presentan valores de masas altas, posiblemente por la formulación que usan los autores en el artículo.

Por otro lado, como se observa en la Figura 7-17 las películas con glicerol al 1,0% v/v aumentan su peso debido a que las moléculas de glicerol son pequeñas y presentan una gran capacidad para interaccionar con las cadenas del polímero, lo que mejora la movilidad molecular y de este modo aumenta el volumen libre en la matriz de la película. Se obtuvieron diferencias significativas en cuanto al peso de las películas de xantano debido a la concentración de glicerol que se le adicionó a cada una, es decir las películas del 1,0% v/v de glicerol aumentaron su peso en una mayor magnitud en comparación con las películas al 0,5% v/v de glicerol y sin adición de glicerol.

Figura 7- 17: Peso en miligramos de películas de xantano al 5,0% p/v



Fuente: (Autores. 2018)

En la figura 7-18 se puede observar el porcentaje de hidratación en buffer de pH 6.9, obtenido durante 1 hora, medido cada 10 minutos de las películas del 5,0% p/v de xantano y con 1,0% v/v de glicerol, con una incertidumbre de 4,97% y las películas realizadas con adición de 0,5% v/v de glicerol, poseían una incertidumbre del 10%, en cuanto a las películas sin adición de glicerol su incertidumbre fue de 8,25%.

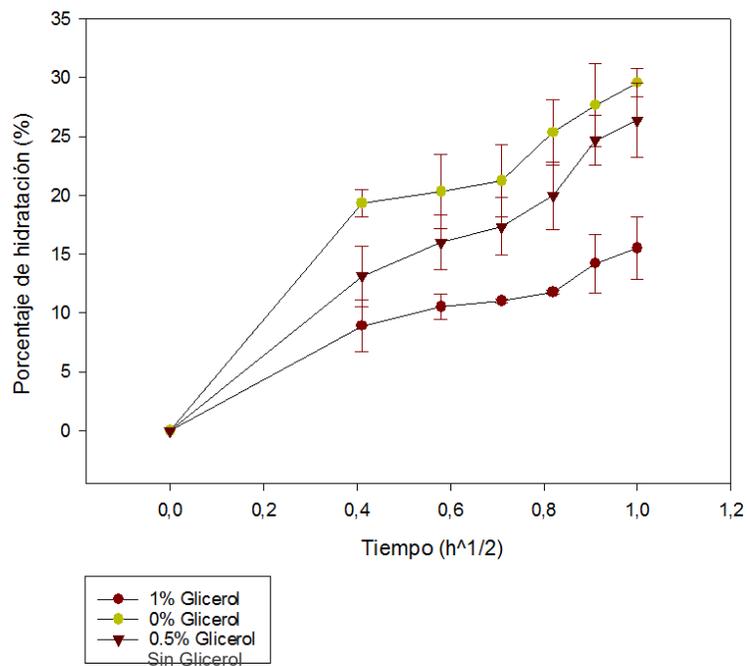
El porcentaje de hidratación de las películas se determinó por medio de la t-student con una confiabilidad del 95,0% y se registró dentro de un rango de 13,57% y 18,13 % de hidratación, donde se evidencia que el mayor porcentaje de hidratación ocurre en las películas de xantano con el 0,5% v/v de glicerol.

En cuanto a las películas que presentaron mayor incertidumbre, se obtuvieron las que no poseían adición de glicerol y 0,5% de glicerol, una de las posibles razones fue que debido a que su alta capacidad de hidratación, estas películas se deshacían o quedaban partes de esta en el buffer, por tanto al pesar la película se tomaban pesos con el buffer lo que podía variar el porcentaje de hidratación de estas dos películas en comparación con las películas del 1,0%v/v de glicerol, las cuales mantuvieron su estructura durante toda la prueba. Por otro lado, se puede observar que hay diferencia significativa entre el porcentaje de hidratación, de las películas

sin adición de glicerol y con adición de 0,5% v/v en comparación con las películas del 1%v/v de glicerol. Esto se debe a la mayor capacidad de hidratación que tienen las películas sin glicerol como el 0,5% debido a que no poseen tanto plastificante.

El alto porcentaje de hidratación obtenido en la película de solo xantano al 5,0% p/v pudo ser producido debido a que el xantano es un polímero aniónico hidrofílico, tiene una afinidad mucho mayor por el agua de tal modo que cuando la película se coloca en un medio acuoso, se forma un gel debido al desenrollamiento de la estructura de las moléculas de este polímero, al igual que la formación de enlaces de hidrógeno con las moléculas de agua. Esto conduce a un aumento progresivo del grosor de la película, provocando el aumento de la tasa de hinchazón (Talukdar & Kinget, 1995).

Figura 7- 18: Porcentaje de hidratación en buffer de pH 6,8, obtenido durante un lapso de tiempo de cada 10 minutos durante 1 hora.



Fuente: (Autores. 2018)

Según (Mali, Sakanaka, Yamashita, & Grossmann, 2005), la adición de plastificante proporciona sitios más activos al exponer sus grupos hidroxilo hidrófilos en los que las moléculas de agua podrían ser adsorbidas. Además, los niveles más altos de plastificante deberían aumentar la afinidad a la hidratación de las películas y estos resultados podrían atribuirse a la hidrofiliidad de los plastificantes, que presentaban grupos hidroxilos capaces de interactuar con el agua mediante enlaces de hidrógeno. Aunque las moléculas de glicerol son pequeñas, presentan una gran capacidad para interactuar con las cadenas del polímero, lo que mejora la

movilidad molecular. Esto aumenta el volumen libre en la matriz de la película como consecuencia del aumento de las moléculas de agua absorbidas.

7.3.3.2 Evaluación de la hidratación y la masa de las películas delgadas con incorporación de nanoencapsulamientos de candesartán

Se realizó la evaluación de la hinchazón a las películas de xantano con incorporación de nanoencapsulamientos.

La tabla 7-7 evidencia los porcentajes de hidratación obtenidos por 3 películas de xantano al 5,0%p/v con adición de glicerol al 1,0%v/v con incorporación de nanoencapsulamientos de candesartán.

Tabla 7- 7: Porcentajes de hidratación de películas delgadas de xantano con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán.

N° prueba	Masa películas (mg)	% H (0 min)	% H (10min)	% H (20min)	% H (30min)	% H (40min)	% H (50min)	% H (60min)
1	70,6	0	6,5368	8,0028	9,4164	10,2309	11,8484	12,0411
2	64,2	0	7,3894	9,4190	10,6059	12,2586	12,7741	13,3785
3	67,2	0	6,9092	8,1012	9,4152	10,3408	11,1205	12,1935

El alto porcentaje de hidratación que las películas tuvieron es importante, ya que puede proporcionar una rápida mucoadhesión de la película con la mucosa oral. Se presume que esta rápida hidratación se debe probablemente al polímero hidrófilo, xantano. De igual forma el alto peso que poseían las películas afectaba de manera indirecta al porcentaje de hidratación, es decir entre mas peso presente la película, menor será el porcentaje de hidratación.

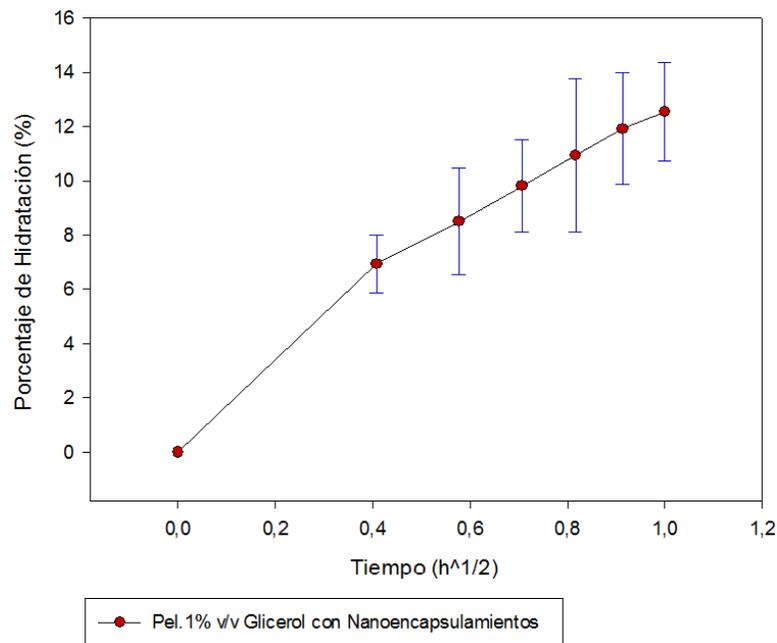
Las películas mostraron una integridad física adecuada hasta el final del estudio, ya que no hubo distorsión ni erosión.

El peso promedio de las películas con nanoencapsulamientos fue de 67,3 mg. El resultado obtenido en comparación con los resultados registrados por (Shiledar, Tagalpallewar, & Kokare ,2014) los cuales obtuvieron películas delgadas a base de xantano con adición de otros componentes, en un rango de 64 a 80 mg, se encuentran dentro del rango registrado en literatura.

En las películas con nanoencapsulamientos, se realizó la misma prueba de hidratación que la realizada a las películas sin nanoencapsulamientos. Los resultados obtenidos en cuanto al porcentaje de hidratación de las películas determinaron por medio de la t-student con una confiabilidad del 95% se registró dentro de un rango de 4,73% y 12,61 % de hidratación. El máximo porcentaje de hidratación en promedio, fue de 13,37%.

El porcentaje de hidratación de la película de xantano, como se puede observar en la figura 7-19, no se vio afectado por la incorporación de los nanoencapsulamientos, se observó una tasa de hidratación positiva, la cual a medida que aumentaba el tiempo también aumentaba el porcentaje de hidratación del polímero. Realizando una comparación entre los porcentajes de hidratación registrados en las películas de xantano al 5,0% p/v con adición de 1,0%v/v de glicerol con y sin nanoencapsulamientos, se obtuvieron porcentajes similares en ambas formulaciones, lo que indica que las propiedades de hidratación del polímero no se vieron afectadas por la adición de nanoencapsulamientos. La incertidumbre registrada en el porcentaje de hidratación, aumento ya en los tiempos finales, debido a que hubo desprendimientos en la superficie de la película durante la prueba, lo que al momento del pesaje pudo variar.

Figura 7- 19: Porcentaje de hidratación de películas con nanoencapsulamientos en buffer de pH 6.8, obtenido cada 10 minutos durante 1 hora.



Fuente: (Autores. 2018)

7.3.4 Evaluación del pH de la superficie de las películas bucales

La evaluación del pH superficial de las películas se realizó con el fin de evidenciar que la película bucal no presentará un pH que afectara la mucosa oral, de este modo, el análisis arrojó los resultados expuestos en la tabla 7-8:

Tabla 7- 8: Resultados del pH medido de la superficie de las películas delgadas

pH agua destilada	pH película xantano (5,0%)-sin glicerol	pH película xantano (5,0%)-glicerol (0,5%)	pH película xantano (5,0%)-glicerol (1,0%)	pH película con incorporación de nanoencapsulamientos
5,18 ±0,01	7,06 ±0,01	6,96 ±0,01	6,98 ±0,01	6,52±0,01

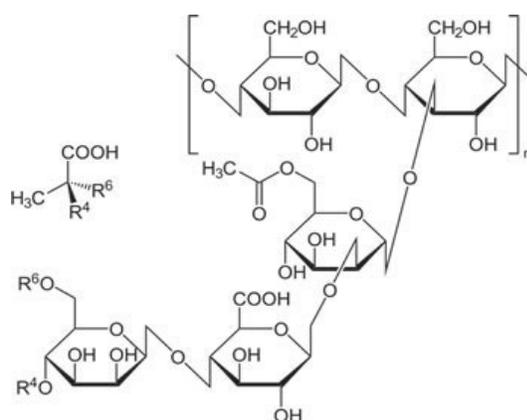
Se encontró que el pH de todos los parches sin nanoencapsulamientos estaban dentro del rango del pH normal de saliva 6.8–7.5 (Shiledar, Tagalpallewar, & Kokare ,2014), sin embargo, debido a que en la elaboración de los nanoencapsulamientos se utiliza ácido acético y siempre queda un residuo de este ácido en la solución final que se incorpora en las películas, se generan una disminución o acidificación del nivel del pH de las películas, aunque este valor no esté tan alejado del rango estipulado en bibliografía, cabe resaltar que se deben buscar maneras de contrarrestar este efecto y dejar el pH de todas las películas dentro de los límites reportados.

7.3.5 Evaluación de la morfología y composición de películas delgadas

7.3.5.1 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Se realizó una espectroscopia de transmisión de infrarrojo por transformada de Fourier (**FTIR**) para identificar los grupos funcionales presentes en las películas elaboradas con xantano y glicerol en las concentraciones de 0,5% v/v y 1,0% v/v y sin adición de glicerol. Por tanto, a partir de esta prueba se realizó la identificación estructural y la composición de las películas.

Figura 7- 20: Estructura xantano

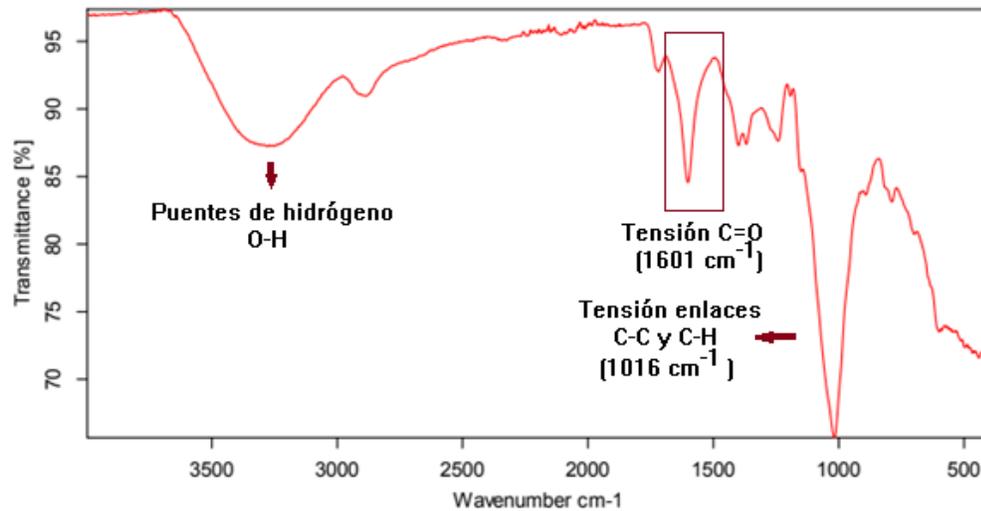


Fuente: (Zamora. 2019)

Teniendo en cuenta la Figura 7-20, se puede observar que este polímero está conformado por grupos funcionales característicos de estructuras químicas relacionadas con carbohidratos como lo son enlaces glucosídicos, grupos hidroxilo,

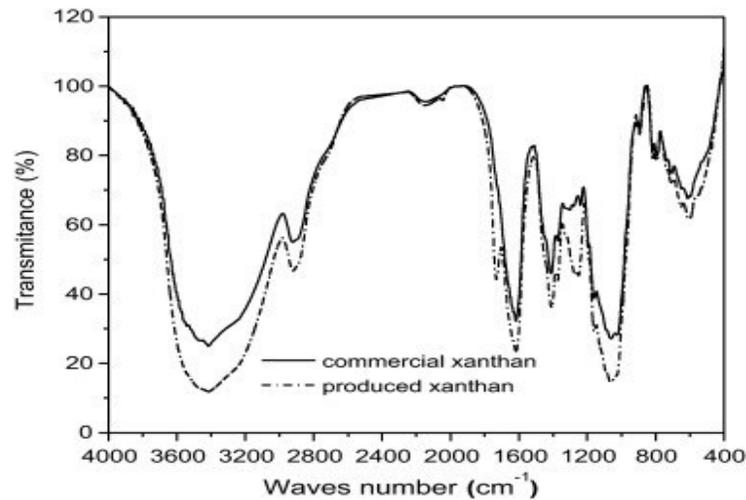
carboxílico, carbonilo y con las estructuras de carbono cíclicas. También se observa la presencia de un ácido, proveniente del ácido glucurónico, que hace parte de la cadena polimérica de xantano.

Figura 7- 21: Espectro infrarrojo de xantano (sigma-aldrich), empleado en la elaboración de las películas



Fuente: (Autores. 2019)

Figura 7- 22: Espectro infrarrojo del xantano reportado en bibliografía

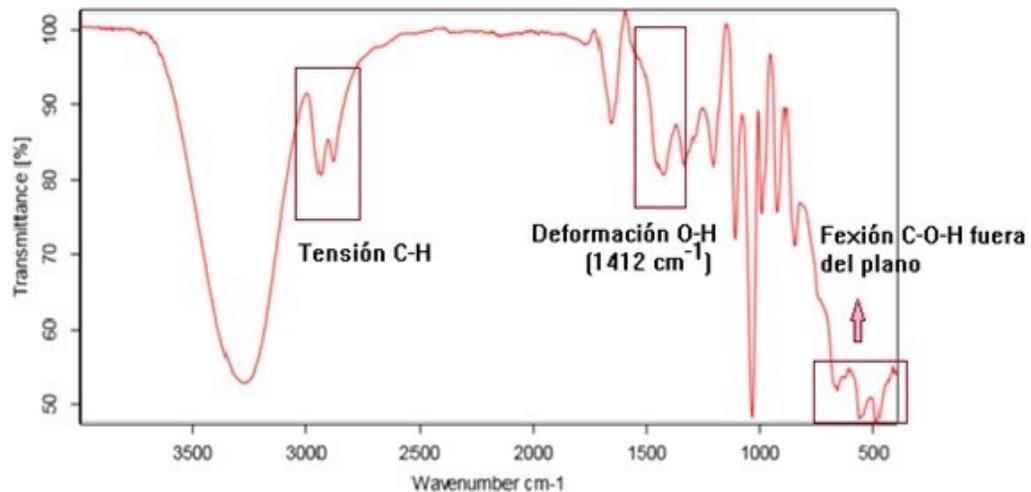


Fuente: (Faria et al. 2011)

Como se observa en la figura 7-21 y 7-22, se evidencia una señal ancha en 3279 cm⁻¹ debido a la tensión generada por el enlace presente entre el hidrógeno y el oxígeno proveniente del grupo hidroxilo, la señal es ancha debido a los múltiples

puentes del O-H, como también indica la tensión del enlace C-H presente en la cadena cíclica. La banda en 1601 cm^{-1} indica la tensión en el enlace del carbonilo (C=O) y cetona. La señal ubicada en 1399 cm^{-1} indica la presencia del grupo hidroxilo, debido a que hay una flexión en del enlace C-O-H. El pico presentado en 1241 cm^{-1} corresponde a la tensión o estiramiento del enlace C-O, perteneciente al grupo carbonilo. El último pico presentado en 1016 cm^{-1} hace referencia a los enlaces sencillos presentes en el esqueleto de C-H presentes en la estructura del xantano (Rubinson K & Rubinson J, 2000). Como se observa tanto en la figura 7-23 como en la figura 7-24 hay correlación con la presencia de los grupos funcionales presentes en el xantano, por tanto, se puede comprobar la composición y pureza del xantano empleado para la elaboración de las películas.

