



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA

**“Desarrollo de Acarreadores Lipídicos Nano
estructurados (NLC) con telmisartán para administración
oral; caracterización física y eficacia *in vitro*”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN FARMACIA

PRESENTA:

L. F. KEVIN OBED RÍOS CÁRDENAS

DIRECTOR DE TESIS:

DR. SERGIO ALCALÁ ALCALÁ

CUERNAVACA, MORELOS

JUNIO 2020

JURADO REVISOR



FACULTAD DE FARMACIA

Consejo Interno de Posgrado

MAESTRÍA EN FARMACIA

Cuernavaca, Morelos a 11 de diciembre de 2019
Folio: FF/D/SAc/ CIP /MF/068/2019

L.F. KEVIN OBED RÍOS CÁRDENAS
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA
P R E S E N T E

Por este medio le informo que, con base en la propuesta hecha en su solicitud, el Consejo Interno de Posgrado le asigno el siguiente jurado para evaluar la tesis "**Desarrollo de Acarreadores Lipídicos Nano estructurados (NLC) con telmisartán para administración oral; caracterización física y eficacia *in vitro***"

Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

PRESIDENTE: Dr. Efrén Hernández Baltazar
SECRETARIO: Dr. Julio Cesar Rivera Leyva
V.1. Dr. Gerardo Leyva Gómez
V.2. Dr. Jorge Armando Moreno Escobar
V.3. Dra. Mariana Ortiz Reynoso

Se le solicita entregar las tesis al jurado designado y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

Esperando que esta resolución sea en beneficio de su desempeño académico, y sin otro particular por el momento reciba un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dr. Julio César Rivera Leyva.
Jefatura de Posgrado

ccp: archivo, jurado
mitv

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2020

**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Kevin Obed Ríos Cárdenas

Título de la tesis: “Desarrollo de Acarreadores Lipídicos Nano estructurados (NLC) cargados con telmisartán para administración oral; caracterización física y eficacia *in vitro*”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Julio César Rivera Leyva

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____



Dr. Julio César Rivera Leyva

3/03/2020

Fecha



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Kevin Obed Ríos Cárdenas

Título de la tesis: "Desarrollo de Acarreadores Lipídicos Nano estructurados (NLC) cargados con telmisartán para administración oral; caracterización física y eficacia *in vitro*"

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Gerardo Leyva Gómez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dr. Gerardo Leyva Gómez

17/03/2020
Fecha

**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Kevin Obed Ríos Cárdenas

Título de la tesis: "Desarrollo de Acarreadores Lipídicos Nano estructurados (NLC) cargados con telmisartán para administración oral; caracterización física y eficacia *in vitro*"

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Efrén Hernández Baltazar

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dr. Efrén Hernández Baltazar

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

EFREN HERNANDEZ BALTAZAR | Fecha:2020-05-25 15:11:21 | Firmante

s1+rdqw58FR0x4FB5ua5ZUgfs4c6Nh972eekg4L3RzGdO2c88kZp8HC19OQ40T8OFoJu40SF98KDtoSZEcdc2tlckNV58E0iewhvptoM0LgwlvbNLZFLzit21mnNH12lzMdSfSEH+p0DUB1BEZOZ2PcC4Mc+greVWv0cDSQI0NOqctf0YZ4vfjAoEzN/CTMr+1pSzj8jN66RkbaM0Z8WtaRZGfGUwwd4EkaqYU21+hi8ZAeL0GQc2yDzDe6w4oesl4zMe5WIVqMiDtbSgF2xJSs3PN/tCWREx04wLxup2KptCbPIUJI6OouXg7D7gywRsk8ES0fXU4GTKPo3GQwQPg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[OQCuH*TtMI0](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/TvTNHgb6OG4XHdnHESTbjFfs14A6fvQk>



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Kevin Obed Ríos Cárdenas

Título de la tesis: “Desarrollo de Acarreadores Lipídicos Nano estructurados (NLC) cargados con telmisartán para administración oral; caracterización física y eficacia *in vitro*”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Jorge Armando Moreno Escobar

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dr. Jorge Armando Moreno Escobar

29-MAYO-2020

Fecha



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JORGE ARMANDO MORENO ESCOBAR | Fecha:2020-05-29 23:47:59 | Firmante

YLSuIU8AEwVHp7YDmsn+x4BrNaosHGy6gkdsd1z6uD99Tt1ksgCEsKpyWFVeylvAik0NdrW8WGhknAb+zSJ9SR/2feEXXhDBQ+BZ2DF2bN1p3aPupsb8LZbuZDJOpILXO1CIAh
qE+79jGi4VDWCvqItG+pK4lgDw92fL+2XfjP6mMm7rHUdIOHia5QdR0WC2ZwQQPju7S4eAWz2Dd7PUmY56eRXFhG4SKOd61PhEO4DJDl8Z9UoUKhqhEK3va0BZ6Cbj24o
g7Pycw7fOpXkruc09IHJV3xcZPFPltyjDdzj0fkXbnlUAOryTjYxdNqH5cakt6Xtqbi/rXUxR7GA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



NY75eM

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/rr44h1qjoG0vQtJcdmKQmMREglzMY5S9>



VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Kevin Obed Ríos Cárdenas

Título de la tesis: "Desarrollo de Acarreadores Lipídicos Nano estructurados (NLC) cargados con telmisartán para administración oral; caracterización física y eficacia *in vitro*"

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Mariana Ortiz Reynoso

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Mariana Ortiz Reynoso
Dra. Mariana Ortiz Reynoso

Mayo 26, 2020
Fecha

AGRADECIMIENTOS

A mi Alma mater, la **Universidad Autónoma del Estado de Morelos**, por adoptarme durante casi 11 años, y a cada docente de ésta que contribuyó a mi formación profesional y deseo de seguir preparándome.

A mi asesor de tesis, el **Dr. Sergio Alcalá Alcalá** de la Facultad de Farmacia por brindarme la confianza de compartir de su conocimiento, asesorándome cuando fue necesario, facilitarme los medios para trabajar en el laboratorio que tiene a su cargo y por sus importantes comentarios y correcciones a este escrito.

A mi comité tutorial, el **Dr. Efrén Hernández Baltazar** y el **Dr. Gerardo Leyva Gómez** por su aporte importante a este trabajo de tesis con sus sugerencias y comentarios, además de su conocimiento en el área.

A la **Dra. Flora Adriana Ganem Rondero** por permitirme realizar parte del proyecto en su laboratorio en la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán- UNAM.

A la **Dra. Mariana Ortiz Reynoso** por facilitarme el acceso al laboratorio que tiene a cargo para obtener los resultados de DSC en la UAEM (México).

A quienes forman parte del **Jurado revisor** por darse el tiempo para complementar este trabajo con sus importantes comentarios y correcciones.

A **CONACyT** por el apoyo brindado para la elaboración del proyecto dando una beca con el **CVU 893918**.

DEDICATORIA

A **Dios**, porque gracias a Él sigo aquí, por darme resiliencia y la sabiduría para culminar con esta etapa de mi vida.

A mis padres, **Juan Ríos Reyes** y **Evangelina Cárdenas Flores** por ser mi inspiración y el pilar de mi vida, por ser cómplices de mis proyectos y un apoyo importante, gracias por su amor sin condición.

A mi hermana **Angélica Noemí Ríos Cárdenas**, ejemplo para mí de persistencia, resiliencia y carisma, por enseñarme a sobreponerme, ante todo. Te amo, gracias por ser la mejor hermana.

A mis **abuelos y tíos** que, aunque algunos ya no están, siempre han visto en mí la capacidad de lograr éste y otros retos de vida, los quiero.

A mis amigos **Cinthya, Diana, Isabel, William, Areli, Jaz, y Nancy** por ser mis compañeros en casi todas las aventuras que tuvimos a lo largo del posgrado, por su amistad incondicional y tolerancia en mis momentos de estrés.

A mis compañeros y **amigos de laboratorio**: Omar, Fer Guerra, Fer Ahedo, Hexe, Axel, Sara, Isaí, y el resto que han hecho estos dos años más pasajeros y llenos de buenos momentos dentro y fuera del laboratorio.

A mis **amigos de siempre**: Tania, Gaby, Esther, Noemí A., Naomi, Caro, Sandy, Ana, Vale, Mitzi, Paco, Jaqui, Walfred y Leo por su amistad y vivencias que hicieron de mi vida de foráneo y estudiante algo llevadero, convirtiéndose en mi familia.

“No te rindas que la vida es eso, continuar el viaje, perseguir tus sueños, destrabar el tiempo, correr los escombros y destapar el cielo... desplegar las alas e intentar de nuevo, celebrar la vida y retomar los cielos”.

-Mario Benedetti.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Hipertensión Arterial y su impacto en la población.....	4
2.1.1 Tratamiento no farmacológico para un efecto sinérgico	5
2.1.2 Tratamiento farmacológico – uso de antihipertensivos.....	5
2.1.3 Formas farmacéuticas existentes para los antihipertensivos.....	8
2.2 Telmisartán	9
2.2.1 Propiedades fisicoquímicas del telmisartán.....	10
2.2.2 Farmacocinética y Farmacodinamia	11
2.3 La vía oral, la primera alternativa en la administración de fármacos.....	12
2.3.1 Anatomía y fisiología del Tracto Gastrointestinal (TGI)	14
2.3.2 Mecanismos de transporte de fármacos a través del TGI	16
2.4 Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN).....	19
2.4.1 Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados (NLC)	20
3. ANTECEDENTES.....	25
3.1 Estrategias para mejorar la disolución y la biodisponibilidad de fármacos.....	25
3.2 NLC y su uso en la administración oral de fármacos	27
4. JUSTIFICACIÓN.....	29
5. HIPÓTESIS.....	30
6. OBJETIVOS.....	31
6.1 Objetivo General	31
6.2 Objetivos Particulares	31

7. MATERIALES	32
7.1 Equipos	32
7.2 Materias primas y reactivos.....	32
7.3 Materiales.....	33
8. METODOLOGÍA	34
8.1 Selección de materias primas por prueba de solubilidad aparente	35
8.2 Desarrollo de métodos analíticos por UV-Vis para cuantificar telmisartán en las etapas del proyecto	35
8.2.1 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción	35
8.2.2 Especificidad del método.....	36
8.2.3 Validación de métodos analíticos	36
8.3 Obtención y optimización de NLC-TEL	38
8.3.1 Elaboración de un Diseño Experimental.....	38
8.3.2 Medición de las variables de respuesta.....	40
8.3.3 Optimización de los NLC por MSR y verificación del modelo	42
8.3.4 Caracterización física de los NLC-TEL en condiciones óptimas.....	43
8.3.5 Análisis del estado sólido	43
8.4 Estudios de eficacia <i>in vitro</i>	46
8.4.1 Cinética de liberación	46
8.4.2 Permeabilidad en intestino de cerdo.....	48
8.5 Análisis estadístico.....	49
9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
9.1 Selección de materias primas por prueba de solubilidad aparente	50
9.2 Desarrollo y validación de métodos analíticos por UV-Vis para cuantificar telmisartán en las etapas del proyecto.....	55

9.2.1	Determinación de la longitud de onda de máxima absorción	55
9.2.2	Especificidad del método.....	55
9.2.3	Validación de métodos analíticos	56
9.3	Obtención y optimización de NLC-TEL	57
9.3.1	Elaboración de un Diseño Experimental.....	57
9.3.2	Medición de las variables de respuesta.....	57
9.4	Optimización de los NLC por MSR y verificación del modelo.....	60
9.4.1	Caracterización física de los NLC-TEL en condiciones óptimas.....	60
9.5	Análisis del estado sólido	62
9.5.1	Comportamiento térmico por DSC.....	62
9.5.2	Cristalinidad por Difracción de Rayos X	64
9.5.3	Espectro IR.....	65
9.5.4	Rendimiento y eficiencia de carga	67
9.6	Estudios de eficacia <i>in vitro</i>	68
9.6.1	Cinética de liberación	68
9.6.2	Permeabilidad en intestino de cerdo.....	69
10.	CONCLUSIONES.....	71
10.1	CONCLUSIÓN GENERAL.....	71
10.2	CONCLUSIONES PARTICULARES.....	71
11.	PERSPECTIVAS	73
12.	BIBLIOGRAFÍA.....	74
13.	ANEXOS	86

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

abs	Absorbancia
Ang II	Angiotensina II
ARA II	Antagonistas del receptor tipo 1 de angiotensina II (ARBs : Angiotensin II type 1 receptor blockers)
BB	β -Bloqueadores adrenérgicos
BC	Bloqueadores de Calcio
BD	Biodisponibilidad
BHE	Barrera Hematoencefálica (BBB : Blood Brain Barrier)
C_{max}	Concentración máxima plasmática
Cv	Cardiovascular
CV	Coefficiente de Variación
DRX	Difracción de Rayos X (XRD : X-Ray Diffraction)
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido (Differential Scanning Calorimetry)
EC	Eficiencia de carga
EA	Eventos Adversos
FA	Fase Acuosa
FF	Forma farmacéutica
EITR	Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR : Fourier Transform Infrared Spectroscopy)

FO	Fase Oleosa
GRAS	Generalmente Reconocido como Seguro (Generally Recognized as Safe)
HPH	Homogenización a Alta Presión (High Pressure Homogenization)
HTA	Hipertensión Arterial (HTN : Hypertension)
IC	Intervalo de confianza
IECA	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE : Angiotensin-converting enzyme inhibitors)
IFA	Ingrediente Farmacéuticamente Activo
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
MEB	Microscopía Electrónica de Barrido (o SEM : Scanning Electron Microscope)
mV	milivoltios
mmHg	Milímetros de mercurio
MSR	Método de Superficie de Respuesta
NICE	Instituto Nacional de Salud y Excelencia Clínica del Reino Unido (National Institute for Health and Care Excellence)
NLC	Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados (Nanostructured Lipid Carriers)
NLC-TEL	Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados con telmisartán
nm	Nanómetros
OMS	Organización Mundial de la Salud (WHO : World Health Organization)

PA	Presión arterial
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
PDI	Índice de Polidispersión (Polidispersidad), (Polydispersity Index)
pulg	Pulgada
SLN	Nanopartículas Lipídicas Sólidas (Solid Lipid Nanoparticles)
SRA	Sistema Renina-Angiotensina
TEL	telmisartán
TGI	Tracto Gastrointestinal
UPP	Unión a Proteínas Plasmáticas

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadíos de la HTA.....	4
Tabla 2. Tratamientos farmacológicos antihipertensivos.....	6
Tabla 3. Formas farmacéuticas disponibles en antihipertensivos	9
Tabla 4. Características farmacocinéticas de los sartanes	10
Tabla 5. Materiales utilizados en el desarrollo de NLC	23
Tabla 6. Métodos de obtención de NLCs	24
Tabla 7. Ejemplos de fármacos encapsulados dentro de NLCs.....	28
Tabla 8. Matriz de diseño obtenida	39
Tabla 9. Ecuaciones para el modelado matemático.....	47
Tabla 10. Productos comercializados internacionalmente que contienen behenato de glicerilo como excipiente	52
Tabla 11. Resultados de los parámetros de desempeño en la validación de los métodos analíticos (A, B y C).....	57
Tabla 12. Variables de respuesta del Diseño Experimental	58
Tabla 13. Optimización.....	61
Tabla 14. Resultados de los termogramas de las materias primas comparados con los valores teóricos.....	62
Tabla 15. Frecuencias de onda	65
Tabla 16. Resultados de rendimiento y eficiencia de carga	67
Tabla 17. Modelado matemático	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sugerencia terapéutica en pacientes con HTA (pacientes 35-54 años)...	8
Figura 2. Estructura química del telmisartán	11
Figura 3. Representación esquemática del TGI y la vía oral (tomada de eupati.eu)	13
Figura 4. Intestino delgado: anatomía e histología modificada de http://biologia-animal.wikispaces.com/Absorci%C3%B3n+intestinal	15
Figura 5 Mecanismos de transporte (Camargo Santiz)	18
Figura 6. Representación esquemática de una SLN (Singh, et al, 2019).....	21
Figura 7. Representación esquemática de a) los tipos de NLC y de b) la diferencia estructural entre una SLN y una NLC (Villafuerte R., et al, 2008).	22
Figura 8. Clasificación Biofarmacéutica de los fármacos	25
Figura 9. Metodología general esquematizada	34
Figura 10. Filtración de trazas del intestino de cerdo en buffer de fosfatos pH 6.837	
Figura 11. Sistema Ultraturrax con baño utilizado para obtener los NLCs	40
Figura 12. Celda para medir potencial zeta.....	41
Figura 13. Montaje del sistema para determinar la eficiencia de encapsulación mediante bolsas de diálisis	42
Figura 14. Calorímetro METTLER TOLEDO/ DSC 3 STAR System	44
Figura 15. Llenado de membrana de diálisis con formulación.....	47
Figura 16. Pruebas de solubilidad aparente del fármaco en los diferentes materiales y disolventes.....	51

Figura 17. Representación esquemática de las diversas aplicaciones del lípido Compritol ATO 888® en el campo de la liberación de fármacos. Imagen tomada de (Aburahma & Badr-Eldin, 2014)	54
Figura 18. Barrido espectral de telmisartán usando como blanco agua destilada.	55
Figura 19. Barrido espectral en la región UV para dilucidar interferencias en la región espectral del telmisartán	56
Figura 20. Diagrama de Pareto estandarizado para Tamaño de partícula.....	59
Figura 21. Diagrama de Pareto Estandarizado para PDI	59
Figura 22. Diagrama de Pareto Estandarizado para el Potencial Zeta.....	60
Figura 23. Diagrama de Pareto Estandarizado para Eficiencia de Encapsulación	60
Figura 24. Termogramas de los materiales (Mezcla física s/acol: mezcla de materiales sin incluir ácido oleico).....	63
Figura 25. Difractogramas de los materiales y los sistemas obtenidos.....	65
Figura 26. Espectros IR de los materiales y los sistemas obtenidos.....	66
Figura 27. Perfiles de liberación in vitro (NLC promedio: Media de 3 lotes de NLC-TEL).	68
Figura 28. Perfiles de permeación promedio del fármaco en suspensión y los NLC-TEL (Tel sln prom: promedio de 3 muestras de telmisartán en suspensión; NLC-tel prom: media de 3 lotes de NLC-TEL).....	70

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Ley de Fick	19
Ecuación 2. Porcentaje de recobro	38
Ecuación 3. Límite de cuantificación	38
Ecuación 4. Límite de detección.....	38
Ecuación 5. Eficiencia de encapsulación	42
Ecuación 6. Rendimiento de proceso.....	45
Ecuación 7. Eficiencia de carga (EC %).....	45
Ecuación 8. Coeficiente de permeabilidad aparente	48

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Constancia de Asistencia a “LI Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas”	86
Anexo 2. Constancia de presentación de póster en el “1er Foro Nacional de Ciencias Farmacéuticas”	87
Anexo 3. Constancia de presentación de cartel en el “Simposio Innovación en Ciencias Farmacéuticas & VII Triple Hélice”	88
Anexo 4. Constancia de ponencia oral en el “13° Encuentro de Estudiantes de Posgrado en Farmacia”	89
Anexo 5. Constancia de presentación de póster en el “13° Encuentro de Estudiantes de Posgrado en Farmacia”	90
Anexo 6. Curva de calibración de telmisartán a 296 nm (métodos A y B).....	91
Anexo 7. Curva de calibración de telmisartán a 296 nm (método C)	91
Anexo 8. DSC de los polimorfos de telmisartán	92
Anexo 9. Diagrama de pescado con los factores clave del proceso	93
Anexo 10. Termograma del ácido oleico	94
Anexo 11. Termograma del compritol 88 CG ATO® (lípidos sólidos).....	94
Anexo 12. Termograma del kolliphor 188.....	95
Anexo 13. Termograma del telmisartán	95
Anexo 14. Termograma de NLC cargadas con telmisartán.....	96
Anexo 15. Termograma de la mezcla física	96
Anexo 16. Espectro IR de telmisartán con asignación de bandas.....	97
Anexo 17. Espectro IR de telmisartán obtenido de la literatura.....	98

RESUMEN

La HTA es una condición en la que los vasos sanguíneos presentan una presión por encima del límite establecido, la cual desencadena problemas cardiovasculares y/o cerebrovasculares. De acuerdo con la OMS se estima que en el mundo hay 1130 millones de personas con hipertensión y de éstos 1 de cada 5 tiene controlado el problema (Organización Mundial de la Salud, 2019).

Su tratamiento requiere de cambios en los hábitos alimenticios, la rutina diaria de ejercicio y el uso de fármacos antihipertensivos. Estos tratamientos farmacológicos logran tener un efecto terapéutico pero con ciertas desventajas: un claro ejemplo es la hidroclorotiazida (de la familia de los diuréticos tiazídicos), ya que puede causar efectos metabólicos no deseados como depleción de potasio, disminución de la tolerancia a la glucosa e impotencia; también pueden estar contraindicados con otras patologías como los bloqueadores beta adrenérgicos dentro de los cuales se encuentra el atenolol, que es eficaz contra la HTA pero debe evitarse en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bloqueo cardíaco e hipotensión, además de que se debe reducir la dosis en casos de insuficiencia renal (Velasco, *et al*, 2002); otros tienen efectos adversos frecuentes molestos para el paciente como lo es la tos seca y persistente al usar el enalapril (de la familia de los IECA); otros podrían causar el efecto contrario al esperado como el nifedipino, de los bloqueadores de los canales de calcio, ya que si es un preparado de corta duración puede causar variaciones grandes en la presión arterial e incluso taquicardia refleja; otros requieren de dosis altas como es el caso de la metildopa, de los fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central, ya que requiere de hasta 250 mg de fármaco 2-3 veces al día llegando a un máximo de 3 g al día (World Health Organization, 2004). Dentro de los antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARA II) se encuentra el telmisartán, un fármaco clase II, prácticamente insoluble en agua con alta permeabilidad (<0.1 g/l, log P de 6.7) (Council of Europe, 2017), con una biodisponibilidad oral menor al 50 % y un alto metabolismo enterohepático, por lo que se administra en dosis individuales de 20 mg en algunos pacientes hasta un total de 40 a 160 mg cada 24 h. La ventaja de usar este tratamiento sobre otros

es que la incidencia de tos en los pacientes tratados con telmisartán es menor (1.5 a 1.6%) que con los IECA (7.9%); en ensayos donde comparaban placebo con distintas dosis de telmisartán por 12 semanas, la interrupción del tratamiento por eventos adversos fue necesaria en 2.8% de los tratados con telmisartán y en 6.1% de los tratados con placebo (Equipo de redacción de IQB, 2011). Es por sus propiedades biofarmacéuticas que se ha hecho uso de diferentes estrategias para mejorar la disolución de este, entre las que ha destacado el uso de nanopartículas lipídicas.

Los Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados (NLC), son nanopartículas lipídicas de segunda generación, compuestas por lípidos de diferente origen, pero caracterizados por formarse de al menos un lípido sólido y uno líquido, los cuales se han propuesto para atender deficiencias biofarmacéuticas de los fármacos, sobre todo la baja solubilidad, con la finalidad de provocar mejoras en la biodisponibilidad. Diferentes trabajos han reportado su capacidad para acarrear fármacos lipofílicos a través de membranas biológicas como la intestinal y la BHE, con la ventaja de generar una liberación prolongada y una promoción en la permeabilidad.

Es por lo anterior que en este trabajo se planteó el objetivo de encapsular telmisartán en NLC, así como caracterizar y evaluar la eficacia *in vitro* de los sistemas obtenidos.

La selección de materiales se realizó mediante pruebas de solubilidad aparente. Una vez elegidos los materiales, se establecieron factores experimentales para optimizar el tamaño, el PDI y la eficiencia de encapsulación con el uso de un diseño experimental tipo Plackett Burman, los primeros determinados por dispersión dinámica de luz y el último por espectrofotometría UV-vis. Los NLC se obtuvieron con el método de homogeneización en caliente. Brevemente, el lípido sólido (Compritol®) se fundió a 88°C en presencia del lípido líquido (ácido oleico), agregando el fármaco a esta mezcla, constituida como fase oleosa (FO). Por separado, se preparó una fase acuosa (FA) constituida por agua destilada y Kolliphor 188 como estabilizante, calentado a 88°C. Las fases se emulsificaron con

un Ultraturrax®, a velocidades y tiempos establecidos en el diseño experimental. Los NLC obtenidos fueron recuperados mediante el uso de bolsas de diálisis y con MSR se optimizó las condiciones de preparación para producir NLC con el menor tamaño nanométrico posible. Ya optimizados se prepararon tres lotes a esas condiciones para verificar el modelo, llevando a cabo la caracterización física de los nanoacarreadores cargados con telmisartán (NLC-TEL); el estado sólido por XRD y FTIR, la morfología por MEB, la interacción de materiales mediante DSC, y la eficiencia de carga por UV-Vis. En los estudios de eficacia *in vitro* se evaluaron los NLC optimizados a una dosis equivalente a 5 mg de telmisartán, estos incluyeron pruebas de liberación a pH 1.2 durante 2 h y a 6.8 hasta completar 24 h, a 37°C y 75 rpm, en aparato I-USP, mientras que la permeabilidad se determinó en intestino delgado de cerdo colocado en celdas de difusión horizontales, con un medio receptor a pH 6.8, durante 24 h, a 37°C y 75 rpm; para ambos estudios se compararon los perfiles obtenidos contra telmisartán libre en suspensión.

Con base en los resultados de las pruebas de solubilidad aparente se seleccionó el ácido oleico como lípido líquido (5.59 mg/mL de telmisartán) y el Compritol 88 CG ATO® como lípido sólido (3.91 mg/mL de telmisartán); los cuales además de sus propiedades, el primero funciona como tensoactivo en la estabilización de los NLC y el segundo como formador de matriz, que por su cristalinidad permite mayor capacidad de carga. A partir del diseño experimental se obtuvieron NLC's optimizados con tamaño promedio de 150.03 ± 4.92 nm, un PDI de 0.59 ± 0.02 , potencial zeta de -11.93 ± 1.10 mV y una eficiencia de encapsulación de 94.50 ± 2.16 %. Los NLC optimizados fueron liofilizados, obteniendo un rendimiento del 66.9 % y una eficiencia de carga del 6.06 %. Los difractogramas por rayos X mostraron que el TEL presenta polimorfismo lo que tuvo un impacto en la disolución. Los estudios FTIR evidenciaron la presencia del fármaco en los NLC, sin la generación de nuevos enlaces o cambios en la estructura química de los materiales, mientras que los termogramas por DSC sugieren una dispersión molecular del TEL en los sistemas obtenidos. Finalmente, la cinética de liberación mostró una liberación del 100 % del fármaco a partir de los NLC en un tiempo de 6 h, en

comparación con la disolución del TEL de 97 % en el mismo tiempo, lo que pone de manifiesto que los NLCs benefician la salida del fármaco en el pH intestinal, y el fármaco ya está en suspensión y por ello presenta un perfil similar. Los estudios de permeabilidad evidenciaron que los NLC promueven el paso del fármaco hasta 2 veces más en comparación con el fármaco en suspensión con una permeabilidad de 0.0715 para NLC-TEL y de 0.046 para TEL en solución.

Se logró obtener y optimizar NLC cargados con telmisartán con una eficiencia de encapsulación mayor al 90 %, evidenciando una disolución completa en 6 h y una permeabilidad intestinal mejor en comparación con el telmisartán en solución. Con la mejora en la disolución podríamos preocuparnos menos por una baja disponibilidad del fármaco ya que en pH intestinal el telmisartán se libera de forma rápida de los NLCs.

ABSTRACT

HTN is a condition in which the blood vessels have a pressure above the established limit; which provokes cardiovascular and/or cerebrovascular problems. According to WHO, it is estimated that there are 1130 million people with hypertension and of these 1 in 5 have controlled the problem (Organización Mundial de la Salud, 2019).

Its treatment requires changes in eating habits, daily exercise routine and the use of antihypertensive drugs. These pharmacological treatments manage to have a therapeutic effect but with certain disadvantages: a clear example is hydrochlorothiazide (from the family of thiazide diuretics), since it can cause unwanted metabolic effects such as potassium depletion, decreased glucose tolerance and impotence. They may also be contraindicated with other pathologies such as beta-adrenergic blockers within which atenolol is found, which is effective against HTN but should be avoided in chronic obstructive pulmonary disease, heart block and hypotension, in addition to reducing the dose in cases of renal failure (Velasco, *et al*, 2002); others have adverse effects that are frequent and annoying for the patient such as persistent and dry cough when using enalapril (from the ACE inhibitors family); others could cause the opposite effect as expected like nifedipine, of calcium channel blockers, since if it is a short-lived preparation it can cause large variations in blood pressure and even reflex tachycardia; others require **high doses** such as methyldopa, of the drugs that act on the central nervous system, since it requires up to 250 mg of drug 2-3 times a day reaching a maximum of 3 g per day (World Health Organization, 2004). Within the angiotensin II receptor blockers (ARBs) is telmisartan, a class II drug, practically insoluble in water with high permeability ($<0.1 \text{ g / l}$, $\log P$ of 6.7) (Council of Europe, 2017), with an oral bioavailability lower than 50 % and a high enterohepatic metabolism, so it is administered in individual doses of 20 mg in some patients up to a total of 40 to 160 mg every 24 h. The advantage of using this treatment over others is the cough incidence in patients treated with telmisartan which is lower (1.5 to 1.6%) than with ACE inhibitors (7.9%); in trials comparing placebo with different doses of telmisartan

for 12 weeks, discontinuation of treatment was required due to adverse events in 2.8% of those treated with telmisartan and in 6.1% of those treated with placebo (Equipo de redacción de IQB, 2011). It is because of its biopharmaceutical properties that different strategies have been used to improve its dissolution, among which the use of lipid nanoparticles has been highlighted.

Nanostructured Lipid Carriers (NLC), are second generation lipid nanoparticles, composed of lipids from different origin, but characterized by being formed of at least one solid and one liquid lipid, which have been proposed to address biopharmaceutical drug deficiencies, especially those with poor solubility, in order to cause improvements in bioavailability. Different works have reported its ability to carry lipophilic drugs through biological membranes such as the intestinal and BBB, with the advantage of generating prolonged release and promoting permeability.