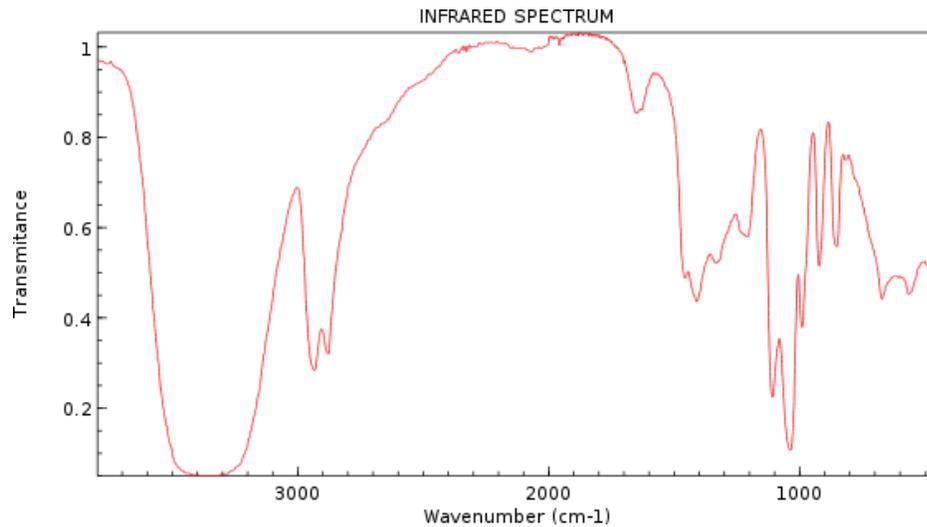
Figura 7- 23: Espectro infrarrojo del glicerol usado para la elaboración de las películas



Fuente: (Autores. 2019)

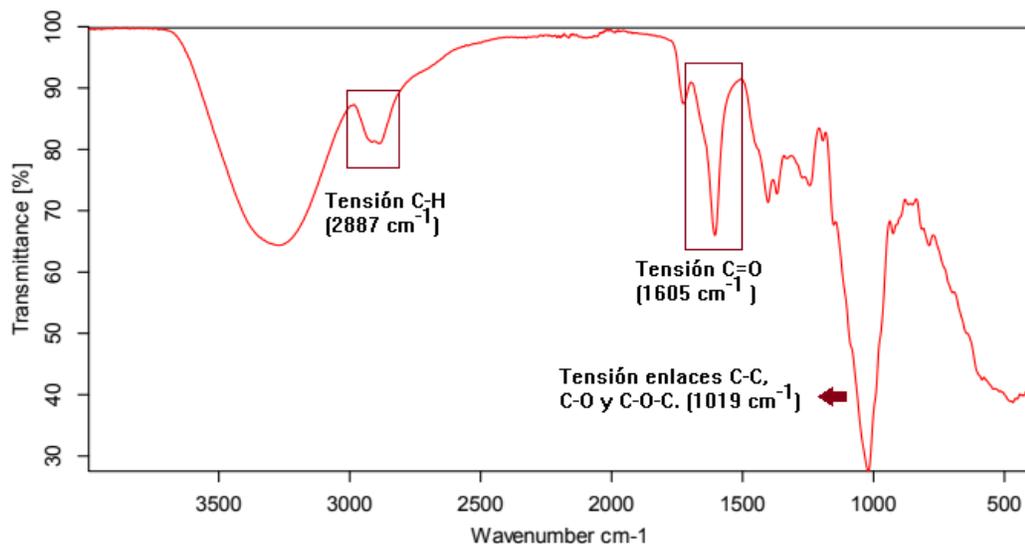
En las gráficas expuestas en la figura 7-23 y 7-24 se puede observar una banda ancha en 3275 cm^{-1} debido a la tensión generada por los múltiples enlaces provenientes del O-H, del grupo Hidroxilo. La señal presente entre los 2900 y 2800 cm^{-1} indica la tensión del enlace C-H, del grupo alcano. El pico presente entre 1412 cm^{-1} indica la deformación del enlace O-H del grupo hidroxilo. Por otro lado, la flexión de todos los metilenos activos se observa como una serie de bandas intensas y agudas entre las bandas comunes de 1465 a 1380 cm^{-1} . Los picos presentes entre 1027 a 1210 cm^{-1} indican la tensión del C-O alifático. Los picos presentes entre 900 y 800 cm^{-1} se deben a la flexión del C-O-H fuera del plano (Rubinson K & Rubinson J, 2000). Como se observa en ambas gráficas la presencia de grupos funcionales característicos del glicerol es similar, con esto se comprueba la composición y pureza del material con el que se realizaron las películas.

Figura 7- 24: Espectro infrarrojo del glicerol reportado en bibliografía



Fuente: (Miran, Mumtaz, Mukhtar, & Danish. 2017)

Figura 7- 25: Espectro infrarrojo película del xantano al 5,0% p/v (Blanco).



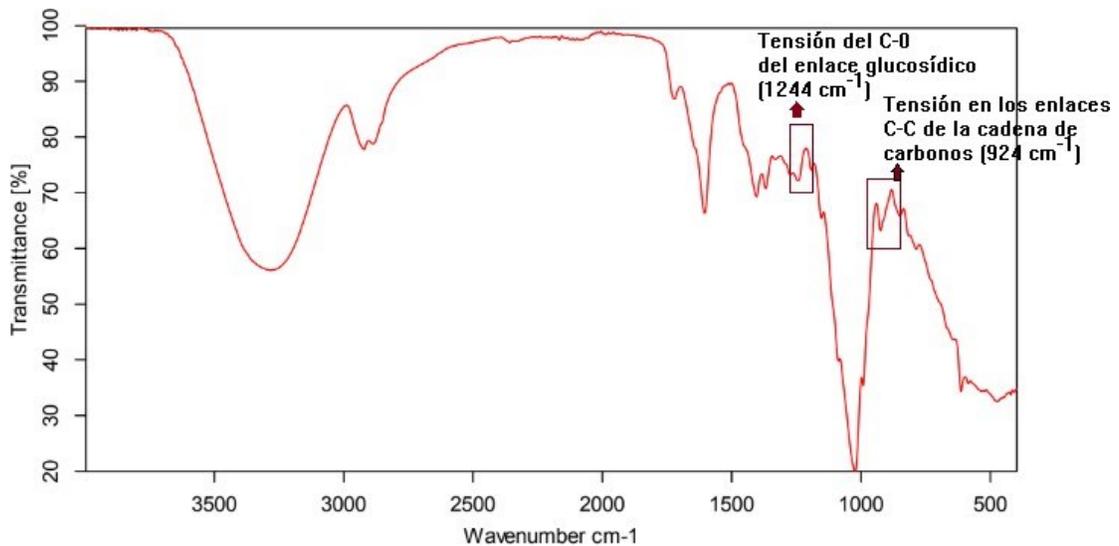
Fuente: (Autores. 2019).

En la figura 7-25 se puede evidenciar las mismas bandas presentes que en el espectro infrarrojo del xantano (Fig. 7-23). En la gráfica 7-27 se observa una banda ancha en 3269 cm⁻¹ que indica la tensión del enlace O-H, que es debido a la abundante presencia del grupo hidroxilo y la tensión del enlace C-H presentes en el anillo cíclico. Se evidencia una señal en 2887 cm⁻¹ debido a la tensión de C-H del aldehído y presencia de enlaces sencillos provenientes del grupo alcano. El pico presente en 1605 cm⁻¹ se presenta debido a la tensión del enlace C=O del grupo

carbonilo y cetona. El doblamiento generado por el enlace C-H lo que indica la señal presente en 1402 cm^{-1} . El pico en 1243 cm^{-1} se debe a la tensión generada por el enlace C-O del grupo carbonilo. La señal presentada en 1019 cm^{-1} se debe a la tensión generada entre en el enlace C-O, C-C y C-O-C presentes en el esqueleto de la estructura del xantano, provenientes de los enlaces sencillos del grupo alcano.

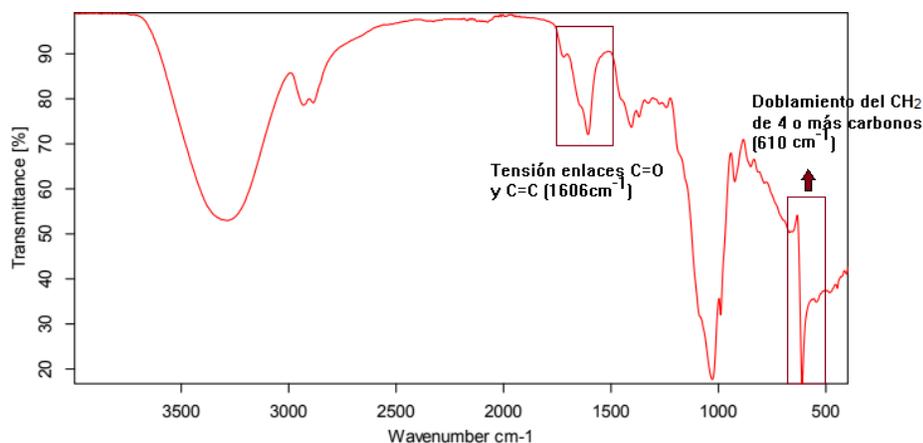
En el espectro expuesto en la figura 7-26, se muestra el espectro FTIR de una película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5% v/v, en ella se puede evidenciar la señal generada por la tensión de los puentes de hidrógeno presentadas en el grupo hidroxilo. También se observa un pico en 2920 cm^{-1} que indica la tensión generada por el enlace C-H del aldehído y del enlace sencillo del metilo. El pico en 1604 cm^{-1} indica la presencia de tensión en el enlace C=O de los grupos carbonilo y carboxilo como de C=C en el anillo cíclico perteneciente al xantano. En 1404 cm^{-1} se presentan bandas que indican el doblamiento entre el enlace del O-H, proveniente del grupo hidroxilo, el cual es un grupo funcional muy frecuente en toda la estructura tanto del xantano como del glicerol. La señal generada en 1244 cm^{-1} indica la tensión del C-O del enlace glucosídico. El pico muy pronunciado en 1023 cm^{-1} indica la tensión de los enlaces C-C y C-O como de los enlaces alifáticos como cíclicos (Rubinson K & Rubinson J, 2000) y la señal generada en 924 cm^{-1} se presenta debido a la vibración de doblamiento del enlace C-H (monosustituido).

Figura 7- 26: Espectro infrarrojo película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5% v/v



Fuente: (Autores. 2019)

Figura 7- 27: Espectro infrarrojo película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v



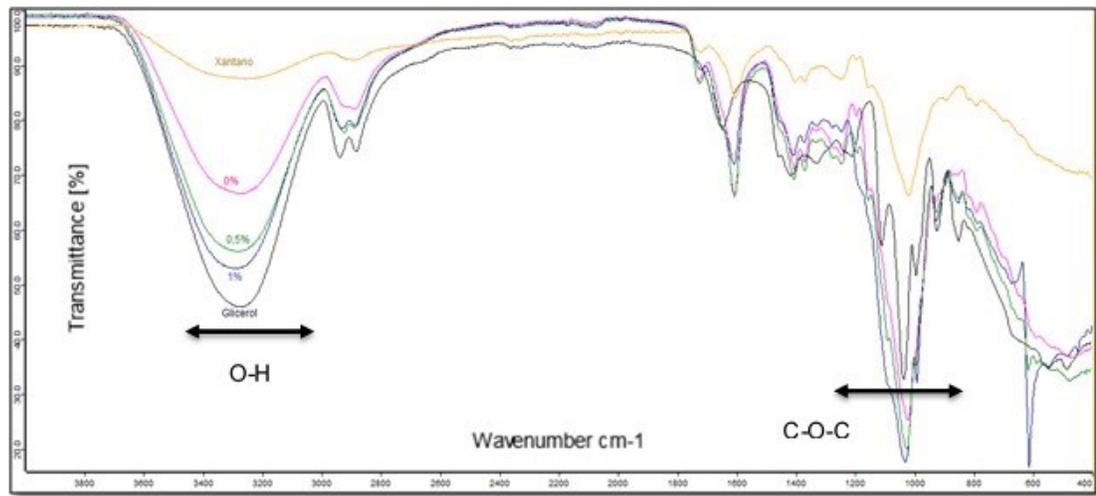
Fuente: (Autores. 2019)

En la gráfica expuesta en la figura 7-27 se observa las mismas bandas presentes en las anteriores gráficas (7-21, 7-24, 7-25 y 7-26), lo que indica la presencia de los mismos grupos funcionales, así como las bandas presentes en el espectro FTIR de las películas elaboradas con xantano al 5,0% p/v y glicerol 0,5% v/v, los cuales se encuentran en el mismo rango de valores, pero a diferencia de la concentración anteriormente descrita, se observa una señal en 610 cm^{-1} que indica el doblamiento del CH_2 de 4 o más carbonos proveniente del esqueleto del xantano y el glicerol. (Rojo. Sn)

En la figura 7-28, se puede observar una comparación entre todos los espectros evaluados, de este modo el espectro infrarrojo de color negro correspondiente al glicerol, el espectro amarillo al xantano, el espectro azul a la película de xantano al 5,0% p/v con 1,0% v/v de glicerol, el espectro verde a la película de xantano 5,0% p/v y 0,5% v/v de glicerol y el espectro rosa a la película de xantano al 5,0% p/v. De igual forma se observa que a medida que se adicionó glicerol, sustancia apolar debido a sus enlaces sencillos, a la mezcla de xantano, el polímero fue pasando a ser una sustancia más polar y formando compuestos insaturados de enlaces carbono-carbono, lo que le da propiedades elásticas y más flexibles al biopolímero debido a la adición del glicerol.

El cambio que se evidencia en la transmitancia de los enlaces O-H, dependiendo la composición de la película, indica que existió un entrecruzamiento entre el glicerol y el xantano (Bilanovic, Starosvetsky, & Armon, 2015).

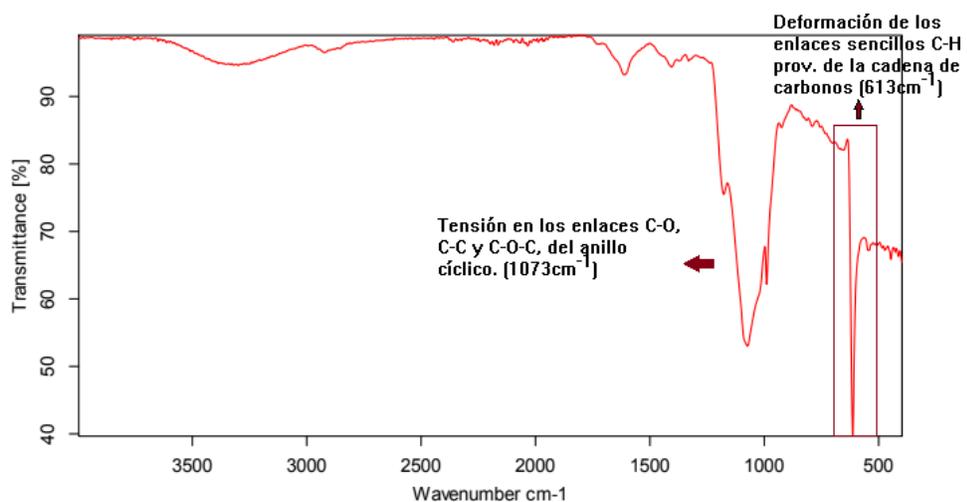
Figura 7- 28: Comparación del espectro infrarrojo de las películas con el espectro infrarrojo de sus compuestos



Fuente: (Autores. 2019)

De igual forma con los espectros FTIR de las películas se puede confirmar la presencia de grupos funcionales presentes en los compuestos químicos empleados en la elaboración de las películas, por tanto, no hubo modificación química del xantano durante las diferentes etapas de elaboración de la película, además se evidencia que no hay presencia de otros grupos funcionales no correspondientes al xantano y el glicerol, materias primas con los que se elaboraron las películas.

Figura 7- 29: Espectro infrarrojo película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v con Nanoencapsulamientos con candesartán



Fuente: (Autores. 2019)

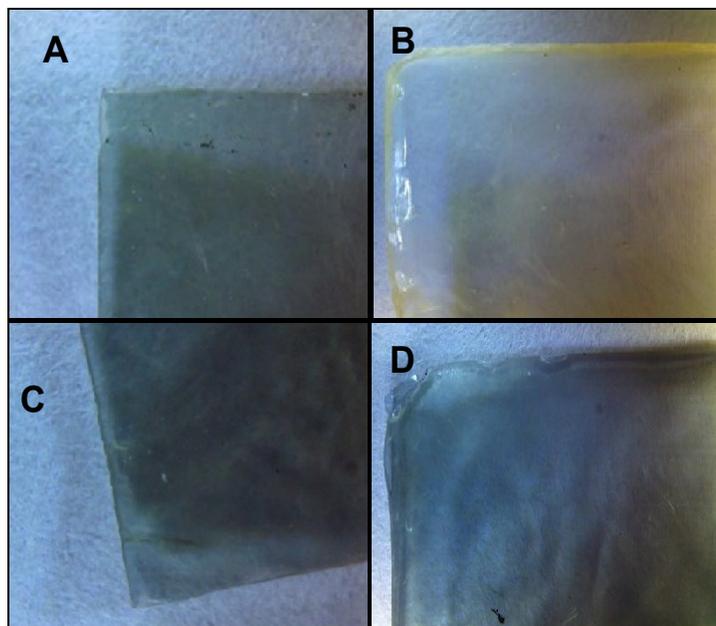
En la figura 7-29 se observa el espectro de FTIR de la película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v, con la adición de aproximadamente 100,0 mg de nanoencapsulamientos con candesartán distribuidos entre el xantano. En la gráfica se puede evidenciar un pico en 3299 cm^{-1} que indica tensión del enlace O-H del grupo hidroxilo, proveniente de uno de los grupos funcionales presentes en el glicerol, el xantano y el quitosano, en este pico se puede ver que el valor de la transmitancia aumentó, debido a la presencia de compuestos que presentan una alta transmitancia como son el quitosano, miglyol y el candesartán, que son sustancias químicas que componen a los nanoencapsulamientos. Se observa un pico en 1611 cm^{-1} que indica la tensión del doble enlace C=C, de los alquenos provenientes de los grupos cíclicos presentes en los polímeros del xantano y quitosano. La señal generada en 1073 cm^{-1} indica la tensión de los enlaces sencillos C-O y C-C provenientes de la cadena de carbonos alifáticos como cíclicos y tensión en el enlace C-O-C perteneciente al grupo éter en el anillo cíclico. Se presenta un pico en 980 cm^{-1} que indica la deformación del C-H monosustituído, proveniente del anillo cíclico. Se evidencia una señal en 613 cm^{-1} , debido a la deformación de los enlaces sencillos del C-H provenientes de la cadena de carbonos que se presenta en toda la estructura del xantano con los demás componentes del glicerol y el quitosano-miglyol.

Si se comparan los espectros obtenidos de las películas de xantano al 5,0% p/v y 1,0%v/v de glicerol con y sin adición de nanoencapsulamientos con candesartán, se observa que en los resultados de la FTIR la composición de las películas no varía con la adición de los nanoencapsulamientos, sin embargo debido a la transmitancia de diferentes compuestos químicos, como lo son el quitosano, miglyol y candesartán, que son componentes básicos de los nanoencapsulamientos, se generan pequeños cambios en la transmitancia del espectro entre composición y composición, sin embargo se puede afirmar a partir de las señales registradas en los espectros, que no se observan cambios en la composición de la película durante la adición de los nanoencapsulamientos de tipo hidrogel de quitosano-miglyol.

7.3.5.2 Microscopía óptica digital de películas de xantano al 5,0% p/v

Se optó por hacer un análisis superficial por medio de un microscopio digital, para obtener imágenes a una escala macro de la superficie de la película que permitió realizar un análisis que brindó mayor información a la investigación, obteniendo las imágenes presentadas en la figura 7-30.

Figura 7- 30 : Micrografía óptica de las películas de xantano al 5,0% y xantano al 5,0% con adición de 0,5% y 1,0% de glicerol a una resolución de 3.7x

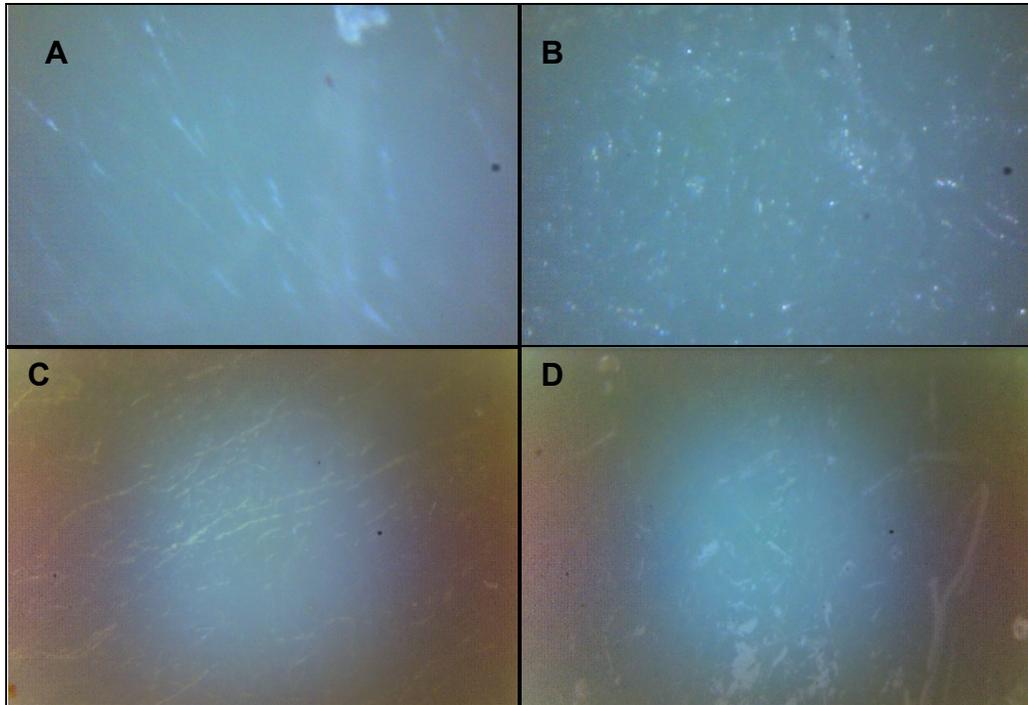


Fuente: (Autores. 2019).

En la figura 7-30, (A) corresponde a la muestra evaluada en MEB de xantano al 5,0% p/v – (B) es una muestra recién obtenida de xantano al 5,0%p/v – (C) corresponde a una muestra de película delgada evaluada en MEB con composición de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5% y – (D) corresponde a una muestra de película delgada evaluada en MEB con composición de xantano al 5,0%p/v y glicerol al 1,0 %v/v.

Se puede observar que la película presentada en la figura 7-30 imagen B presenta una tonalidad distinta a las demás imágenes, esto es debido a que las muestras evaluadas por microscopía óptica digital fueron también las evaluadas por microscopía electrónica de barrido, por lo tanto, fueron recubiertas con grafito debido a que el xantano es un material no conductor, mientras que la presentada en la figura 7-30 (B) es una muestra sin manipulación alguna. Cabe resaltar que las películas en todas las composiciones, al final del proceso de secado presentan la tonalidad presentada en la figura 7-30 (B).

Figura 7- 31: Micrografía óptica de las películas de xantano al 5,0% y xantano al 5,0% p-7v con adición de 0,5% v/v y 1,0%v/v de glicerol a una resolución de 54x.



Fuente: (Autores. 2019).

En la figura 7-31, (A) corresponde a una muestra de xantano al 5,0% p/v, (B) a una muestra de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5%, (C) corresponde a una muestra de xantano al 5,0 %p/v y 1,0% v/v y (D) corresponde a una muestra de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0%v/v con un zoom adicional de 4x.

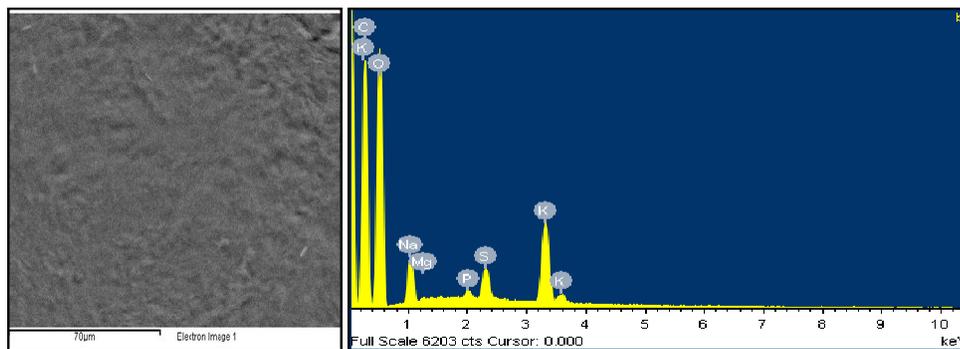
En la figura 7-31 (A) se puede observar la superficie correspondiente a la película de solo xantano al 5,0%p/v, en ella se observa una formación no uniforme de cadenas de xantano poco definidas, se puede observar algunos cristales de sales presentes en la superficie y puntos debido al recubrimiento que se le realizó a las películas anteriormente para la prueba del SEM. Figura 7-31 (B). con xantano al 0,5% p/v, comienza a verse una reticulación del xantano debido a la adición de glicerol, no se observa una reticulación uniforme, pero comienza a verse la unión de cadenas poliméricas del xantano y algunos cristales provenientes de la sal de xantano en su superficie. En la Figura 7-31 (C) se observa la formación de cadenas reticuladas debido a la adición de glicerol (1,0%v/v) al xantano, estas cadenas tienen una estructura más definida y de mayor longitud que las presentadas que la película del 0,5% p/v de xantano.

Figura 7-31 (D), se observa formación de cristales debido a la cristalización de los iones, provenientes de las sales de xantano y cadenas poliméricas reticuladas en la película debido a la adición de glicerol.

7.3.5.3 Microscopía electrónica de barrido de película de xantano al 5,0%p/v

Se realizó este análisis para comprobar que las películas delgadas elaboradas en composición de xantano al 5,0% p/v no presentaran metales en su composición y al igual evidenciar como es la ubicación y la abundancia de los elementos más abundantes presentes en el material. Obteniendo así, los resultados expuestos a continuación.

Figura 7- 32: Análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de goma de xantano al 5,0% p/v.



Fuente: (Autores. 2019)

Tabla 7- 9: Resultados numéricos obtenidos en el análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v

Elemento	Peso%	Atómico%
C	42.60	51.40
O	49.46	44.81
Na	2.67	1.68
Mg	0.12	0.07
P	0.25	0.12
S	1.18	0.53
K	3.72	1.38
Total		100.00

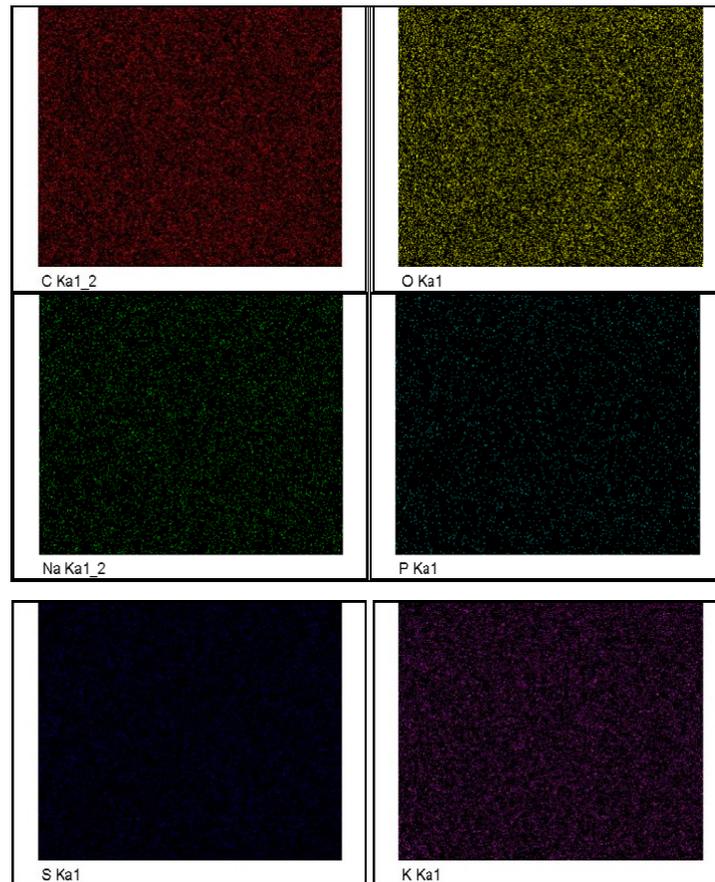
La tabla 7-9 y la figura 7-32 exponen la composición elemental de la película de xantano al 5,0%p/v, obteniendo altos niveles de carbono, oxígeno e iones de sodio y potasio, elementos propios de la estructura del xantano, sin embargo, se evidencian también la presencia de azufre y magnesio que pudieron ser adquiridos

por la limpieza de los materiales de laboratorio en algún parte del proceso de elaboración.

El mapeo elemental expuesto en la figura 7-33 permite evidenciar la ubicación y la abundancia de los elementos en el material, afirmando que no existe contaminación por metales y que el material orgánico utilizado, que es el xantano, se encuentra presente en la muestra.

De igual forma se pueden correlacionar los resultados obtenidos en este numeral con los obtenidos en el análisis por medio de FTIR, debido a que se puede corroborar que la presencia de elementos como el carbono y el oxígeno en la muestra evaluada se debe a la estructura del xantano.

Figura 7- 33: Mapeo elemental de C,O,Na,P,S,K de las películas delgadas de xantano al 5,0% p/v por medio de MEB.

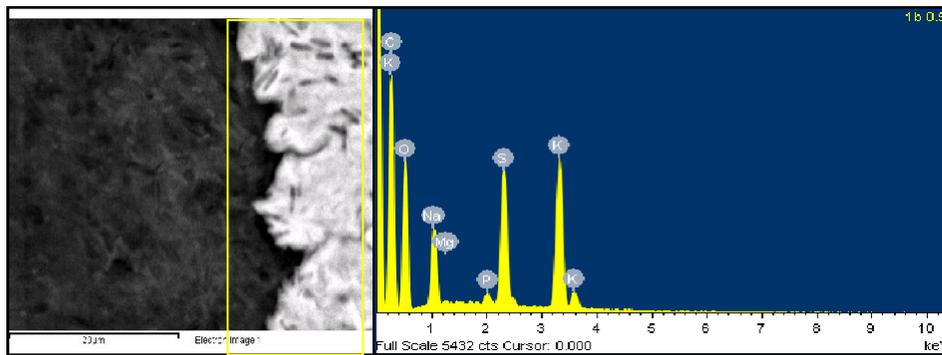


Fuente: (Autores. 2019)

7.3.5.4 Microscopía electrónica de barrido de película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5%v/v

Se realizó este análisis para comprobar que las películas delgadas elaboradas en composición de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5% v/v no presentaran metales en su composición y al igual evidenciar como es la ubicación y la abundancia de los elementos más abundantes presentes en el material. Obteniendo así, los siguientes resultados:

Figura 7- 34: Análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5%v/v.



Fuente: (Autores. 2019)

Tabla 7- 10: Resultados numéricos obtenidos en el análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v.

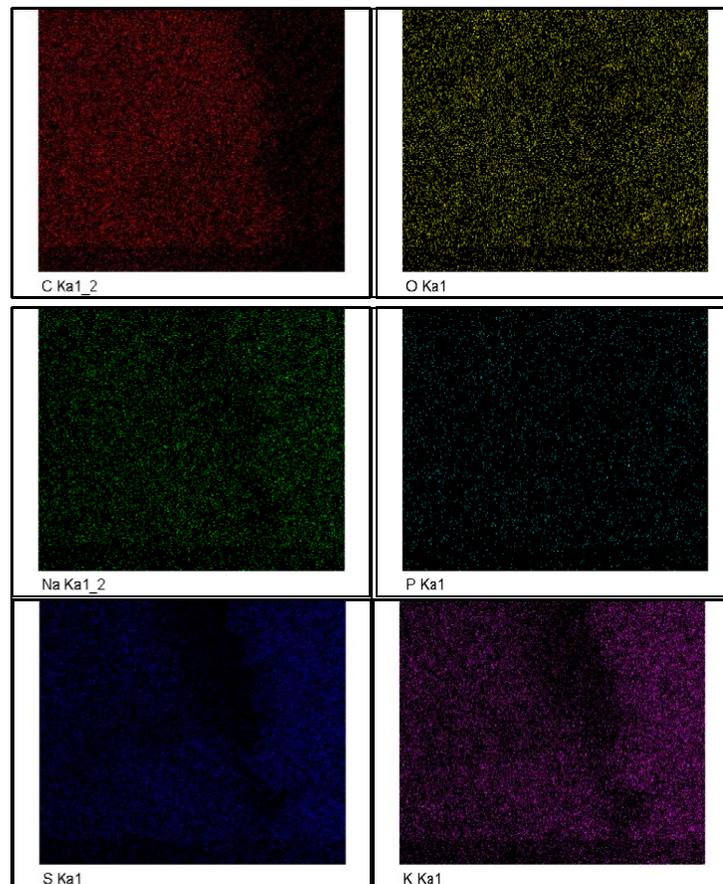
Elemento	Peso%	Atómico%
C	46.27	59.45
O	30.76	29.67
Na	4.07	2.73
Mg	0.13	0.08
P	0.56	0.28
S	6.91	3.33
K	11.30	4.46
Total		100.00

La tabla 7-10 y la figura 7-34 exponen la composición elemental de la película de xantano al 5,0%p/v, obteniendo altos niveles de carbono, oxígeno e iones de sodio y potasio, elementos propios de la estructura del xantano, sin embargo, se evidencian también la presencia de azufre y magnesio que pudieron ser adquiridos por la limpieza de los materiales de laboratorio en algún parte del proceso de elaboración.

El aumento de sodio, potasio y azufre en esta película se sugiere es por una acumulación de sales en la superficie de la película delgada, debido al proceso de secado de las películas y la variación en el gradiente de la temperatura, esta capa se puede ver claramente en la figura 7-34 como la parte más clara señalada en amarillo.

El mapeo elemental expuesto en la figura 7-35 permite evidenciar la ubicación y la abundancia de los elementos en el material, afirmando que no existe contaminación por metales y que el material orgánico utilizado, que es el xantano, se encuentra presente en la muestra. Se puede ver igualmente la disminución en la presencia de carbono en la parte derecha de la imagen analizada, ubicación en la que se encuentra ubicada la traza de lo que sugiere son sales acumuladas, esto se infiere debido a la alta presencia de potasio y sodio mapeada en este parte de la superficie. En cuanto a la alta cantidad de sulfatos se pudo deber a algún tipo de contaminación en alguna etapa del proceso de elaboración.

Figura 7- 35: Mapeo elemental de C,O,Na,P,S,K de las películas delgadas de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 0,5% v/v por medio de MEB.

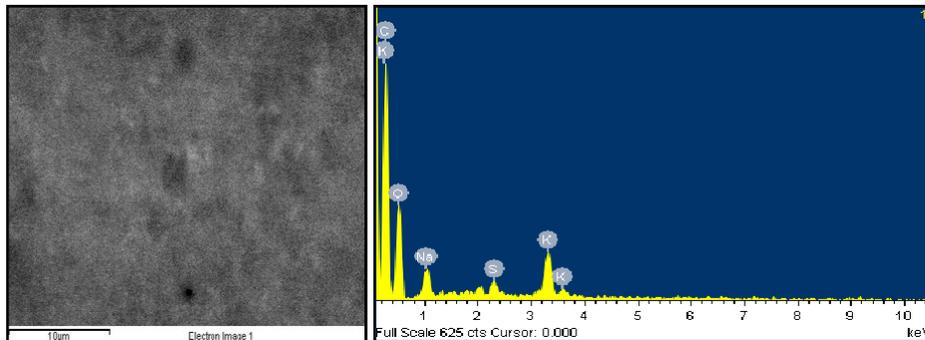


Fuente: (Autores. 2019)

7.3.5.5 Microscopía electrónica de barrido de película de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0%v/v

En la figura 7-36, se puede observar la composición elemental que posee la película delgada compuesta de xantano al 5,0%p/v y de glicerol al 1,0% v/v.

Figura 7- 36: Análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0%v/v.



Fuente: (Autores. 2019)

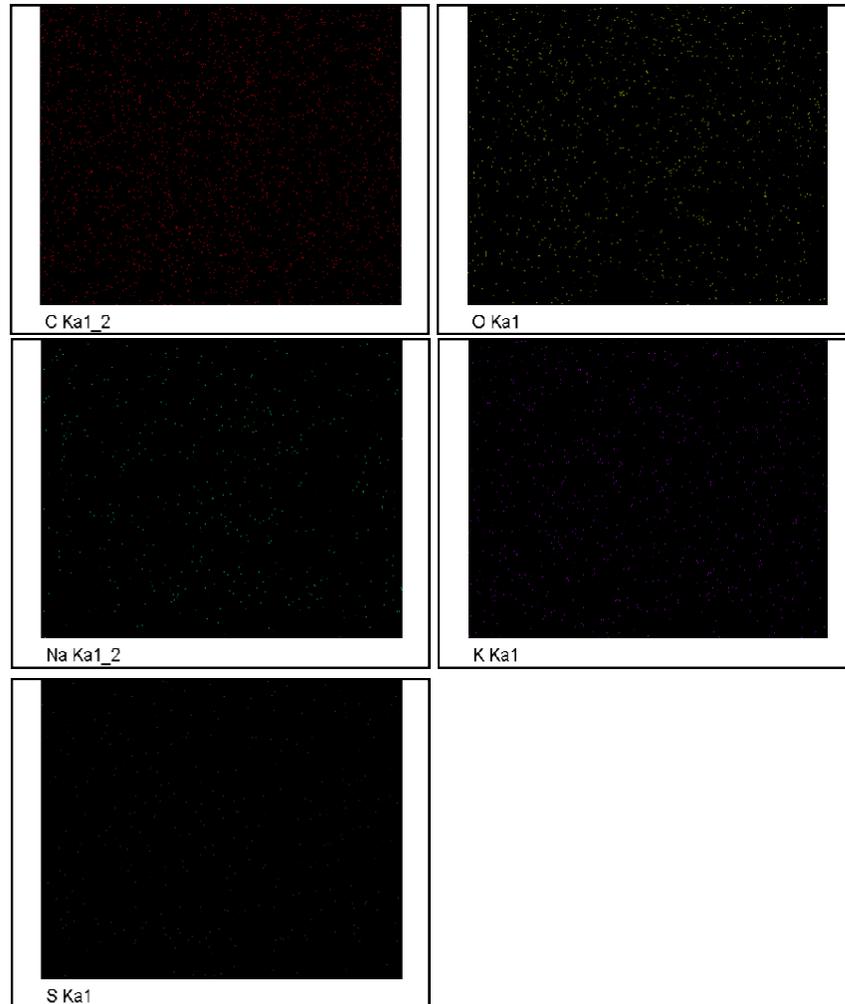
Tabla 7- 11: Resultados numéricos obtenidos en el análisis semicuantitativo elemental por fluorescencia de rayos X de la película delgada de xantano al 5,0% p/v.

Elemento	Peso %	Atómico %
C	56.20	64.83
O	37.03	32.07
Na	2.58	1.56
S	0.79	0.34
K	3.40	1.20
Total		100.00

Lo más importante que cabe resaltar de los resultados expuestos en la figura 7-36 y la tabla 7-11 es que no existe la presencia de ningún metal en la composición de la película que pueda llegar a afectar al paciente y que la composición del xantano no se vio afectada a la hora de la elaboración de las películas delgadas, debido a que siguen existiendo elementos químicos que se presentan en alta cantidad en la estructura del xantano.

Igualmente, este análisis permitió identificar que la adición de glicerol, debido a su estructura, al ser mezclada con el xantano permitió un aumento en los compuestos elementales evaluados en la película.

Figura 7- 37: Mapeo elemental de C,O,Na,P,S,K de las películas delgadas de xantano 5,0%p/v por medio de MEB.