For this reason, in this work the objective was to encapsulate telmisartan in NLC, as well as to characterize and evaluate the *in vitro* efficacy of the systems obtained.

The selection of materials was carried out by tests of apparent solubility. Once the materials were established, experimental factors were established to optimize the size, the PDI, and the encapsulation efficiency using an experimental Plackett Burman type design, the first determined by dynamic light scattering and the last by UV-vis spectrophotometry. The NLCs were obtained with the hot homogenization method. Briefly, the solid lipid (Compritol®) was melted at 88 °C in the presence of the liquid lipid (oleic acid), adding the drug to this mixture, constituted as oil phase (FO). Separately, an aqueous phase (FA) consisting of distilled water and Kolliphor 188, as a stabilizer, was prepared heated to 88 °C. The phases were emulsified with an Ultraturrax®, at speeds and times established in the experimental design. The NLC obtained were recovered using dialysis bags and with MSR the preparation conditions were optimized to produce NLC with the smallest possible nanometric size. Already optimized, three batches were prepared at these conditions to verify the model, carrying out the physical characterization of the nanocarriers loaded with telmisartan (NLC-TEL); the solid state by XRD and FTIR, the morphology by SEM,

the interaction of materials by DSC, and the loading efficiency by UV-Vis. In the *in vitro* efficacy studies, optimized NLCs were evaluated at a dose equivalent to 5 mg of telmisartan, these included release tests at pH 1.2 for 2 h and at 6.8 to complete 24 h, at 37 ° C and 75 rpm, in apparatus I- USP, while permeability was determined in the small intestine of pigs placed in horizontal diffusion cells, with a receptor medium at pH 6.8, for 24 h, at 37 ° C and 75 rpm; For both studies, the profiles obtained against free telmisartan in suspension were compared.

Based on the results of the apparent solubility tests, oleic acid was selected as liquid lipid (5.59 mg/mL of telmisartan) and compritol 88 CG ATO® as solid lipid (3.91 mg/mL of telmisartan), which in addition to its properties, the first one works as a surfactant in the stabilization of the NLC and the second one as a matrix former, which due to its crystallinity allows greater load capacity. From the experimental design, optimized NLCs with an average size of 150.03 ± 4.92 nm, a PDI of 0.59 ± 0.02 , a zeta potential of -11.93 ± 1.10 mV and an encapsulation efficiency of 94.50 ± 2.16 % were obtained. The optimized NLCs were lyophilized, obtaining a yield of 66.9 % and a loading efficiency of 6.06 %. X-ray diffractograms showed TEL presented amorphousness which had an impact on the dissolution. FTIR studies evidenced the presence of the drug in the NLC, without the generation of new bonds or changes in the chemical structure of the materials, while thermograms by DSC suggest a molecular dispersion of TEL in the systems obtained. Finally, the release kinetics showed a 100 % release of the drug from the NLC in a time of 6 h, compared with the dissolution of TEL of 97 % at the same time which shows that the NLCs benefit the output of the drug in the intestinal pH, and the drug is already in solution and therefore has a similar profile. Permeability studies showed that NLCs promote the passage of the drug up to 2 times more compared to the drug in solution with a permeability of 0.0715 for NLC-TEL and 0.046 for TEL in solution.

It was possible to obtain and optimize NLC loaded with telmisartan with an encapsulation efficiency greater than 90 %, evidencing a complete dissolution in 6 h and a better intestinal permeability compared to telmisartan in solution. With the

improvement in the dissolution we could worry less about a low availability of the drug since in intestinal pH telmisartan is rapidly released from the NLCs.

1. INTRODUCCIÓN

La Hipertensión Arterial (HTA) es un padecimiento en el cual los vasos sanguíneos tienen una presión por encima del límite, por lo que el corazón tiene que hacer una mayor fuerza para bombear sangre (Rosas, *et al*, 2004). La HTA desencadena en enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y falla renal que, a su vez, es una de las principales causas de mortalidad en el mundo.

Para entrar en el grupo catalogado como hipertenso, el paciente debe presentar una presión arterial (PA) constante mayor a 140/90 mmHg. Aproximadamente la cuarta parte de la población mundial de más de cincuenta años sufre de hipertensión, estimando que el 20 % de la población adulta del mundo sufre de hipertensión arterial (Hergueta, *et al*, 2002). Según las Encuestas Nacionales de Salud de los años 2000 a 2012, la HTA afectó al 31.5 % de los adultos mexicanos, de los cuales un 47.3 % no sabían que la padecían, y el 39 % de los ya diagnosticados estaban aún sin tratamiento. Un hallazgo significativo es que los adultos mayores de 60 años tienen una prevalencia 3.4 veces más alta de HTA que los jóvenes de 20-29 años (Campos, *et al*, 2013). La HTA en México tiene una prevalencia entre las más elevadas a nivel mundial, para tratar la enfermedad se recurren a fármacos llamados antihipertensivos de los cuales destaca el telmisartán.

El telmisartán es un polvo cristalino, blanco o amarillento que presenta polimorfismo; es poco soluble en metanol, ligeramente soluble en cloruro de metileno y casi insoluble en agua (FEUM, 2016), lo cual hace que pertenezca a la clase II según la clasificación biofarmacéutica porque tiene baja solubilidad y alta permeabilidad (Iriarte, 2015). Al antagonizar los efectos de Ang II relaja el músculo liso y así induce la vasodilatación, incrementa la excreción de agua por riñones, también reduce el volumen plasmático y aminora la hipertrofia celular, sin un cambio brusco de la frecuencia cardíaca. Este fármaco no parece afectar el flujo sanguíneo renal, la tasa de filtración glomerular, la resistencia renovascular o el aclaramiento de creatinina en pacientes con HTA (Equipo de redacción de IQB, 2011). Su semivida plasmática es de 24 h, y de 0.5 a 1 h, posterior a ingerirse, se alcanzan valores plasmáticos máximos. Se elimina de la circulación por secreción del producto intacto de la bilis.

Su depuración plasmática se altera con la insuficiencia hepática pero no con la renal. El uso de este fármaco podría mejorarse con técnicas existentes como lo es el caso de la nanotecnología.

La nanotecnología se encarga del diseño, estudio, síntesis, manipulación y caracterización de ciertos materiales, aparatos y sistemas que son funcionales a través de la materia a nanoescala haciendo uso de sus propiedades. Esta ciencia avanzada está imponiendo influencia en los campos de desarrollo científico y técnico y no debe sorprendernos que también esté presente en el campo de la salud ya que es útil en el área de Farmacia y Medicina (Guerrero, *et al*, 2017). Reducir las partículas del fármaco a nivel nano aumenta la velocidad de disolución y con esto la biodisponibilidad crece en porcentaje, también el límite de saturación de la solubilidad incrementa mejorando el desempeño del fármaco *in vivo* (Villafuerte, 2009).

Las nanopartículas sólidas lipídicas (SLN) son un sistema de transporte de fármacos alternativo a las emulsiones, liposomas y nanopartículas poliméricas debido a que poseen ciertas ventajas sobre éstas, brindando protección al principio activo contra la degradación química, mayor flexibilidad en la modulación de la liberación de los fármacos y una mejor carga de fármaco (Villafuerte, 2009). Las SLN son sistemas coloidales compuestas por una matriz lipídica sólida a temperatura fisiológica, constituida principalmente de lípidos fisiológicos y ácidos grasos lipídicos, triglicéridos y ceras que permiten modular la liberación de los fármacos, son biodegradables y presentan buena tolerancia (Alvarez, *et al*, 2012). Las características de las SLN se han mejorado adicionando lípidos líquidos donde el fármaco sería más soluble, dando lugar a los Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados (NLC) (Villafuerte, *et al*, 2008), los cuales se han propuesto para fármacos con baja solubilidad en los fluidos fisiológicos, mejorando así su biodisponibilidad. Estos presentan un tamaño de 50-1000 nm, se mantienen estabilizados en suspensión acuosa con concentraciones altas de tensoactivos o polímeros hidrofílicos. Es importante mencionar que la capacidad y eficiencia de carga, la estabilidad y la ubicación biológica de estas nanopartículas están

determinadas por la concentración y la naturaleza de los lípidos (Garzón, *et al*, 2009).

Los ARA II son una familia de los antihipertensivos, estos son antagonistas de la angiotensina II, y algunos de ellos presentan baja Biodisponibilidad (BD<50 %), entre los cuales está el telmisartán. Debido a lo anterior se busca que, cargando el fármaco en NLC's, se mejore este factor protegiendo al fármaco hasta una liberación intestinal y por lo tanto aumentar la BD, además de que la permeabilidad de telmisartán es alta y su alta lipofilicidad le confiere mayor capacidad de bloquear los efectos de la ANG II en el SNC, obteniendo un mayor efecto y podría plantearse la disminución de dosis con un efecto equitativo y eficaz sobre la PA (Bendersky & Filippini, 2018).

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Hipertensión Arterial y su impacto en la población

La hipertensión arterial (HTA) es considerada una enfermedad crónica y se conoce también como tensión arterial elevada, que ocurre cuando los vasos sanguíneos tienen tensión por encima de los límites establecidos dañándolos continuamente, es decir, en ésta la presión incrementa, provocando que el corazón tenga que hacer un mayor esfuerzo para bombear la sangre (Rosas, *et al*, 2004). La HTA es una de las principales causas de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, así como de falla renal.

Aproximadamente la cuarta parte de la población mundial de más de cincuenta años sufre de hipertensión, estimando que el 20 % de la población adulta del mundo sufre de hipertensión arterial. Según las Encuestas Nacionales de Salud de los años 2000 a 2012 la HTA afectó a 31.5 % de los adultos mexicanos de los cuales un 47.3 % no sabían, y el 39.0 % de los ya diagnosticados estaban aún sin tratamiento (Campos, *et al*, 2013). Según el IMSS, de los más de mil millones de personas que sufren de hipertensión en el mundo (IMSS, 2015), 121 millones de personas a nivel nacional son hipertensas.

Para ser diagnosticado como hipertenso, una persona debe presentar una presión arterial sistólica constante igual o mayor a 140 mmHg y/o una diastólica de 90 mmHg. De acuerdo a las mediciones en las presiones sistólica y diastólica, existen 3 estadios de la HTA que se muestran en la Tabla 1 (Rosas, *et al*, 2016):

Tabla 1. Estadios de la HTA.

Categoría	Sistólica (mmHg)	Diastólica (mmHg)
Estadio I	De 140 a 159	De 90 a 99
Estadio II	De 160 a 179	De 100 a 110
Estadio III	180 o más	Mayor a 110

Los síntomas conocidos de la HTA son tobillos hinchados, dolor intenso de cabeza, mareo, dolor lumbar y/o en el pecho, zumbidos de oído y visión borrosa (IMSS, 2015).

Algunos de los factores más relevantes que desencadenan HTA son la edad, el consumo elevado de sodio y grasas saturadas y el tabaquismo, pero en mayor medida el sedentarismo y las enfermedades crónicas como dislipidemias y obesidad (Trindade, *et al*, 2014).

Para el control de la HTA existe tratamiento no farmacológico, acompañado por un tratamiento farmacológico (Campos, *et al*, 2013). Según la guía NICE 34, que se publicó en el 2006 por la Sociedad Inglesa de Hipertensión, se sugiere el tratamiento farmacológico para los pacientes con:

- Presión de 160/100 mmHg o más.
- Riesgo cardiovascular aumentado (riesgo de enfermedad Cv a 10 años de 20 % o mayor, o enfermedad Cv o daño en órgano diana) con una PA mayor a 140/90 mmHg (de la Serna, *et al*, 2008).

2.1.1 Tratamiento no farmacológico para un efecto sinérgico

Este tratamiento no involucra alguna intervención química y se ha visto que ayuda a controlar los niveles de PA en los pacientes con HTA mejorando su calidad de vida. Este tratamiento se basa en modificar el estilo de vida, agregando el ejercicio físico a la rutina. Cambios nutricionales como el control de peso causan un impacto positivo en el sistema cardiovascular; por ejemplo, se ha visto que el disminuir 3 kg de masa corporal se puede lograr el decrecimiento de la presión arterial de 7 a 4 mmHg, mientras que bajar 12 kg reduce hasta 21 y 13 mmHg en la presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD); respectivamente (Sosa, 2010).

2.1.2 Tratamiento farmacológico – uso de antihipertensivos

La terapia farmacológica implica la administración de IFA's capaces de regular la HTA a través de diferentes mecanismos. Los fármacos antihipertensivos se

clasifican según su mecanismo de acción. La Tabla 2 describe esta clasificación de manera general (Rodríguez, *et al*, 2002 y Rosas, *et al*, 2016):

Tabla 2. Tratamientos farmacológicos antihipertensivos.

Clasificación	Descripción	Ejemplos	Dosis empleadas (mg)	Referencias
Diuréticos	Hacen su trabajo en el riñón, eliminan agua y el sodio. Son muy útiles en pacientes que tienen falla ventricular izquierda. Pero no en los que sufren insuficiencia renal.	clortalidona, hidroclorotiazida, clorotiazida, politiazida	15 hasta 50 12.5-25, 50 30, 45 y 50 1-4	(Gallardo, 1997; (Toro, 2005)
Betabloqueadores (BB)	La mayoría de los pertenecientes a esta familia actúan de forma selectiva sobre los receptores beta-1. Su uso en ocasiones es por otra razón como cardiopatía.	atenolol, betaxolol, metoprolol, nadolol, propranolol, timolol	25-100 5-40 50-200 20-240 40-240 20-40	(Gallardo, 1997)
Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)	Actúan bloqueando a la enzima que convierte a la angiotensina I en la angiotensina II, la cual es vasoconstrictora.	captopril, enalapril, lisinopril, ramipril	25-150 10-40	(Rodríguez, <i>et al</i> , 2002)
Antagonistas del receptor tipo 1 de angiotensina II (ARA II)	Bloquea la estimulación del receptor tipo I de la angiotensina II.	telmisartán, losartán, irbesartán, valsartán	20, 40-160 25-100 75-300 80-320	(Rodríguez, <i>et al</i> , 2002)
Bloqueadores del canal de calcio (BC)	Se les llama calcioantagonistas y tienen similitud antihipertensiva con los IECA o los ARA II.	verapamilo, diltiazem, felodipino, amlodipino, nifedipino	240 180-360 5-10 5-10 >180	(Olmedillo, 2017)

Continúa en siguiente página

Clasificación	Descripción	Ejemplos	Dosis empleadas (mg)	Referencias
Alfabetabloqueadores	Causan vasodilatación periférica.	carvedilol, labetalol	25-50 100-800	(Hernández & Armas, 2004)
Vasodilatadores directos	Efecto vasodilatador directo.	hidralazina	10-40	(Hernández & Armas, 2004)
Inhibidores de la ECA-2 y bloqueadores del receptor de endotelina	Inhiben a la enzima ECA-2 que convierte angiotensina tipo 2 en angiotensina 1-9 y que favorece la formación de la angiotensina 1-7. Los bloqueadores del receptor de endotelina 1 tienen efectos similares a los Ara II.	bosentán, ambrisentán	125-250 5	(e-lactancia.org, 2020; Agencia Europea de Medicamentos, 2019)
Bloqueadores de renina	Su principal función es el bloquear la renina.	enalkirem, remikirem	150-300	(Trejo, <i>et al</i> , 2017)

La Sociedad Europea de Hipertensión estableció que para los hipertensos en estadios 1 y 2, el tratamiento se podría comenzar con alguno de los siguientes medicamentos y con una dosis mínima, con este orden:

- I. Antagonistas de los receptores de angiotensina 2 (ARA II)
- II. Inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA)
- III. Bloqueadores de los canales de calcio (BCC)
- IV. Bloqueadores β -adrenérgicos (BB)
- V. Diuréticos (D)

En pacientes con hipertensión estadio 3, el tratamiento se debe iniciar de manera inmediata, con la administración de un segundo e incluso un tercer fármaco antihipertensivo para lograr controlar la HTA de manera rápida, pero esto también depende de la edad del paciente. En la Figura 1, se muestra un esquema tomado del Consenso de Hipertensión Arterial Sistémica en México, donde se reúnen 79

especialistas que han estado en contacto con pacientes con HTA (Rosas, *et al*, 2016), en el cual podemos ver la sugerencia terapéutica en edades de 35-54 años a manera de ejemplo.

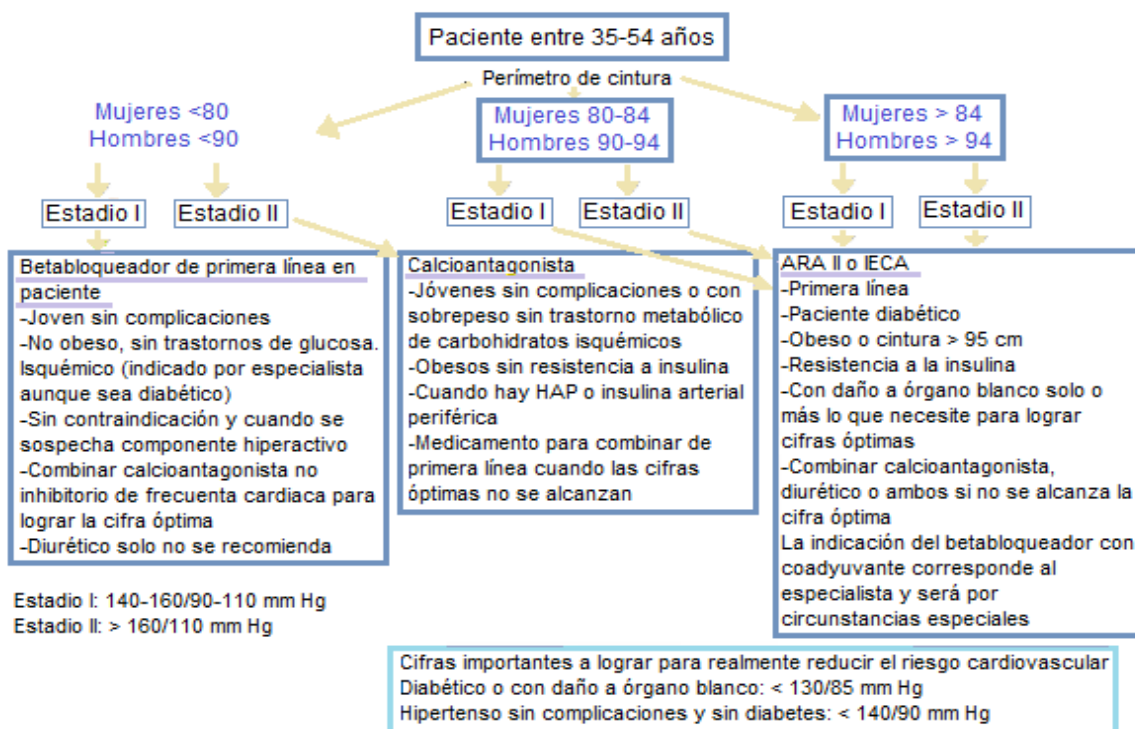


Figura 1. Sugerencia terapéutica en pacientes con HTA (pacientes 35-54 años)

2.1.3 Formas farmacéuticas existentes para los antihipertensivos

En la Tabla 3 se pueden observar algunas de las formas farmacéuticas ya existentes para el tratamiento de la HTA, de las cuales podemos ver que la mayoría se administra por vía oral (Acosta, *et al*, 2017).

Tabla 3. Formas farmacéuticas disponibles en antihipertensivos

Denominación genérica	Forma farmacéutica
espironolactona, hidroclorotiazida, clortalidona, metolazona	tabletas, suspensión oral, solución inyectable
bumetadina, furosemida, torasemida	tabletas, solución inyectable
amlodipino, felodipino, nifedipino	comprimidos, comprimidos de liberación prolongada, cápsulas
diltiazem, verapamilo	tabletas, grageas, solución inyectable
captopril, enalapril, losartán, telmisartán, valsartán	tabletas, comprimidos, cápsulas
atenolol, metoprolol, propanolol, prazosina	tabletas, cápsulas
diazóxido, hidralazina, nitroprusiato	tabletas, solución inyectable

2.2 Telmisartán

El telmisartán es un fármaco que pertenece a la familia de los ARA II (Sharpe, *et al*, 2001); en general estos fármacos tienen una disociación lenta del receptor por lo cual contribuyen a prolongar la duración del efecto antihipertensivo. Una de las ventajas de este fármaco es que tiene alta lipofiliidad y le brinda una ventaja, sobre otros ARA II, de bloquear los efectos de la Ang II en el SNC; tiene una vida media prolongada en comparación con los otros ARA II y es un medicamento de primera elección para el tratamiento de la HTA ya que tiene un efecto terapéutico eficaz y una alta unión a proteínas plasmáticas (>90 %); además, es poco común que la administración de este fármaco se vea afectada por interacción con otros medicamentos (Jaimes & Burgos, 2009).

En la Tabla 4, tomada de (Alfie, *et al*, 2013), se observan las características farmacocinéticas de los principales ARA II, entre los cuales está el telmisartán, donde podemos ver que sobresale de los otros sartanes por su vida media y eliminación biliar/fecal además de que su BD, su semivida, la UPP, su velocidad de disociación lenta lo hacen más destacable (Bendersky & Filippini, 2018).

Tabla 4. Características farmacocinéticas de los sartanes

	Candesartán Cilexetil	Eprosartán	Irbesartán	Losartán	Olmesartán	Telmisartán	Valsartán
Profármaco	Sí	No	No	No	Sí	No	No
Biodisponibilidad oral (%)	42	15	70	33	25	43	25
Vida media (h)	9	5-7	11-15	0.5-2 y 6-9*	13	24	6-9
T _{max} (h)	3-4	1-2	1.5-2	0.5-2	1.5-2.5	2-3	1-2
UPP (%)	99	98	95	99	99	99	95
Metabolito activo	Candesartán	No	No	EXP3174	Olmesartán	No	No
Tipo de Antagonismo	NC	C	NC	C	-	NC	NC
Velocidad de disociación	Lenta	Rápida	Lenta	Rápida	-	Lenta	Lenta
Eliminación renal (%)	60	7	20	10 y 50*	35-50	1	13
Eliminación biliar/fecal (%)	40	90	80	90 y 50*	50-65	99	83
Dosis (mg/día)	8-32	600	100-150	50-100	20-40	40-80	80-320
Interacción alimentaria	No	No	No	No	No	No	Si (<40-50 % BD)
Interacción medicamentosa	No	Diuréticos ahorradores de K	No	Rifampina, fluconazol	No	Digoxina-Warfarina	No

Tmax; tiempo para alcanzar la concentración plasmática máxima. UPP: unión a proteínas plasmáticas. C: competitivo. NC: No competitivo *Valores para losartán y EXP-3174 respectivamente

2.2.1 Propiedades fisicoquímicas del telmisartán

El telmisartán es una molécula anfifílica que tiene como fórmula empírica $C_{33}H_{30}N_4O_2$, cuya estructura química se muestra en la Figura 2. Es un polvo cristalino, blanco, poco soluble en metanol e insoluble en agua (<0.1 g/l) (FEUM, 2016), bajo la Clasificación Biofarmacéutica se establece como un fármaco clase II, debido a su baja solubilidad pero alta permeabilidad (Iriarte, 2015). Su peso molecular es de 514.62 g/mol, con un log P de 6.7 log S de -5.2, pKa de 3.65 y un punto de fusión de 261-263 °C.

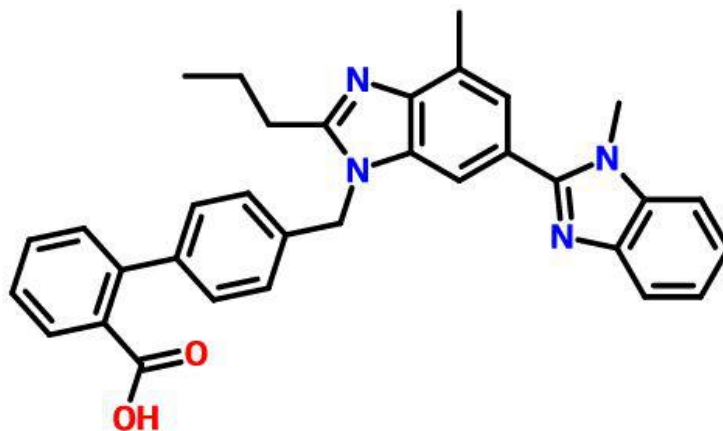


Figura 2. Estructura química del telmisartán

2.2.2 Farmacocinética y Farmacodinamia

El telmisartán es un antagonista del receptor de la angiotensina II que actúa sobre el receptor AT_1 principalmente y con menor afinidad en el AT_2 ; como la angiotensina II estimula la síntesis y liberación de aldosterona, bloqueando sus efectos, se consigue disminuir la resistencia vascular sistémica. La unión a proteínas plasmáticas es mayor a 99.5 %, mayormente a la albúmina y la glicoproteína alfa-1-ácida. Su volumen de distribución es de aproximadamente 460-510 L, lo que indica que hay alta redistribución de telmisartán en los compartimentos de los tejidos; este es una propiedad inherente del fármaco, e implica que el fármaco se acumula en algunos tejidos para luego ser eliminado, pero este fármaco ya se encuentra aprobado y es usado ampliamente en el tratamiento de la HTA (Deppe, *et al*, 2010). Las enzimas del citocromo P450 no están involucradas en el metabolismo de éste. La eliminación de la dosis administrada, vía oral o intravenosa, es mayor del 98 % por heces y de manera inalterada por excreción biliar y cantidades mínimas por orina. La C_{max} se alcanza a la media hora o hasta una hora después de la ingesta, con una semivida plasmática de 24 h aproximadamente. El aclaramiento es mayor a 800 mL/min (DRUGBANK, 2005; Thapa, *et al*, 2018).

El telmisartán es bien tolerado, sin embargo, un 2.8 % de los pacientes tratados con él tuvieron que suspender el tratamiento en un estudio de 1041 pacientes, debido a

efectos no deseados como infección del tracto respiratorio, dolor de espalda, sinusitis, diarrea, mareos y faringitis debido a las altas dosis (Deppe, *et al*, 2010).

Se administra por vía oral en una dosis recomendada de 40-80 mg/día, aunque en algunos casos 20 mg/día son suficientes (Brunton, *et al*, 2012). Su biodisponibilidad absoluta depende de la dosis, en una dosis de 40 y 160 mg/día la biodisponibilidad es de 42-57 % (Deppe, *et al*, 2010).

2.3 La vía oral, la primera alternativa en la administración de fármacos

La vía oral es la forma de administración de fármacos más conveniente y, por lo tanto, es la más usada en la mayoría de terapias, ya que ofrece al paciente seguridad, no rompe la continuidad de la piel, es económica y es fácil de administrar cuando el paciente está consciente (Barrueco, *et al*, 2008). Además, es una forma de administración que el paciente puede ingerir por su cuenta sin necesidad de un profesional de la salud (con excepción de una minoría de pacientes); por lo tanto, se vuelve mayor el apego al tratamiento. Para los fabricantes también es la más elegida porque sus costos de manufactura son bajos ya que el proceso de fabricación no requiere de esterilización (que es una etapa del proceso cara y crítica por el difícil control de la maquinaria y condiciones requeridas). La mayor ventaja de la vía oral es su amplia área de absorción, que es de 300-400 m² (área del TGI).

Algunas de las desventajas de la vía oral, son que requiere un estado de conciencia del paciente y capacidad para deglutir (esto se ve impedido sobre todo en pediátricos y geriátricos), además del sabor desagradable, la irritación de la mucosa gástrica, la absorción irregular en el tubo digestivo y la contraindicación de administrar un fármaco por esta vía cuando el paciente tiene vómito o está inconsciente (Ruiz, *et al*, 2002).

Hoy en día existen distintas formas farmacéuticas para la administración oral, incluyendo líquidas y sólidas:

 Líquidas

- soluciones, jarabes, gotas, emulsiones y suspensiones
- ✚ Sólidas
 - Polvos: dispersables y efervescentes
 - Granulados: efervescentes, recubiertos, gastrorresistentes, de liberación modificada
 - Cápsulas: duras, blandas, gastrorresistentes, de liberación modificada
 - Comprimidos: no recubiertos, recubiertos, efervescentes, solubles, dispersables, masticables, bucodispersables, gastrorresistentes, de liberación modificada, liofilizados.