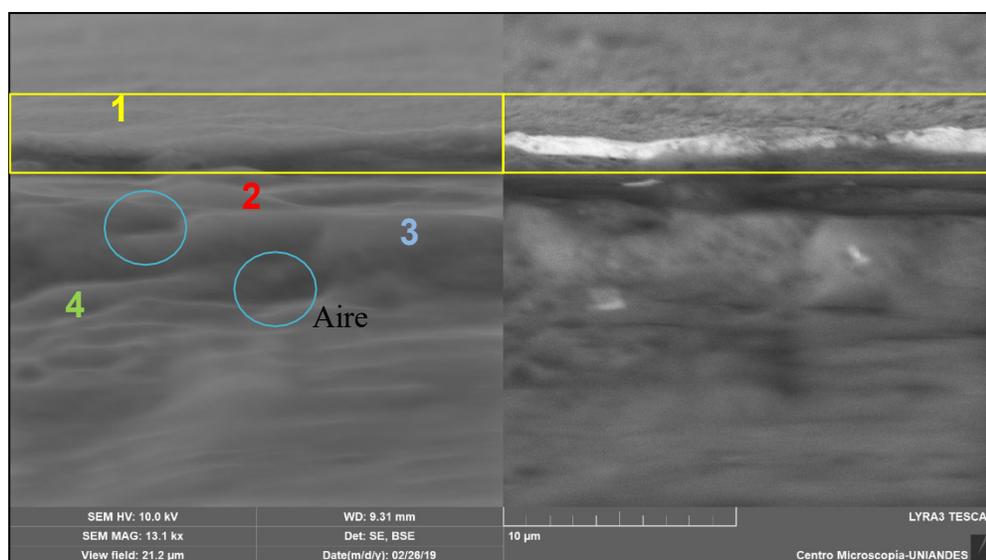


Fuente: (Autores. 2019)

En cuanto a los resultados obtenidos en análisis semicuantitativo elemental, expuesto en la figura 7-37 y en la tabla 7-11, se puede evidenciar la alta presencia de elementos como el carbono, oxígeno, sodio y potasio, y de baja presencia de elementos como el azufre. Las abundancias de los primeros elementos se deben a la composición del xantano, por tanto, es normal su abundancia sobre la película, como se observa en las primeras imágenes del mapeo elemental. La presencia de azufre puede atribuirse a la presencia de sales o el indebido control en la limpieza de los instrumentos, lo que generó contaminación en alguna etapa del proceso en la elaboración de la película, sin embargo, este elemento se encuentra en baja cantidad, en comparación con los elementos principales.

Debido a que la composición del 5,0%p/v de xantano y 1,0%v/v de glicerol fue la seleccionada como la mejor composición, debido a las buenas cualidades físicas, mecánicas y químicas que demostró, se optó por hacer un análisis de superficie para que los resultados en cuanto a morfología aportaran más información a la investigación, de igual manera para observar si la morfología obtenida es la indicada para la incorporación de nanoencapsulamientos.

Figura 7- 38: Micrografía electrónica del perfil horizontal de la película delgada de xantano al 5,0% p/v con adición de glicerol del 1,0% v/v. Resolución de 13.1kx y escala de 10µm.



Fuente: (Autores. 2019)

La figura 7-38 permite evidenciar las diferentes capas que se forman en la obtención de la película, viendo señaladas 4 de ellas, esta división en la película se debe al proceso utilizado en elaboración de las películas (Film Casting) debido a que las fibras del polímero se acomodan y entrecruzan dependiendo el gradiente de temperatura, generando diferentes capas en el material.

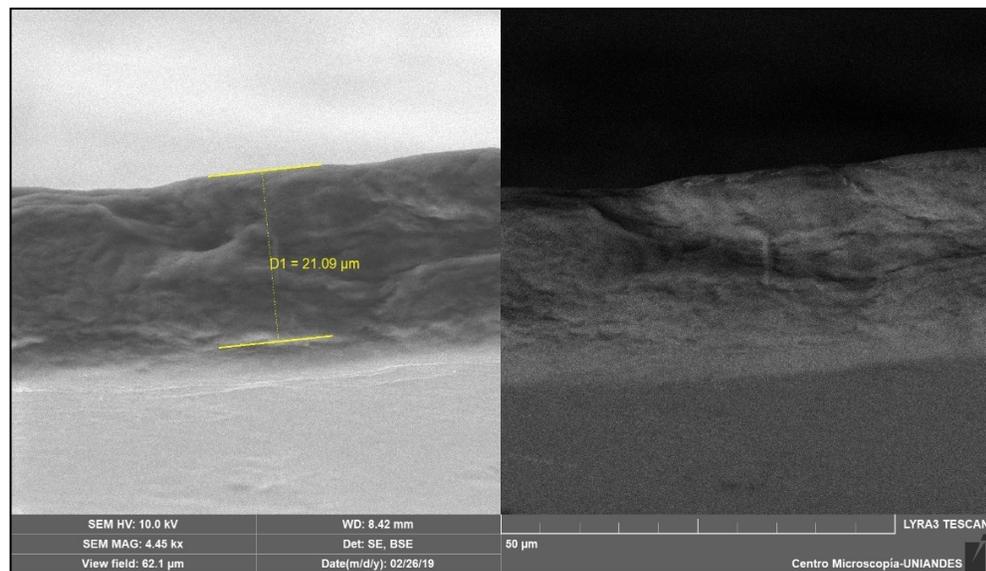
De igual manera para que el entrecruzamiento del polímero se logre, existe un intercambio iónico entre iones sodio y potasio presentes en la xantano, algunos de estos iones no quedan retenidos en la estructura del polímero, si no por el contrario se desplazan, debido a la diferencia de gradiente de temperatura entre capas, a la superficie de la película y sumado a esto, la temperatura provoca una cristalización en las sales que generan, probablemente la capa diferente que se puede observar en la micrografía expuesta arriba, de este modo observando los electrones retro dispersados y la capa superficial señalada en color amarillo se puede asegurar un

cambio en la composición del material, de igual forma esta información se puede corroborar observando la figura 7-36 y la figura 7-37 del análisis semicuantitativo elemental y en el mapeo elemental respectivamente.

Otro factor importante a tener en cuenta son las burbujas de aire retenidas en el material, señaladas en color azul, estos espacios se deben a que, en el momento de secado, las sales que se empiezan a depositar en el material provocan que quede atrapado el aire entre las capas y debido a la estructura de las sales, el aire no pueda salir.

En bibliografía no se presentan capas, de lo que sugieren son sales, en películas de xantano, por lo tanto, se abre la puerta para nuevas investigaciones acerca del por qué se forma y el cómo poder evitarla.

Figura 7- 39: Micrografía electrónica del perfil horizontal de la película delgada de xantano al 5,0% p/v con adición de glicerol del 1,0% v/v, con resolución de 4.45kx y escala de 50 μ m.



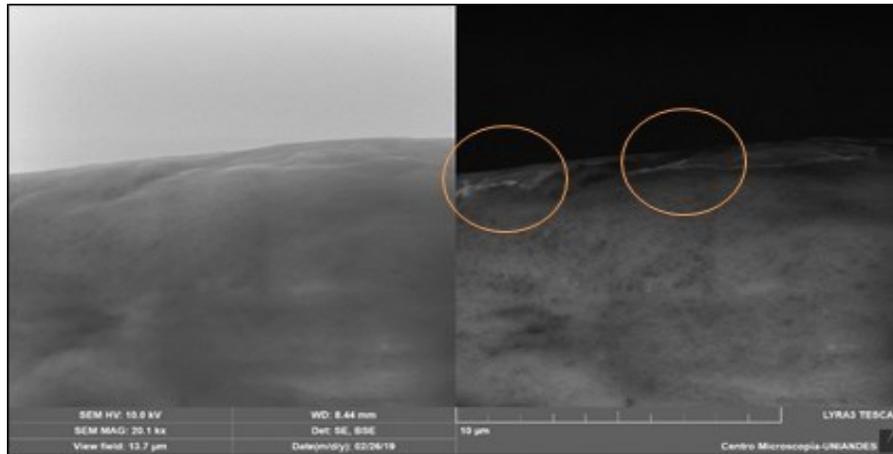
Fuente: (Autores. 2019)

La imagen de la izquierda expuesta en la figura 7-39 corresponde a la obtenida por electrones secundarios y la de la derecha corresponde a electrones retro dispersados.

La micrografía mostrada en la figura 7-39, muestra un valor de 21.09 μ m que corresponde a el espesor de una de las capas presentes en la película delgada de xantano evaluada, cabe recordar que el espesor promedio obtenido en las películas es de 102.7 μ m. De igual manera se puede evidenciar que las capas de las películas

delgadas no presentan una superficie totalmente lisa, cabe aclarar que este tipo de superficie rugosa obtenida, no afecta el propósito final de las películas delgadas.

Figura 7- 40: Micrografía electrónica con resolución de 20.1kx y escala de 10 μ m. .

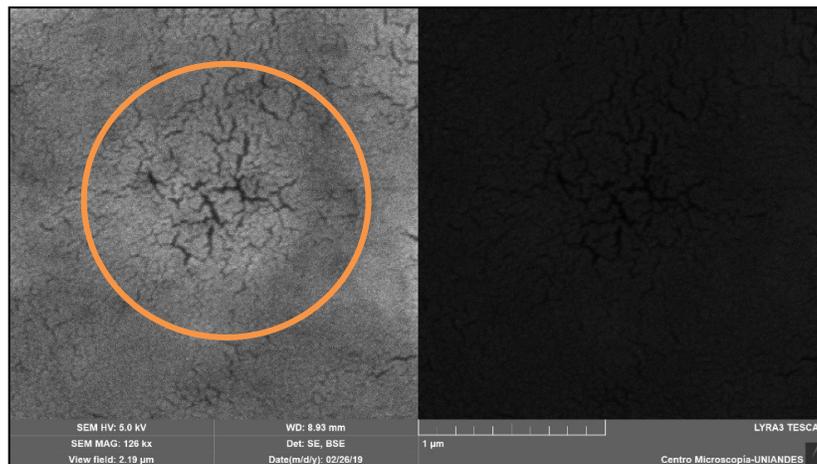


Fuente: (Autores. 2019)

La imagen de la izquierda expuesta en la figura 7-40 corresponde a la obtenida por electrones secundarios y la de la derecha corresponde a electrones retro dispersados

Lo más importante que se puede resaltar de la figura 7-40, es que se evidencia una única composición en el material evaluado, lo cual se puede evidenciarse por medio de los electrones retro dispersados, sin embargo, cabe resaltar que la capa que se sugiere es de sales sigue presentándose en la superficie

Figura 7- 41: Micrografía electrónica con resolución de 126kx y escala de 1 μ m.



Fuente: (Autores. 2019)

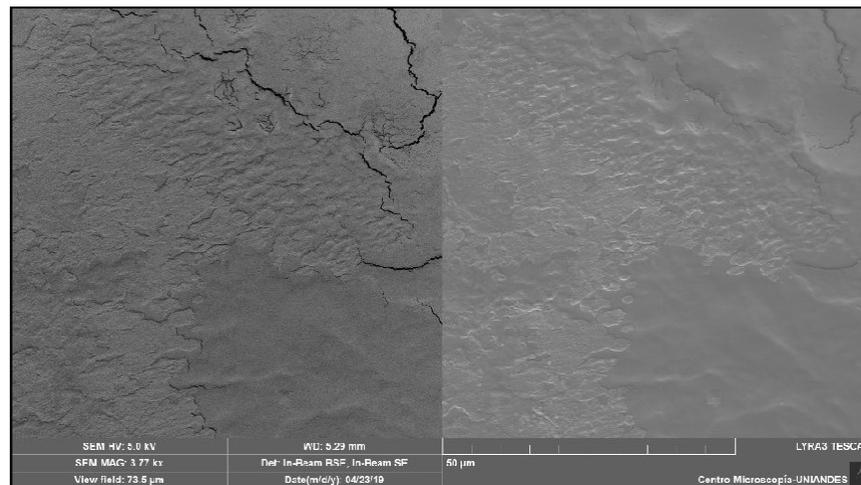
La imagen de la izquierda expuesta en la figura 7-41, corresponde a la obtenida por medio de los electrones secundarios y la de la derecha corresponde a la obtenida por medio de los electrones retro dispersados.

La imagen generada por los electrones retro dispersados que se puede observar en la micrografía presentada en la figura 7-41, permite evidenciar una sola composición en el material, siendo esta la mezcla de glicerol al 1,0%v/v y xantano al 5,0%p/v, de este modo se puede asegurar que la capa de sales está quedando ubicada únicamente en la parte superficial de las películas. De igual manera la micrografía obtenida permite afirmar que existieron modificaciones superficiales en la película delgada, señaladas en naranja, debido a la exposición a la energía y el alto nivel de ionización que se utilizó para realizar un acercamiento de $1\mu\text{m}$, esto causó que en algún momento se empezaran a generar fracturas superficiales y el polímero empezara a degradarse.

7.3.5.6 Microscopía electrónica de barrido de película de xantano al 5,0% p/v, glicerol al 1,0%v/v con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán

Al ser elegida la concentración de xantano al 5,0% p/v y glicerol al 1,0% v/v como la que presentaba mejores características físicas y mecánicas, se optó por realizar la incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán a las películas realizadas con esta concentración. Se realizó un proceso de análisis de imagen para obtener el tamaño de los nanoencapsulamientos por medio del software Fiji de ImageJ, obteniendo las siguientes micrografías.

Figura 7- 42: Micrografía obtenida de la superficie de la película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán. Resolución de 3,77 kx y escala de $50\mu\text{m}$

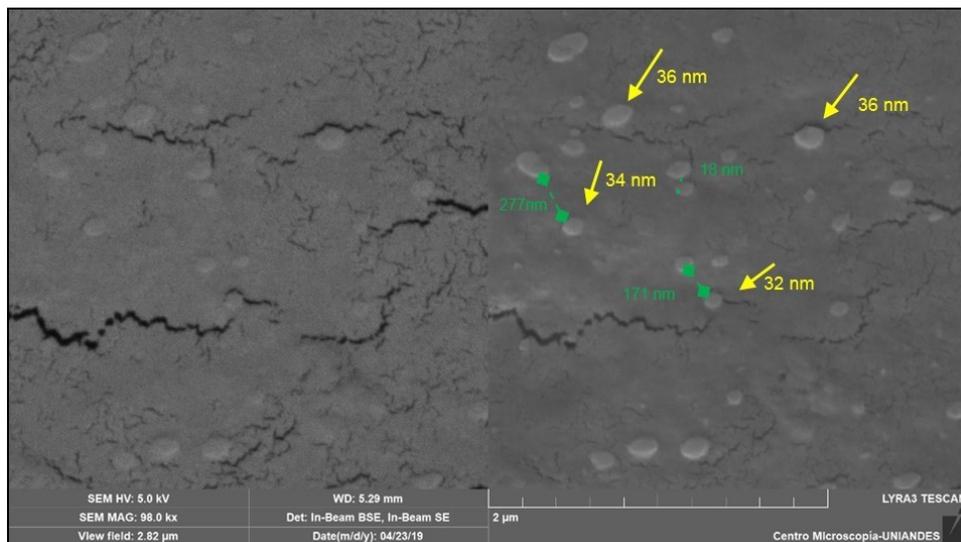


Fuente: (Autores. 2019)

La figura 7-42 se observa la imagen obtenida de la superficie de la película de xantano con incorporación de nanoencapsulamientos, en la cual se puede corroborar que la presencia de sales que se encontraban en la superficie de las películas anteriores, ya no se encuentra en esta película. Como se evidencia tanto en la imagen de electrones retro dispersados (izq.) y de electrones secundarios (der), hay uniformidad en la tonalidad, lo que indica que ya no presenta brillos debido a las capas aleatorias que se veían anteriormente por la acumulación de sales y quizás de otros compuestos.

También se observa que la composición de la superficie es homogénea, en cuanto a la distribución del xantano, glicerol y algunos nanoencapsulamientos, más no de la acumulación de sales en la superficie. En cuanto a la rugosidad de la superficie de las películas disminuyó, se observa una mayor homogeneidad y más lisa, que es un buen indicativo, debido al mejoramiento de la técnica de obtención de la película.

Figura 7- 43: Micrografía obtenida de la superficie de la película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán con resolución de 98 kx y escala de 2 μm



Fuente: (Autores. 2019)

En la figura 7-43 se observa la superficie de la película delgada de xantano a una resolución de 2 μm , en esta área existe alrededor de 23 nanoencapsulamientos, los cuales rondan alrededor de entre 30 a 36 nm. En cuanto a las distancias de distribución, que se permiten analizar cualitativamente, las nanopartículas no se aglomeraron.

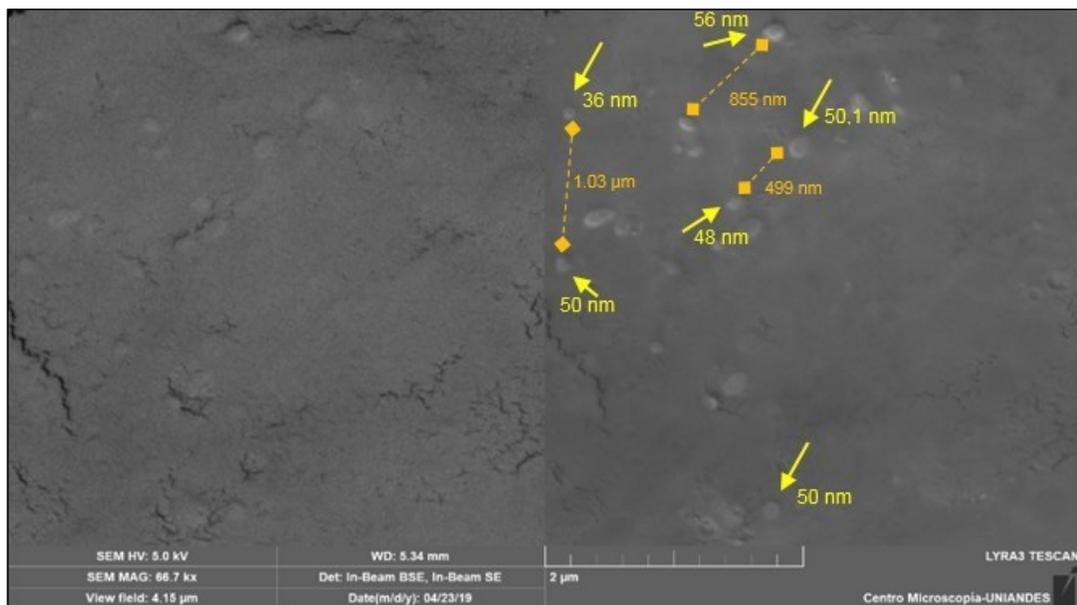
Los encapsulamientos de naturaleza lipídica muestran la morfología convencional, son ovalados, se observa que algunos de ellos están dispuestos, de forma

tradicional, debido a que estos nanoencapsulamientos de naturaleza lipídica tienden a formar contornos mucho más marcados. También se evidencia que los nanoencapsulamientos, a pesar de que existen diferentes tamaños, presentan un tamaño relativamente homogéneo, pero que cumplen con el rango de tamaño establecido para el paso de estos a través de mucosa oral.

En la figura 7-44 se observa la distribución y tamaño de los nanoencapsulamientos, los cuales hay aproximadamente 16 nanoencapsulamientos distribuidos en el área registrada de la superficie de la película delgada.

Al evaluar la superficie de las películas delgadas (figura 7-43 y 7-44), se pudo visualizar nuevamente la presencia de nanoencapsulamientos con tamaños entre 36 nm y 50 nm en las películas delgadas, y distancias entre nanopartículas mínimas de 1.5 μm , lo que comprueba que no existe aglomeramiento y su distribución es homogénea.