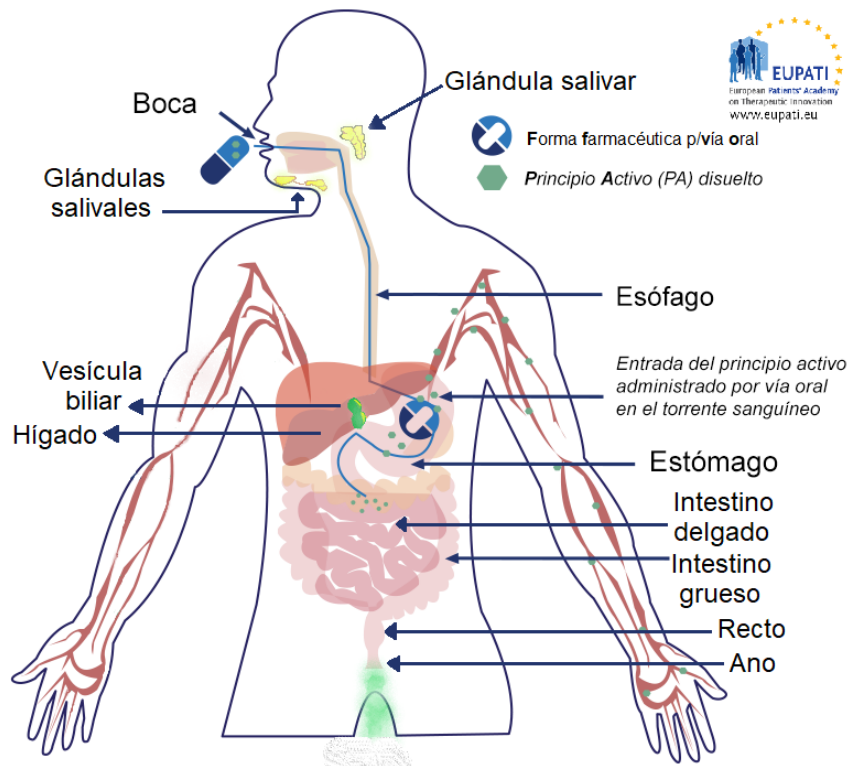


Figura 3. Representación esquemática del TGI y la vía oral (tomada de eupati.eu)

Al administrar un fármaco por vía oral, es absorbido por el tracto gastrointestinal hasta que éste ingresa al plasma sanguíneo, donde su concentración aumenta hasta igualarse con el ritmo de eliminación (nivel máximo de absorción). Como podemos ver en la Figura 3, tras llegar al estómago, se disgrega la forma

farmacéutica (ff) y parte del PA se disuelve; posteriormente se absorbe en el flujo sanguíneo, y el fármaco pasa al intestino delgado donde sigue el proceso de absorción. El índice de absorción varía dependiendo el fármaco y factores como la acidez, los alimentos, la motilidad intestinal y la edad del paciente. La permeabilidad es una de las propiedades que afectan la absorción de los fármacos y se define como la propiedad de la membrana que permite el paso selectivo de las partículas, regulando así el acceso y salida de sustancias a través de ésta. Se puede decir que la permeabilidad de la membrana es inversamente proporcional al tamaño de la partícula que quiera entrar (Calderón, *et al*, 2020).

2.3.1 Anatomía y fisiología del Tracto Gastrointestinal (TGI)

En el tracto gastrointestinal ocurren varios procesos importantes como son el movimiento del material a través de éste de un extremo a otro en sentido distal, hay secreción de jugos digestivos, digestión enzimática y la absorción o paso a través de la barrera intestinal de las sustancias digeridas, incluidos los fármacos, el agua y los electrolitos. El TGI es un tubo de 9 m que va desde la boca hasta el ano y se compone de diferentes segmentos (Figura 3). Las funciones más relevantes del TGI se describen a continuación:

- i. Boca: recibe el alimento y produce la fragmentación mecánica de éste (masticación), en el caso de los fármacos solo los recibe porque la mayoría no son masticables.
- ii. Esófago: estructura de 24-26 cm que tiene dos esfínteres en cada extremo, los cuales tienen la capacidad de controlar el desarrollo de su función principal, la de facilitar el tránsito del material deglutido en dirección correcta hacia el estómago.
- iii. Estómago: recibe y retiene los alimentos para iniciar y mantener el proceso de la primera digestión, por la secreción gástrica, terminando con la evacuación del quimo al duodeno.
- iv. Intestino delgado: tiene forma de tubo con una longitud que va de 4 a 7 m, se plega en varias asas intestinales para lograr ocupar un volumen menor.

El intestino delgado va desde el píloro hasta la válvula íleo-cecal dividiéndose en tres partes: el duodeno, el yeyuno y el íleon. Las paredes del intestino delgado se conforman por mucosa, submucosa, muscular y serosa (Ferrufino, *et al*, 2015). Su función principal es la absorción de nutrientes, por medio de microvellosidades en el enterocito ($200.000/\text{mm}^2$) que forman una superficie, de intercambio útil, de 300 m^2 (Figura 4; Marcotegui, *et al*, 2002) y otra de sus funciones es la mezcla y progresión distal de la masa contenida en él.

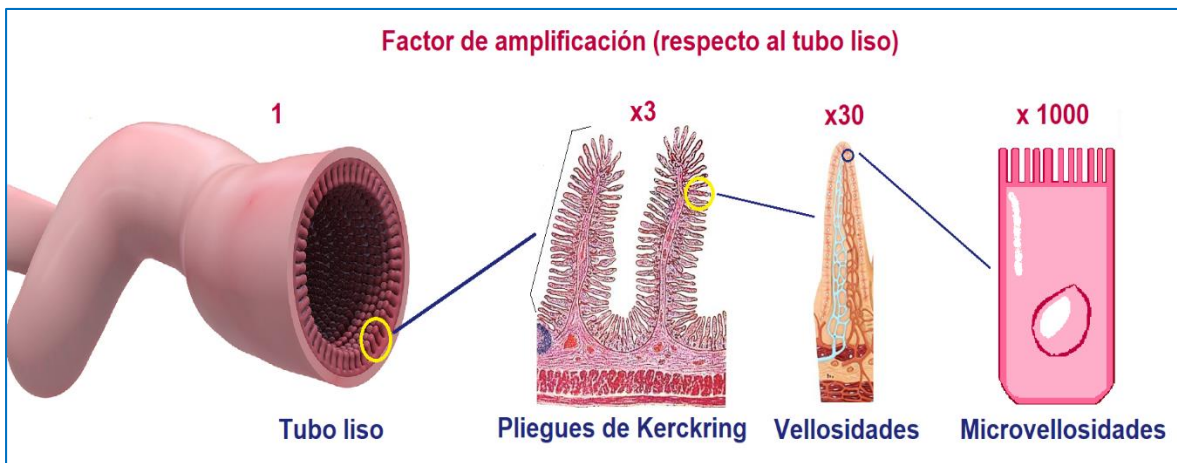


Figura 4. Intestino delgado: anatomía e histología *modificada de* <http://biologia-animal.wikispaces.com/Absorci%C3%B3n+intestinal>

- v. Intestino grueso: su función es continuar con el proceso de absorción y secreción, pero con un nivel de mayor especificidad, con la intervención de la flora bacteriana.
- vi. Recto: tiene una gran distensibilidad adaptativa por lo cual sirve como reservorio y regulador de la expulsión controlada de materia fecal.

La absorción de nutrientes y fármacos se da en la mucosa intestinal; ésta se conforma por epitelio, lámina propia y mucosa muscularis. La mucosa muscularis (entre mucosa y submucosa) es una lámina de músculo con un espesor de 3 a 10 células, se compone de capas circulares internas y longitudinales externas. La lámina propia es tejido conectivo que brinda soporte estructural a la capa de células epiteliales, rodea a las criptas de Lieberkuhn y tiene numerosas células de defensa

que interactúan con sustancias exteriores. Por sus capilares, la lámina nutre a las células epiteliales y permite el transporte de las sustancias absorbidas a circulación sistémica. Las células epiteliales son una monocapa de células madre que migran y reciben señales para diferenciarse; la función de esta monocapa es la absorción de nutrientes (y de otras moléculas, como los fármacos). La superficie apical contiene microvellosidades empacadas, ésta mide 10 a 11 nm y tiene un alto coeficiente molar proteína-lípido y una alta concentración de glicolípidos y colesterol (Herrera, *et al*, 2012).

Para estudios *in vitro* de la permeabilidad intestinal, el intestino de cerdo es comparable con el del humano. El duodeno del cerdo mide 12 pulg, lo que es equivalente a 30.48 cm; esta porción tiene conductos hacia el páncreas y el hígado (Instituto Nacional Tecnológico, 2017).

2.3.2 Mecanismos de transporte de fármacos a través del TGI

Al llegar un fármaco al lumen intestinal, éste es difundido para entrar en contacto con la región apical de los enterocitos, atravesando varias barreras celulares hasta alcanzar circulación sistémica. La más importante es la membrana intestinal, por ser una zona permeable selectiva.

Los factores que influyen en esta absorción son el gradiente de concentración, la diferencia de potencial eléctrico y los gradientes de presión hidrostática; sin embargo, la permeación depende de las barreras físicas (carácter lipídico de la membrana celular y su unión) y bioquímicas (enzimas metabolizadoras de fármacos y transportadores en la mucosa).

Los procesos de transporte involucrados se observan en la Figura 5, y se dividen en dos grupos, dependiendo de la necesidad de energía para atravesar la membrana, como se indica a continuación:

✚ **Difusión pasiva**

- **Difusión simple (transcelular):** transporte de compuestos hidrofóbicos, para que un fármaco sea transportado por esta vía tiene que ser una molécula lipofílica y de tamaño moderado. El paso ocurre sin gasto de energía y obedece al gradiente de concentración o electroquímico según la Ley de difusión de Fick. Comprende el movimiento de molécula de soluto a través de la membrana apical, citoplasma y membrana basolateral.
- **Transporte paracelular (transporte extracelular):** por medio de las uniones estrechas de las células epiteliales. Este es también un proceso pasivo regido por la Ley de Fick. Las moléculas hidrofílicas pueden permear por este mecanismo.
- **Transporte mediado por acarreadores (difusión facilitada):** los acarreadores y transportadores (proteínas de membrana capaces de formar un complejo con el fármaco) de la mucosa intestinal son los que llevan a cabo la absorción de los nutrientes, ayudando a atravesar la membrana y liberar el fármaco del otro lado. Son saturables y tienen alta especificidad. Al igual que en la difusión simple, en este mecanismo hay un gradiente de concentración y no hay gasto de energía.

✚ **Difusión activa**

- **Transporte mediado por acarreadores (transporte activo):** éste necesita de energía, misma que puede ser dada por la hidrólisis de ATP u otra fuente de energía. No depende de algún gradiente de concentración.
- **Transporte por vesículas (transocitosis que incluye a la pinocitosis):** moléculas de soluto se incorporan a vesículas endocíticas dando lugar a pinosomas que migran hacia los endosomas, los cuales, se fusionan con los lisosomas. La endocitosis mediada por receptores involucra la unión de una macromolécula a un receptor, a su vez se forma complejo receptor-ligando. Posteriormente, los ligandos se destruyen por los lisosomas y los receptores se reciclan o destruyen. La transocitosis sucede cuando el ligando disuelto en la vesícula endocítica atraviesa los lisosomas y se libera por la membrana basolateral.

- + **Mecanismos de eflujo:** transportadores de eflujo median la expulsión de compuestos del citoplasma celular hacia el lumen intestinal por eflujo apical, estos tienen baja selectividad y se consideran una limitante para la absorción de fármacos (Herrera Ruiz, *et al*, 2012).

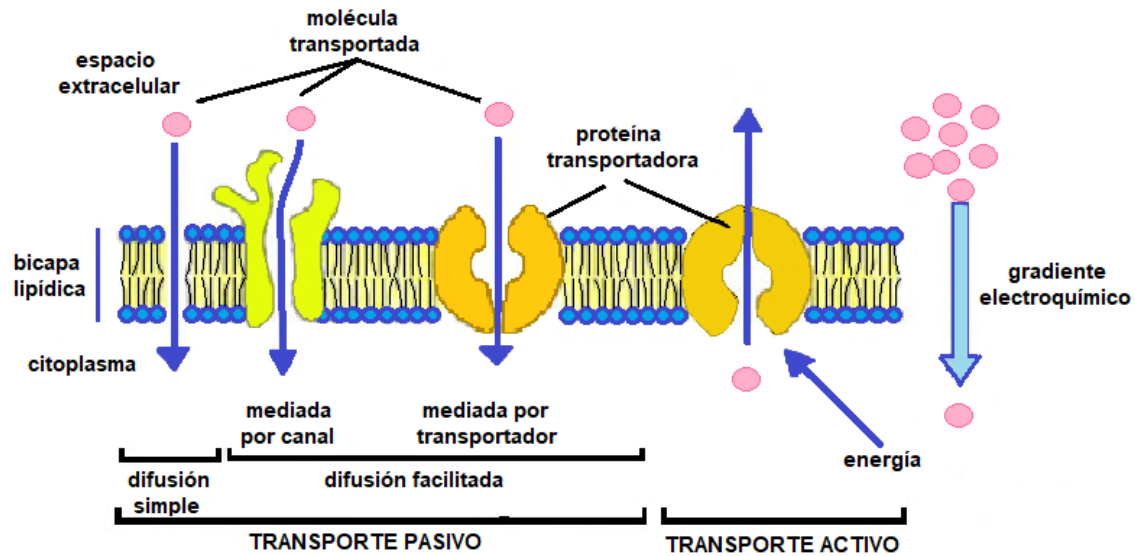


Figura 5 Mecanismos de transporte (Camargo Santiz)

Gracias a la difusión (Ley de Fick, ecuación 1) es que se llevan a cabo varios procesos, esta ley dice que cierta cantidad de sustancia (dm) difunde por un periodo de tiempo (dt). El área de la sección transversal de flujo (A) participa de manera proporcional en el flujo. El gradiente de concentración es dC/dX , o sea la diferencia de concentración a lo largo de la sección X , la cual es perpendicular al área A . La constante de difusión (D), a presión y temperatura constantes, sólo depende del soluto y del solvente. El signo negativo indica un flujo pasivo para un gradiente negativo de concentración; el transporte se realiza de la región de mayor concentración hacia la de menor concentración (UNAM, 2020).

$$\frac{dm}{dt} = -D A \frac{dC}{dX}$$

Ecuación 1. Ley de Fick

2.4 Nanopartículas lipídicas sólidas (SLN)

Las nanopartículas lipídicas son un sistema de transporte alternativo a las emulsiones, liposomas y nanopartículas poliméricas, ya que poseen ciertas ventajas sobre estas formulaciones, entre ellas, una protección del IFA contra la degradación química y una mayor flexibilidad en la modulación de la liberación (Villafuerte, 2009). Se forman simplemente con el intercambio del lípido líquido de las emulsiones por un lípido sólido fundido, lo que da como resultado nanopartículas lipídicas sólidas a temperatura ambiente y en el cuerpo humano. Las estructuras obtenidas poseen un diámetro inferior a 1 μm , son de forma esférica y se consideran sistemas de liberación prolongada. Algunas ventajas de las nanopartículas lipídicas son:

- Utilizan lípidos fisiológicamente aceptables para su preparación.
- Es posible no utilizar solventes orgánicos en su preparación.
- Pueden usarse para la vía oral, tópica e intravenosa.
- Cuentan con métodos de preparación bien establecidos y reproducibles.
- Mejoran la biodisponibilidad de fármacos de baja solubilidad.
- Favorecen la penetración del IFA a través de membranas biológicas, incluida la piel.
- Presentan propiedades oclusivas que ayudan a la hidratación de la piel, y por su tamaño y estructura, pueden emplearse como sistema alternativo de protección UV. (Correa, *et al*, 2016).
- Son útiles para encapsular fármacos lipofílicos y protegerlos de degradarse por agentes externos como la luz y el agua.
- Los fármacos incorporados a la matriz lipídica sólida, podrían ser liberados de manera prolongada.

Las SLN también poseen desventajas como la expulsión del fármaco durante el almacenamiento y la baja capacidad de carga del fármaco. Las características de las SLN se mejoran adicionando lípidos líquidos a la formulación, en los que el fármaco será más soluble, dando lugar a los Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados (NLC) (Villafuerte, *et al*, 2008).

2.4.1 Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados (NLC)

Los NLC se usan para fármacos con baja solubilidad en los fluidos fisiológicos, mejorando así su biodisponibilidad. Presentan un tamaño de 50-1000 nm, aunque otros autores reportan tamaños que van de los 40 a los 800 nm (Czajkowska, *et al*, 2018). Reducir las partículas del fármaco a nivel nano aumenta la velocidad de disolución y con esto la biodisponibilidad crece en porcentaje, también el límite de saturación de la solubilidad incrementa, mejorando el desempeño del fármaco *in vivo* (Villafuerte, *et al*, 2009). Es importante mencionar que la capacidad y eficiencia de carga, la estabilidad y la ubicación biológica de las nanopartículas son determinadas por la concentración y la naturaleza de los lípidos, los emulsificantes, los co-emulsificantes y los ligandos de localización.

Los NLC se caracterizan por contar con un núcleo sólido lipídico (Figura 6) que ayuda a la solubilización de fármacos lipofílicos (sin embargo, también se han incorporado fármacos hidrofílicos) que contiene también un lípido líquido que estabiliza al lípido sólido. Este núcleo es estable gracias al uso de tensoactivos o emulsificantes, los cuales deben ser reconocidos como materiales seguros. Estos nanosistemas decrecen o incluso evitan posibles problemas relacionados con las SLN como son la baja capacidad de carga, el alto contenido de agua de las dispersiones de las SLN y la segregación durante el almacenamiento.

La ventaja de las NLC es que la matriz lipídica es menormente ordenada debido a la cristalinidad de algunos lípidos, lo que permite que la carga del fármaco incremente, evitando la segregación (Kyeong, *et al*, 2016). En las NLC no hay existencia de gotas de aceite en la estructura interna de la matriz, estas son

expulsadas a la superficie de la partícula donde se adhieren y esto es debido a la cristalización.

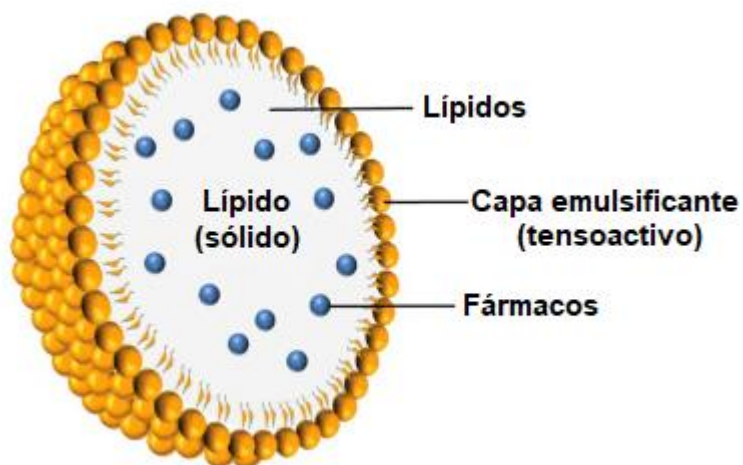


Figura 6. Representación esquemática de una SLN (Singh, *et al*, 2019)

Para obtener una alta capacidad de carga del fármaco en las SLN se debe usar un lípido sólido en el cual sea muy soluble el fármaco, sin embargo, hay otras variables que influyen como la miscibilidad del fármaco fundido con el lípido fundido, la estructura de la matriz lipídica sólida y el estado polimórfico del material lipídico (Figura 7; Villafuerte R., *et al*, 2008).

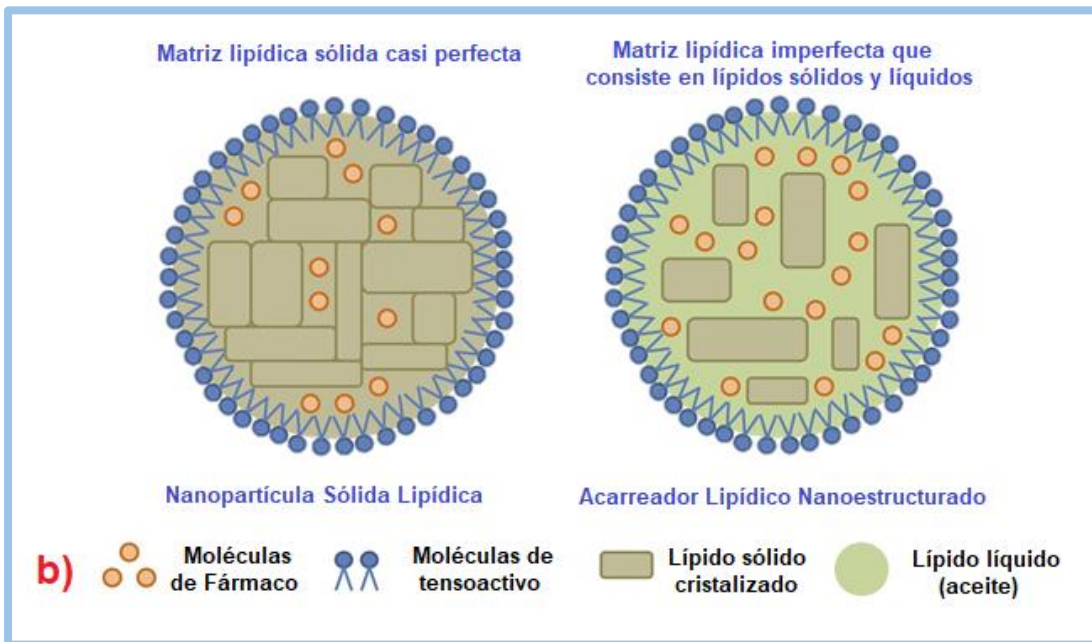
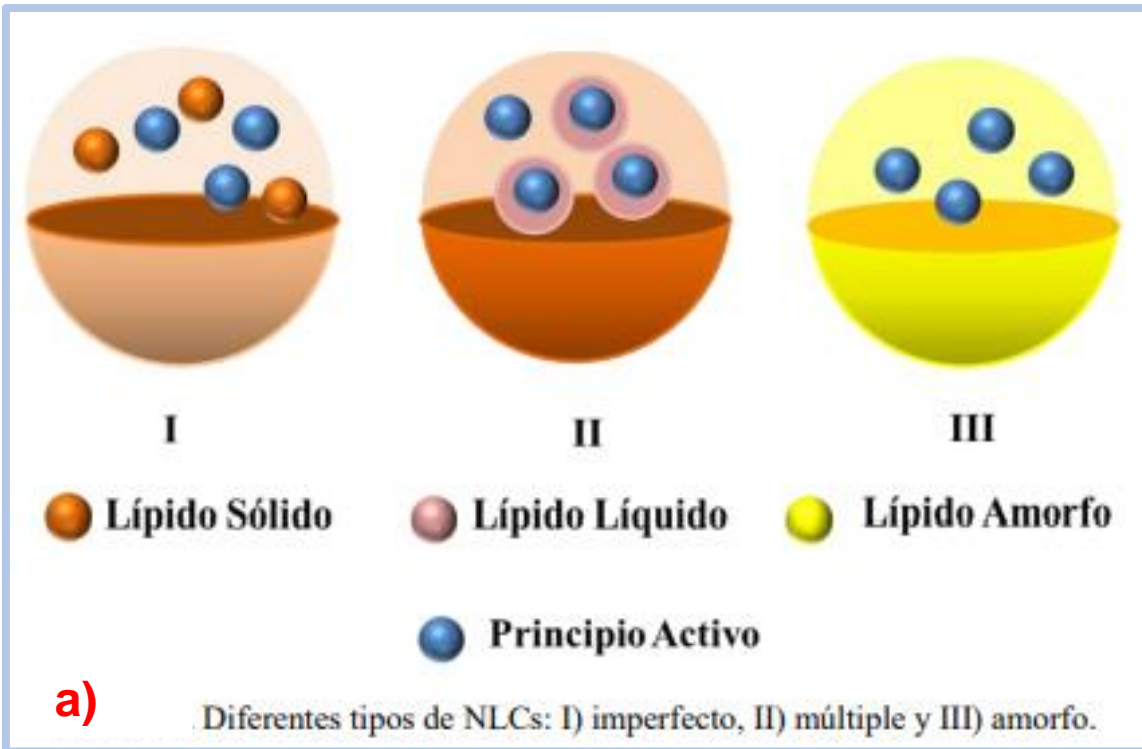


Figura 7. Representación esquemática de a) los tipos de NLC y de b) la diferencia estructural entre una SLN y una NLC (Villafuerte R., *et al*, 2008).

2.4.1.1 Materiales empleados en la obtención de NLC

Los materiales más utilizados en los procesos de obtención de las SLN y NLC se pueden apreciar en la Tabla 5 (Czajkowska, *et al*, 2018):

Tabla 5. Materiales utilizados en el desarrollo de NLC

Lípidos	Sólidos	Triglicéridos -Tricaprina -Trilaurina -Trimiristina -Tripalmitina -Triestearina	Acilgliceroles -Monoestearato de glicerol -Behenato de glicerol -Palmito-estearato de glicerol	Ácidos grasos -Ácido esteárico -Ácido palmítico -Ácido decanóico -Ácido behénico	Ceras -Palmitato de cetilo	Complejos cíclicos -Ciclodextrina - <i>Para</i> -acil-calix-arenos
	Líquidos	-Triglicérido cáprico - Escualeno - Polioxilglicéridos		- Aceite de castor - Ácido oleico	- Aceite de sésamo - Lauroil	
Tensoactivos	Fosfolípidos	Copolímeros de óxido de etileno-óxido de propileno	Copolímeros de óxido de etileno y sorbitán/óxido de propileno	Polímeros poliéteres de alcohol alquil-arílico	Sales biliares	
	-Lecitina de soya -Lecitina de huevo -Fosfatidilcolina	-Poloxámero 188 -Poloxámero 182 -Poloxámero 407 -Poloxamina 908	-Polisorbato 20 -Polisorbato 60 -Polisorbato 80	-Tyloxapol	-Colato de sodio -Glicolato de sodio -Taurocolato de sodio -Taurodeoxicolato de sodio	
	Alcoholes	-Etanol -Butanol				

2.4.1.2 Métodos de obtención de NLCs

Para la formulación de NLCs existen varios métodos reportados, pero el más popular es el de homogenización a alta presión (HPH, por sus siglas en inglés high

pressure homogenization), éste se divide en dos técnicas, una en caliente y la segunda en frío. Este método tiene muchas ventajas, tales como un fácil escalamiento y tiempos de producción cortos, además de que no requiere el uso de disolventes orgánicos. El método en caliente se lleva cabo agregando una solución de tensoactivos caliente en la solución oleosa de los lípidos fundidos (a una temperatura de 5-10°C por arriba del punto de fusión del sólido) con el fármaco, usando agitación a alta velocidad, la mezcla resultante se homogeniza bajo alta presión (500-800 bar) para crear una nanoemulsión caliente y se deja enfriar a temperatura ambiente formando NLC. En la técnica en frío, los lípidos fundidos y mezclados con el fármaco se enfrían usando nitrógeno líquido o hielo, la masa obtenida se tritura y muele, y la solución obtenida se dispersa en la solución fría de tensoactivos para después someterse a homogenización a alta presión. La desventaja de este método es el uso de alta presión, temperatura y concentración de tensoactivo. Los métodos de obtención generalmente usados se muestran en la Tabla 6:

Tabla 6. Métodos de obtención de NLCs

Método	Descripción general
Emulsificación- evaporación/ emulsificación-difusión de disoluciones lipídicas	Lípido y fármaco se disuelven en un solvente orgánico con agitación a alta presión, formándose gotas, la solución se dispersa en agua bajo agitación y se evapora el disolvente a 70°C. El agua se elimina por liofilización o método de secado por pulverización. La desventaja es el uso de disolventes orgánicos y el difícil escalamiento a producción mayor (Czajkowska, <i>et al</i> , 2018).
Microemulsificación	Lípidos fundidos se mezclan con el tensoactivo y se meten en agua fría, forman gotas y se llevan a ultrasonido y ultrasonificación para homogenizar. Requieren alta concentración de tensoactivo (60 %) y lípido.
Emulsificación mediante membrana de contacto	Requiere de una membrana de cerámica con poros.

3. ANTECEDENTES

3.1 Estrategias para mejorar la disolución y la biodisponibilidad de fármacos

Actualmente se conoce que casi el 50 % de los fármacos que se encuentran en etapa de desarrollo y más de un tercio (92 %) de los PA incluidos en la Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica (E.U.A.) presentan baja o casi nula solubilidad en agua (de acuerdo al Sistema de Clasificación Biofarmacéutica son clase II y clase IV, véase Figura 8), lo que limita la formulación de estos, así como su aplicación clínica y comercialización, deteniendo investigaciones importantes a posibles tratamientos que serían efectivos para la población debido a su baja disolución y biodisponibilidad. La solubilidad es un parámetro importante para lograr la concentración deseada del fármaco en la circulación sistémica y la velocidad de disolución es la limitante para el transporte y la absorción de los fármacos (Alvarado, 2015).

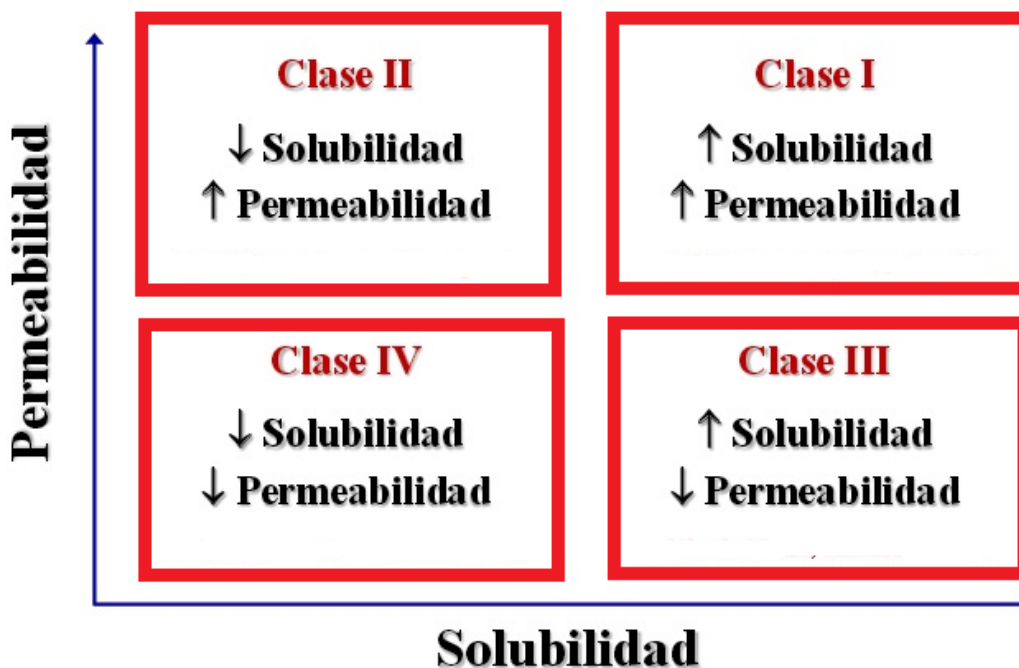


Figura 8. Clasificación Biofarmacéutica de los fármacos

Algunas de las alternativas para mejorar la disolución de fármacos pueden ser: a) la formación de cocristales, para mejorar las propiedades fisicoquímicas de un

fármaco modificando la composición de la materia sin alterar los enlaces covalentes existentes (Alvarado, 2015); b) la formulación de dispersiones sólidas, que se considera de las mejores estrategias para mejorar el perfil de disolución de los fármacos poco solubles (Simonazzi, *et al*, 2015); y c) la nanotecnología, que es una tendencia emergente y moderna que ha tenido importancia en la administración de fármacos orales, dérmicos y transdérmicos, beneficiando al paciente y al fabricante, ya que ayuda al diseño de nanosistemas para la liberación de fármacos.