Figura 7- 44: Micrografía obtenida de la superficie de la película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán con resolución de 106 kx y escala de 2 μm



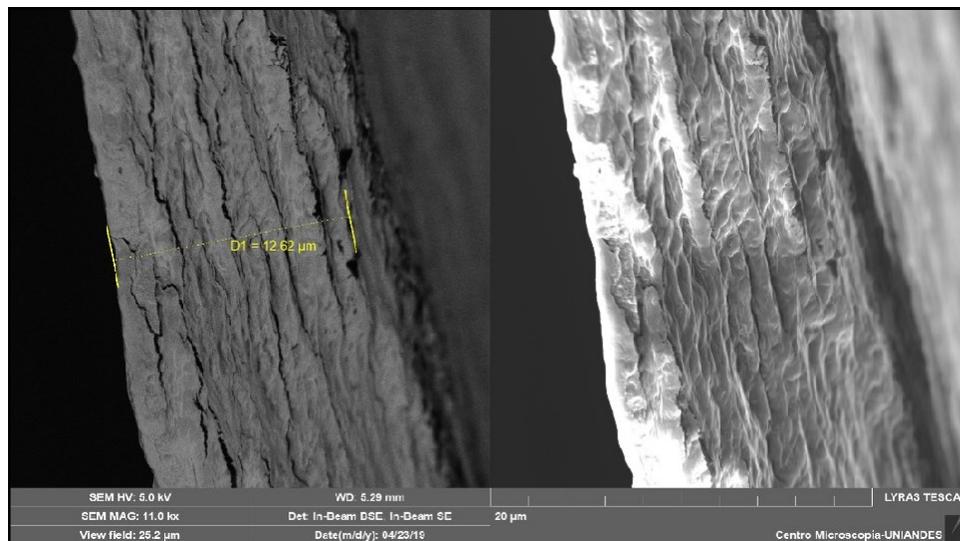
Fuente: (Autores. 2019)

En la figura 7-44 tanto la imagen de los electrones secundarios como los retro dispersados, siguen corroborando la composición de la película, debido a que se observa homogeneidad, es decir se evidencia que la película está compuesta por el mismo material y por tanto no se observan cambios significativos en los tonos, esto debido a que la mayoría de los componentes que se encuentran la película solamente, es xantano y glicerol. Debido a que el polímero proviene de la naturaleza

de los carbohidratos, se puede observar la formación de algunas fibrillas en el corte transversal. Por otro lado, ya que la elaboración de la película se encuentra realizada por capas, se evidencian varias estrías o fibrillas que tienen la misma direccionalidad.

En la imagen también se registra el espesor de un micro corte transversal de la película, de 12.65 μm , este valor es debido al método empleado para la fractura, realizado con nitrógeno líquido.

Figura 7- 45: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 11kx y escala de 20 μm

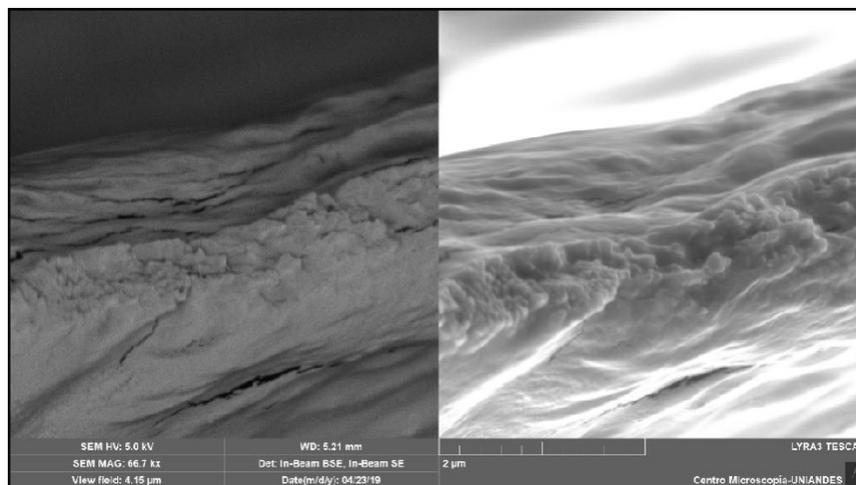


Fuente: (Autores. 2019)

En la figura 7-46 se observa la morfología del corte transversal de la película delgada de xantano-glicerol con nanoencapsulamientos. Debido a que el xantano se comporta como goma, se evidencia que no posee una superficie totalmente plana, si no posee rugosidad, micro valles, grietas y hendiduras.

En esta zona se evidencia como se está dando el fenómeno de fractura, además de cómo queda la combinación de xantano-glicerol, la cual es una mezcla homogénea debido al método por el cual se realiza la película delgada. También se observa que se está obteniendo amplia área superficial por los fenómenos que se observan en la superficie y en el corte, lo que favorece la mucoadhesión debido a que esta se da por la cantidad área superficial.

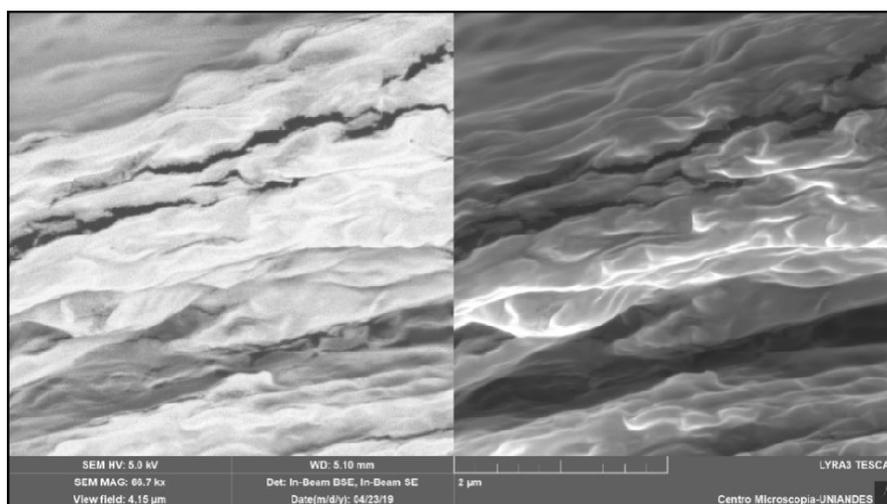
Figura 7- 46: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 66.7 kx y escala de 2 μm



Fuente: (Autores. 2019)

En la figura 7-47 se observa que la distribución del xantano no es lisa, posee una rugosidad y uniformidad. También se evidencia que la película está conformada por micro capas, por tanto, se observan grietas y espacios entre ellas; esto demuestra la manera en la que se está organizando el xantano para formar la película delgada.

Figura 7- 47: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 66.7kx y escala de 2 μm

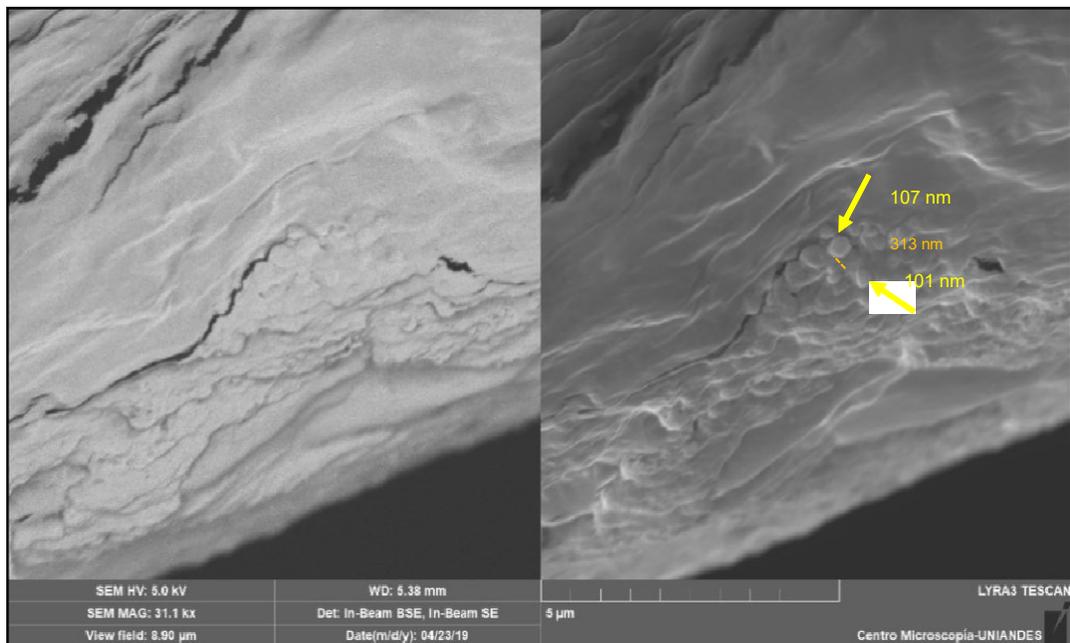


Fuente: (Autores. 2019)

En la micrografía expuesta en la figura 7-48 se observan nanoencapsulamientos no solamente de manera superficial, si no también inmersas en las microcapas que conforman la película, además conservan su morfología, ya que no se deforman o se agregan en la región interna de la película, esto se debe a las propiedades y los espacios que posee las cadenas poliméricas del xantano, que permiten la ubicación de los nanoencapsulamientos dentro de ellas.

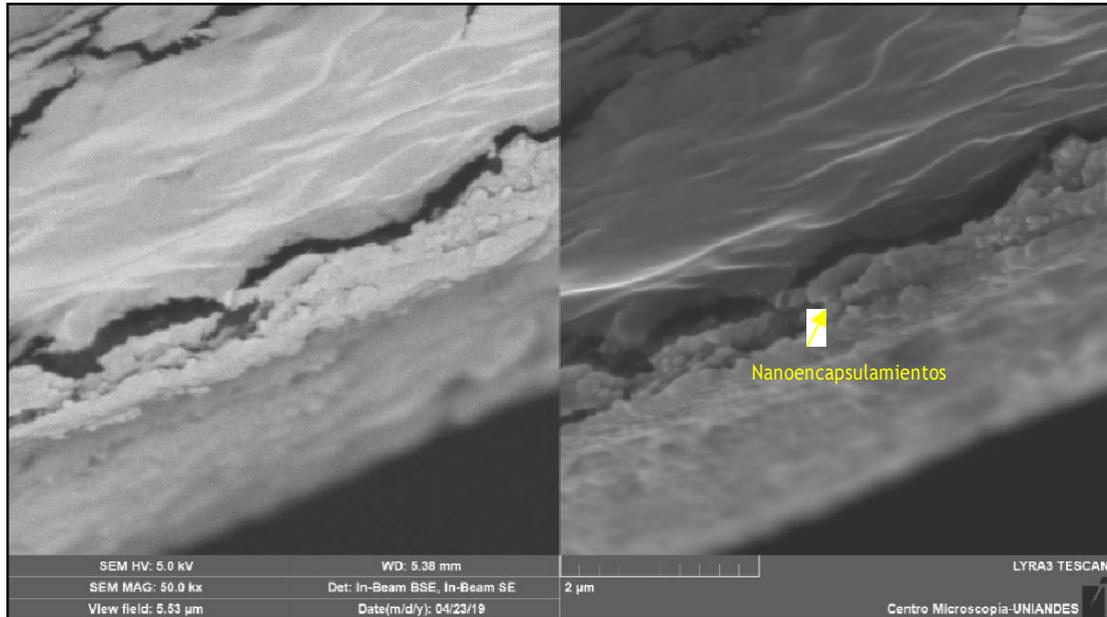
En cuanto a la figura 7-49 se observa una zona de fractura transversal, en la que se puede evidenciar los nanoencapsulamientos en una capa interna del xantano, esto se infiere debido una comparación realizada con las primeras imágenes obtenidas de las películas delgadas sin nanoencapsulamientos (figura 7-38 a 7-41), en donde no se evidencia la formación de esas estructuras circulares o de partículas inmersas en la película. Adicional a esto, debido a que la película está conformada por micro capas, en la imagen se observan grietas y división de las mismas.

Figura 7- 48: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 31.1kx y escala de 5 μm



Fuente: (Autores. 2019)

Figura 7- 49: Micrografía con vista desde corte transversal a película delgada con incorporación de nanoencapsulamientos con candesartán, con una resolución de 50kx y escala de 2 μm



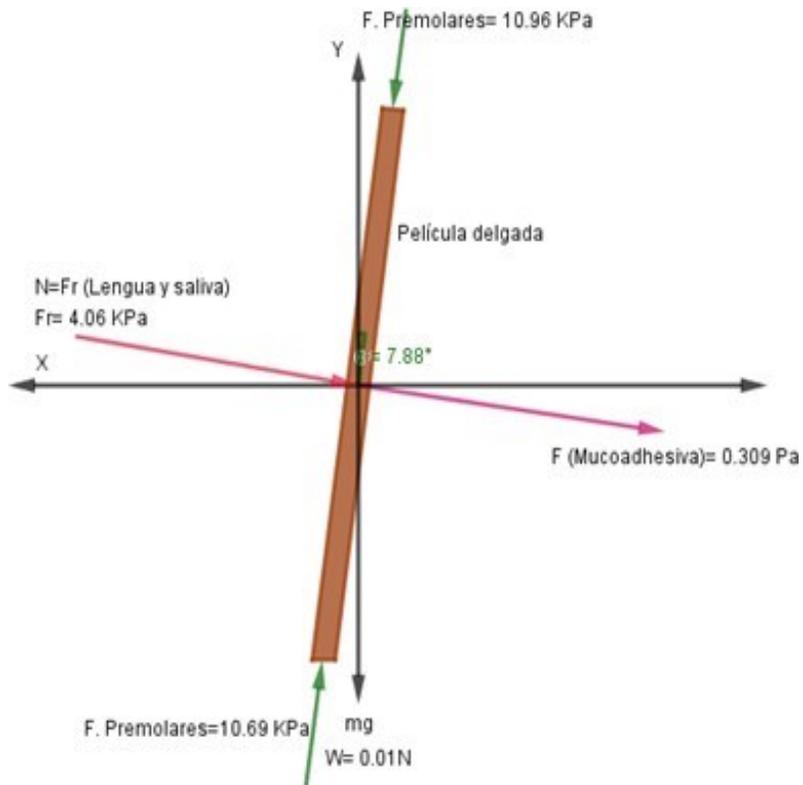
Fuente: (Autores, 2019)

7.4 Fase III: Análisis mecánico

7.3.1 Diagrama de fuerzas de la película delgada

Para realizar un diagrama de fuerzas a la película expuesto en la figura 7-50, se tuvieron en cuenta las dimensiones de la película (20 mm de alto, 20 mm de ancho y 0,2 mm de espesor), una inclinación de 7.88° , valor encontrado en bibliografía del ángulo de inclinación que tiene la mandíbula, al igual se tuvieron en cuenta las fuerzas de compresión ejercidas sobre la película, tales como la fuerza realizada por los premolares tanto superiores como inferiores en eje Y, mientras que para el eje X se tuvo en cuenta la fuerza de fricción generada por la lengua y la saliva y la fuerza mucoadhesiva de los tejidos bucales. Los valores de fuerzas y presiones fueron obtenidos gracias a una amplia revisión bibliográfica y registrados en la tabla 7-12.

Figura 7- 50: Diagrama de fuerzas de la película delgada

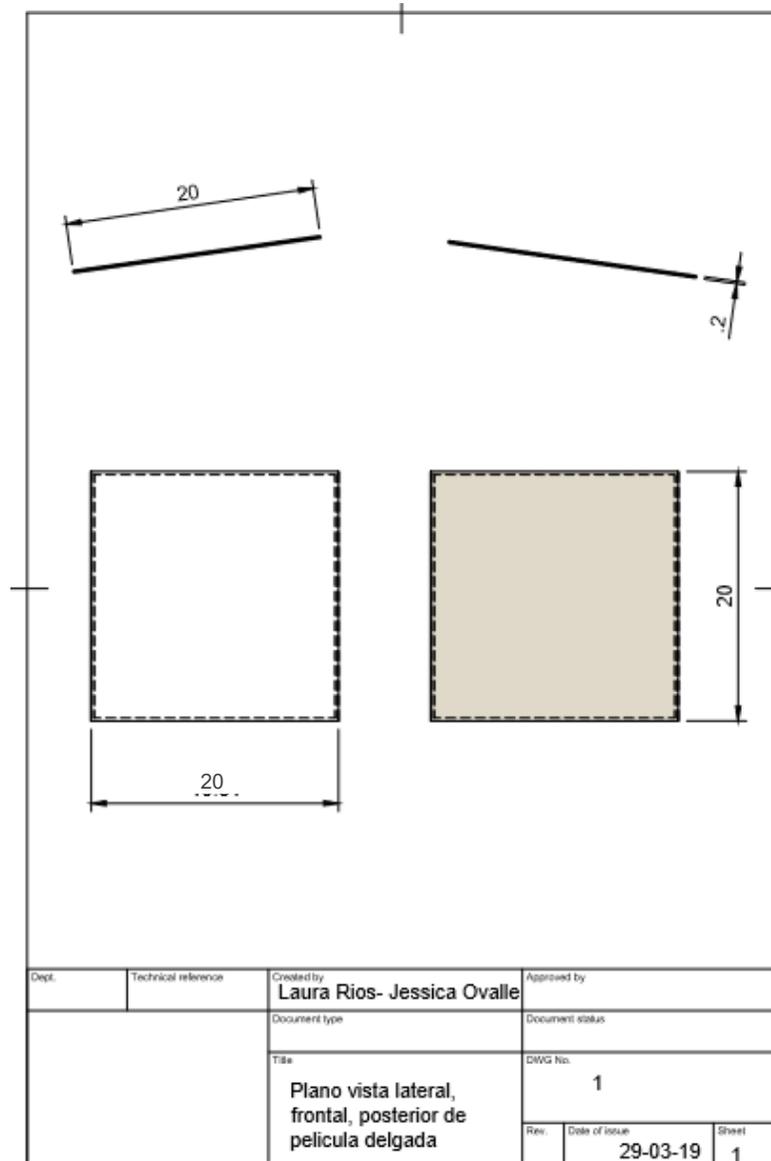


Fuente: (Autores. 2018)

7.3.2 Diseño 3D de la película delgada

El diseño CAD de la película se realizó en Fusion 360, las medidas del diseño fueron: 20 mm de alto, 20 mm de ancho y un grosor de 2 mm, este valor fue elegido teniendo en cuenta las medidas de las películas delgadas obtenidas en otros trabajos reportados en bibliografía (Boddupalli, Mohammed, Nath, & Banji, 2010), (Bilanovic, Starosvetsky, & Armon, 2015). Los planos del diseño 3D se puede observar en las figuras 7-51 y 7-52.

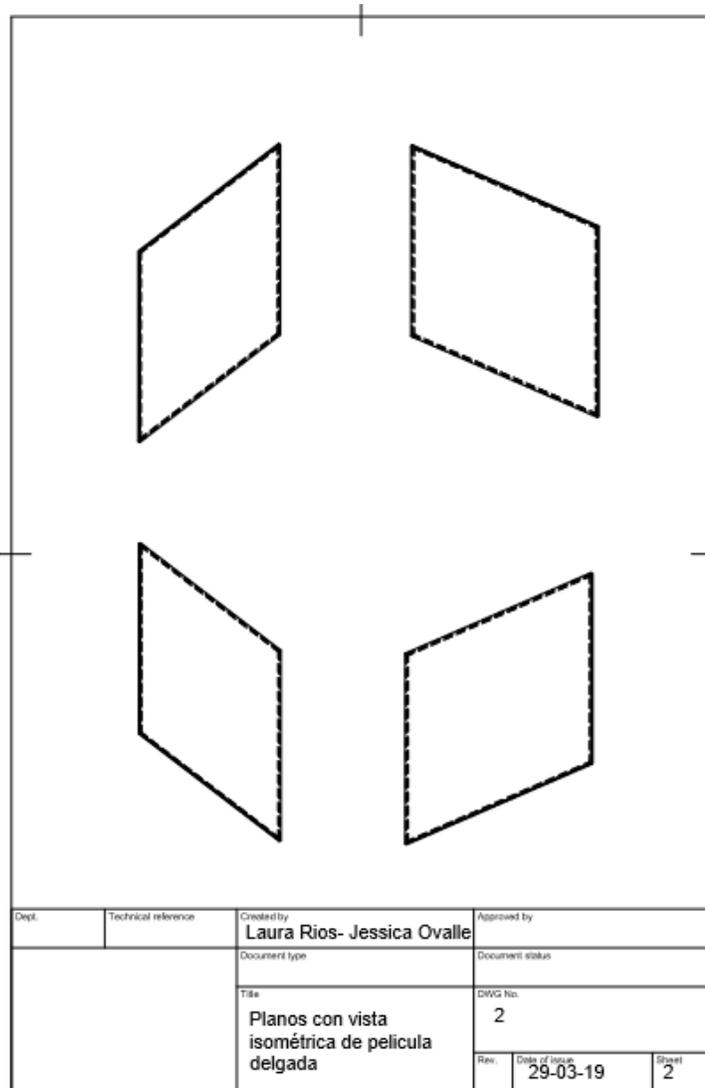
Figura 7- 51: Planos con vista lateral, frontal y posterior en Fusion 360 de la película delgada.