La nanotecnología nació en la década de los 60's con la idea de Feynman de manipular la materia a escala molecular. Se define como la ciencia que estudia el diseño, caracterización, síntesis y aplicación de materiales y sistemas con propiedades físicoquímicas o biológicas mejoradas gracias a su tamaño nanométrico. Existen varios nanosistemas para la liberación de fármacos, como los liposomas, nanoemulsiones, nanopartículas poliméricas, nanopartículas lipídicas, nanocápsulas y dendrímeros, entre otros (Alcalá & Quintanar, 2014).

Las nanoformulaciones basadas en lípidos han sido estudiadas con aplicaciones prometedoras para la administración oral de fármacos tanto hidrofílicos como lipofílicos, así como productos biológicos. Además, son consideradas como un sistema mejorado de administración de medicamentos a comparación de los sistemas tradicionales. Estas formulaciones pueden ser nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), acarreadores lipídicos nano estructurados (NLC), conjugados de fármacos lipídicos, nanocápsulas lipídicas, nanoemulsiones y/o liposomas. Las nanoformulaciones anteriores consisten en lípidos que están dentro de la categoría de "generalmente considerado como seguro (GRAS)" y además son biodegradables y biocompatibles. Su tamaño de 10-1000 nm brinda un área de superficie grande para la absorción. Los lípidos mejoran la solubilización del fármaco en el medio intestinal por la formación de micelas, micelas mixtas y vesículas que son absorbidas fácilmente de las células del TGI. Las nanoformulaciones modifican la vía de transporte de fármacos desde el sistema portal hasta el sistema linfático, disminuyendo el metabolismo de primer paso y alterando el transporte y deposición de fármacos basados en enterocitos (Singh, *et al*, 2019). La forma tradicional de

acarreadores lipídicos son los liposomas (descubiertos en 1960), pero tienen muchas desventajas, como baja estabilidad, eficiencia de encapsulación pequeña, interacciones celulares y una vida útil corta. En 1990 el profesor R. H. Müller y el profesor M. Gasco, hicieron su primera investigación con acarreadores lipídicos llamándolos Nanopartículas Lipídicas Sólidas, proponiéndolos como alternativa a las emulsiones y liposomas con ventajas sobre ellos tales como fácil preparación, buena biocompatibilidad, baja toxicidad, no uso de disolventes orgánicos, liberación sostenida, aunque con ciertas desventajas como la expulsión del fármaco durante el almacenamiento y la baja capacidad de carga. Buscando soluciones a las desventajas de las SLNs, en 1999 nació la segunda generación de nanopartículas lipídicas, llamadas Acarreadores Lipídicos Nano estructurados (Czajkowska, *et al*, 2018).

3.2 NLC y su uso en la administración oral de fármacos

Como hemos venido estudiando, uno de los principales problemas para la administración y formulación de fármacos es su pobre solubilidad. Se ha visto que la prevalencia de estos fármacos clase II y clase IV (Figura 8) es elevada, por lo cual los investigadores se han visto en la necesidad de buscar alternativas de administración, entre las cuales destaca el uso de NLCs.

Los NLC incluyen en su formulación un lípido líquido, un lípido sólido y una fase acuosa con tensoactivo. En los lípidos que muchos de los fármacos presentan mejor solubilidad. Los NLC se caracterizan por una estructura desordenada, la cual permite una mayor capacidad de carga de fármaco y eficiencias de encapsulación altas, por lo cual son una alternativa al uso de SLN. La administración de NLCs se puede hacer por vía oral, intravenosa, pulmonar, dérmica, transdérmica y ocular, dependiendo las características de sus componentes y la finalidad de la formulación con base en el fármaco a administrar. Algunos investigadores han logrado encapsular fármacos en NLC's en diversos estudios, algunos ejemplos de éstos se muestran en la Tabla 7 (Czajkowska, *et al*, 2018):

Tabla 7. Ejemplos de fármacos encapsulados dentro de NLCs.

Fármaco	Composición de NLCs
Ibuprofeno	Witepsol E85/ Myglyol 812/ Litrol F68
Lansoprazol	Monoestearato de glicerilo/ Estearilamina/ Duodecil sulfato de sodio/ Pluronic F68
Meloxicam	Palmitato de cetilo/ Ácido caprílico/ Tween 80/ Propilenglicol
Sildenafil	Palmitato de cetilo/ Monolinoleato de glicerol/ Span 85/ Propilenglicol
Benzocaina	Compritol 888 ATO®/Myglyol 812/Lutrol F68
Coenzima Q₁₀	Palmitato de cetilo /Myglyol 812/Tegocare 450
Econazol	Precirol/ Escualeno/ Pluronic F68/ Lecitina
Metotrexato	Witepsol S51/ ácido oleico/ Tween 60 ó 80
Quercetina	Monoestearato de glicerilo/ ácido esteárico/ triglicéridos de cadena media/ d- α -tocoferol polietilenglicol 1000 succinato
Progesterona	Tristearina/ Myglyol 812/ Poloxámero 188
Espironolactona	Compritol 888 ATO®/ Aceite de oliva/ Transcutol/ Tween 80
Vitamina E	Precirol ATO 5/ Vitamina E/ Tween 80

4. JUSTIFICACIÓN

La hipertensión arterial es una enfermedad que sufre el 31.5 % de los adultos mexicanos, la cual está ligada a un tratamiento farmacológico donde los pacientes presentan poca adherencia a la mayoría de antihipertensivos tienen eventos adversos (EA). Los ARA II son una familia de antihipertensivos que tienen mínimos EA, y actividad sobre el sistema renina-angiotensina (SRA) que, si llega a fallar, se relaciona con morbilidad cardio y cerebrovascular por lo que nos conviene solucionar ambos problemas de salud haciendo uso de esta familia.

El telmisartán es un fármaco de la familia de los ARA II y por tanto está indicado para el tratamiento de la HTA. Una de las principales desventajas de este fármaco es que pertenece a la clase II, prácticamente insoluble en agua (Iriarte Ballesta, 2015), lo cual hace que tenga baja biodisponibilidad y que su única forma farmacéutica hasta ahora sea en tabletas para la vía oral con una dosis no menor a 20 mg al día debido a su biodisponibilidad menor al 50 %.

Se ha visto que las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) incrementan la penetración de ingredientes farmacéuticamente activos (IFAs) a través de membranas biológicas. Dentro de las SLN han llamado la atención en los últimos años los NLC, ya que presentan una matriz sólida lipídica menos ordenada que aumenta la capacidad de carga del fármaco en el seno de las nanopartículas con altos porcentajes de encapsulación, protege al fármaco de degradación e incrementa su biodisponibilidad. También se ha visto que por la presencia de los lípidos se mejora la solubilidad del fármaco en el medio intestinal, lo que podría favorecer la disolución del fármaco y se podría aprovechar su alta capacidad para promover la permeabilidad por la vía oral.

Debido a lo anterior en este trabajo se obtuvieron NLCs a partir de un lípido sólido (compritol®) y un lípido líquido (ácido oleico) cargados de telmisartán, antihipertensivo ARA II, con una alta eficiencia de encapsulación, que a su vez mejoran la velocidad de disolución y permeabilidad intestinal del fármaco.

5. HIPÓTESIS

Los Acarreadores Lipídicos Nano estructurados (NLC) podrán encapsular telmisartán eficientemente, los cuales tendrán además un efecto promotor sobre la velocidad de disolución y la permeabilidad intestinal del fármaco.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Obtener, optimizar y caracterizar Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados (NLC) cargados con telmisartán, además de evaluar su eficacia *in vitro* con estudios de liberación y permeabilidad intestinal.

6.2 Objetivos Particulares

- I. Definir los materiales a utilizar en la obtención de los NLCs con base en la revisión bibliográfica y en la prueba de solubilidad aparente.
- II. Validar el método analítico espectrofotométrico para cuantificar fármaco libre y la eficiencia de encapsulación.
- III. Obtener los NLCs con el método de homogenización en caliente y optimizar las condiciones de manufactura con base en un Diseño Experimental (DE).
- IV. Realizar la caracterización física de los NLC-TEL mediante la evaluación de tamaño de partícula, potencial zeta, índice de polidispersión, eficiencia de encapsulación y estado sólido.
- V. Realizar la prueba de cinética de liberación *in vitro*.
- VI. Evaluar la permeabilidad del fármaco *in vitro* utilizando intestino de cerdo.

7. MATERIALES

7.1 Equipos

- Agitador IKA®/ RW20
- Balanza analítica OHAUS TRAVELER®/TA3001
- Balanza Electrónica SHIMADZU®/ ATX 224
- Calorímetro METLER TOLEDO®/ DSC 3 STAR System
- Centrífuga EPPENDORF®/ mini spin epped x 1000
- Disolutor PHARMA TEST®/ PT-DT70
- Espectrofotómetro UV-vis AGILENT®/ CARY 60
- Espectrómetro FT-IR NICOLET 6700 ThermoScientific®
- Homogeneizador IKA®/ULTRA TURRAX T18 DSI NS: 03413283
- Microtrac NANO-flex -180° DLS® Size analyser
- Parrilla de agitación con calefacción IKA®/C-MAG HS 7
- Parrilla de multiagitación IKA®/ RO15
- Parrilla de multiagitación LAB- LINE® EQ-002
- Potenciómetro JENCO®/PH 6175 NS: JC00215
- Potenciómetro SCIENCE MED®/ SM-3BW
- Rayos X BRUKER® D8-ADVANCE
- Sonicador COLE PARMER®/ 08895-53
- Termocirculador PolyScience® SVC-AC1B
- Zetasizer MALVERN®/ZEN3690 NS: MAL1132797

7.2 Materias primas y reactivos

- Telmisartán GRISI SÉ NATURAL®
- Kolliphor P 188 SIGMA® Life Science
- Ácido oleico DROGUERÍA COSMOPOLITA
- Compritol 88 CG ATO® GATTEFOSSÉ
- D-Mannitol SIGMA-ALDRICH®
- Hidróxido de sodio J.T. BAKER®

- Ácido clorhídrico J.T. BAKER®
- Fosfato dibásico de sodio anhidro MEYER®
- Fosfato de sodio monobásico MEYER®
- Cloruro de sodio Pochteca®
- Cloroformo Honeywell®
- Etanol absolute teci-quim®
- Agua destilada

7.3 Materiales

- Membrana de diálisis de celulosa (4.3 cm de ancho y 2.7 cm de diámetro) SIGMA-ALDRICH® (5 mm de poro y corte de peso molecular de 14 kDa)
- Intestino de cerdo (fue donado recién extraído del cerdo, se entregó vacío y solo de la sección del intestino delgado, se lavó con agua potable a temperatura ambiente y se refrigeró hasta su uso)

8. METODOLOGÍA

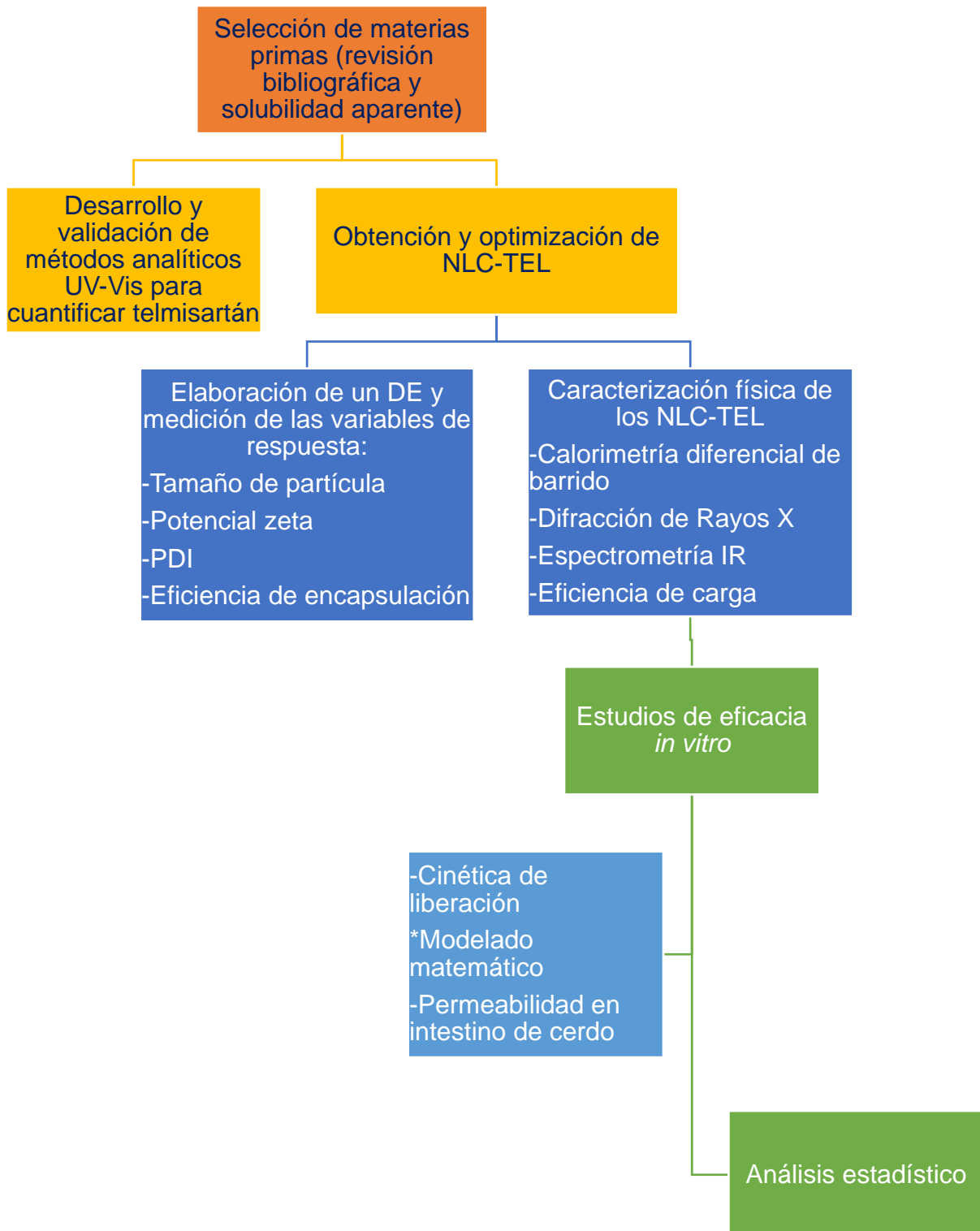


Figura 9. Metodología general esquematizada

8.1 Selección de materias primas por prueba de solubilidad aparente

A partir de una revisión bibliográfica, de artículos de investigación sobre NLC y SLN, se preseleccionaron una serie de lípidos, tanto sólidos como líquidos, así como de tensoactivos a emplear como estabilizantes.

Para llevar a cabo la selección de éstos se realizaron pruebas de solubilidad aparente del telmisartán en cada uno de ellos con base en el método descrito en el párrafo siguiente. Además, se evaluó la solubilidad aparente del fármaco y los materiales en diferentes disolventes con la finalidad de definir el método de manufactura de los NLC. Los materiales evaluados fueron el ácido caprílico, el ácido oleico, el monoestearato de glicerilo, el ácido esteárico, el compritol[®], el suppcire, el tefose HC y el lipocire A, además de algunos disolventes como agua, cloroformo, metanol, etanol, acetona y NaOH 1M.

Se etiquetaron tubos de ensaye con cada uno de los materiales a estudiar, posteriormente se pesaron 10 mg de telmisartán que fueron agregados en cada uno de ellos. Sucesivo a esto, se fue adicionando el componente a evaluar en cantidades de 50 μ L hasta notar la disolución total del fármaco a simple vista. Cabe mencionar que, los lípidos sólidos, tuvieron que ser fundidos previamente para poder realizar la prueba y que la disolución se ayudó de un vórtex. Las pruebas se realizaron por triplicado (Amarante, *et al*, 2014).

8.2 Desarrollo de métodos analíticos por UV-Vis para cuantificar telmisartán en las etapas del proyecto

8.2.1 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción

Se hizo un barrido espectral en el espectrofotómetro UV/vis Cary 60 para determinar la longitud de onda máxima de absorción de una muestra de telmisartán. Para este fin se pesaron 10 mg de telmisartán, los cuales se pusieron en un matraz volumétrico de 10 mL donde se disolvieron con 100 μ L de NaOH 1M y éste se aforó con agua destilada, de esta solución (1 mg/mL) se tomaron 300 μ L que se aforaron

a 10 mL. La solución obtenida de telmisartán con una concentración de 30 µg/mL, se midió en un intervalo de 200 a 800 nm, pidiendo al equipo que arrojarase el gráfico y la tabla con los picos máximos para determinar la longitud de onda máxima.

8.2.2 Especificidad del método

Para la especificidad del método, algunos de los disolventes que se iban a utilizar en los procedimientos también fueron medidos para corroborar que no absorbieran en la misma longitud de onda que el fármaco, haciendo interferencia en las lecturas. Se evaluaron las siguientes soluciones: solución amortiguadora pH 1.2, pH 6.8, NaOH 1M, y telmisartán disuelto en éstas.

8.2.3 Validación de métodos analíticos

Se desarrollaron tres métodos analíticos; uno para cuantificar telmisartán (Método A) en los estudios de eficiencia de encapsulación (matriz analítica agua), otro (Método B) para los estudios de liberación *in vitro* (matriz acuosa de buffer pH 1.2 de HCl 0.1 N y buffer de fosfatos pH 6.8) y uno más (Método C) para los estudios de permeabilidad *in vitro* (matriz biológica de buffer de fosfatos pH 6.8 en contacto con intestino de cerdo).

Una vez determinada la longitud de onda de máxima absorción se eligieron 5 puntos con base en la concentración utilizada en el barrido UV-Vis (30 µg/mL), definiendo una curva de calibración en un rango de 5 a 25 µg/mL para evaluar los parámetros de desempeño. En todos los casos se preparó una solución stock de telmisartán de 1 mg/mL en agua destilada y usando agua destilada o matriz analítica como medio de dilución. Los parámetros de validación evaluados fueron los siguientes (Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C., 2002):

8.2.3.1 Linealidad

Para ello se realizó una curva de calibración de cinco puntos, de 5 a 25 µg/mL de telmisartán. Utilizando:

- A. Agua destilada como blanco y para aforar,
- B. Buffer pH 1.2 y buffer pH 6.8 como blancos y para aforar; y
- C. Buffer pH 6.8 (recuperado de la agitación por 24 h de intestino delgado de cerdo en buffer pH 6.8, previamente filtrado con papel filtro) como blanco y para aforar (Figura 10).

Nota: el intestino de cerdo fue conseguido solo de la sección del intestino delgado, éste fue lavado con agua potable a temperatura ambiente para retirar grasa y heces. La solución de buffer pH 6.8 agitada con intestino delgado fue filtrada para retirar restos de heces y grasa (trazas), y así eliminar interferencias en el método.



Figura 10. Filtración de trazas del intestino de cerdo en buffer de fosfatos pH 6.8

Se obtuvo la absorbancia (abs) de cada concentración por triplicado a 296 nm. Los datos obtenidos se analizaron por regresión lineal en el software Excel, obteniendo la pendiente, el intercepto, el coeficiente de determinación (r^2), los intervalos de confianza (95 %) para las constantes del modelo y el CV de las pendientes.

8.2.3.2 Veracidad

Fue determinada a través del porcentaje de recobro del fármaco (ver ecuación 2). Se prepararon tres concentraciones (25, 15 y 5 $\mu\text{g/mL}$) por triplicado, a las cuáles se les midió la absorbancia a 296 nm para los métodos A, B y C. Las absorbancias fueron analizadas con la ecuación de linealidad para obtener la concentración real, el porcentaje de recobro. Asimismo, se obtuvo el CV de los recobros y el IC a 95 % para los mismos.

$$\% \text{ recobro} = \frac{\text{concentración real}}{\text{concentración teórica}} \times 100$$

Ecuación 2. Porcentaje de recobro

8.2.3.3 Repetibilidad

Para medir similitud entre resultados individuales de muestras homogéneas se prepararon dos concentraciones conocidas (10 y 20 µg/mL) por triplicado a las cuales se les determinó su absorbancia a 296 nm, calculando el CV de estas (Métodos A, B y C).

8.2.3.4 Límites de detección (LD) y cuantificación (LC)

Haciendo uso de la pendiente de la recta obtenida de la curva de linealidad y la estadística de los parámetros del modelo de regresión de cada curva obtenida en cada método (A, B y C) se calcularon los límites con las ecuaciones 3 y 4:

$$LC = \frac{10 \times DE \text{ intercepto}}{Pendiente}$$

Ecuación 3. Límite de cuantificación

$$LD = \frac{3.3 \times DE \text{ intercepto}}{Pendiente}$$

Ecuación 4. Límite de detección

8.3 Obtención y optimización de NLC-TEL

8.3.1 Elaboración de un Diseño Experimental

Para optimizar el tamaño y la eficiencia de encapsulación del telmisartán en los NLC se planteó un diagrama de pescado (**Anexo 9**) con base en la revisión bibliográfica de algunos artículos (Villafuerte, *et al*, 2008), (Garzón, *et al*, 2009) en el cual se

propusieron 6 factores que podrían influir en las variables de respuesta basados en otros trabajos donde se elaboraron NLCs.

Con base en lo anterior se creó un diseño experimental (ver Tabla 8) tipo Plackett-Burman $2^{6*}_{3/16}$ con ayuda del programa Statgraphics® Centurion XVI. Los factores y sus niveles (un bajo, un medio y un alto) a evaluar fueron los siguientes: X_1 : tiempo (5 y 15 min), X_2 : velocidad de agitación (8000 y 15 000 rpm), X_3 : proporción de tensoactivo (0.50 y 0.75 %), X_4 : cantidad de lípido líquido (500 y 1000 mg), X_5 : cantidad de fármaco (50 y 100 mg) y X_6 : tipo de tensoactivo (Kolliphor 188 y Tween 80); las variables de respuesta fueron las siguientes: Y_1 : tamaño de partícula, Y_2 : índice de polidispersión (PDI), Y_3 : potencial zeta y Y_4 : la eficiencia de encapsulación.

Tabla 8. Matriz de diseño obtenida

Bloque	X_1 Tiempo	X_2 Velocidad de agitación	X_3 Cantidad de tensoactivo	X_4 Cantidad lípido líquido	X_5 Cantidad fármaco	X_6 Tipo tensoactivo
	min	rpm	%	mg	mg	Tween 80/ Kolliphor 188
1	15	15000	0.75	500	100	Kolliphor 188
2	10	11500	0.625	750	75	Tween 80
3	5	15000	0.75	1000	50	Kolliphor 188
4	5	15000	0.5	500	50	Kolliphor 188
5	5	8000	0.5	1000	100	Kolliphor 188
6	15	8000	0.75	500	50	Tween 80
7	5	15000	0.75	500	100	Tween 80
8	15	8000	0.5	500	100	Kolliphor 188
9	5	8000	0.75	1000	100	Tween 80
10	15	15000	0.5	1000	100	Tween 80
11	15	15000	0.5	1000	50	Tween 80
12	15	8000	0.75	1000	50	Kolliphor 188
13	10	11500	0.625	750	75	Kolliphor 188
14	5	8000	0.5	500	50	Tween 80

Con base en las cantidades y porcentajes obtenidos en el DE, los lípidos fueron pesados en un vaso de precipitados (fase oleosa, FO) y en otro vaso 50 mL de

tensoactivo (fase acuosa, FA) y ambos vasos se pusieron a calentar en una parrilla de agitación y calentamiento a 88°C. Fundida la FO, se añadieron 100 mg de telmisartán el cual por solubilidad se integró a esta fase. Seguido de esto, fue vertida la FA en la FO y se mezclaron por agitación 10 min a 88°C. Ya mezcladas las fases, se pasaron a un tubo para Ultraturax y se montó el sistema que se puede apreciar en la Figura 11, donde un baño maría mantuvo una temperatura constante de 88°C según lo indicado en el DE.



Figura 11. Sistema Ultraturax con baño utilizado para obtener los NLCs

8.3.2 Medición de las variables de respuesta

8.3.2.1 Tamaño de partícula y PDI

Para la medición del tamaño de partícula, se utilizó un equipo Zetasizer Nano-ZS90 de Malvern. 1 mL de suspensión de NLC de cada corrida experimental fue colocado en una celda de plástico con tapa, la cual se insertó en el compartimento del equipo. La medición se realizó a un ángulo fijo de 90° y a una temperatura de 25°C, realizando tres mediciones con 10 corridas por muestra. Atendiendo las indicaciones de las condiciones de calidad de la medición en el equipo, se realizaron diluciones de la muestra con agua destilada hasta obtener mediciones correctas.

8.3.2.2 Potencial zeta

El equipo utilizado fue el Zetasizer mencionado en la prueba anterior, con la diferencia de utilizar una celda para medir potencial zeta (Figura 12), donde se analizó 1 mL de suspensión de NLC para cada corrida del diseño experimental, la medición se realizó a un ángulo de 90° y una temperatura de 25°C, con 10 corridas por medición (triplicado) para cada muestra y, si el equipo mostraba que había sido una medición incorrecta, se hacían diluciones para precisar una medición correcta.



Figura 12. Celda para medir potencial zeta

8.3.2.3 Eficiencia de encapsulación

La eficiencia de encapsulación del telmisartán en los NLC (NLC-TEL) se llevó a cabo por difusión de fármaco libre a través de una bolsa de diálisis, cuantificándolo con el método espectrofotométrico previamente validado. Los NLC-TEL de cada corrida experimental se recuperaron en una suspensión acuosa de aproximadamente 25 mL, de la cual se tomó 1 mL y se colocó en el interior de una bolsa de diálisis de 12.5 cm de largo. La bolsa se sujetó por los extremos con una pinza para entonces ser sumergida en 30 mL de una solución de NaOH 1 M, manteniendo la agitación por 2 h para permitir la difusión del fármaco libre (Figura 13).



Figura 13. Montaje del sistema para determinar la eficiencia de encapsulación mediante bolsas de diálisis

Posterior al tiempo de agitación se retiró la bolsa y del medio se tomaron 3 mL para verterlos en una celda de cuarzo y ser analizados en un Espectrofotómetro UV-Vis AGILENT/ CARY 60 a 296 nm para cuantificar el fármaco libre y con ello calcular el porcentaje de eficiencia de encapsulación con la ecuación 5:

$$\text{Eficiencia de encapsulación (\%)} = \frac{VD_T - VD_F}{VD_T} \times 100$$

Ecuación 5. Eficiencia de encapsulación

Donde VD_T es la cantidad inicial de telmisartán y VD_F es la cantidad de fármaco libre en el sobrenadante (Aditya, *et al*, 2014).

8.3.3 Optimización de los NLC por MSR y verificación del modelo

Con los datos experimentales anteriores y haciendo uso de la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) y con el uso de las opciones de análisis y de optimización del software Statgraphics®. Se obtuvieron el análisis de varianza, el gráfico de Pareto y el modelo de regresión múltiple, con ellos se realizó la optimización para múltiples respuestas, determinando la función de deseabilidad

donde se establecieron las condiciones o niveles de los factores para alcanzar los objetivos de optimización, que fueron minimizar el tamaño de partícula y maximizar la eficiencia de encapsulación.

Una vez obtenidos los niveles de los factores para obtener los NLC-TEL óptimos, se predijeron los valores esperados para las variables de respuesta a través del análisis estadístico. Estas condiciones calculadas para los factores se ejecutaron de forma experimental en tres lotes consecutivos de NLC-TEL, con la finalidad de corroborar los valores predichos, calculando el error de predicción, mediante la diferencia de los valores experimentales menos los valores predichos.

Estos sistemas obtenidos con un proceso de obtención ya optimizado se recuperaron en suspensión acuosa y se liofilizaron en un intervalo de temperatura de -25°C a 75°C con un secado de 20°C por 36 h. El polvo seco obtenido fue utilizado para llevar a cabo los estudios de caracterización física y de eficacia *in vitro*.

8.3.4 Caracterización física de los NLC-TEL en condiciones óptimas

Para los sistemas optimizados se obtuvieron el tamaño promedio, el potencial Z y la eficiencia de encapsulación empleando la metodología descrita de los puntos 8.3.2.1 al 8.3.2.3.

8.3.5 Análisis del estado sólido

8.3.5.1 Comportamiento térmico por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Esta técnica se realizó para conocer el comportamiento térmico de los NLC-TEL en comparación con los materiales individuales. Para tal efecto se utilizó un calorímetro Mettler Toledo/DSC 3 STAR System, UAEMex (Figura 14). En recipientes de aluminio se pesaron muestras de 5 mg de telmisartán, compitrol, ácido oleico, una mezcla física de estos, NLC's libres de fármaco y los NLC-TEL. El análisis se llevó

a cabo con una rampa de calentamiento de 10°C/min, en un rango de temperatura de 30-350°C.



Figura 14. Calorímetro METTLER TOLEDO/ DSC 3 STAR System

8.3.5.2 Cristalinidad por difracción de Rayos X

El estado cristalino de los materiales y de los sistemas se determinó analizando el patrón de difracción de Rayos X con un Difractómetro de Rayos X BRUKER D8-ADVANCE. Las muestras que se analizaron fueron el telmisartán, el compritol 88 CG ATO®, una mezcla física de lípidos (ácido oleico y compritol®), los NCL libres de fármaco y los NLC-TEL. 3 mg de cada muestra se colocaron en un platillo de silicio, el análisis se realizó en un rango de 5° a 60° (2 θ), a un tamaño de paso de 0.02°/s.

8.3.5.3 Compatibilidad química por espectrometría infrarrojo

Los IR se obtuvieron de un espectrómetro FT-IR NICOLET 6700 ThermoScientific y los espectrogramas se analizaron para ver si había presencia del fármaco en los NLC-TEL optimizados y el comportamiento de cada una de las materias primas (Compritol 88 CG ATO®, ácido oleico, kolliphor 188) tanto solas como en mezcla física y procesadas en NLC sin fármaco.

8.3.5.4 Rendimiento

Para calcular el rendimiento se pesaron tres lotes liofilizados de NLC-TEL. El porcentaje de rendimiento se calculó con la ecuación 6 tomando como referencia el peso total de sólidos como las cantidades iniciales de los materiales empleados al momento de la manufactura.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso de las partículas liofilizadas}}{\text{Peso total de sólidos}} \times 100$$

Ecuación 6. Rendimiento de proceso

8.3.5.5 Resuspensión en medio acuoso

Para evaluar la resuspensión de los NLC-TEL liofilizados se utilizó un vehículo estructurado el cual ayuda a que las partículas permanezcan defloculadas en suspensión (Gennaro, 2003). Para fines de esta formulación se utilizó Tween 80 al 0.1 % en agua destilada o buffer dependiendo el método (A, B o C).

8.3.5.6 Eficiencia de carga

En la prueba de eficiencia de carga se evaluó la cantidad total de fármaco por peso de polvo seco. Para cuantificar el telmisartán en los NLC liofilizados, 5 mg de NLC-TEL se disolvieron en 3 mL de cloroformo, tomando en cuenta que los lípidos y el telmisartán son altamente solubles en cloroformo, para después extraer el fármaco encapsulado con una solución de NaOH 1 M ya que el fármaco es muy soluble en ésta (258.48 mg/mL; Amarante Borba, *et al*, 2014). Las muestras se midieron por UV-Vis a 296 nm, obteniendo la eficiencia de carga con la ecuación 7:

$$\text{Eficiencia de carga (\%)} = \frac{\text{Cantidad total de fármaco encapsulado}}{\text{Peso inicial de NLC - TEL}} \times 100$$

Ecuación 7. Eficiencia de carga (EC %)

8.4 Estudios de eficacia *in vitro*

8.4.1 Cinética de liberación

Para evaluar la cinética de liberación se utilizó un disolutor PHARMA TEST/ PT-DT70 con aparato I (canastillas), a 37 °C, a una velocidad de agitación de 75 rpm según la FEUM, empleando como medios de liberación, buffer de HCl 0.1 N pH 1.2 (simulando el fluido gástrico) y buffer de fosfatos pH 6.8 (fluido intestinal simulado), además de membrana de diálisis de celulosa de 4.3 cm de ancho, y 2.7 cm de diámetro.

Muestras de un promedio de 443 mg de NLC-TEL equivalentes a 5 mg de telmisartán cargado en los NLCs y 5 mg de telmisartán en polvo se suspendieron por separado en 3 mL de agua destilada para ser colocados en membrana de diálisis (Figura 15). Las bolsas se cerraron por los extremos y se colocaron al interior de las canastillas, las cuales se atornillaron en su sostén para la agitación de éstas. Los vasos estaban previamente llenados con 300 mL de buffer pH 1.2. Se tomaron muestras de 3 mL durante diferentes tiempos por 2 h, y al tomar la muestra de las 2 h, se hizo el vaciado de 600 mL de buffer de fosfatos pH 6.8 para seguir con las mediciones hasta completar 24 h, las muestras tomadas se analizaron en el espectrofotómetro UV-Vis Cary 60 a 296 nm, cuantificando la cantidad de telmisartán liberado empleando el método B, validado previamente. Los estudios se realizaron por triplicado.



Figura 15. Llenado de membrana de diálisis con formulación

8.4.1.1 Modelado matemático para ver el mecanismo de liberación

Los estudios de liberación nos permiten dilucidar y evaluar la liberación de un fármaco a partir de un sistema como los NLCs. Los resultados obtenidos de la cinética de liberación a pH 1.2 y 6.8, se ajustaron a cuatro diferentes modelos matemático-cinéticos (Tabla 9). Para cada ajuste se determinó el coeficiente de determinación (r^2) al graficar los modelos lineales.

Tabla 9. Ecuaciones para el modelado matemático

Modelo matemático	Ecuación
Orden cero	$C = C_0 - K_0 t$
Primer orden	$\text{Log } C = \text{Log } C_0 - Kt/2.303$
Korsmeyer-Peppas	$Ct/C^\infty = kt^n$
Higuchi	$C_0^{1/3} - Ct^{1/3} = K_{Hct}$

8.4.2 Permeabilidad en intestino de cerdo

Esta técnica permite medir la transferencia de fármaco a través de una pared (membrana), en este caso, el intestino delgado. Se utilizaron celdas de difusión de tipo horizontal de 50 mL, las cuales permiten que la velocidad de agitación sea controlable en ambos compartimentos (donador y receptor), así como la temperatura (Lasso & Ruiz, 2017).

Para la prueba, se lavó con agua potable a temperatura ambiente un intestino de cerdo por ambos lados, posteriormente se cortaron segmentos redondos de aproximadamente 1 cm de diámetro. En celdas de difusión, se añadieron 25 mL de buffer pH 6.8 a la celda receptora donde se agregaron en promedio 352 mg de NLC-TEL (equivalentes a 5 mg de telmisartán) y 5 mg telmisartán en polvo. En la celda donadora, la cual estaba separada de la receptora por la membrana de intestino de cerdo con las microvellosidades hacia el espacio receptor, se colocaron también 25 mL de buffer de fosfatos pH 6.8. Se dejó el sistema en agitación durante 48 h, a $37^{\circ}\text{C} \pm 0.5$ y 100 rpm, tomando muestras de 3 mL a diferentes tiempos, con reposición de medio fresco y a la misma temperatura. Los perfiles de permeación obtenidos se analizaron para obtener el coeficiente de permeabilidad aparente (P_{app}) con la ecuación 8:

$$P_{app} = \left(\frac{dC}{dt} \right) * \frac{V}{(C_0 * A)}$$

Ecuación 8. Coeficiente de permeabilidad aparente

donde:

dC/dt = cambio de concentración por unidad de tiempo (mg/mL*s).

V = volumen total (mL).

C_0 = concentración inicial de fármaco en el sitio mucosal (mg/mL).

A= área superficial de la membrana intestinal (cm²; Cabrera, *et al*, 2001). También se calculó la constante de permeabilidad por un análisis de regresión en Excel.

8.5 Análisis estadístico

A todas las pruebas que se hicieron por triplicado se les tomó en cuenta la Desviación Estándar. El valor p también fue fijado como $p < 0.05$ para determinar si había significancia estadística en los efectos de los factores sobre las variables de respuesta del diseño experimental con intervalos de confianza del 95 %.

9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1 Selección de materias primas por prueba de solubilidad aparente

La selección de lípidos se hizo con base en los resultados de la solubilidad del fármaco y una búsqueda bibliográfica exhaustiva. A continuación, se muestra la lista de lípidos tomados de la Tabla 5, y algunos reactivos para solubilizar telmisartán:

Lípidos sólidos

- Ácido esteárico
- Alcohol esteárico
- Compritol 88 CG ATO®
- Tefose HC
- Suppocire
- Lipocire A
- Monoestearato de glicerilo

Lípidos líquidos

- Ácido oleico
- Triglicérido cáprico

Reactivos

- Cloroformo
- Acetona
- Metanol
- Etanol
- Buffer de fosfatos pH 6.8 (no incluido en gráfico porque no fue soluble)

En la Figura 16 se pueden observar los resultados obtenidos de la prueba de solubilidad aparente del telmisartán en los materiales preseleccionados. El primer criterio para su selección fue el hecho de poder disolver en mayor cantidad el telmisartán, con la finalidad de garantizar una mayor eficiencia de encapsulación, mientras que el segundo criterio estuvo basado en la capacidad del material para obtener NLC.

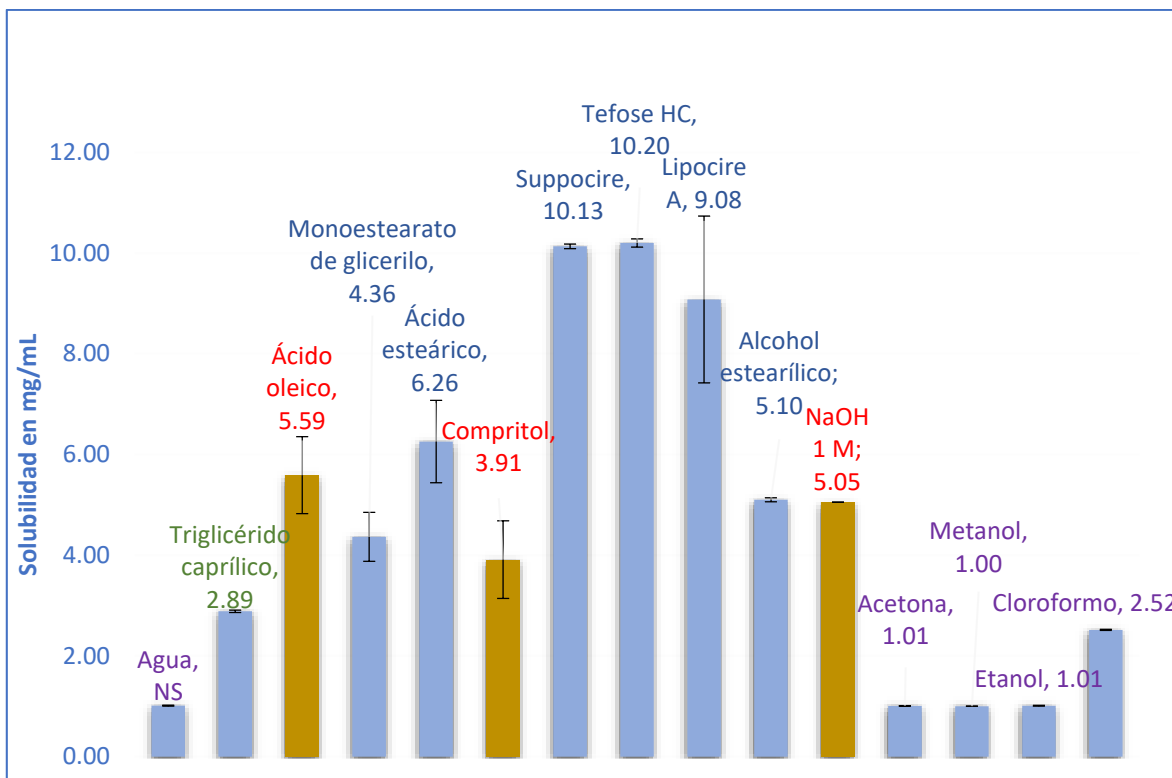


Figura 16. Pruebas de solubilidad aparente del fármaco en los diferentes materiales y disolventes

Se seleccionaron los siguientes lípidos para la obtención de los NLC:

Lípido líquido:

Ácido oleico: se seleccionó porque tiene una solubilidad de 5.59 mg de telmisartán/mL de ácido oleico. Éste se obtiene de grasas y aceites de fuentes comestibles, animales o vegetales. Es un líquido oleoso, amarillo pálido o incoloro, es miscible en alcohol, cloroformo, éter y aceites fijos y volátiles, es prácticamente insoluble en agua (FEUM, 2016). Además de ser donde el fármaco presentó la mejor solubilidad sobre el triglicérido caprílico, se ha reportado su uso como tensoactivo para la estabilización de nanopartículas de magnetita (Trujillo, 2013). En cuanto a sus propiedades, su punto de ebullición (194°C) permite alcanzar temperaturas comunes para fundir los lípidos sólidos sin afectar su estabilidad. (SIGMA-ALDRICH, 2018).

Lípido sólido:

Compritol 88 ATO®: es una mezcla de diferentes ésteres de ácido behénico con glicerol, mezcla hidrófoba de mono, di y tribehenato de glicerol, con un punto de fusión que varía de 69 a 74°C, seleccionamos este lípido por tener buena solubilidad, aunque no la mejor en comparación con otros lípidos, pero por su fácil obtención de NLCs con un tamaño nanométrico deseable, fue el lípido preferido. Además de que este presenta naturaleza hidrofóbica, es químicamente inerte y tiene una liberación de fármaco pH-independiente.

Es un excipiente avalado por su seguridad de uso (tiene categoría GRAS-Generally Recognized as Safe), además de ser utilizado en diferentes productos farmacéuticos (Tabla 10; Aburahma & Badr, 2014)), como lubricante o agente de recubrimiento para las formas farmacéuticas orales sólidas, aunque también se ha analizado su papel como un formador de matriz para controlar la liberación de fármacos.

Tabla 10. Productos comercializados internacionalmente que contienen behenato de glicerilo como excipiente

Nombre comercial	Fármaco	Forma farmacéutica	Fabricante	Uso
Zelnorm	Maleato de Tegaserod	Tabletas	Novartis	Tratamiento del Síndrome del intestino irritable
Aplenzin	Bupropion	Tabletas	Sanofi-Aventis US	Antidepresivo
Effient	Prasugrel	Tabletas	Eli Lilly and Co.	Reduce el riesgo de eventos relacionados con el corazón
Glumetza	Clorhidrato Metformina	Tabletas de liberación prolongada	Depomed	Fármaco antihiper glucémico oral para el tratamiento de la diabetes tipo 2
Hotizant	Gabapentina enacarbil	Tabletas de liberación prolongada	GlaxoSmithKline LLC	Síndrome de piernas inquietas de moderadas a graves
Intuniv	Guanfacina	Tabletas de liberación prolongada	Shine US Manufacturing, Inc.	Trastorno por déficit de atención e hiperactividad
Paxil-CR	Clorhidrato de Paroxetina	Tabletas de liberación prolongada	GlaxoSmithKline LLC	Manejo de la depresión

Requip XL	Ropinirol	Tabletas de liberación prolongada	GlaxoSmithKline LLC	Enfermedad de Parkinson
Toviaz	Fumarato de Fesoterodina	Tabletas de liberación prolongada	Pfizer, Inc.	Tratamiento de la vejiga hiperactiva
Tracleer	Bosentán	Tabletas	Actelion Pharms Ltd	Manejo de la hipertensión arterial pulmonar
Wellbutrin XL	Clorhidrato de Bupropion	Tabletas de liberación prolongada	GlaxoSmithKline	Antidepresivo usado para dejar de fumar
Zmax	Azitromicina	Gránulos de liberación sostenida para suspensión oral	Pfizer, Inc.	Antibióticos macrólidos para el tratamiento de infecciones bacterianas
Zyflo CR	Zileuton	Tabletas de liberación prolongada	Comerstone therapeutic, Inc.	Asma
Cambia	Diclofenaco potásico	Polvo para solución oral	Nautilus Neurosciences, Inc.	Ataques de migraña aguda
Ibuprofeno PM	Citrato de Difenidramina e Ibuprofeno	Comprimidos recubiertos	Dolgencorp LLC	Insomnio
Freelax	Hidróxido de magnesio, Laxante Salino	Comprimidos	Wyeth	Estreñimiento
Motrin PM	Citrato de Difenidramina e Ibuprofeno	Comprimidos recubiertos	McNeil-PPC, Inc.	Insomnio

El uso más común es en sistemas de liberación de fármacos a base de lípidos, como las micropartículas sólidas lipídicas, nanopartículas lipídicas sólidas y acarreadores lipídicos nano estructurados. En un estudio donde los autores vieron que en cuanto más Compritol® se añadía a la formulación, la liberación del fármaco se veía más retardada, decidieron probar con succinato de Metoprolol (MPL) añadiendo diferentes proporciones de Compritol® 888 ATO, lo que lograron probar es que a una proporción de 1:2 (MPL:Compritol®) la liberación de MPL fue retardada exitosamente con una liberación aproximada del 90 % después de 20 h (N. Patere, y otros, 2013). Este lípido ha sido investigado como un agente formador de matriz para la liberación controlada y como base lipídica de nanopartículas sólidas lipídicas (Figura 17). Además, tiene perfiles de seguridad y regulación aceptados (GRAS) por ser de origen vegetal, siendo preferido por la industria farmacéutica. El número de artículos donde se usa este excipiente ha ido en incremento usándolo como agente de recubrimiento para polvos o granulados con el propósito de controlar su

liberación, también para la preparación de pellets y tabletas de desintegración oral, así como agente de enmascaramiento del sabor para ocultar el sabor amargo o desagradable de los fármacos.

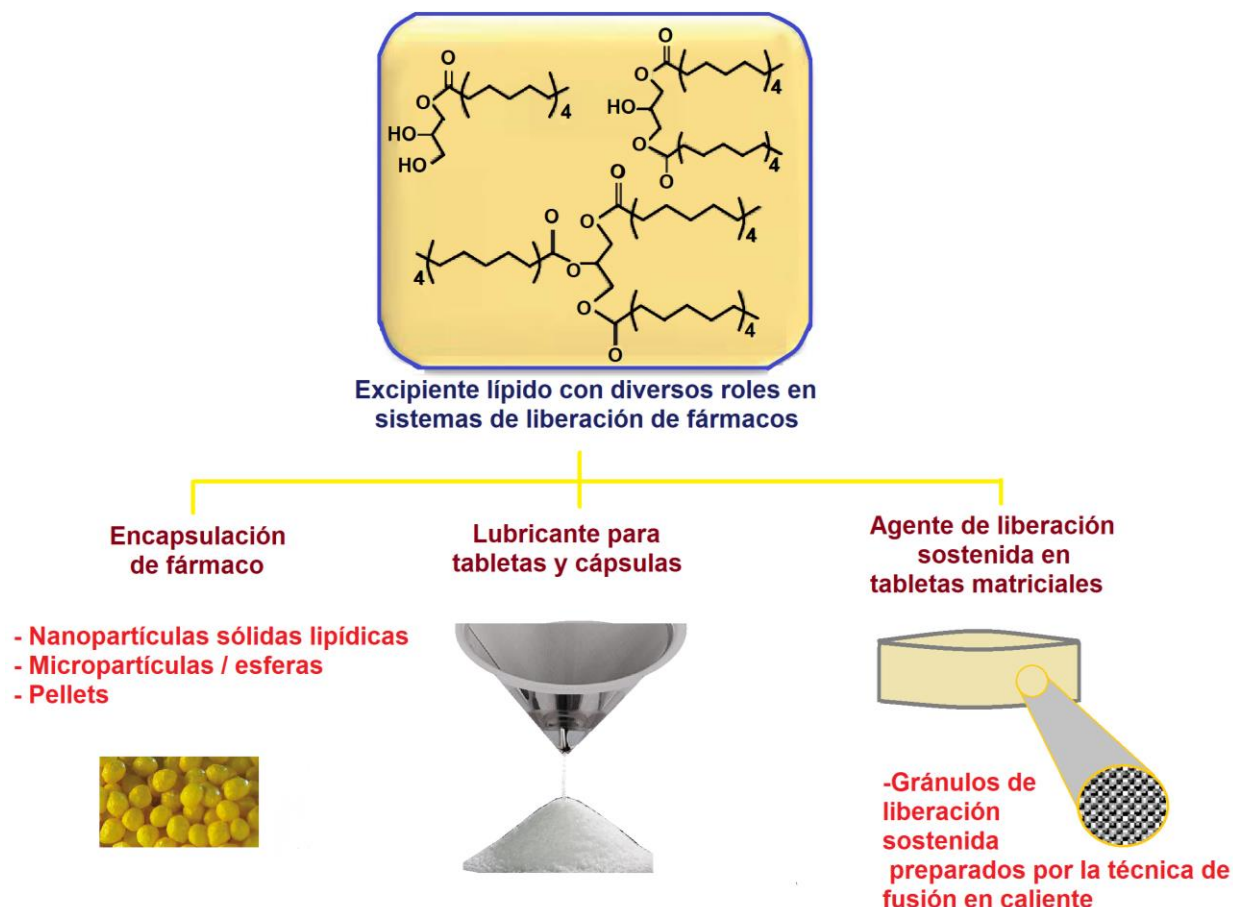


Figura 17. Representación esquemática de las diversas aplicaciones del lípido Compritol ATO 888® en el campo de la liberación de fármacos. Imagen tomada de (Aburahma & Badr-Eldin, 2014)

En la formulación de nanopartículas, se cristaliza en un polimorfo imperfecto inestable que se muda a la forma metaestable. Sin embargo, Radomska-Soukharev y col. (Aburahma, 2014) investigaron la estabilidad química de Compritol 888 ATO® en SLN preparadas por técnica de homogeneización en caliente usando un análisis de GC (cromatografía de gases) en combinación con un método para la extracción de lípidos de dispersiones de SLN acuosas. Los resultados mostraron que el proceso de producción de los SLN en sí no afectó la estabilidad química del Compritol 888 ATO®. Algunos autores reportan que NLCs preparados con Compritol® han sido utilizados exitosamente para la vía ocular, oral, pulmonar, tópica, transdérmica y rectal (Aburahma, 2014).

9.2 Desarrollo y validación de métodos analíticos por UV-Vis para cuantificar telmisartán en las etapas del proyecto

9.2.1 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción

Con un barrido espectral se logró ver que la absorbancia del telmisartán mostraba el pico de mayor absorción a 296 nm con una abs de 1.49 (ver Figura 18), lo que es semejante a lo mencionado en otros estudios donde reportan una longitud de onda de máxima absorción a 298 nm (Monografías de Medicamentos Químicos 2. USP, 2018).

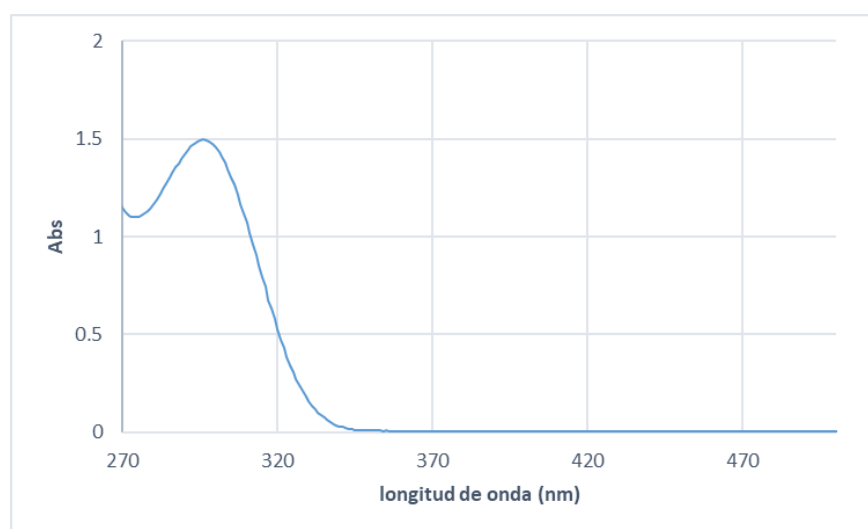


Figura 18. Barrido espectral de telmisartán usando como blanco agua destilada

9.2.2 Especificidad del método

Con un barrido espectral se comprobó que la absorción del telmisartán no se vería comprometida estando en las soluciones a ocupar en cada etapa del proyecto como la solución amortiguadora de HCl a pH 1.2, la solución amortiguadora de fosfatos a pH 6.8, la solución NaOH 1M, y en agua destilada (Figura 19).

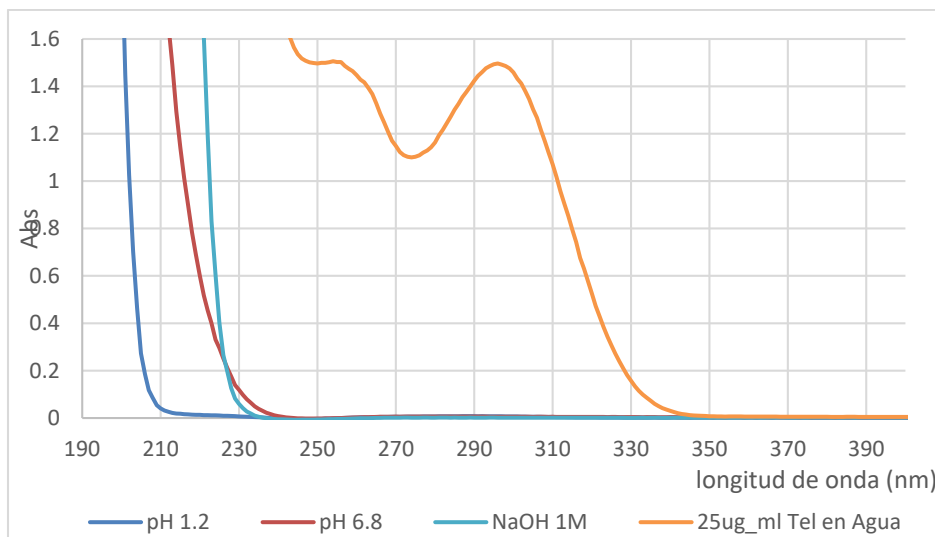


Figura 19. Barrido espectral en la región UV para dilucidar interferencias en la región espectral del telmisartán

9.2.3 Validación de métodos analíticos

Con los resultados obtenidos (Tabla 11) de la curva de calibración de los métodos A, B y C se puede decir que éstos fueron lineales, y dado que el porcentaje de recobro incluye el 100 %, se cumplió con la veracidad. A su vez en repetibilidad con un CV menor a 3 % y 15 %, el primero para los métodos A y B, y el segundo para el método C, se dice que los métodos son precisos. En el Anexo 6 se puede ver la curva obtenida al graficar los datos de los métodos A y B y en el Anexo 7 la gráfica correspondiente al método C.

Tabla 11. Resultados de los parámetros de desempeño en la validación de los métodos analíticos (A, B y C)

Parámetro	Especificación	Métodos A y B	Especificación	Método C PERMEACIÓN
Linealidad	$r^2 \geq 0.98$ CV < 3 % IC _m = la pendiente no debe incluir el cero IC _b = el intercepto debe incluir el cero	$r^2 = 0.999$ CV = 2.26 % IC _m = 0.0466 a 0.0483 IC _b = -0.0029 a 0.0315	$r^2 \geq 0.98$ CV < 15 % IC _m = la pendiente no debe incluir el cero IC _b = el intercepto debe incluir el cero	$r^2 = 0.999$ CV = 2.41 % IC _m = 0.0445 a 0.0461 IC _b = 8.28×10^{-5} a 0.0263
Repetibilidad	CV ≤ 3 %	CV = 2.71 %	CV ≤ 15 %	CV = 2.89 %
Exactitud	CV ≤ 3 % del porcentaje de recobro IC _{recobro} debe incluir el 100 %	CV = 1,99% IC _{recobro} = 99.28 – 101.77 %	CV ≤ 15 % del porcentaje de recobro IC _{recobro} debe incluir el 100 %	CV = 4,73 % IC _{recobro} = 98.50 – 103.36 %
LC	-	1.396 µg/mL	-	1.342 µg/mL
LD	-	0.461 µg/mL	-	9.442 /mL

9.3 Obtención y optimización de NLC-TEL

9.3.1 Elaboración de un Diseño Experimental

El diseño experimental dio un total de 14 corridas con 2 puntos centrales, los cuales representan el punto intermedio entre los niveles bajos y altos (Tabla 8). Posterior a la fabricación de los NLC, se hizo la caracterización.

9.3.2 Medición de las variables de respuesta

En la Tabla 12 se ven los resultados obtenidos de las 14 corridas del DE, donde el EE % no es menor de 99 % y se aprecia que es un factor que no se ve realmente afectado por los factores experimentales, además de ser un resultado deseable.

Tabla 12. Variables de respuesta del Diseño Experimental

Corrida	Tamaño de partícula	PDI	Potencial zeta	Eficiencia de encapsulación
	nm		mV	%
1	132.80	0.22	-5.04	99.83
2	211.30	0.26	-5.38	99.87
3	147.40	0.56	0.63	99.62
4	213.30	0.42	-4.73	99.80
5	245.70	0.49	-0.01	99.80
6	112.30	0.51	-4.79	99.54
7	145.40	0.58	-7.04	99.60
8	130.30	0.48	-4.96	99.63
9	118.10	0.53	-5.91	99.54
10	119.80	0.51	-3.80	99.57
11	122.20	0.47	-2.43	99.61
12	190.40	0.51	-3.05	99.73
13	76.66	0.55	-3.34	99.27
14	173.40	0.98	-7.16	99.43

Analizando los datos se pudo ver que a mayor tiempo de agitación se obtuvieron tamaños de partícula (Figura 20) menores, lo cual se buscaba y viceversa, a menor tiempo de agitación, el tamaño de partícula era ligeramente mayor. En el caso del PDI, éste incrementaba al haber menor tiempo de agitación, indicando que había poblaciones de partículas de distinto tamaño, algo que no se quería para la formulación final. Para el tamaño de partícula no se obtuvieron valores P menores que 0.05 en los factores de respuesta, y junto con el gráfico de Pareto se puede ver que no hay efecto significativo de ninguno de los factores sobre el tamaño de partícula, pero sí que el tiempo de agitación influye en éste más que otros factores, así como la cantidad y tipo de tensoactivo.

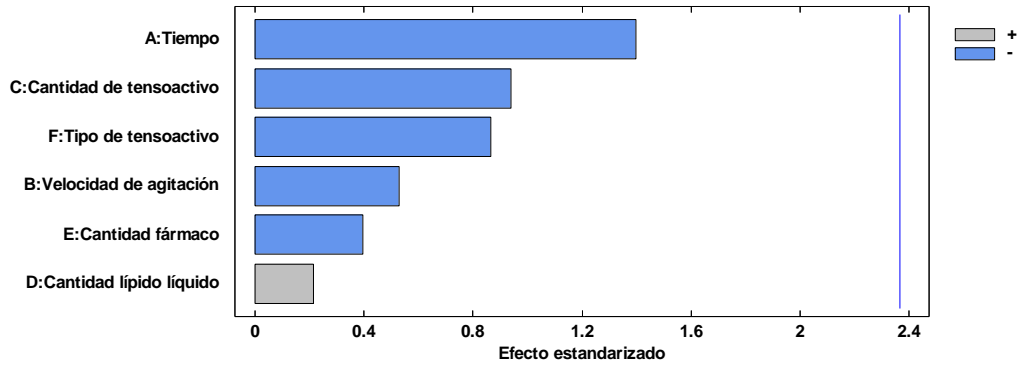


Figura 20. Diagrama de Pareto estandarizado para Tamaño de partícula

Para el PDI tampoco hubo un efecto significativo de los factores de respuesta sobre éste, en la Figura 21 se puede ver que la línea de significancia está por arriba de los factores, pero nuevamente el tiempo de agitación es relevante, así como la velocidad de agitación, aunque no significativos.