Fuente: (Autores. 2018)

En la figura 7-51 se pueden observar las dimensiones de la película delgada que se realizó para evaluar en Ansys por medio de un análisis de elementos finitos.

Figura 7- 52: Planos con vista isométrica en Fusion 360 de la película delgada.



Fuente: (Autores. 2018)

7.3.3 Alimentación del software

Después de realizar una intensa revisión bibliográfica, se estableció la tabla 7-12 que expone los parámetros necesarios para alimentar el software de Análisis de elementos finitos (Ansys), estos parámetros corresponden a los valores de las principales perturbaciones que existen sobre la película delgada en cavidad oral.

Cabe aclarar que el valor del módulo de Young del xantano más el glicerol es una aproximación debido a que no se reportan los valores en literatura y los equipos disponibles para hallar esta variable no permiten hacer análisis de biomateriales con

tan baja resistencia mecánica.

Tabla 7- 12: Valores utilizados para el análisis mecánico computacional de la película de xantano

Descripción	Valor	Referencia
Presión total en el lado izquierdo de la boca, entre premolares y carrillo	21,93 kPa	(Partal & Aksu,2017)
Densidad xantano	1,5 g/cm ³	(Guidechem Chemical Network)
Viscosidad xantano	1550 mPa	(Guidechem Chemical Network)
Módulo de Young xantano	3,1 ±0,5 GPa	(Bueno, Bentini, Catalani, & Petri, 2013)
Módulo de volumen xantano	10,3 GPa	(Ansys,2019)
Módulo de corte xantano	10,5 GPa	(Ansys,2019)
Tensión de rotura del xantano	40 ± 4 MPa	(Bueno, Bentini, Catalani, & Petri, 2013)
Coefficiente de Poisson goma xantano	0,45	(Monteiro, Piva, Tribes, Borges & Tango, 2018)
Módulo de compresibilidad del glicerol	4,76 GPa	(Royal Society of Chemistry (Great Britain), 2017)
Densidad del glicerol	1,025 kg/ m ³	(Díaz M. S. y Sosa C. R., 1982)
Resistencia a la tracción de película delgada con Glicerol (Aprox)	0.82 ± 0.21 MPa	(Tee, Wong, Tan, & Talib, 2016)
Módulo de Young de película delgada con glicerol (Aprox)	0.40 ± 0.04 MPa	(Tee, Wong, Tan, & Talib, 2016)
Fuerza generada por la saliva (Aprox)	0,06 N	(Hayes, Sharifi, & Stack, 2015)
Fuerza aproximada generada por la lengua	10 KPa	(Partal & Aksu,2017)
Ángulo de inclinación de la película en el carrillo	Aprox 8°	(Linares Tovar et al., 2004)
Fuerza mucoadhesiva en mucosa oral	0,3098 N	(Kotta & Srinivas, 2016)

Los valores tomados de la tabla 7-12 se emplearon para alimentar el software (Ver figura 7-53) y realizar la simulación y posterior análisis de la película delgada y expuesta a las diferentes fuerzas generadas en cavidad oral.

Figura 7- 53: Alimentación del software

7	Xanthan				C
*	Click here to add a new material				
Properties of Outline Row 7: Xanthan					
	A	B	C	D	E
1	Property	Value	Unit		
2	Material Field Variables	Table			
3	Density	1,3	g cm ⁻³		
4	Isotropic Elasticity				
10	Tensile Yield Strength	44	MPa		
11	Tensile Ultimate Strength	44	MPa		

Fuente: (Autores. 2018)

7.3.4 Enmallado

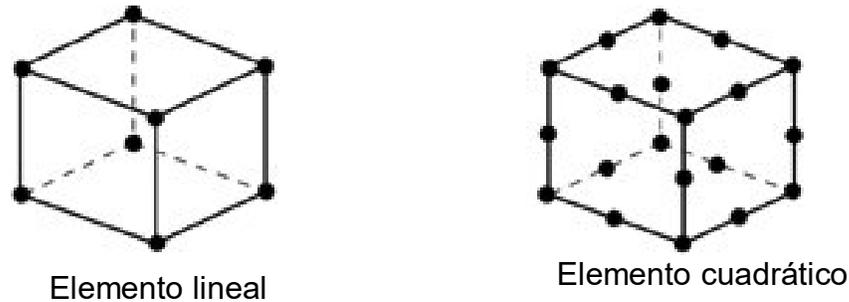
Se optó por hacer un enmallado con elementos de tipo hexadecimal, ya que este proporciona mallas hexadecimales, este tipo de malla se escogió puesto a que brindan mayor precisión para figuras delimitadas por algún tipo de pared (en este caso las paredes de la película), puesto que permiten mantener mallas ortogonales en la dirección de la pared normal del modelo analizado. Esto es consecuencia de la mejor precisión de los elementos hexagonales, ya que el ángulo entre las caras se puede mantener cerca de 90 grados.

Según (Baker, 2005) “existe no solo una eficiencia numérica, sino también hay un factor de eficiencia computacional. Las cuadrículas estructuradas con mallas hexadecimales o cuádruples (regulares o curvilíneas) se pueden implementar más fácilmente y, por lo general, se ejecutan un poco más rápido que los algoritmos que soportan no estructurados. Esto se debe a la topología implícita de la cuadrícula estructurada. Es decir, puede saber implícitamente las células y caras vecinas. Con los algoritmos de malla no estructurados, se debe buscar la conectividad entre las celdas (y los bordes y las caras) desde una tabla que puede ser costosa en la computadora”.

Los elementos utilizados en el análisis presentaban segundo orden, lo cual garantizaba un mejor resultado en cuanto a las deformaciones aplicadas, esto debido a que un elemento lineal o un elemento de primer orden tendrá nodos solo en las esquinas. Esto es algo así como la estructura cúbica centrada en los bordes.

Sin embargo, como se observa en la figura 7-54 un elemento de segundo orden o elemento cuadrático tendrá nodos laterales medios además de nodos en la esquina (borde + cuerpo + estructura cúbica centrada en la cara) (Vishrak, 2018)

Figura 7- 54: Comparación entre elemento lineal y elemento cuadrático



Fuente: (MIT.2017)

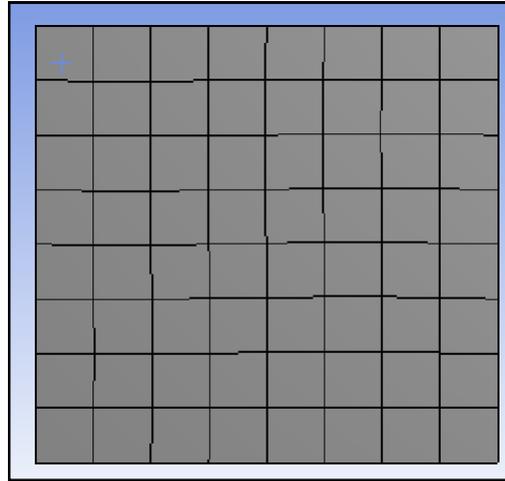
La precisión que se puede obtener de cualquier modelo AEF está directamente relacionada con la malla de elementos finitos que se utiliza. La malla de elementos finitos se utiliza para subdividir el modelo CAD en dominios más pequeños llamados elementos, sobre los cuales se resuelve un conjunto de ecuaciones. Estas ecuaciones representan aproximadamente la ecuación rectora de interés a través de un conjunto de funciones polinomiales definidas sobre cada elemento. En este caso no se usó un refinamiento de malla puesto que se obtuvieron buenos resultados a la hora de evaluar la deformación total en la película.

Resolviendo ecuación 6.2 se obtiene:

$$Te = 3\sqrt{\frac{69,52}{4,11}} = 2,57mm$$

En cuanto al número de elementos que se usaron en el análisis fueron determinados por medio de la ecuación 6.2., la cual permite determinar el tamaño de los elementos del modelo a analizar, en este caso 2,57 mm, y posteriormente este valor es introducido en el software (Ansys 19.1), el cual se encarga de ajustar el tamaño de los elementos (2,57 mm) en el volumen total del modelo (69.254 mm³), garantizando al final de este proceso una cantidad de 252 elementos y 803 nodos, como se puede observar en la figura 7-55.

Figura 7- 55: Enmallado por medio de método dominante hexadecimal



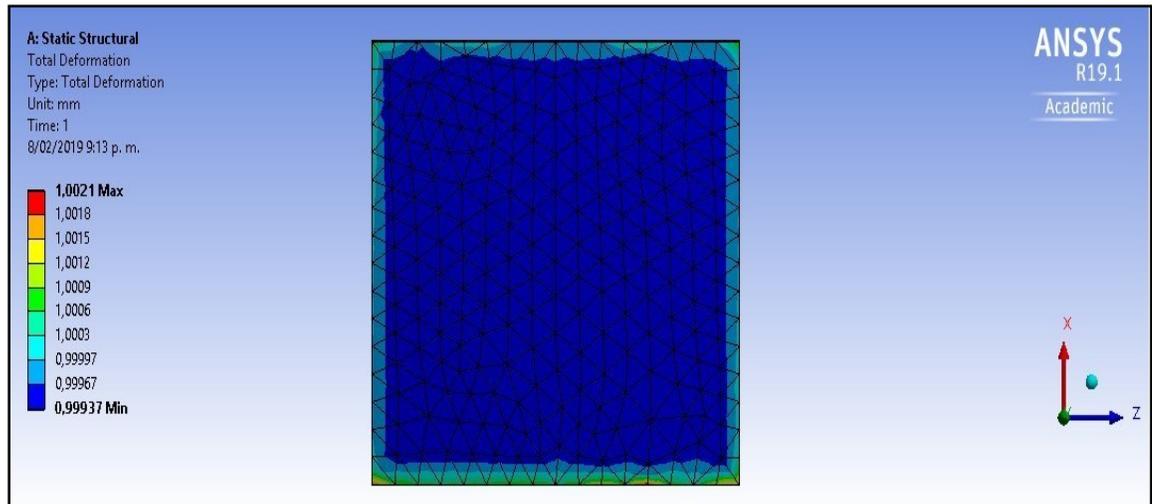
Fuente: (Autores,2018)

No se realizó un refinamiento de malla puesto que los resultados obtenidos con una malla refinada no mostraban las deformaciones ejercidas en la totalidad de la película, esto se infiere, ya que al realizar el refinamiento se evidenció un cambio en la concentricidad de los elementos y la geometría del nodo, produciendo mayor tensión entre los nodos debido a la poca distancia con la que los elementos quedan luego del refinamiento. Por consiguiente, la matriz de los coeficientes de Poisson y el módulo de Young (que son los módulos encargados de calcular la deformación y funcionan bajo el parámetro de distancia) se alteró, produciendo un sobredimensionamiento en el refinamiento el cual no permitió la correcta simulación de deformaciones en la película en comparación a las obtenidas sin un refinamiento (Rieg, Hackenschmidt, & Alber-Laukant, 2014), como se puede observar en la figura 7-56 y 7-57.

La diferencia de elementos y nodos entre la película con refinamiento y sin refinamiento era de 1376 y 2620 respectivamente.

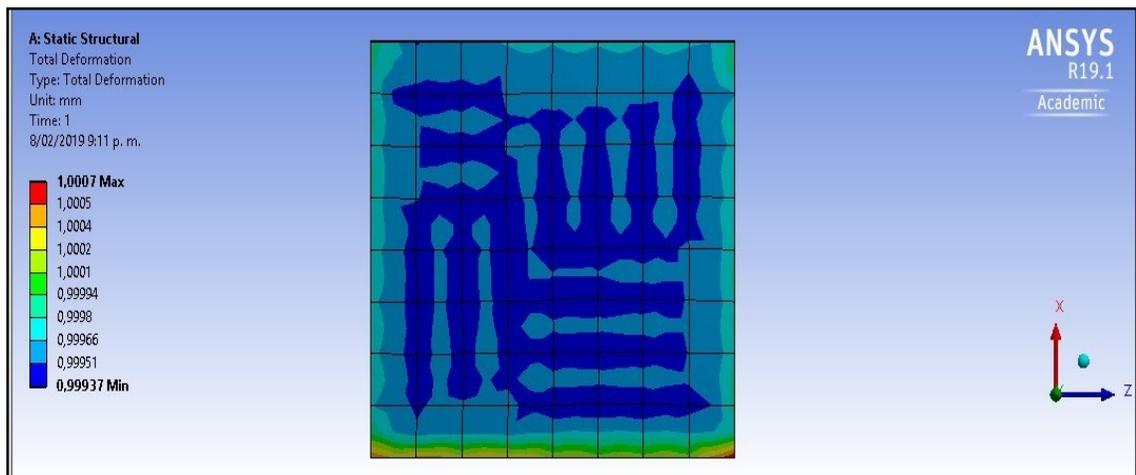
Para el análisis de la película los nanoencapsulamientos con candesartán se despreciaron debido a que la composición final de la película poseía valores de candesartán en orden de los miligramos, al igual se pudo evidenciar en las pruebas realizadas en el laboratorio que la adición de nanoencapsulamientos en la película no afectaba en gran medida el comportamiento de la película, por lo tanto, la simulación computacional no incluyó valores o propiedades relacionadas al fármaco.

Figura 7- 56: Mapa de deformaciones con refinamiento tipo H-method.



Fuente: (Autores. 2019)

Figura 7- 57: Mapa de deformaciones sin refinamiento tipo H-method.



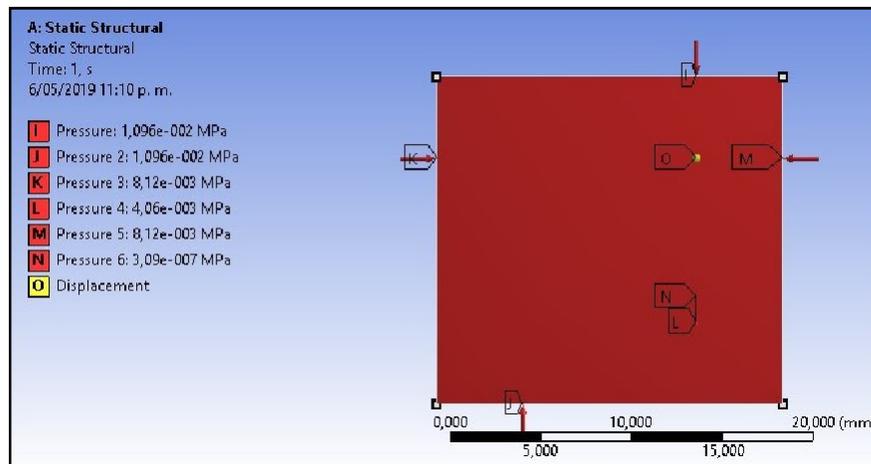
Fuente: (Autores. 2019)

De igual forma, este resultado se puede comparar con los obtenidos de las pruebas de adhesión e hidratación que se les realizaron a las películas, en donde se simulaban varias condiciones presentes en cavidad oral como lo son la agitación, el pH y la temperatura. Las pruebas evidenciaron claramente que en los primeros días las partes de la película que más se veían afectados eran los bordes inferiores, mientras que el centro de la película era la parte que más se demoraba en despegarse y disolverse. Este resultado comparado con el resultado obtenido por medio del análisis de elementos finitos representado en la figura 7-59 y 7-62 permiten evidenciar la aproximación del comportamiento de la película tanto en un modelo computacional como un modelo in vitro.

7.3.5 Ubicación de vectores y soportes

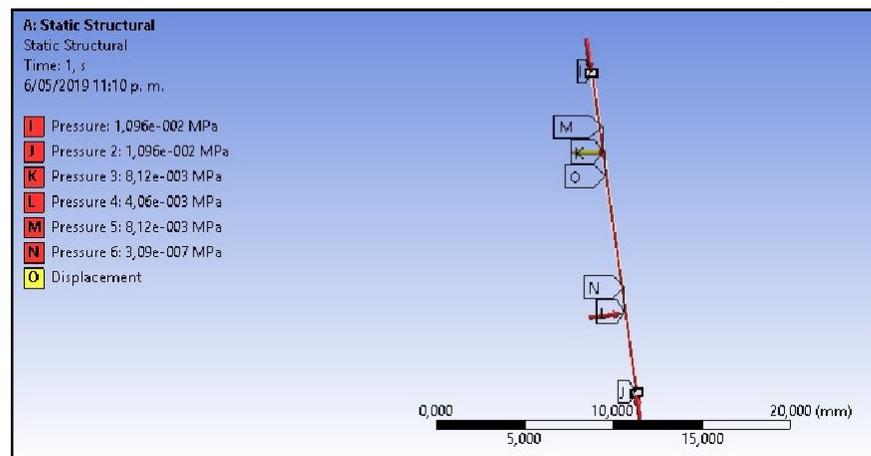
La ubicación de los vectores se hizo siguiendo el diseño planteada en la figura 7-50, dando como resultado los vectores presentes en las figuras 7-58 Y 7-59. De igual forma se utilizó un soporte de desplazamiento debido a que la película está en constante movimiento, esto debido a que estará adherida al carrillo, el cual se desplaza cada vez que el paciente habla, bosteza o estornuda. Como no se encontró en bibliografía un valor de desplazamiento se hizo una aproximación que dio como resultado un valor de 1 mm de libertad en el eje y, este vector se observa de color amarillo ubicado en la parte posterior de la película, que es la que simula estar adherida al carrillo.

Figura 7- 58: Ubicación de vectores y soporte en la película delgada. Vista frontal



Fuente: (Autores. 2018)

Figura 7- 59: Ubicación de vectores y soporte en la película delgada. Vista lateral



Fuente: (Autores. 2018)

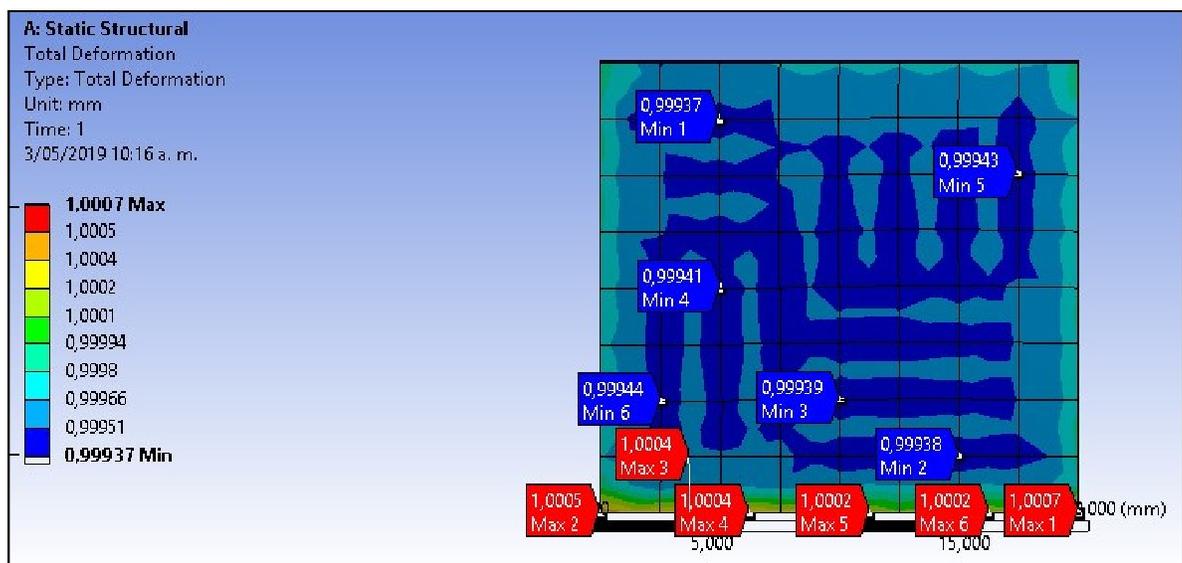
7.3.6 Mapa de deformaciones

Si observamos la figura 7-60 se puede evidenciar que existe un desplazamiento de aproximadamente 1,0007 mm en la parte inferior de la película siendo el mayor valor de deformación obtenida. En cuanto a las deformaciones obtenidas en el centro de la película, oscilan entre 0,99966 mm y 0,9998 mm de desplazamiento, valores que al ser tan bajos no influyen en el comportamiento normal de la película.

Este tipo de análisis nos permitió comprender por medio de una aproximación numérica y computacional cómo sería la dinámica de la película delgada en cavidad oral y que tan viable sería su uso en este espacio.

En cuanto a la simulación expuesta en la figura 7-60 realizada por medio de AEF, arrojó resultados que permitieron identificar los posibles valores máximos y mínimos de deformación que pueda tener la película en cavidad oral, siendo el máximo valor obtenido 1.0007 mm y ubicado en el extremo inferior izquierdo, parte de la película que en términos reales estaría ubicada muy cerca de la sección dental de los premolares.

Figura 7- 60: Valores máximos y mínimos de deformación en la película delgada en cavidad oral



Fuente: (Autores. 2019)

Al comparar los valores obtenidos en la figura 7-60 se evidencia que el extremo inferior de la película tiene una deformación promedio de 1.0004 mm, siendo el mayor valor 1.0007 mm, en comparación con los valores mínimos que se encuentran ubicados en el centro de la película con un promedio de 0,9994 mm, siendo el menor valor obtenido 0,99937 mm.

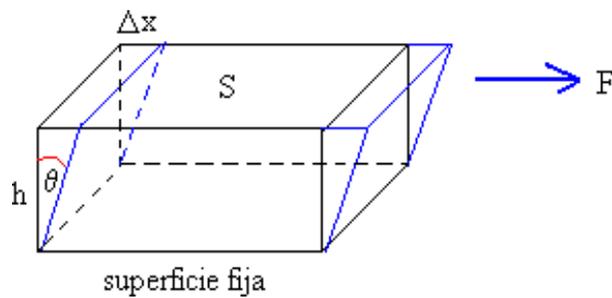
Estos valores encontrados afirman que existe una modificación morfológica en la película, pero el valor es tan pequeño que no provocaría inconvenientes o alteración en la función final que tendrá el vehículo mucoadhesivo.

7.3.7 Mapa de deformación por cizallamiento

Cuando la fuerza F que actúa sobre un cuerpo es paralela a una de las caras mientras que la otra cara permanece fija, se presenta otro tipo de deformación denominada de cizallamiento en el que no hay cambio de volumen, pero sí de forma. Si originalmente la sección transversal del cuerpo tiene forma rectangular, bajo un esfuerzo cortante se convierte en un paralelogramo.

Se define el esfuerzo como la razón entre la fuerza tangencial al área S de la cara sobre la que se aplica. La deformación por cizalla, se define como la razón, donde Δx es la distancia horizontal que se desplaza la cara sobre la que se aplica la fuerza y h la altura del cuerpo, tal como se puede ver en la figura 7-61. El módulo de cizalla G es una propiedad mecánica de cada material.

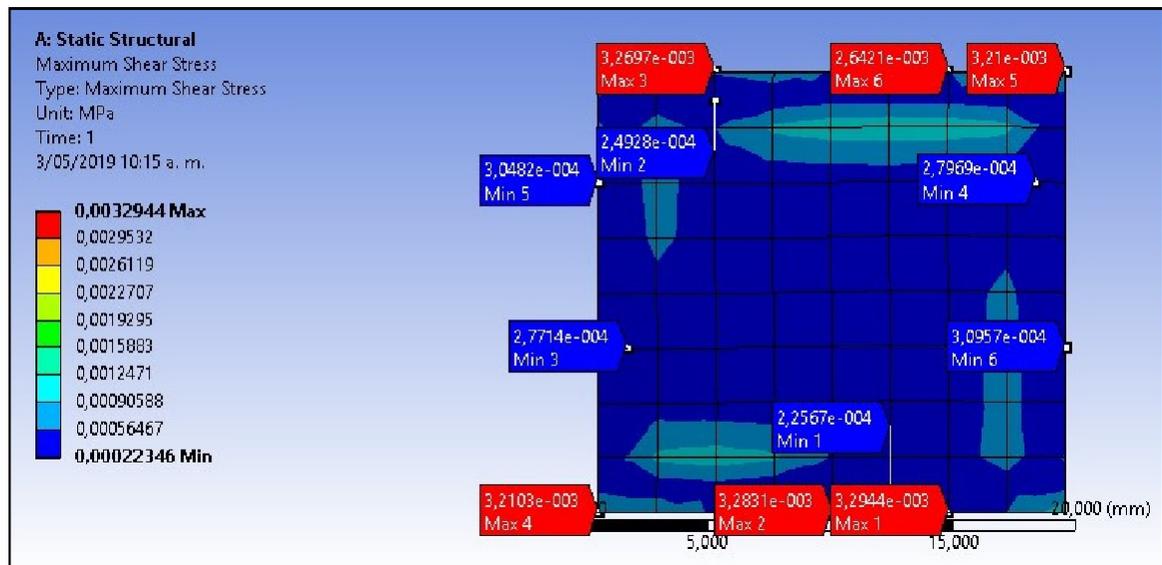
Figura 7- 61:Deformación de un objeto por cizallamiento



Fuente: Universidad del País Vasco

Debido a que la película delgada en cavidad oral puede verse afectada por el esfuerzo cortante o de cizallamiento debido a la interacción con la lengua o con los molares y premolares, fue necesario evaluar cuales eran las máximas presiones y en donde se ubicaban, de este modo se obtuvo el resultado expuesto en la figura 7-62.

Figura 7- 62: Valor de la máxima y mínima presión ejercida por un esfuerzo de cizallamiento en la película.



Fuente: (Autores. 2019)

Los máximos valores de presión generados sobre la película delgada debido a un esfuerzo cortante fueron de 3,2967 kPa y 3,2944 kPa, valores muy próximos al que según literatura posee la lengua en cavidad oral que es de 4,06 kPa (Partal & Aksu, 2017), se podría sugerir que la presión ejercida sobre la película presenta un menor valor al reportado por la lengua, ya que los dientes al estar interponiéndose entre ambos elementos disminuyen la presión ejercida debido a la fricción.

Otro factor para tener en cuenta que expone la gráfica expuesta en la figura 7-64 es que las presiones se encuentran distribuidas en toda la película, por lo tanto, no se va a generar el desgaste de un solo lado, si no por el contrario con el tiempo la película se va a ir degradando de manera progresiva en todos sus lados.

8. CONCLUSIONES

La concentración de criopreservante que presentó mejores resultados fue la adición de glucosa al 5,0% p/v, debido a que mantuvo la morfología y el tamaño de los nanoencapsulamientos y al igual evitó la agregación de partículas.

Los nanoencapsulamientos incorporados en las películas delgadas presentaban un tamaño debajo de los 250 nm, que es el valor límite reportado en bibliografía que pueden poseer los nanoencapsulamientos para atravesar la mucosa oral.

La composición que presentó mejores características físicas, químicas, morfológicas y mecánicas fue la de xantano al 5,0% p/v con adición de glicerol al 1,0%v/v, ya que demostró tener el mayor índice de hidratación entre las 3 diferentes composiciones utilizadas, al igual que la mayor elasticidad, tenacidad y una buena superficie. Esto también permite afirmar que el glicerol demostró ser un buen plastificante ya que aumentó visiblemente las características mecánicas antes mencionadas de las películas y no afectó la adhesión del polímero.

En cuanto al espesor de las películas no se encontró una diferencia significativa debido a que los espesores tanto de la película sin glicerol, como los de las películas con adición de glicerol al 0,5%v/v y del 1,0%v/v se asemejaron entre sí, aunque la incertidumbre en este caso fue mayor para las películas de solo xantano debido a su fragilidad y poca distribución de polímero al momento de secado, por tanto, generaron valores que oscilaron desde el mínimo grosor hasta valores cercanos de espesor con las películas del 0,5% y 1,0% v/v de glicerol.

Evaluando los porcentajes de hidratación se observó que a medida que aumenta la concentración de glicerol en la película, disminuye su capacidad de absorción de agua, esto debido a la presencia de otros grupos funcionales que pueda afectar la unión con las moléculas de agua. Por lo tanto, el porcentaje de hidratación fue mayor para películas que no contenían glicerol y menor para las películas del 1,0%v/v de glicerol. Otro comportamiento que se evidencio en esta prueba corresponde a que el porcentaje de hidratación es inversamente proporcional al peso de la película, es decir entre menor peso, mayor capacidad de hinchazón tendrá la película.

En cuanto al espesor de las películas con nanoencapsulamientos aumentó debido a la adición de otro componente más a la película; los valores que se registraron de las películas delgadas fueron de 0,20 a 0,24mm, que se encuentran dentro del rango establecido para una película delgada mucoadhesiva. En cuanto al porcentaje de hidratación, no se vio afectada por la adición de los nanoencapsulamientos, sus valores fueron similares a las películas sin nanoencapsulamientos.

En general, los espectros de FTIR para xantano, glicerol y las 3 películas con composición diferente, apuntan fuertemente hacia la reticulación química de glicerol y xantano, al igual permitieron evidenciar que tanto el glicerol como el xantano no cambiaron su estructura química en la realización de las películas.

El espectro de FTIR de la película con nanoencapsulamientos, permitió evidenciar que no se modificó la composición de la película debido a que se mantiene la relación con las bandas características del xantano y glicerol, por tanto, se siguió manteniendo la composición de la película delgada de xantano-glicerol en la película con adición de nanoencapsulamientos Quitosano-miglyol con candesartán.

El espectro de análisis cuantitativo elemental permitió evidenciar que las películas no poseen metales en su composición, de igual forma se pudo observar que la composición de las películas sigue siendo del material orgánico que compone al xantano, sin embargo, cabe resaltar que existió en alguna parte del proceso de elaboración la contaminación de la muestra con sulfatos.

Las micrográficas de las películas delgadas, mostraron la existencia de una capa ajena al material, compuesta principalmente de sodio y potasio, esto se puede deber a una capa de sal formada a partir del intercambio iónico que realiza el xantano para lograr el entrecruzamiento y su interacción con la diferencia en el gradiente de temperatura a la hora del secado de las películas, que pudo causar la cristalización de los iones que no quedaron retenidos en la estructura interna de las películas. Este gradiente de temperatura también provoca que las películas están conformadas por múltiples capas de xantano y glicerol con un valor de alrededor 21 μm .

En cuanto a las micrográficas obtenidas de la película con nanoencapsulamientos, se puede evidenciar que poseen una buena distribución y no existen fenómenos de agregación en la superficie de la película, al igual presentan un tamaño homogéneo de entre 30nm a 50 nm, conservan su naturaleza lipídica, debido a las formas ovaladas y marcadas que presentan los nanoencapsulamientos en las micrográficas. Por otro lado, debido a la estructura del xantano y los espacios libres que quedan en su superficie al secarse se logró la incorporación de las nanopartículas en su interior, sin agregación y manteniendo su morfología como se puede observar en la figura 7-50.

En las micrográficas se puede observar la conformación de la película a través de micro capas, y se pueden evidenciar varias características, como una gran superficie rugosa y micro valles, que aumentan y mejoran las características de la película, lo que le da mayor propiedad de adhesión. También se observa homogeneidad entre el xantano y el glicerol de la película, lo que evidencia el mejoramiento de la técnica empleada para la elaboración de la película.

Por otro lado, el tamaño de los elementos que permitió la correcta simulación fue de 2,57 mm, lo que generó en el modelo simulado una totalidad de 252 elementos y 803 nodos, en cuanto a las deformaciones encontradas en la simulación, proporcionaron datos que indicaron que el mayor desplazamiento que tendría la película en cavidad oral sería de aproximadamente 1,0007 mm, en cuanto a las deformaciones obtenidas en el centro de la película, estas oscilan entre 0,99966 mm y 0,9998 mm de desplazamiento, valores que al ser tan bajos no afectarían el funcionamiento normal de las películas en cavidad oral.

Según los mapas de deformación obtenidos por ANSYS la mayor afectación en la película se genera en sus extremos, este fenómeno se pudo comprobar en las pruebas de adhesión e hidratación realizadas en el laboratorio.

Igualmente, el análisis de elementos finitos permitió encontrar que el máximo valor de presión por acción de cizallamiento es de 3,2967 kPa, valor que se puede sugerir, debido a la similitud de valores de presión, es provocada por la interacción entre la película y la lengua.

9. RECOMENDACIONES

Realizar otros tipos de estudios a las películas obtenidas como estudio de mucoadhesión in vitro, en mucosa oral porcina, para determinar tanto tiempo como fuerza de adhesión sobre mucosa oral.

Realizar un estudio de cinética de liberación del fármaco, que permite complementar la información sobre el fenómeno de paso de los encapsulamientos con candesartán y los tiempos en los cuales la concentración de este se encuentra en la concentración terapéutica.

Evaluar el porcentaje de hidratación en un tiempo de 6 días, que fue el máximo tiempo de adhesión registrado en las pruebas realizadas.

También se sugiere realizar pruebas de citotoxicidad, para evaluar posibles efectos de la película delgada sobre la mucosa oral.

Se recomienda evaluar el pH de la solución de nanoencapsulamientos antes de que sea incorporada a la película, de esta forma el aumentar el pH de esta solución se evitará que la película final posea un pH fuera de los rangos estipulados para no causar daño en mucosa oral.

Se recomienda realizar pruebas físicas a la película delgada para determinar módulo de Young y así obtener mejores aproximaciones para el Análisis de Elementos Finitos por medio de Ansys.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse, S., & Fessi, H. (2006). *Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.addr.2006.09.017 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0169409X06001840>
- Abd El Azim, H., Nafee, N., Ramadan, A., & Khalafallah, N. (2015). *Liposomal buccal mucoadhesive film for improved delivery and permeation of water-soluble vitamins* doi://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.ijpharm.2015.04.052
- Abruzzo, A., Bigucci, F., Cerchiara, T., Cruciani, F., Vitali, B., & Luppi, B. (2012). *Mucoadhesive chitosan/gelatin films for buccal delivery of propranolol hydrochloride*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.carbpol.2011.08.024 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S014486171100703>
- Ajay Harish. (2016, -10-24). Finite element method – what is it? FEM and FEA explained. Retrieved from <https://www.simscale.com/blog/2016/10/what-is-finite-element-method/>
- Akhtar, M. F., Hanif, M., & Ranjha, N. M. (2016). *Methods of synthesis of hydrogels ... A review*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.jsps.2015.03.022 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S1319016415000857>
- Alaboodi, A. S., & Hussain, Z. (2017). *Finite element modeling of nano-indentation technique to characterize thin film coatings*//doi.org/10.1016/j.jksues.2017.02.001 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018363917300399>
- Almalik, A., Alradwan, I., Kalam, M. A., & Alshamsan, A. (2017). *Effect of cryoprotection on particle size stability and preservation of chitosan nanoparticles with and without hyaluronate or alginate coating*//doi.org/10.1016/j.jsps.2016.12.008 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319016417300014>
- Ansari, M., Sadarani, B., & Majumdar, A. (2018). *Optimization and evaluation of mucoadhesive buccal films* .Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S1773224717303647>
- Aston, R., Sewell, K., Klein, T., Lawrie, G., & Grøndahl, L. (2016). *Evaluation of the impact of freezing preparation techniques on the characterisation of alginate hydrogels by cryo-SEM*//doi-

org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.eurpolymj.2016.06.025 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S001430571630653X>

- Baker, T. J. (2005). *Mesh generation: Art or science?* doi://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.paerosci.2005.02.002
- Bala, R., Pawar, P., Khanna, S., & Arora, S. (2013). Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 3(2), 67-76. 10.4103/2230-973X.114897 Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3757902/>
- Barar, J., Javadzadeh, A. R., & Omid, Y. (2008). Ocular novel drug delivery: Impacts of membranes and barriers. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 5(5), 567-581. 10.1517/17425247.5.5.567
- Bartkowiak, A., Rojewska, M., Biadasz, A., Lulek, J., & Prochaska, K. (2017). *Surface properties and morphology of selected polymers and their blends designed to mucoadhesive dosage forms*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.reactfunctpolym.2017.06.011 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S1381514817301177>
- Bernkop-Schnürch, A. (2005). *Thiomers: A new generation of mucoadhesive polymers*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.addr.2005.07.002 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0169409X05001407>
- Boddupalli, B. M., Mohammed, Z. N. K., Nath, R. A., & Banji, D. (2010). Mucoadhesive drug delivery system: An overview. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 1(4), 381-387. 10.4103/0110-5558.76436 Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3255397/>
- Campos A., Carrasco O., Contreras E., Figueroa J., Gómez C., Izazola C., Lemini C., López M., Lorenzana M., Magos G., Mendoza N., Rodríguez R., Rodríguez S., Rojas Y., Rojas J., Mejía J., Ventura R., (2013). *VADEMÉCUM ACADÉMICO DE MEDICAMENTOS. INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C. V. Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, C. P. 04510, México D. F. McGRAW-HILL.*
- Castro Ruiz, J. M., Vallejo Díaz, B. M., & Barbosa Barbosa, H. J. (2016). Diseño de un sistema bioadhesivo de clorhexidina empleando pullulan como matriz para uso en mucosa oral. *Revista Colombiana De Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 45(1), 48-76. 10.15446/rcciquifa.v45n1.58016 Retrieved from <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcciquifa/article/view/58016>
- Cayman Chemical Company. (2013). Candesertán cilexetil. Retrieved from <https://www.caymanchem.com/msdss/10489m.pdf>
- Çelebioğlu, H. Y., Gudjónsdóttir, M., Meier, S., Duus, J. Ø, Lee, S., & Chronakis, I. S. (2015). *Spectroscopic studies of the interactions between β -lactoglobulin*

and bovine submaxillary mucin//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.foodhyd.2015.04.026 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0268005X15001903>

- Cernes, R., Mashavi, M., & Zimlichman, R. (2011). Differential clinical profile of candesartan compared to other angiotensin receptor blockers. *Vascular Health and Risk Management*, 7, 749-759. 10.2147/VHRM.S22591 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22241949>
- Chen, J., Ahmad, R., Li, W., Swain, M., & Li, Q. (2015). Biomechanics of oral mucosa. *Review*, 12(109) Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4535403/>
- Chinna Reddy, P., Chaitanya, K. S. C., & Madhusudan Rao, Y. (2011). A review on bioadhesive buccal drug delivery systems: Current status of formulation and evaluation methods. *Daru : Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*, 19(6), 385. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23008684>
- Cohen, G., Joly, P., Roberts, J., & Tordjman, N. (2001). Higher order triangular finite elements with mass lumping for the wave equation. *SIAM Journal on Numerical Analysis*, 38(6), 2047-2078. 10.1137/S0036142997329554 Retrieved from <https://epubs.siam.org/doi/abs/10.1137/S0036142997329554>
- Cook, S. L., Bull, S. P., Methven, L., Parker, J. K., & Khutoryanskiy, V. V. (2017). *Mucoadhesion: A food perspective*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.foodhyd.2017.05.043 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0268005X16310591>
- De Chasteigner, S & Fessi, Hatem & Cave, G & Devissaguet, J.P. & Puisieux, F. (1995). Gastro-intestinal tolerance study of a freeze-dried oral dosage form of indomethacin-loaded nanocapsules. *S.T.P. Pharma Pratiques*. 5. 242-246.
- Deepthi, Y., & Murthy, T. E. G. (2015). Design and development and evaluation of candesartan cilexetil liquid filling formulations. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 5(2), 81-86. 10.4103/2230-973X.153382 Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4381390/>
- Dekker, J., Rossen, J. W. A., Büller, H. A., & Einerhand, A. W. C. (2002). *The MUC family: An obituary*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/S0968-0004(01)02052-7 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0968000401020527>
- Derjaguin, B. V., Aleinikova, I. N., & Toporov, Y. P. (1994). *On the role of electrostatic forces in the adhesion of polymer particles to solid surfaces*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/0079-6816(94)90042-6 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/0079681694900426>
- Derjaguin, B. V., Toporov, Y. P., Muller, V. M., & Aleinikova, I. N. (1977). *On the relationship between the electrostatic and the molecular component of the*

adhesion of elastic particles to a solid surface//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/0021-9797(77)90162-X " Retrieved from