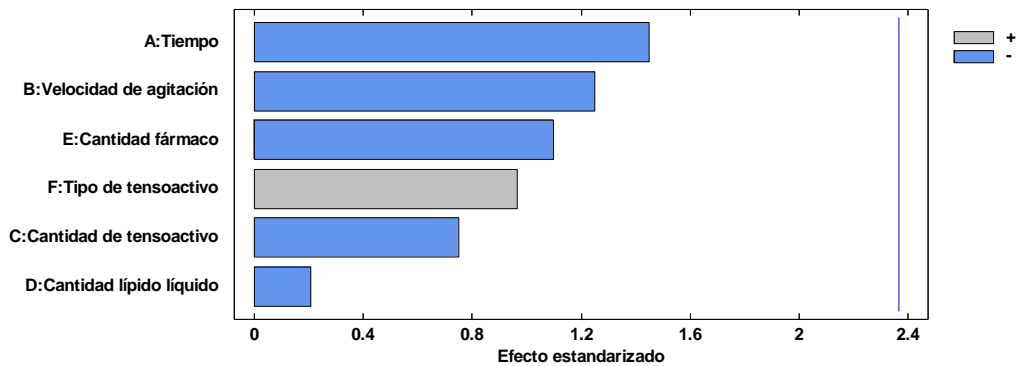


Figura 21. Diagrama de Pareto Estandarizado para PDI

Para el potencial zeta se observó que, a mayor cantidad del lípido líquido, esta variable incrementa, y el tipo de tensoactivo a nivel bajo (Kolliphor 188) ayudaría a minimizar el efecto también. Según lo obtenido, estos dos factores (tipo de tensoactivo y cantidad de lípido líquido) son los que tienen un valor $p < 0.05$, y en el gráfico de Pareto se puede apreciar (Figura 22).

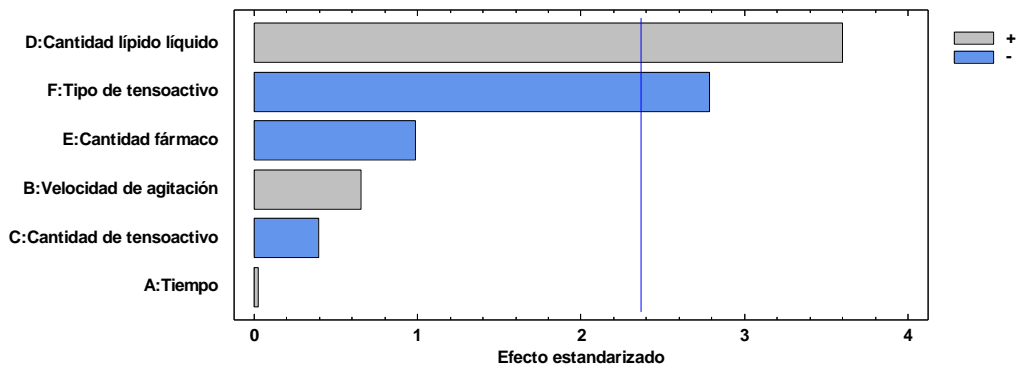


Figura 22. Diagrama de Pareto Estandarizado para el Potencial Zeta

El porcentaje de eficiencia de encapsulación fue mayor a 99 % para los 14 experimentos, demostrando que ninguno de los factores tiene efecto significativo sobre esta variable de respuesta (Figura 23).

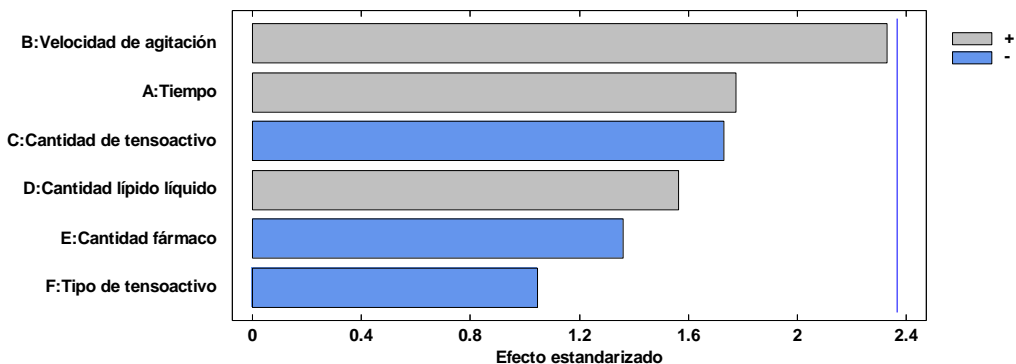


Figura 23. Diagrama de Pareto Estandarizado para Eficiencia de Encapsulación

9.4 Optimización de los NLC por MSR y verificación del modelo

9.4.1 Caracterización física de los NLC-TEL en condiciones óptimas

De los resultados del DE, se optimizó la formulación, con los valores esperados para los NLC's con el software STATGRAPHICS, arrojando los valores observados en la Tabla 13, para lo cual hicimos 3 lotes de verificación del modelo, comprobando que la deseabilidad del método era confiable según los resultados obtenidos en la optimización.

Tabla 13. Optimización

	Tamaño de partícula	PDI	Potencial zeta	Eficiencia de encapsulación
VALOR/unidades de medida	nm		mV	%
Esperado	161.52	0.46	-11.00	99.00
Optimizado	150.03 ±4.92	0.59 ±0.02	-11.93 ±1.10	94.50 ±2.16

Con los resultados plasmados en la Tabla 13 se puede decir que el tamaño de partícula es homogéneo en las mismas condiciones de fabricación con una desviación estándar de 4.92 nm, este valor es muy cercano al valor esperado de optimización, recordando que un tamaño menor a 500 nm ya es óptimo para la absorción oral, una captación intestinal eficiente y, por lo tanto, adecuado para la administración oral (Granja, *et al*, 2019) beneficiando, con este resultado, el objetivo de trabajo. La eficiencia de encapsulación fue mayor al 90 % lo cual ya es un buen resultado porque significa que más del 90 % de fármaco está siendo atrapado en los NLCs y que llegará a su sitio de absorción aumentando la cantidad disponible para ejercer un efecto terapéutico. Asimismo, en las demás variables (PDI y potencial zeta), los datos se aproximan a lo deseado. Esto permitiría la administración de la formulación NLC-TEL con valores aceptables para la vía oral. La literatura dice que valores de PDI mayores a 0.7 indican que la muestra posee una distribución muy amplia; sin embargo hay otros autores que reportan que es un valor mayor a 0.5 e incluso mayor a 0.3 (Patravale, *et al*, 2004) pero en éste caso, el tamaño está por debajo de los 500 nm y el valor de PDI es cercano a 0.5, por ello entra dentro del intervalo aceptable de monodispersión; el potencial zeta determina la estabilidad física de los NLCs en suspensión y lo recomendable son valores ± 30 mV, en este caso la naturaleza del tensoactivo utilizado permite que el tamaño de partícula disminuya pero se sabe que su potencial zeta disminuye a mayor cantidad de tensoactivo (Jara González & Morales M., 2016), lo cual sugiere cambiar de tensoactivo en experimentos posteriores. Es importante recalcar que se buscaba un tamaño nanométrico para facilitar la permeabilidad intestinal, esto sabiendo que el

tamaño define también el transporte de partículas y que, si son de tamaño pequeño, podrían difundir por transporte pasivo (Salvo Romero, *et al*, 2015).

9.5 Análisis del estado sólido

9.5.1 Comportamiento térmico por DSC

Con esta técnica obtuvimos los termogramas de cada una de las materias primas usadas para la obtención de la formulación NLC-TEL como telmisartán, lípido sólido (Compritol 88 CG ATO[®]), lípido líquido (ácido oleico), polímero (kolliphor 188) y la mezcla física telmisartán-lípidos, así como NLC con y sin fármaco, con los cuales se vio el comportamiento térmico de estos y se compararon.

En cada uno de los termogramas se aprecia el punto de fusión experimental de los materiales, los cuales se comprobaron con los valores teóricos ya reportados (Figura 24 y Tabla 14), a excepción del ácido oleico, el cual no se logró ver porque el rango de temperatura de trabajo fue de 30 a 350°C y para observar el comportamiento de este, se requería un rango como mínimo de 10 a 50°C.

Tabla 14. Resultados de los termogramas de las materias primas comparados con los valores teóricos

Materia prima	Punto de fusión teórico (°C)	Punto de fusión experimental (°C)
Telmisartán	296.06 (H. Bakheit, <i>et al</i> , 2015)	296.10 Anexo 13
Compritol 88 CG ATO [®]	69-74 (Aburahma & Badr-Eldin, 2014)	74.53 Anexo 11
Ácido oleico	39.2 (List, <i>et al</i> , 2004)	ND
Kolliphor 188	52 (BSF group, 2012)	54.50 Anexo 12

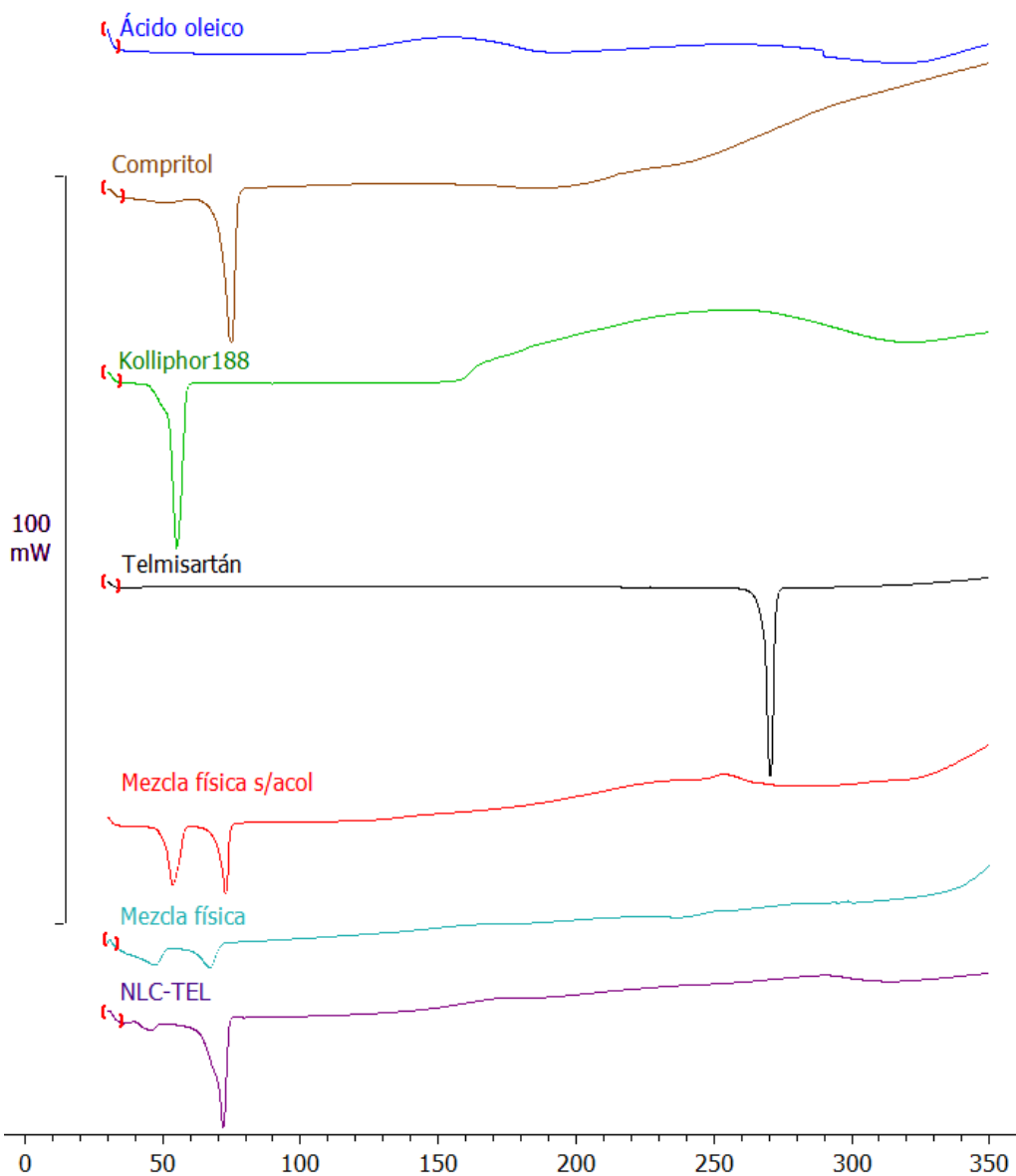


Figura 24. Termogramas de los materiales (Mezcla física s/acol: mezcla de materiales sin incluir ácido oleico)

Respecto a la mezcla física y los NLC con fármaco se aprecia que se pierde el punto de fusión del telmisartán, lo cual puede sugerir que se encuentra disperso molecularmente en los NLCs y, para el caso de la mezcla física se puede deber a la formación de una forma amorfa (El-Gizawy, *et al*, 2019). Con el termograma obtenido experimentalmente del telmisartán y los termogramas de los 2 polimorfos de telmisartán reportados en la literatura (ver Anexo 8), se pudo corroborar que la

materia prima utilizada corresponde al polimorfo A de telmisartán. En cuanto a la curva termogravimétrica exotérmica observada en el Kolliphor 188, se podría asociar a una oxidación.

9.5.2 Cristalinidad por Difracción de Rayos X

En la caracterización por Difracción de Rayos X, se observa que el telmisartán presenta cristalinidad en su forma natural, caracterizada por los numerosos picos mostrados en el difractograma (Figura 25). La literatura reporta un estudio de DRX para telmisartán donde encontraron picos muy similares a los obtenidos en este estudio, donde los autores observaron picos notables a 7.0° , 14.0° , 20.0° , 23.0° , y 25.0° siendo el más distinguible a los 7° (Aburahma & Badr-Eldin, 2014), (H. Bakheit, *et al*, 2015). Mientras que en el difractograma obtenido experimentalmente, se observaron los picos notables a 7° y a 23° , además de picos a 24° , 25° y 26° . Comparando el difractograma del telmisartán con el de la mezcla física, se observa que el pico a los 7° sigue apareciendo, aunque más pequeño y en los NLC-Tel ese pico característico no se observó, lo cual indica que el fármaco presenta amorficidad después de ser incorporado en los NLC, pudiendo favorecer la mejora en su solubilidad. También se observó cristalinidad en el Compritol 88 CG ATO[®] a los 21° y 24° , picos que se mantienen en el difractograma de los NLC-TEL, indicando que la cristalinidad del lípido no disminuyó, sino que este factor importante permitió el incremento en la carga de fármaco en el sistema, con lo que se consigue corroborar los datos de eficiencia de encapsulación (>98 %). El Kolliphor 188 tiene dos picos en 19° y en 23° , los cuales aparecen igual en la mezcla física, pero en los NLC-TEL estos picos disminuyen, aunque se mantienen presentes. En cuanto a la señal en gris que corresponde a los NLC sin fármaco, podemos deducir que es debido a la cristalinidad del lípido, lo cual beneficia la capacidad de carga, ya que por su desarreglo en la estructura de los NLC se permite mayor carga de fármaco.

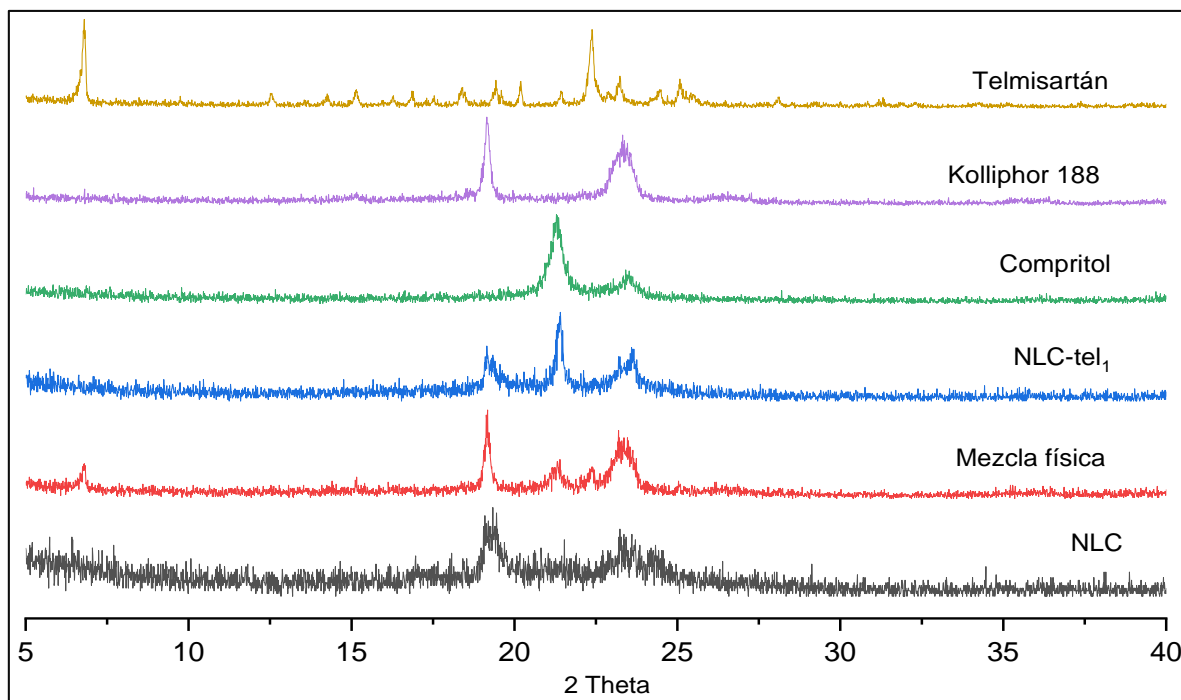


Figura 25. Difractogramas de los materiales y los sistemas obtenidos.

9.5.3 Espectro IR

Los espectros de FTIR evidenciaron la presencia del fármaco en los Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados, observándose la presencia de las bandas características (Figura 26) de este en las frecuencias de onda de la Tabla 15 y con un espectro extraído de la literatura (Anexo 17; Patel, *et al*, 2015).

Tabla 15. Frecuencias de onda

Grupo funcional	Tipo de vibración	Frecuencia (cm ⁻¹)
Anillo Aromático	Estiramiento	1693
Anillo Aromático	Huellas dactilares Vibración 1,2	740 - 757
-CH₃	Estiramiento	3057
-CH₃	Flexión	1266
C-N	Vibración y estiramiento	1350-1000
-CH₂	-	1448

-CH₃	Vibración de flexión	1455 y 1381
CH	Flexión	1460
CC banda aromática	Estiramiento	1599
C=O	Vibración de estiramiento	1693
-CH₃	Estiramiento	2965

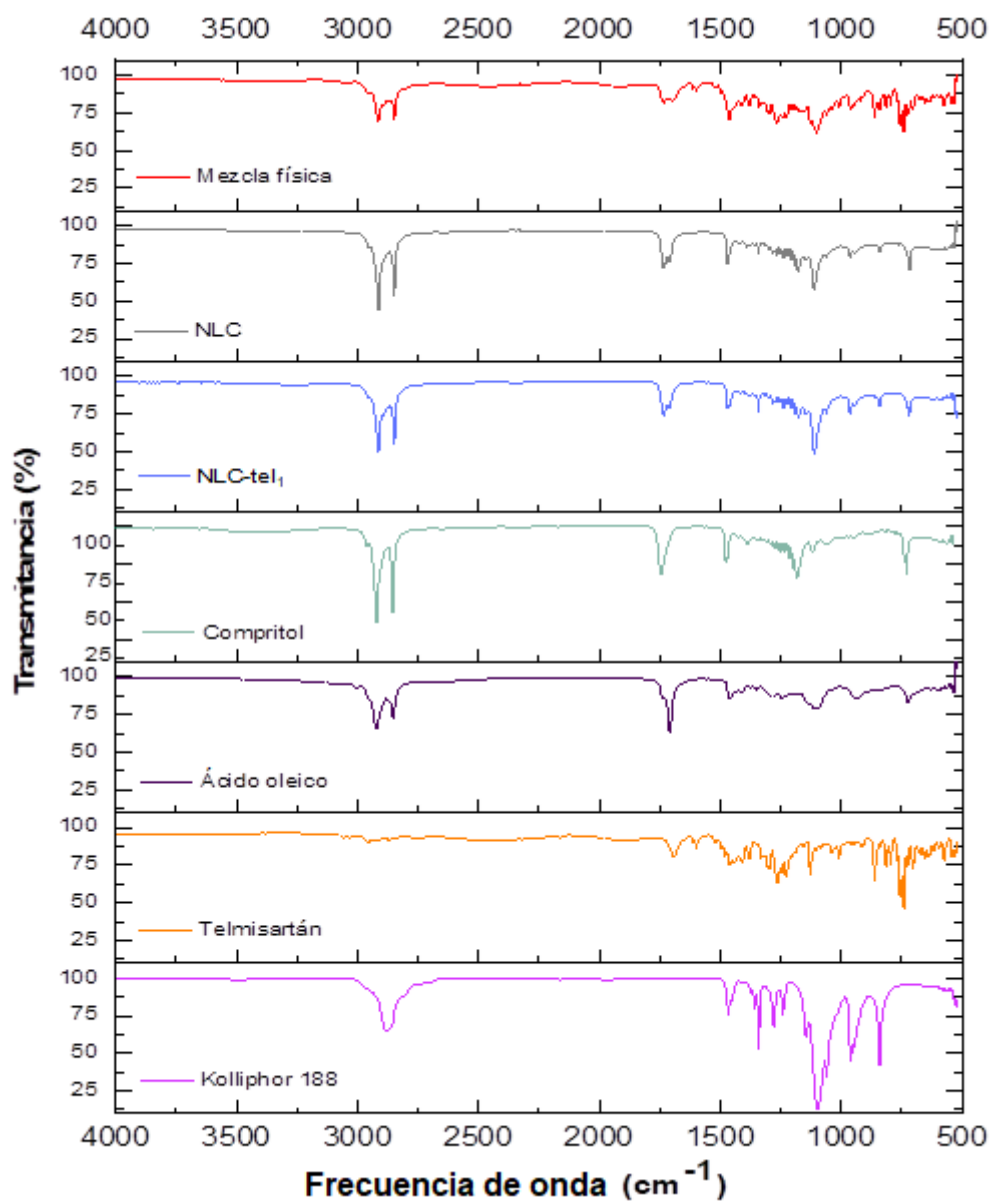


Figura 26. Espectros IR de los materiales y los sistemas obtenidos

A su vez se pudo notar que en la mezcla física está principalmente el fármaco por la vibración del anillo de benceno en la región de 740 y 757 cm^{-1} de huellas dactilares y además se logró identificar las otras materias primas tanto solas como en la mezcla física. En el FTIR de los NLC cargados con telmisartán, se observó la presencia de los materiales usado para su fabricación (Figura 26).

9.5.4 Rendimiento y eficiencia de carga

El rendimiento fue calculado por diferencia de peso, haciendo la suma de los materiales pesados para la formulación y comparándolos con el peso obtenido del liofilizado. Los resultados se muestran en la Tabla 16. Con base en estos resultados se presume que, por cada 100 mg de fármaco, en teoría deben recuperarse 66.90 mg de él en el sistema, y lo mismo para cada materia prima.

Tabla 16. Resultados de rendimiento y eficiencia de carga

Muestra de NLC-TEL	Rendimiento (%)	Eficiencia de carga (%)
Lote 1	61.12	7.34
Lote 2	80.35	5.88
Lote 3	59.22	4.95
Promedio	66.90	6.06
DE	11.68	1.20

Para determinar la eficiencia de carga se disolvieron los NLC-TEL y por solubilidad del fármaco en NaOH 1M se cuantificó el fármaco cargado en el sistema, el cual coincidió con los valores obtenidos del rendimiento (66.90 %). De estos resultados se puede saber cuánto fármaco hay en 10 mg de NLC-TEL, que en teoría deberían ser el 66.90 % del fármaco total puesto al inicio de la formulación (100 mg) por los resultados de rendimiento y por la eficiencia de carga, indicando que por cada 100 mg de NLC-TEL hay 6.06 mg de TEL.

9.6 Estudios de eficacia *in vitro*

9.6.1 Cinética de liberación

Esta prueba se hizo para conocer el mecanismo de liberación del telmisartán en polvo y a su vez compararlo con 3 lotes de la formulación optimizada de NLC-TEL. En la cinética de liberación se evidenció la liberación total del fármaco en polvo a través de la membrana de diálisis en un lapso de 2 h (pH 1.2; Figura 27). Se observó una liberación del 100 % para los lotes de NLC-TEL a las 6 h. La liberación más lenta de los lotes de NLC en comparación con el fármaco en polvo obedece a que el fármaco en NLCs está incorporado en una matriz lipídica donde se encuentra afín a ella, esto gracias a que el compritol® tiene cristalinidad que es afectada por el tensoactivo (kolliphor 188) logrando una mayor capacidad de carga de fármaco, dando lugar a imperfecciones en el acomodo de la estructura de la matriz de las NLC y así un perfil de liberación más lento.

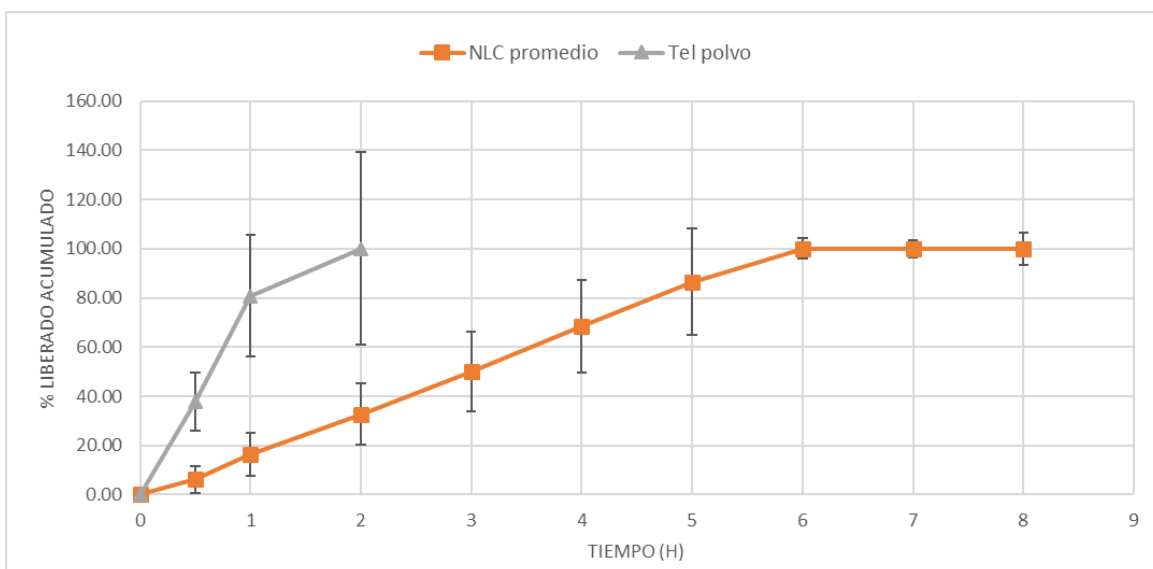


Figura 27. Perfiles de liberación *in vitro* (NLC promedio: Media de 3 lotes de NLC-TEL).

Estos resultados son ideales para los NLCs ya que serán administrados por vía oral y con el sistema se espera una liberación prolongada, lo cual se consiguió como se puede ver en los perfiles de liberación. Con los resultados de la Figura 27, se

observó que al no encontrarse encapsulado el fármaco en los NLCs (fármaco en polvo), primero se disuelve ya que no hay una matriz en la que sea afín. Por el contrario, en los NLC-TEL el fármaco encapsulado se encuentra cómodo en la matriz lipídica, esto debido a su carácter lipofílico. A su vez se puede hablar de la solubilidad del fármaco en medios más ácidos donde es mayor su disolución (pH 1.2) que en medios menos ácidos (pH 6.8).

9.6.1.1 Modelado matemático para ver el mecanismo de liberación

Los perfiles de liberación se ajustaron a diferentes modelos. La Tabla 17 muestra los valores de la r^2 (coeficiente de determinación) para cada ajuste a los modelos empleados para el análisis. Podemos apreciar que el mecanismo de liberación se ajusta con mayor precisión al orden cero, lo que indica que la liberación no depende de la concentración, si no que podría ser a partir de una matriz de liberación, lo cual se sabe que característico de un NLC.

Tabla 17. Modelado matemático

Modelo matemático	r^2
Orden cero	0.9989
Primer orden	0.7705
Higuchi	0.9179
Korsmeyer-Peppas	0.6777

9.6.2 Permeabilidad en intestino de cerdo

Con las celdas de difusión horizontales se consiguió simular el paso del fármaco a través del intestino. Las microvellosidades del intestino se colocaron del lado del donador debido a que se simularían las condiciones fisiológicas, donde los nutrientes y las sustancias que pasan a través del intestino van de adentro del intestino hacia la circulación sanguínea. En la Figura 28 se puede observar cómo es el comportamiento de los NLC-TEL optimizados y del fármaco en suspensión, respecto a su permeabilidad en intestino de cerdo.