<http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/002197977790162X>

- Dixit, R. P., & Puthli, S. P. (2009). *Oral strip technology: Overview and future potential*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.jconrel.2009.06.014 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S016836590900426X>
- Duchêne, D., Touchard, F., & Peppas, N. A. (1988). Pharmaceutical and medical aspects of bioadhesive systems for drug administration. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 14(2-3), 283-318. 10.3109/03639048809151972 Retrieved from <https://doi.org/10.3109/03639048809151972>
- Duvvuri, S., Majumdar, S., & Mitra, A. K. (2004). Role of metabolism in ocular drug delivery. *Current Drug Metabolism*, 5(6), 507-515.
- Faria, S., de Oliveira Petkowicz, Carmen Lúcia, de Moraes, Sérgio Antônio Lemos, Terrones, M. G. H., de Resende, M. M., de França, F. P., & Cardoso, V. L. (2011). *Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth* doi://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.063
- Imeson, A. (2010). *Food stabilisers, thickeners and gelling agents*. Chichester [u.a.]: Wiley-Blackwell.
- Fonte, P., Soares, S., Costa, A., Andrade, J. C., Seabra, V., Reis, S., & Sarmiento, B. (2012). Effect of cryoprotectants on the porosity and stability of insulin-loaded PLGA nanoparticles after freeze-drying. *Biomatter*, 2(4), 329-339. 10.4161/biom.23246 Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3568117/>
- Franks, F. (1998). Freeze-drying of bioproducts: Putting principles into practice. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik E.V*, 45(3), 221-229.
- Gandhi, R. B., & Robinson, J. R. (1994). *Oral cavity as a site for bioadhesive drug delivery*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/0169-409X(94)90026-4 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/0169409X94900264>
- Grabovac, V., Guggi, D., & Bernkop-Schnürch, A. (2005). *Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.addr.2005.07.006 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0169409X05001468>
- Gurruchaga, H., Ciriza, J., Saenz del Burgo, L., Rodriguez-Madoz, J. R., Santos, E., Prosper, F., . . . Pedraz, J. L. (2015). *Cryopreservation of*

microencapsulated murine mesenchymal stem cells genetically engineered to secrete erythropoietin//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.ijpharm.2015.02.047 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0378517315001568>

- Hamdi, M., Puopolo, M., Pham, H., & Sue, H. (2016). *Experimental and FEM analysis of scratch behavior on polypropylene thin films: Effect of film orientation and ethylene monomer content*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.triboint.2016.07.025 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0301679X16302432>
- Hanif, M., Zaman, M., & Chaurasiya, V. (2015). Polymers used in buccal film: A review. *Designed Monomers and Polymers*, 18(2), 105-111. 10.1080/15685551.2014.971389 Retrieved from <https://doi.org/10.1080/15685551.2014.971389>
- Hosoya, K., Lee, V. H. L., & Kim, K. (2005). Roles of the conjunctiva in ocular drug delivery: A review of conjunctival transport mechanisms and their regulation. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik E.V*, 60(2), 227-240. 10.1016/j.ejpb.2004.12.007
- Humphrey, S. P., & Williamson, R. T. (2001). A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 85(2), 162-169. 10.1067/mpr.2001.113778 Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022391301540329>
- Husain Asif, Azim Md Sabir, Mitra Moloy and Bhasin Parminder S. (2011). A review on candesartan: Pharmacological and pharmaceutical profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10(1), 12-17.
- Jabbari, E., Wisniewski, N., & Peppas, N. A. (1993). *Evidence of mucoadhesion by chain interpenetration at a poly (acrylic acid)/mucin interface using ATR-FTIR spectroscopy*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/0168-3659(93)90109-I Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/016836599390109I>
- Karki, S., Kim, H., Na, S., Shin, D., Jo, K., & Lee, J. (2016). *Thin films as an emerging platform for drug delivery*//doi.org/10.1016/j.ajps.2016.05.004 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1818087616300368>
- Karki, S., Kim, H., Na, S., Shin, D., Jo, K., & Lee, J. (2016). *Thin films as an emerging platform for drug delivery*//doi.org/10.1016/j.ajps.2016.05.004 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1818087616300368>
- Khan, S., Boateng, J. S., Mitchell, J., & Trivedi, V. (2015). Formulation, characterisation and stabilisation of buccal films for paediatric drug delivery of omeprazole. *AAPS PharmSciTech*, 16(4), 800-810. 10.1208/s12249-014-0268-

- Kydd, W. L., & Daly, C. H. (1982). The biologic and mechanical effects of stress on oral mucosa. *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 47(3), 317-329.
- Kraisit, P., Limmatvapirat, S., Luangtana-Anan, M., & Sriamornsak, P. (2018). *Buccal administration of mucoadhesive blend films saturated with propranolol nanoparticles*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.ajps.2017.07.006 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S1818087617304051>
- Lafuente G. (2017). "GLICEROL: SÍNTESIS Y APLICACIONES" Retrived from http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Glafuente/Lafuente_Aranda_Gustavo_TFM.pdf
- Lee, M. K., Kim, M. Y., Kim, S., & Lee, J. (2009). Cryoprotectants for freeze drying of drug nano-suspensions: Effect of freezing rate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98(12), 4808-4817. 10.1002/jps.21786
- Lee, Y., & Chien, Y. W. (1995). *Oral mucosa controlled delivery of LHRH by bilayer mucoadhesive polymer systems*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/0168-3659(95)00082-8 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/0168365995000828>
- Li Liu, Qi Gao, Xuemin Lu, & Huifang Zhou. (2016). In situ forming hydrogels based on chitosan for drug delivery and tissue regeneration. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(6), 673-683. 10.1016/j.ajps.2016.07.001 Retrieved from <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S1818087616300502>
- Lundy, D. J., Chen, K., Toh, E. K., & Hsieh, P. C. (2016). Distribution of systemically administered nanoparticles reveals a size-dependent effect immediately following cardiac ischaemia-reperfusion injury. *Scientific Reports*, 6, 25613. 10.1038/srep25613 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27161857>
- Malpure, D. R., & Deore, S. L. (2016). Development and characterization of buccal film of candesartan. *Pharmaceutical Methods*, 7(2), 75-88. 10.5530/phm.2016.7.12
- Miran, F., Mumtaz, M. W., Mukhtar, H., & Danish, M. (2017). Value-added use of residual glycerol from biodiesel production process via the optimized synthesis of alkyd resins. *Process Safety and Environmental Protection*, 109, 659-669. doi: 10.1016/j.psep.2017.05.003
- Morales, M. (2013). *Formulación de elementos finitos y elementos discretos*. (https://cimat.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1008/468/1/TE_1523.pdf).
- Morales, J. O., & McConville, J. T. (2011). *Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.ejpb.2010.11.023 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S09>

39641110003176

- Morantes, S. J., Buitrago, D.M., Ibla, J.F., García, Y.M., Lafaurie, G.L., Parraga, J.E., (2017). Composites of hydrogels and nanoparticles: A potential solution to current challenges in buccal drug delivery. In Sougata Jana, Sabyasachi Maiti, Subrata Jana (Ed.), *Biopolymer-based composites drug delivery and biomedical applications* (pp. 107-126) Elsevier Inc.//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.jconrel.2012.11.019
- Nafee, N. A., Ismail, F. A., Boraie, N. A., & Mortada, L. M. (2003). *Mucoadhesive buccal patches of miconazole nitrate: In vitro/in vivo performance and effect of ageing*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/S0378-5173(03)00371-5 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0378517303003715>
- Nair, A. B., Kumria, R., Harsha, S., Attimarad, M., Al-Dhubiab, B. E., & Alhaider, I. A. (2013). *In vitro techniques to evaluate buccal films*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.jconrel.2012.11.019 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0168365912008267>
- Nappinnai, M., Chandanbala, R., & Balajirajan, R. (2008). Formulation and evaluation of nitrendipine buccal films. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(5), 631-635. 10.4103/0250-474X.45402 Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3038288/>
- Peppasa, BuresaW, Leobandung, H.Ichikawa. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1), 27-46. 10.1016/S0939-6411(00)00090-4 Retrieved from <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0939641100000904>
- Patel, G., & Misra, A. (2011). 10 - oral delivery of proteins and peptides: Concepts and applications. In A. Misra (Ed.), *Challenges in delivery of therapeutic genomics and proteomics* (pp. 481-529). London: Elsevier.//doi.org/10.1016/B978-0-12-384964-9.00010-4 Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123849649000104>
- Peppas, N. A., Thomas, J. B., & McGinty, J. (2009). Molecular aspects of mucoadhesive carrier development for drug delivery and improved absorption. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 20(1), 1-20. 10.1163/156856208X393464 Retrieved from <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1163/156856208X393464>
- Rao, G., Bharathi, P., & Akila, R. (2014). A comprehensive review on biopolymers., 61-67. Retrieved from <http://www.tsijournals.com/articles/a-comprehensive-review-on-biopolymers.pdf>
- Rao, R. V. (2014). *The significant application of FEM to evaluate the mechanical properties of thin films*//doi.org/10.1016/j.mspro.2014.07.200 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211812814005653>

- Rao, S. (2012). *Development of novel micro-reservoir based buccal mucosal drug delivery systems* Retrieved from <https://trove.nla.gov.au/work/191659657>
- Rathbone, M., Senel, S., & Pather, I. (2015). *Oral mucosal drug delivery and therapy* (1st ed.). New York, NY: Springer Verlag. Retrieved from <http://lib.mylibrary.com?ID=767802>
- Remuñán-López, C., Portero, A., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1998). *Design and evaluation of chitosan/ethylcellulose mucoadhesive bilayered devices for buccal drug delivery*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/S0168-3659(98)00044-3 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0168365998000443>
- Rieg, F., Hackenschmidt, R., & Alber-Laukant, B. (2014). In Rieg F., Hackenschmidt R. and Alber-Laukant B.(Eds.), *4 - finite elements and element matrices* Hanser. doi://doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.3139/9781569904886.004 "
- Robaina, N. F., de Paula, Carlos Eduardo R, Brum, D. M., de la Guardia, M., Garrigues, S., & Cassella, R. J. (2013). *Novel approach for the determination of azithromycin in pharmaceutical formulations by fourier transform infrared spectroscopy in film-through transmission mode*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.microc.2013.04.015 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0026265X13000830>
- Rojas Guillermo, Vallejo Bibiana, & Perilla Jairo. (2008). Biopolymers as materials for developing products in pharmaceutical applications and biomedical uses. *Ingeniería E Investigación*, 28(1), 57-71. Retrieved from <https://search.proquest.com/docview/1677615114>
- Rojo, F. Sn. Tablas de Espectroscopía Infrarroja. Retrieved from http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/IR-tablas_35276.pdf
- Roy, S. K., & Prabhakar, B. (2010). Bioadhesive polymeric platforms for transmucosal drug delivery systems - a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9(1)10.4314/tjpr.v9i1.52043 Retrieved from <http://www.bioline.org.br/abstract?id=pr10012>
- Rubinson K.A., Rubinson J.F., "Análisis Instrumental", Ed. Pearson Educación, 2000.
- Russo, E., Selmin, F., Baldassari, S., Gennari, C. G. M., Caviglioli, G., Cilurzo, F., Parodi, B. (2016). *A focus on mucoadhesive polymers and their application in buccal dosage forms*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.jddst.2015.06.016 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S1773224715001112>
- Saez, M. Guzmán, J. Molpeceres, M.R. Aberturas. (2000). Freeze-drying of polycaprolactone and poly(d,l-lactic-glycolic) nanoparticles induce minor particle size changes affecting the oral pharmacokinetics of loaded drugs.

European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 50(3), 379-387.
doi:10.1016/S0939-6411(00)00125-9

- Schwartz, J., Denninger, M., Rancourt, D., Moisan, C., & Laurendeau, D. (2005). Modelling liver tissue properties using a non-linear visco-elastic model for surgery simulation. *Medical Image Analysis*, 9(2), 103-112. 10.1016/j.media.2004.11.002
- Semalty, M., Semalty, A., & Kumar, G. (2008). Formulation and characterization of mucoadhesive buccal films of glipizide. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(1), 43. 10.4103/0250-474X.40330 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20390079>
- Shaikh, R., Raj Singh, T. R., Garland, M. J., Woolfson, A. D., & Donnelly, R. F. (2011). Mucoadhesive drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(1), 89-100. 10.4103/0975-7406.76478 Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3053525/>
- Shiledar, R. Tagalpallewar, A. Kokare, C. (2014). Formulation and in vitro evaluation of xanthan gum-based bilayered mucoadhesive buccal patches of zolmitriptan. *Carbohydrate Polymers*, 101, 1234-1242. doi: 10.1016/j.carbpol.2013.10.0
- Silva, Borges, Silva, Coelho & Simoes, "Mucoadhesive oral films: The potential for unmet needs," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 494, (1), pp. 537-551, 2015. Available: <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0378517315301356>. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.08.038.
- Singh Jasvir, & Deep Pawan. (2013, Mucoadhesive buccal drug delivery system: A review. 916-927. Retrieved from <http://ijpsr.com/bft-article/mucoadhesive-buccal-drug-delivery-system-a-review/?view=fulltext>
- Singh, M., Tiwary, A. K., & Kaur, G. (2010). Investigations on interpolymer complexes of cationic guar gum and xanthan gum for formulation of bioadhesive films. *Research in pharmaceutical sciences*, 5(2), 79–87.
- Solar, M., Meyer, H., Gauthier, C., Fond, C., Benzerara, O., Schirrer, R., & Baschnagel, J. (2012). Mechanical behavior of linear amorphous polymers: Comparison between molecular dynamics and finite-element simulations. *Physical Review. E, Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 85(2 Pt 1), 021808. 10.1103/PhysRevE.85.021808 Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22463237>
- Sosnik, A., das Neves, J., & Sarmiento, B. (2014). *Mucoadhesive polymers in the design of nano-drug delivery systems for administration by non-parenteral routes: A review*//doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2014.07.010 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079670014000859>
- Šprajcar, M., Horvat, P., & Kržan, A. (2010). *Biopolymers and bioplastics plastics aligned with nature*. (). Ljubljana: Retrieved from <https://www.umsicht.fraunhofer.de/content/dam/umsicht/de/dokumente/nationale-infostelle-nachhaltige-kunststoffe/biopolymers-bioplastics-brochure-for-teachers.pdf>

- Stauss, S., Schwaller, P., Bucaille, J. -, Rabe, R., Rohr, L., Michler, J., & Blank, E. (2003). *Determining the stress–strain behaviour of small devices by nanoindentation in combination with inverse methods*//doi.org/10.1016/S0167-9317(03)00192-8 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167931703001928>
- Takeuchi, H., Thongborisute, J., Matsui, Y., Sugihara, H., Yamamoto, H., & Kawashima, Y. (2005). *Novel mucoadhesion tests for polymers and polymer-coated particles to design optimal mucoadhesive drug delivery systems*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.addr.2005.07.008 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0169409X05001419>
- Taylor, M. J., Tanna, S., & Sahota, T. (2010). In vivo study of a polymeric glucose-sensitive insulin delivery system using a rat model. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(10), 4215-4227. 10.1002/jps.22138
- TCI Chemicals (India) Pvt. candesartan cilexetil. Retrieved from <http://www.tcichemicals.com/eshop/en/in/commodity/C2635/>
- Tee, Y. B., Wong, J., Tan, C., & Talib, R. A. (2016). Development of Edible Film from Flaxseed Mucilage, 11(4), 10286–10295.
- Teng, X., Xu, H., Song, W., Shi, J., Xin, J., Hiscox, W. C., & Zhang, J. (2017).
- Preparation and properties of hydrogels based on PEGylated lignosulfonate amine. *ACS Omega*, 2(1), 251-259. 10.1021/acsomega.6b00296 Retrieved from <https://doi.org/10.1021/acsomega.6b00296>
- Thompson, M. K., & Thompson, J. M. (2017). Chapter 2 - interacting with ANSYS. In M. K. Thompson & J. M. Thompson (Eds.), *ANSYS mechanical APDL for finite element analysis* (pp. 11-30) Butterworth-HeiHeinemann. /i-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/B978-0-12-812981-4.00002-2 Retrieved from <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/B9780128129814000022>
- Tobyn, M. J., Johnson, J. R., & Dettmar, P. W. (1997). *Factors affecting in vitro gastric mucoadhesion IV. influence of tablet excipients, surfactants and salts on the observed mucoadhesion of polymers*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/S0939-6411(96)00009-4 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0939641196000094>
- Trastullo, R., Abruzzo, A., Saladini, B., Gallucci, M. C., Cerchiara, T., Luppi, B., & Bigucci, F. (2016). *Design and evaluation of buccal films as paediatric dosage form for transmucosal delivery of ondansetron*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.ejpb.2016.05.026 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0939641116302065>
- Universidad de Zaragoza. xantano. Retrieved from <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/xantana.html>
- Vishark R.(2018). Nanyang Technological University, *Finite Element Analysis*:

what's the difference between first order and second order elements? Retrieved from <https://www.quora.com/Finite-Element-Analysis-whats-the-difference-between-first-order-and-second-order-elements>

- Wahl, V., Khinast, J., & Paudel, A. (2016). *Lyophilized protein powders: A review of analytical tools for root cause analysis of lot-to-lot variability*//doi.org/10.1016/j.trac.2016.05.012 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016599361530203X>
- Wang, Z., & Chow, M. S. (2014). Overview and appraisal of the current concept and technologies for improvement of sublingual drug delivery. *Therapeutic Delivery*, 5(7), 807-816. 10.4155/tde.14.50 Retrieved from <https://www.future-science.com/doi/abs/10.4155/tde.14.50>
- Wassim Abdel, Ghania Degoberta, Serge Stainmesseb, Hatem Fessi. (2006). Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(15), 1688-1713. 10.1016/j.addr.2006.09.017 Retrieved from <https://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0169409X06001840>
- Xu, T., Zhang, J., Chi, H., & Cao, F. (2016). *Multifunctional properties of organic-inorganic hybrid nanocomposites based on chitosan derivatives and layered double hydroxides for ocular drug delivery*//doi.org/10.1016/j.actbio.2016.02.041 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1742706116300848>
- Yan, J., Chen, X., Yu, S., & Zhou, H. (2017). *Comparison of different in vitro mucoadhesion testing methods for hydrogels*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.jddst.2017.06.012 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S1773224717302745>
- Yue, P., Li, G., Dan, J., Wu, Z., Wang, C., Zhu, W., & Yang, M. (2014). Study on formability of solid nanosuspensions during solidification: II novel roles of freezing stress and cryoprotectant property doi://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.08.041
- Zhang, L., & Bathe, K. (2017). *Overlapping finite elements for a new paradigm of solution* // doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co /10.1016/j.compstruc.2017.03.008 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S0045794916313931>
- Zhang, Z., Gao, F., Bu, H., Xiao, J., & Li, Y. (2012). *Solid lipid nanoparticles loading candesartan cilexetil enhance oral bioavailability: In vitro characteristics and absorption mechanism in rats*//doi-org.ezproxy.unbosque.edu.co/10.1016/j.nano.2011.08.016 Retrieved from <http://www.sciencedirect.com.ezproxy.unbosque.edu.co/science/article/pii/S1549963411003534>