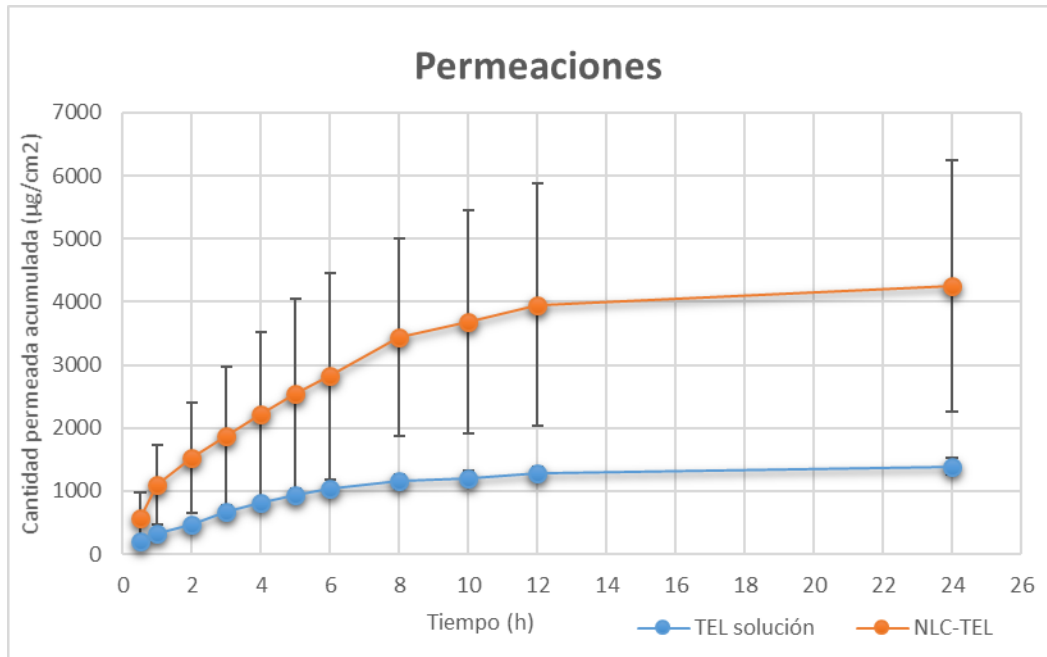


Figura 28. Perfiles de permeación promedio del fármaco en suspensión y los NLC-TEL (TEL solución: promedio de 3 muestras de telmisartán en suspensión; NLC-TEL: media de 3 lotes de NLC cargados con telmisartán)

En la Figura 28, se puede observar que una mayor cantidad de fármaco permea a través del intestino delgado en menos tiempo (línea naranja) con un coeficiente de permeabilidad de $0.0238 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ para los NLC-TEL, mientras que para el telmisartán en suspensión fue de $0.0155 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$. Por otra parte, el flujo fue mayor para los NLC-TEL ($66.07 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) que para el telmisartán en suspensión ($20.74 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$). El fármaco de los NLC permea de forma más rápida porque se mantiene una promoción en la permeación (Singh, *et al*, 2019). En este sistema la liberación del fármaco fue controlada gracias al uso de la mezcla de lípidos que encapsularon al telmisartán, lo cual se logró corroborar con los resultados de liberación *in vitro* y permeabilidad respectivamente, ya que el fármaco libera lento, pero permea con mayor rapidez porque la barrera de intestino posee una estructura lipídica que permite el paso de los NLC intactos.

10. CONCLUSIONES

10.1 CONCLUSIÓN GENERAL

Se obtuvieron y optimizaron Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados a partir de un DE donde los lípidos usados fueron Compritol 88 CG ATO® y ácido oleico, cargados con telmisartán en una proporción 1:10, los cuales se podrían proponer para ser administrados por vía oral con base en sus propiedades tecnológicas evaluadas tales como su tamaño de partícula, su índice de polidispersión (PDI), su potencial zeta, su eficiencia de encapsulación, su eficiencia de carga, su rendimiento, su cinética de liberación y su permeabilidad intestinal. Además, evaluando su eficacia *in vitro*, logramos observar que estos sistemas tienen una liberación prolongada del telmisartán, con una permeabilidad potenciada, lo cual podría beneficiar al paciente pensando en una administración espaciada por tiempos mayores.

10.2 CONCLUSIONES PARTICULARES

- Los lípidos seleccionados, Compritol 88 CG ATO® y el ácido oleico, el primero sólido y el segundo líquido, se emplearon para la obtención y optimización de los Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados por tamaño de partícula, PDI, potencial zeta, eficiencia de encapsulación, eficiencia de carga, rendimiento, cinética de liberación y permeabilidad intestinal.
- Los NLC-Tel optimizados fueron caracterizados en su liberación *in vitro* y permeabilidad intestinal; la primera a un pH de 1.2 y 6.8, mostrando una liberación total del fármaco a través de los NLCs en 6 h y el fármaco en polvo a las 2 h; y a pH 6.8 para la permeabilidad intestinal, donde pudimos ver que la permeabilidad estaba incrementada en el fármaco encapsulado en los NLCs gracias al sistema y las características de los lípidos utilizados.
- Con base en un Diseño Experimental (DE) se logró ver que a mayor tiempo de agitación el tamaño se veía disminuido, aunque sin significancia, así como el PDI y, que el porcentaje de eficiencia de encapsulación no se veía modificado con la cantidad de fármaco, pero se mantuvo la dosis terapéutica en el sistema.

- Se optimizó la formulación de NLC-Tel con un tamaño de partícula de 150.03 ± 4.92 nm, un PDI de 0.59 ± 0.02 , un potencial zeta de -11.93 ± 1.10 mV y una eficiencia de encapsulación de 94.50 ± 2.16 %.

11. PERSPECTIVAS

- Comparar la formulación NLC-TEL con tabletas comerciales de telmisartán para corroborar la mejora en la formulación en su solubilidad.
- Evaluar la liofilización de los NLC's con distintas proporciones de manitol para obtener un polvo comprimible y poder formular los NLC's en tabletas donde se puedan evaluar sus propiedades tecnológicas y de calidad.
- Analizar las variables de respuesta usando otro tensoactivo para obtener una mejor formulación con base en estas variables.

12. BIBLIOGRAFÍA

Aburahma, M. H., & Badr-Eldin, S. M. (2014). Compritol 888 ATO: a multifunctional lipid excipient in drug delivery systems and nanopharmaceuticals. *Expert Opin Drug Delivery*, 11(12), 1865-1883. doi:10.1517/17425247.2014.935335

Acosta Cortez, A., Agramon Melendres, M., Badillo Castañeda, D., Bojorquez Muñoz, D., & Saucedo García, A. (2017). Antihipertensivos. En C. d. C.. *Health & Medicine*.

Aditya, N. P., Macedo, A. S., Doktorovova, S., Souto, E. B., Kim, S., Chang, P. S., & Ko, S. (2014). Development and evaluation of lipid nanocarriers for quercetin delivery: A comparative study of solid lipid nanoparticles (SLN), nanostructured lipid carriers (NLC), and lipid nanoemulsions (LNE). *LWT Food Science and Technology*, 59(1), 115-121.

Agencia Europea de Medicamentos. (2019). Volibris, INN Ambrisentán. Ficha técnica. ema.europa.eu, 1-43. Recuperado Abril 14, 2020, de https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/volibris-epar-product-information_es.pdf

AL Haydar, M. (2015). Formulation of telmisartan microsponge tablets and *In-Vitro* evaluation of dissolution profile. *Kerbala journal of pharmaceutical science*(9), 91-104. Recuperado de <https://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&ald=131952>

Alcalá Alcalá, S., & Quintanar Guerrero, D. (2014). La terapia a nanoescala: ensamblaje de estructuras liberadoras de fármacos. *Mundo Nano Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 7(12), 32-48. doi:10.22201/ceiich.24485691e.2014.12.49709

Alfie, J., Blanco, G., Bellido, C., Días, M., Gómez Llambi, H., Greca, A., . . . Waisman, G. (2013). Foro de expertos en HTA. Asociaciones e Interacción de drogas en Hipertensión Arterial. (M. Bendersky, Ed.) *Revista de la Federación Argentina de*

Cardiología, 42(1). Recuperado Enero 20, 2020, de http://www.fac.org.ar/1/revista/13v42n1/exclusivo_online/exclusivo_01/foro_hta.php

Allevato, M. A. (2007). Sistemas Terapéuticos Transdérmicos. *Actualizaciones Terapéuticas Dermatológicas*, 30, 154-166.

Altamirano, J. H., Cacharrón, J. L., Hernández, G., & Altamirano, V. (2019). Capítulo 114 Antagonistas de los Receptores Alfa Adrenérgicos. Bloqueantes Selectivos Alfa I Adrenérgicos.

Alvarado López, K. (2015). Uso de cocrisales para mejorar la solubilidad y velocidad de disolución de los fármacos. *Pensamiento Actual*, 15(25), 207-215. Recuperado Enero 29, 2020

Álvarez Gómez de Segura, I. (1998). Métodos de anestesia, analgesia y eutanasia. En I. Álvarez Gómez de Segura.

Alvarez Lemus, M., & López Goerne, T. (2012). Nanotechnology and cancer: applications for the treatment of brain tumors. *Archivos de Neurociencias*, 17(2), 102-109.

Amarante Borba, P. A., Cavalleri, C., Klüppel Riekens, M., Nicolay Pereira, R., Ramos Pezzini, B., S. Canto, R. F., & K. Stulzer, H. (2014). Telmisartan: Quality Control, Purity and Solid State Characterization. *Latin American Journal of Pharmacy*, 33(4), 557-566. Recuperado Febrero 05, 2019, de https://www.researchgate.net/publication/269996536_Telmisartan_Quality_Control_Purity_and_Solid_State_Characterization

Barrueco, N., Martínez Fernández-Llamazares, C., Durán, E., Martínez Marín, M. T., & Relaño García, C. (2008). Administración de medicamentos por vía oral. Interacciones medicamento-alimento. *Index de Enfermería*, 17(1), 53-57.

Recuperado de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1132-12962008000100012&lng=es&nrm=iso

Bendersky, M., & Filippini, F. (2018). Antagonistas de los Receptores AT 1 de Angiotensina II (ARA II) en Hipertensión y Patologías asociadas. *Al Cuidado de la Vida*, 1-34. Recuperado Enero 23, 2020, de <http://www.saha.org.ar/files/congress/25/toma-de-posicion.pdf>

Bernejo, José Carlos; Centro de Humanización de la Salud. (1999). *Manual básico para Gerocultores y Auxiliares Geriátricos*. Cáritas.

Brunton, L. L., Lazo, J. S., & Parker, K. L. (2012). *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica* (12a ed.). Mc Graw Hill.

BSF group. (2012). *RUMAPEL*. Recuperado Febrero 13, 2020, en http://www.rumapel.com.ar/pharma_excipientes/ficha_tecnica/Kolliphor_P_Grades.pdf

Cabrera Pérez, M. A., Amador Morales, L., Norman Montenegro, O., Cueto Sánchez, M., & González Torres, L. E. (2001). Absorción intestinal in vitro de una dispersión sólida de G1: aplicación del diseño experimental. *CENIC Ciencias Biológicas*, 32(1), 9-13.

Calderón, L., Cantillo, S., Camargo, A., & Lozano, J. (2020). Conceptos biofarmacéuticos relacionados con la Absorción y Permeabilidad. *Taller 1*.

Camargo Santiz, P. (2018). Farmacocinética. Recuperado Abril 04, 2020, de <https://docplayer.es/70047770-Farmacocinetica-paul-camargo-santiz-q-f.html>

Campos Nonato, I., Hernández Barrera, L., Rojas Martínez, R., Pedroza, A., Medina García, C., & Barquera Cervera, S. (2013). Hipertensión arterial: prevalencia, diagnóstico oportuno, control y tendencias en adultos mexicanos. *Salud Pública de México*, 55 (Suplemento 2), 144-150. Recuperado Enero 31, 2020

Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C. (2002). Guía de Validación de Métodos Analíticos. *Colegio Nacional de QFB México*.

Correa González, Y. X., Paillíé Jiménez, D., Valenzuela Correa, A. L., Rojas Cardozo, M. A., & Mora Huertas, C. E. (2016). Propolis based lipid nanoparticles as carriers of cosmetic actives: Development, characterization and safety evaluation. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*, 45(1), 147-168. doi:<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n1.58026>

Council of Europe. (2017). *European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare*. Recuperado Enero 15, 2020, de https://sds.edqm.eu/pdf/SDS/EDQM_201600870_1.0_SDS_ES.pdf?ref=1523796978

Czajkowska-Kosnik, A., Szekalska, M., & Winnicka, K. (2018). Nanostructured lipid carriers: A potential use for skin drug delivery systems. *ELSEVIER*, 71, 156-166. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pharep.2018.10.008>

de la Serna, F., Cingolani, H., Echeverría, R., & Riondet, B. (2008). *Hipertensión Arterial*. Federación Argentina de Cardiología.

Deppe, S., H Böger, R., Weiss, J., & A Benndorf, R. (2010). Telmisartan: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 6(7), 863-871.

DRUGBANK. (2005). *DRUGBANK*. Recuperado 2018, de <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00966>

e-lactancia.org. (2020). *e-lactancia*. Recuperado Abril 14, 2020, de <http://e-lactancia.org/media/papers/Bosentan-Ft-AEMPS2013.pdf>

El-Gizawy, S. A., Hussien, M., & Essa, E. (2019). Investigation of the effect of formulation additives on telmisartan dissolution rate: development of oral

disintegrating tablets. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 6(4), 12-20. Recuperado Abril 27, 2020, de https://www.researchgate.net/publication/334126519_INVESTIGATION_OF_THE_EFFECT_OF_FORMULATION_ADDITIVES_ON_TELMISARTAN DISSOLUTION_RATE_DEVELOPMENT_OF_ORAL_DISINTEGRATING_TABLETS#pf5

Equipo de redacción de IQB. (2011). Telmisartán. *Vademecum*. Recuperado de <https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/t010.htm>

Ferrufino, J. C., Taxa, L., & Ángeles, G. (2015). Histología normal del intestino delgado. *Health & Medicine*(7), 46-57. Recuperado Enero 15, 2020, de <https://vdocuments.mx/histologia-del-intestino-delgado.html>

FEUM. (2016). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. Recuperado de <http://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/167.pdf>

Gallardo Vallejo, S. (1997). Diuréticos y betabloqueadores en el tratamiento de la hipertensión arterial. *Revista Peruana de Cardiología*, 23(3), 80-100. Recuperado Agosto 06, 2019, de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/cardiologia/v23_n3/diureticos_betabloqueadores.htm

Garzón S., M. d., Vázquez R., M. L., Villafuerte R., L., García F., B., & Hernández L., A. (2009). Efecto de los componentes de la formulación en las propiedades de las nanopartículas lipídicas sólidas. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (redalyc.org)*, 40(2), 26-40.

Gennaro, A. R. (2003). *Remington Farmacia* (20 ed., Vol. 1). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica panamericana. Recuperado Abril 2019, 10, de https://books.google.com.mx/books?id=Av4IlsyH-qcC&pg=PA368&lpg=PA368&dq=VEHICULO+ESTRUCTURADO+PaRTICULAS+defloculadas&source=bl&ots=Vp8wZXPnca&sig=ACfU3U1LkHCDWv6ly4dHXJ2I_

5gsuikOFQ&hl=es-
419&sa=X&ved=2ahUKEwjT99ij6MXhAhVRAqwKHYhBCjMQ6AEwBXoECAkQAQ
#v=onep

Granja, A., Rute Neves, A., T. Sousa, C., Pinheiro, M., & Reis, S. (2019). EGCG intestinal absorption and oral bioavailability enhancement using folic acid-functionalized nanostructured lipid carriers. *Heliyon*, 1-6. doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02020>

Guerrero Arellano, H. E., Caicedo Salazar, J. A., & Guerrero Zambrano, E. O. (2017). La Nanotecnología farmacéutica es una realidad. *Dominio de las Ciencias*, 3(2), 526-538. doi:<https://dx.doi.org/10.23857/dom.cien.pocaip.2017.3.2.esp.526-538>

Gutiérrez Cirlos, G. (2004). Principios de anatomía, fisiología e higiene. (E. NORIEGA, Ed.) México: LIMUSA.

H. Bakheit, A. H., Abd Elgalil, A. A., Mustafa, B., Haque, A., & Wani, T. A. (2015). Telmisartan. *Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology*, 40, 371-429. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/bs.podrm.2015.01.003>

Hergueta García de Guadiana, Gabriel, colaboradores. (2002). *Guía de Hipertensión Arterial*. Madrid: Norma-Capitel.

Hernández Hernández, R., & Armas de Hernández, M. J. (2004). Farmacoterapia Antihipertensiva Individualizada. *Boletín Médico de Postgrado*, 20(4). Recuperado Abril 14, 2020, de http://bibvirtual.ucla.edu.ve/db/psm_ucla/edocs/bm/BM2004/BM200407.pdf

Herrera Ruiz, D., Hernández Baltazar, E., Espinosa Lara, J. C., de la Luz Martínez, I., Beltrán Torres, A. A., & Martínez Alejo, J. M. (2012). Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(1), 18-32. Recuperado Diciembre 12, 2018, de

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000100003

IMSS. (2015). *Hipertensión Arterial*. Recuperado de <http://www.imss.gob.mx/salud-en-linea/hipertension-arterial>

Instituto Nacional Tecnológico. (2017). *Manual Manejo productivo y reproductivo en porcinos y aves*. Recuperado de https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Porcinos_y_Aves_02.pdf

Iriarte Ballesta, R. (2015). Desarrollo de medios de disolución biorrelevantes para fármacos con problemas de bioequivalencia. *Sant Joan d'Alacant: UNIVERSITAT Miguel Hernández*.

Jaimes Cadena, M. O., & Burgos Portillo, R. B. (2009). Los antagonistas de los receptores de la angiotensina II a la luz de los estudios de mayor impacto. *Revista Médica La Paz*, 15(2), 58-66. Recuperado Abril 2020, 16, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-89582009000200010&lng=es&nrm=iso

Jara González, M. O., & Morales M., J. O. (2016). Análisis sistemático de variables determinantes en la producción de nanopartículas poliméricas de Eudragit RS, RL y PCL por el método de nanoprecipitación. *Tesis de Licenciatura*. Recuperado Marzo 12, 2020, de <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/144706/Analisis-sistematico-de-variables-determinantes-en-la-produccion-de-nanoparticulas.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Knollman, B. C., & Chabner, B. A. (2012). *Goodman & Gilman: Las bases farmacológicas de la Terapéutica* (12a ed.).

Kyeong Ok, C., Jaehyeog, C., Seokin, S., & Sanghoon, K. (2016). Positively Charged Nanostructured Lipid Carriers and Their Effect on the Dissolution of Poorly Soluble Drugs. *Molecular Diversity Preservation International and Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 21(672), 1-12. doi:doi:10.3390/molecules21050672

Lasso Reyes, J. C., & Ruiz Durango, J. F. (2017). Optimización metodológica para estudios de permeabilidad *in vitro* empleando los modelos de celda de Franz horizontal y vertical. Santiago de Cali: *Universidad ICESI*. Recuperado Diciembre 07, 2019

List, G. R., Adlof, R. O., Carrierre, C. J., & Dunn, R. O. (2004). Melting properties of some structured lipids native to high stearic acid soybean oil. *Grasas y Aceites*, 55, 135-137.

Marcotegui Ros, F. (1993). Sistemas terapéuticos transdérmicos. *Boletín de Información Farmacoterapéutica de Navarra*, 1(3), 1-6.

Marcotegui, F., Zabalza, M. Á., & Gozalo, M. J. (2002). *Farmacia Hospitalaria* (Vol. 2). Recuperado Mayo 27, 2019

Monografías de Medicamentos Químicos 2. USP. (2018). Telmisartán e Hidroclorotiazida, Tabletas. *Boletín de Revisión*, 1-4. Recuperado Febrero 10, 2020, de https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/ES/rb/telmisartan-hctz-tab-rb-es.pdf

N. Patere, S., S. Desai, N., S. Jain, A., P. Kadam, P., M. Thatte, U., Nithya, G., . . . S. Nagarsenker, M. (2013). Compritol 888 ATO a Lipid Excipient for Sustained Release of Highly Water Soluble Active: Formulation, Scale-up and IVIVC Study. *Current Drug Delivery*, 10(5), 548-556.

Olmedillo Rodríguez, M. (2017). Curso básico sobre hipertensión. Tema 5. Bloqueantes de los canales del calcio. 35(5), 26-32. Recuperado Abril 14, 2020, de

<https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-curso-basico-sobre-hipertension-tema-X0213932417617164>

Organización Mundial de la Salud. (2019). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado Enero 1, 2020, de *World Health Organization*: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hypertension>

Park, S. J., García, C. V., Shin, G. H., & Kim, J. T. (2017). Development of nanostructured lipid carriers for the encapsulation and controlled release of vitamin D3. *Food Chemistry*, 225, 213-219.

Patel, H., Patel, H., Gohel, M., & Tiwari, S. (2015). Dissolution rate improvement of telmisartan through modified MCC pellets using 32 full factorial design. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 76, 1-8. doi:10.1016/j.jsps.2015.03.007

Patravale, V. B., Date, A. A., & Kulkarni, R. M. (2004). Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56, 827-840. doi:10.1211/0022357023691

Rodríguez Porto, A. L., Sánchez León, M., & Martínez Valdés, L. L. (2002). Síndrome metabólico. *Revista Cubana de Endocrinología*, 13(3). Recuperado Febrero 2, 2020, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532002000300008&lng=es&nrm=iso

Rosas Peralta, M., Palomo Piñón, S., Borrayo Sánchez, G., Madrid Miller, A., Almeida Gutiérrez, E., Galván Oseguera, H., . . . Paniagua Sierra, R. (2016). Consenso de Hipertensión Arterial Sistémica en México. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 54, 6-51.

Rosas, M., Pastelín, G., Martínez Reding, J., Herrera Acosta, J., & Attie, F. (2004). Hipertensión arterial en México. Guías y recomendaciones para su detección, control y tratamiento. *Archivos de Cardiología de México*, 74(2).

Ruiz Piñeiro, R., Montesinos Jiménez, G., Carlón Correa, M., Vega Hernández, S., & Barrera Sandoval, M. (2002). Nivel de eficiencia en administración de medicamentos por vía oral. *Revista Mexicana de Enfermería Cardiológica*, 10(3), 90-95.

Salvo Romero, E., Alonso Cotoner, C., Pardo Camacho, C., Casado Bedmar, M., & Vicario, M. (2015). Función barrera intestinal y su implicación en enfermedades digestivas. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 107(11), 686-696. Recuperado Marzo 06, 2020, de http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v107n11/es_revision.pdf

Sharpe, M., Jarvis, B., & Goa, K. L. (2001). Telmisartan: A Review of its Use in Hypertension. *Drugs*(61), 1501-1529. doi:<https://doi.org/10.2165/00003495-200161100-00009>

SIGMA-ALDRICH. (2018). *SIGMA-ALDRICH*. Recuperado de SIGMA-ALDRICH: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/o1008?lang=es®ion=MX>

Simonazzi, A., Bermúdez, J. M., & Palma, S. D. (2015). Dispersiones sólidas: Una estrategia tecnológica para aumentar la velocidad de disolución de fármacos en formas farmacéuticas sólidas. (Sudamérica, Ed.) *Pharmaceutical Technology*(137), 64-70.

Singh, A., Neupane, Y. R., Mangla, B., & Kohli, K. (2019). Nanostructured Lipid Carriers for Oral Bioavailability Enhancement of Exemestane: Formulation Design, *In Vitro*, *Ex Vivo*, and *In Vivo* Studies. *Pharmaceutical Nanotechnology*(108), 3382-3395. doi:<https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.06.003>

Sosa Rosado, J. M. (2010). Tratamiento no farmacológico de la hipertensión arterial. *Anales de la Facultad de Medicina*, 71(4), 241-244. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v71n4/a06v71n4>

Thapa, C., Ahad, A., Aqil, M., Sarim Imam, S., & Sultana, Y. (2018). Formulation and optimization of nanostructured lipid carriers to enhance oral bioavailability of telmisartan using Box-Behnken design. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 44, 431-439.

Toro Escobar, J. M. (2005). Control de la hipertensión arterial con medicamentos: actualización 2005. *Iatreia*, 18(1), 49-59. Recuperado Abril 14, 2020, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932005000100004&lng=en&nrm=iso. ISSN 0121-0793

Trejo Medina, K., Valle Mancía, P., & Villegas Vaquero, A. B. (2017). Impacto que tienen los factores socioculturales en el manejo farmacológico del paciente con Hipertensión Arterial en usuarios de la unidad comunitaria de salud familiar intermedia del municipio de Puerto El Triunfo, en el periodo de Mayo-Junio 2017. *Tesis de Doctorado*, 21. Recuperado Abril 14, 2020, de <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/16789/1/TESIS%20COMPLETA%20PARA%20QUEM%20AR.pdf>

Trindade Radovanovic, C. A., Adonso dos Santos, L., de Barros Carvalho, M., & Silva Marcon, S. (2014). Hipertensión arterial y otros factores de riesgo asociados a las enfermedades cardiovasculares en adultos. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 22(4), 547-553. doi:10.1590/0104-1169.3345.2450

Trujillo Herrera, W. V. (2013). Preparación y caracterización de nanopartículas de magnetita funcionalizados con ácido láurico, oleico y etilendiamino tetraacético para aplicaciones biomédicas y remediación ambiental. *Tesis de Licenciatura*. Recuperado Enero 30, 2020

UNAM. (2007). *Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables para farmacias y público en general*. Recuperado de http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Clortalidona.htm

UNAM. (2020). *Procesos de transporte*. Recuperado Enero 19, 2020, de *ibt.unam*: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/termodinamica_biologica/procesosdetransporte.pdf

Universidad Autónoma de Madrid. (2019). *Formas farmacéuticas y vías de administración de fármacos*. Madrid.

Velasco, M., Romero, B., Betancourt, M., Suarez, N., & Contreras, F. (2002). Uso de los Antagonistas Beta-Adrenérgicos en la Hipertensión Arterial. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 21(2), 139-147. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642002000200002&lng=es.

Villafuerte R., L., García F., B., Garzón S., M. d., Hernández L., A., & Vázquez R., M. L. (2008). Nanopartículas lipídicas sólidas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39(1), 38-52.

Villafuerte Robles, L. (2009). Nanotecnología Farmacéutica. *Razón y Palabra*, 14(68), 12-13, 15.

Villarino, N. F., & Landoni, M. F. (2006). Administración Transdérmica de Fármacos: una alternativa terapéutica. *Cátedra de Farmacología*, 26(1), 28-37.

World Health Organization. (2004). *Portal de Información - Medicamentos Esenciales y Productos de Salud*. Recuperado Enero 27, 2020, de <https://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/16.3.html>

13. ANEXOS

Anexo 1. Constancia de Asistencia a “LI Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas”



La Asociación Farmacéutica Mexicana. A.C.
otorga la presente

CONSTANCIA

KEVIN OBED RÍOS CÁRDENAS

Por su asistencia al:

LI Congreso Nacional de CIENCIAS FARMACÉUTICAS

Septiembre 2018, Puerto Vallarta, Jalisco.

Dr. Efrén Hernández Baltazar
Presidencia de la Asociación Farmacéutica Mexicana, A. C.

Dr. Verónica Rodríguez López
Dirección de Ciencia y Tecnología de la Asociación Farmacéutica Mexicana, A. C.

(Logos and signatures are present on the document)



The image shows a certificate of presentation for a poster. It features the UADY logo and name on the left, the faculty name and motto on the right, a central dark blue banner with the title 'CONSTANCIA' and the names of the presenters, a paragraph of text describing the poster's presentation at a national forum, and a signature block at the bottom right with the name of the director.

 **UADY**
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

“Luz, Ciencia y Verdad”
FACULTAD DE QUÍMICA

La Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán
otorga la presente

CONSTANCIA

A: Kevin Obed Ríos Cárdenas, Dr. Sergio Alcalá Alcalá,
Dr. Efrén Hernández Baltazar, Dr. Gerardo Leyva Gómez

Por la presentación del poster “Estudio in vitro de la permeabilidad intestinal de telmisartán encapsulado en acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC)” en el marco del 1er. Foro Nacional de Ciencias Farmacéuticas realizado del 2 al 6 de septiembre en las instalaciones de esta Facultad.

Mérida Yucatán México, a 02 de septiembre de 2019


Dra. Zulema Osiris Cantillo Ciaú
Directora

Anexo 3. Constancia de presentación de cartel en el “Simposio Innovación en Ciencias Farmacéuticas & VII Triple Hélice”



COMAEF FEFARM AMEFFAR

El comité organizador otorga la presente

CONSTANCIA

a: Kevin Obed Ríos Cárdenas, Sergio Alcalá Alcalá, Gerardo Leyva Gómez,
Efrén Hernández Baltazar

Por su participación del: trabajo cartel

Estudio in vitro de la permeabilidad intestinal de telmisartán
encapsulado en Acarreadores Lipídicos Nanoestructurados (NLC)

**SIMPOSIO en homenaje al
“DR. JAIME KRAVZOV JINICH”
INNOVACIÓN EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS
& VII REUNIÓN TRIPLE HÉLICE**

del 11 al 13 de noviembre Hotel Fiesta Americana Reforma. Ciudad de México

Dr. Efrén Hernández Baltazar
Presidencia AFMAC

Dr. José LUIS A. Mora Guevara
Presidencia COMAEF



Anexo 4. Constancia de ponencia oral en el “13° Encuentro de Estudiantes de Posgrado en Farmacia”



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Facultad
de Farmacia
Comunicando al servicio de la salud

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

A través de la Facultad de Farmacia

Otorga la presente:

CONSTANCIA

a:

Kevin Obed Ríos Cárdenas

Por su participación oral durante el 13° Encuentro de Estudiantes de Posgrado en Farmacia.
Cuernavaca, Morelos a 21 de Noviembre del 2019.



13° Encuentro de Estudiantes de Posgrado en Farmacia



Dr. Efrén Hernández Baltazar
Director de la Facultad de Farmacia

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

Facultad de Farmacia
Conocimiento al servicio de la salud

A través de la Facultad de Farmacia

Otorga la presente:

C O N S T A N C I A

a:

Kevin Obed Ríos Cárdenas, Dr. Sergio Alcalá Alcalá, Dr. Efrén Hernández Baltazar y Dr. Gerardo Leyva Gómez.

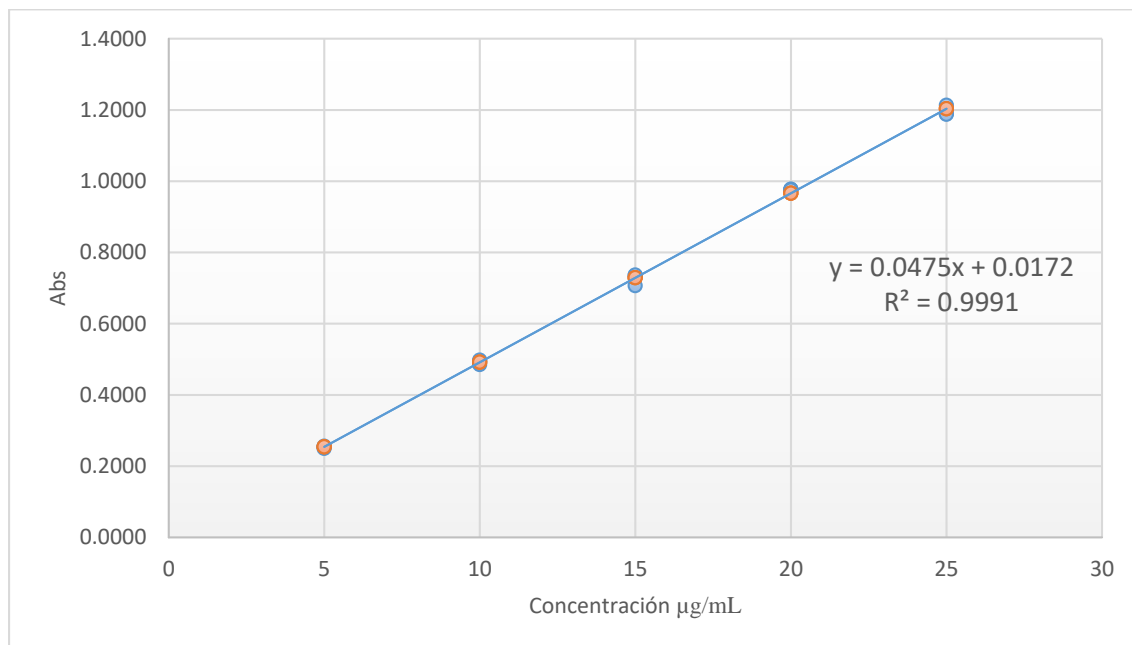
Por su participación en la presentación del cartel titulado “ESTUDIO IN VITRO DE LA PERMEABILIDAD INTESTINAL DE TELMISARTÁN ENCAPSULADO EN ACARREADORES LIPÍDICOS NANOESTRUCTURADOS (NLC)” en el 13° Encuentro de Estudiantes de Posgrado en Farmacia.

Cuernavaca, Morelos a 21 de noviembre del 2019.

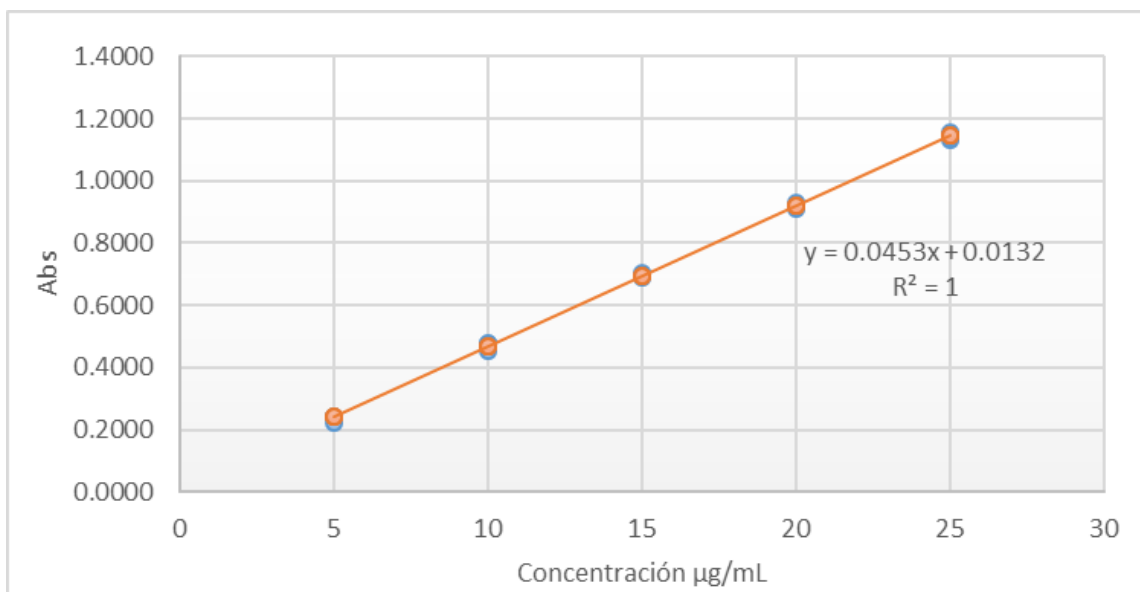


Dr. Efrén Hernández Baltazar
Director de la Facultad de Farmacia

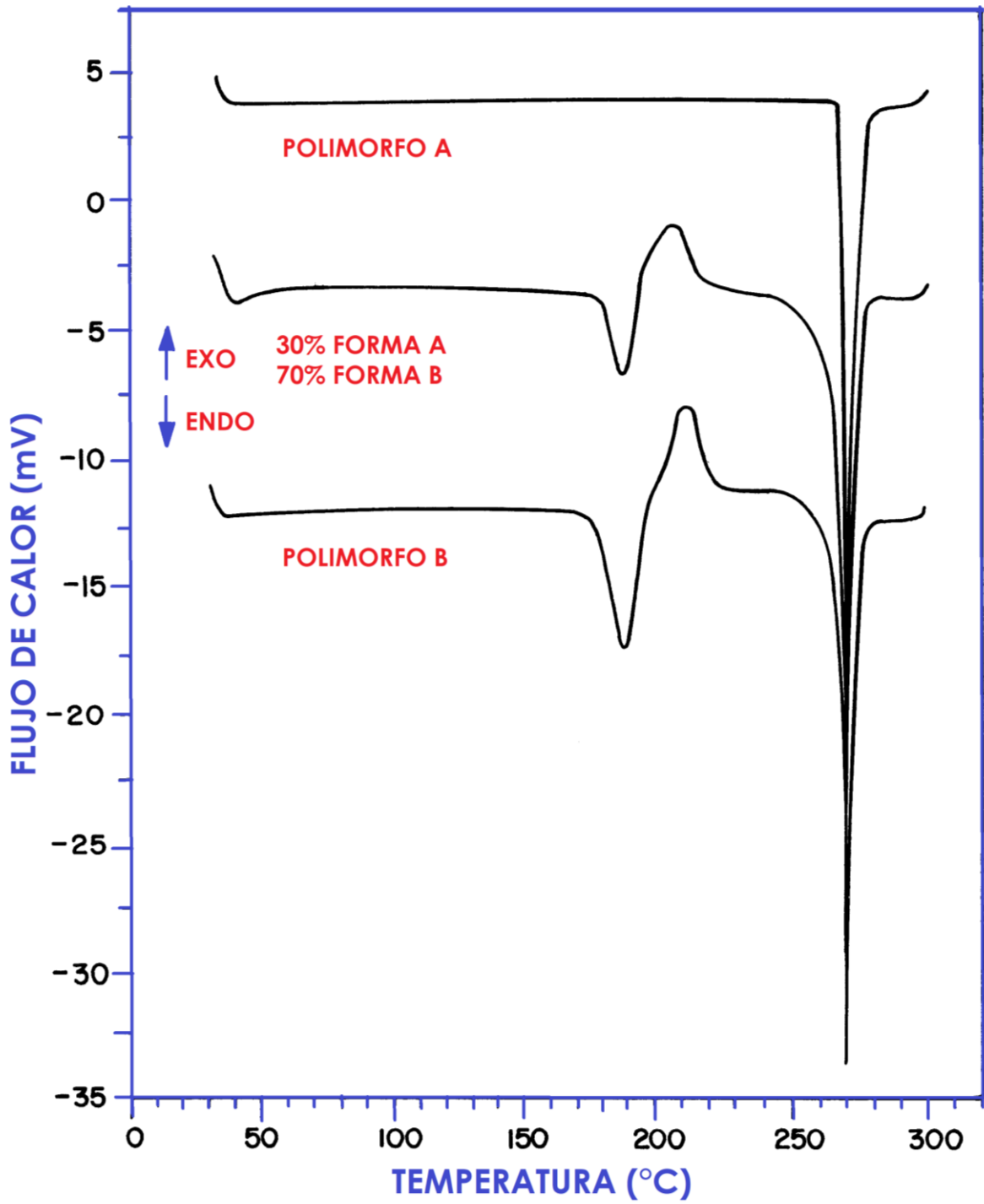
Anexo 6. Curva de calibración de telmisartán a 296 nm (métodos A y B)



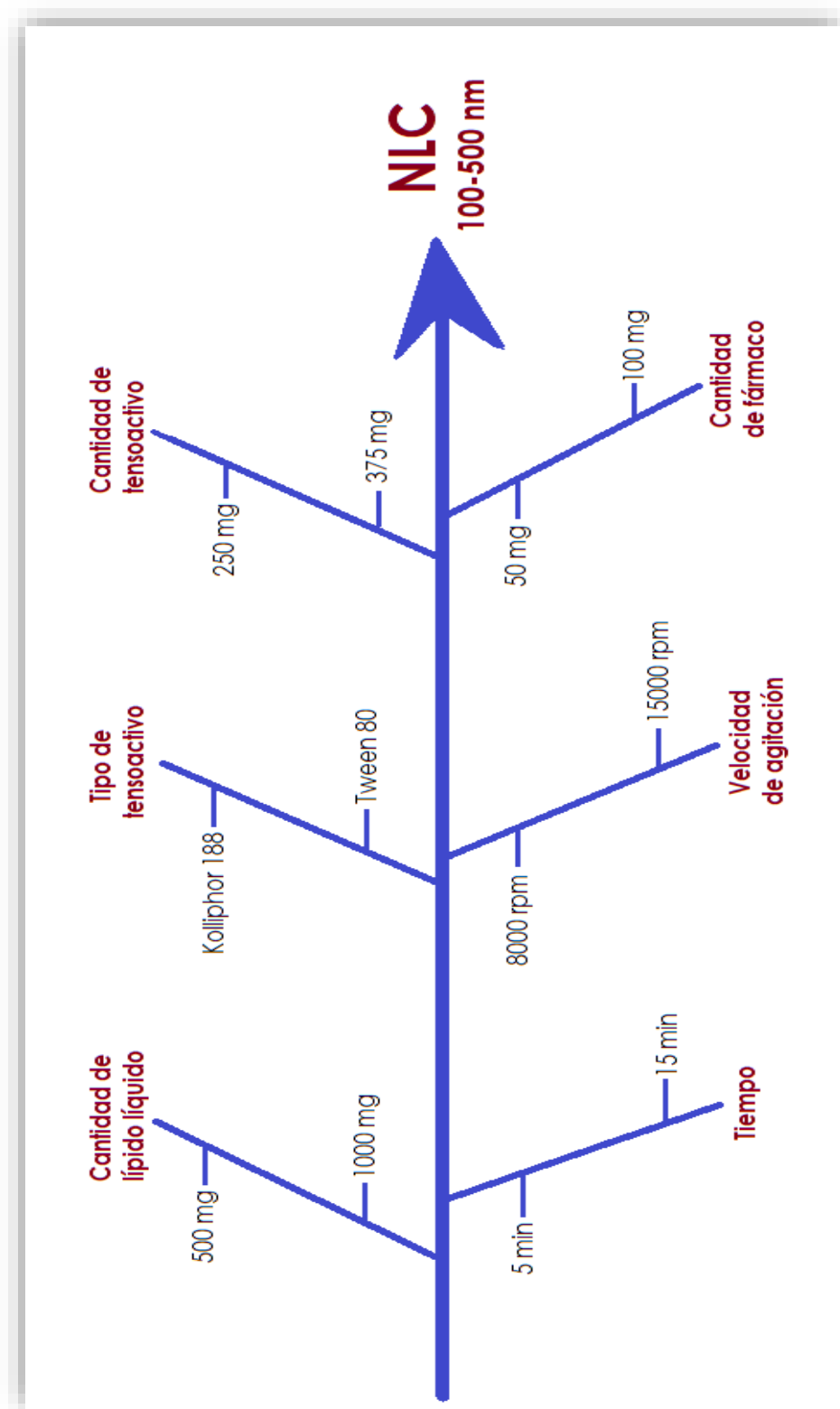
Anexo 7. Curva de calibración de telmisartán a 296 nm (método C)



Anexo 8. DSC de los polimorfos de telmisartán

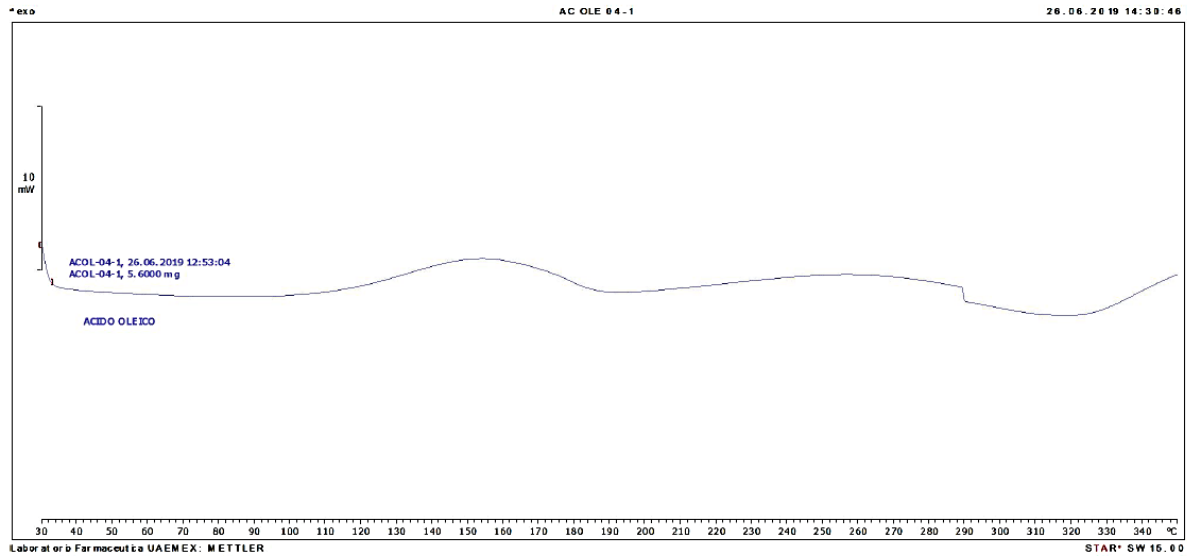


Anexo 9. Diagrama de pescado con los factores clave del proceso



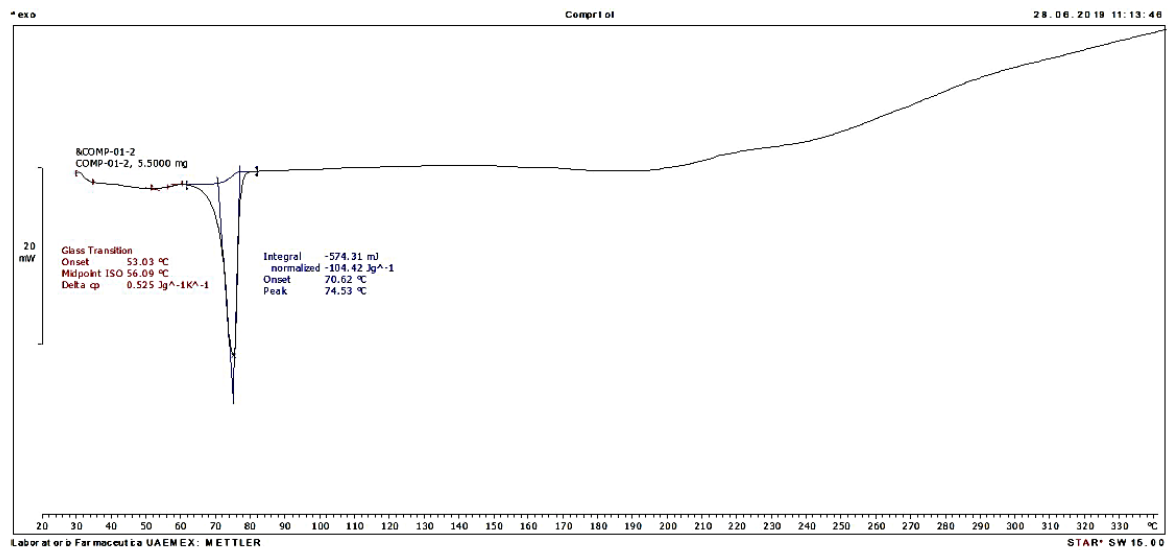
Anexo 10. Termograma del ácido oleico

Evaluation: AC OLE 04-1, 26.06.2019 14:30:46



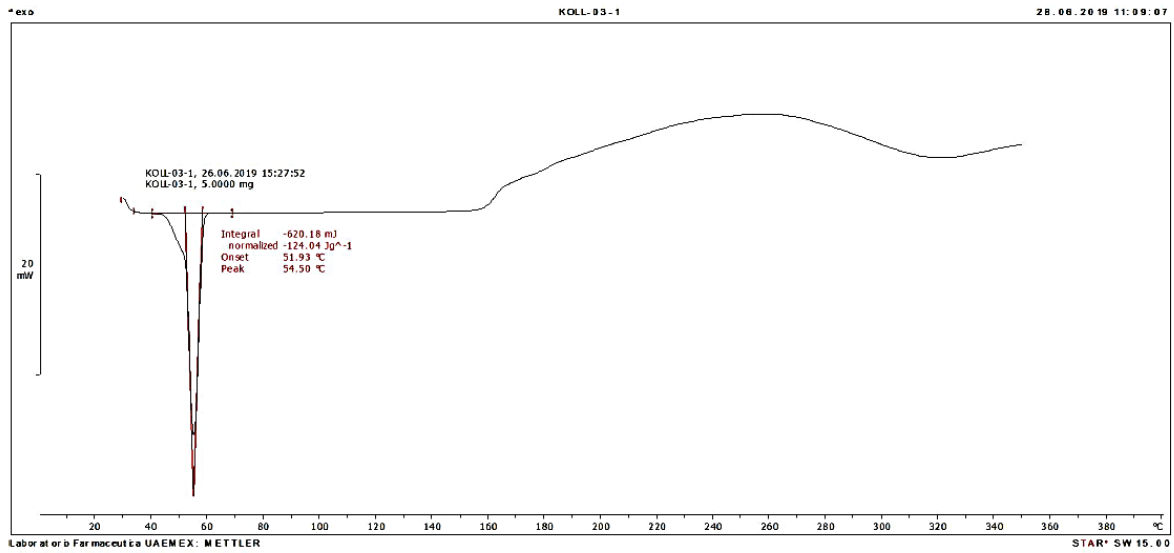
Anexo 11. Termograma del compritol 88 CG ATO® (lípidos sólidos)

Evaluation: Compritol, 28.06.2019 11:13:46



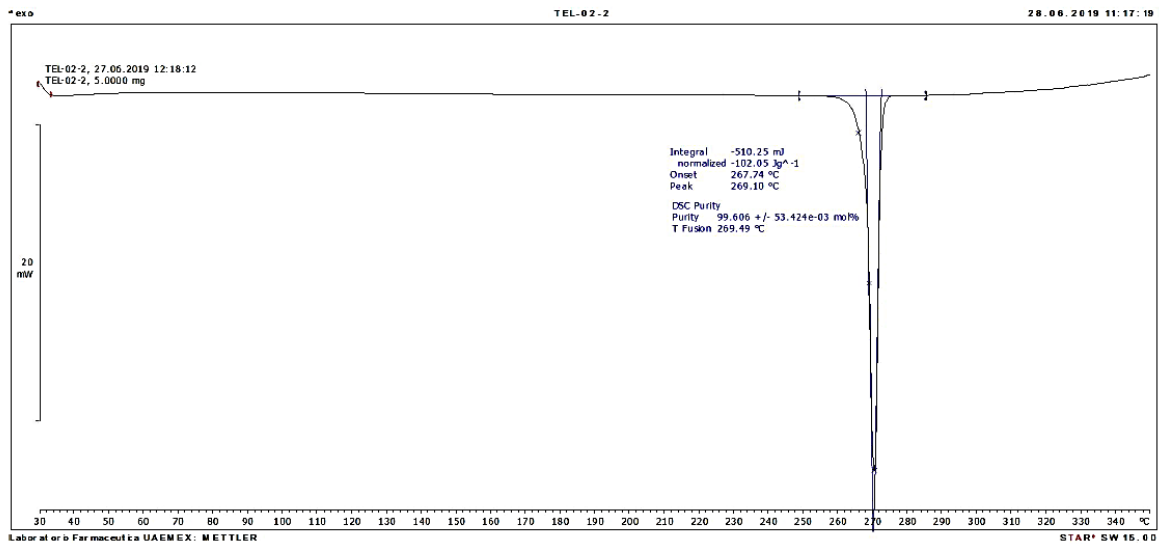
Anexo 12. Termograma del kolliphor 188

Evaluation: KOLL-03-1, 28.06.2019 11:09:07



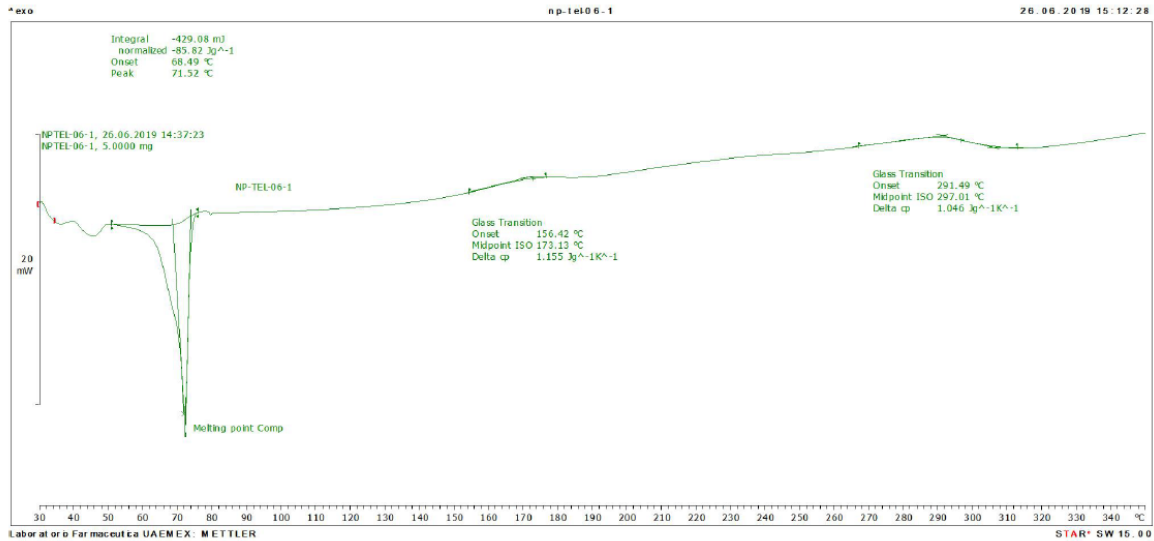
Anexo 13. Termograma del telmisartán

Evaluation: TEL-02-2, 28.06.2019 11:17:19



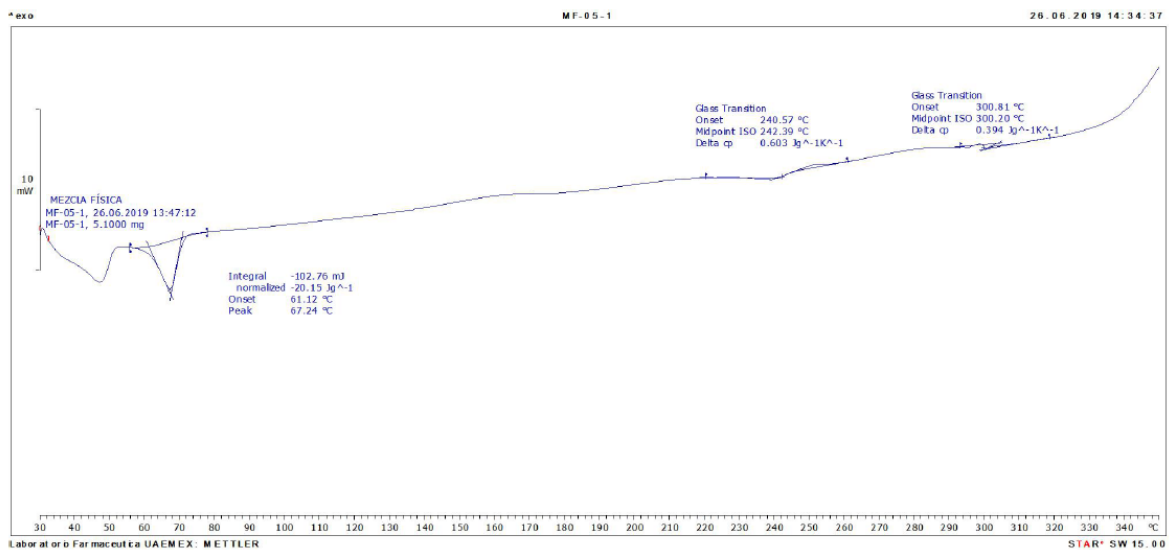
Anexo 14. Termograma de NLC cargadas con telmisartán

Evaluation: np-tel-06-1, 26.06.2019 15:12:28

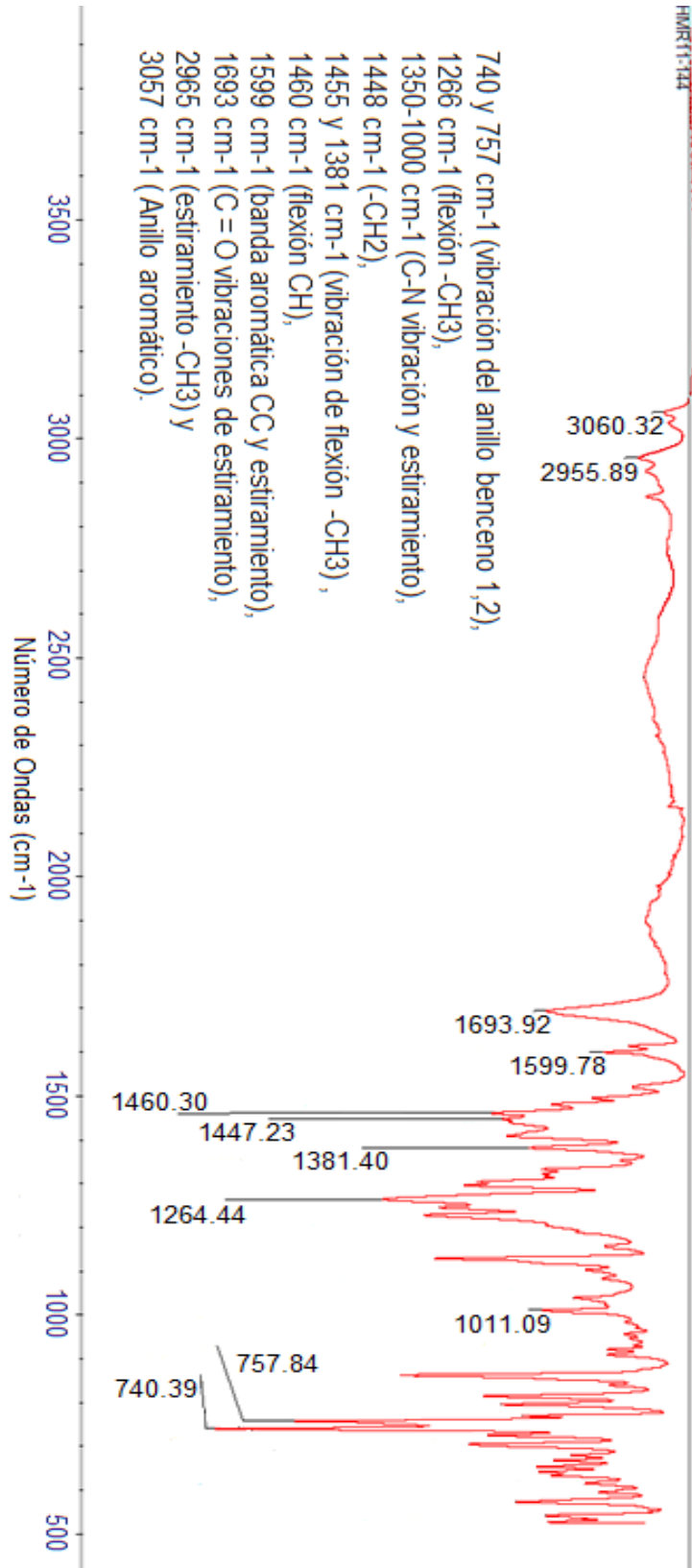


Anexo 15. Termograma de la mezcla física

Evaluation: MF-05-1, 26.06.2019 14:34:37



Anexo 16. Espectro IR de telmisartán con asignación de bandas



Anexo 17. Espectro IR de telmisartán obtenido de la literatura
Recuperado de (AL Haydar, 2015)

