



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD  
DE CIENCIAS QUIMICAS



**MODALIDAD: INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

DESARROLLO DE CRISTALES LÍQUIDOS PARA INCORPORAR  
UN EXTRACTO COMERCIAL DE *ARNICA MONTANA* Y  
EVALUAR SU PERMEACIÓN CUTÁNEA

TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO  
PREVIO PARA OPTAR POR EL GRADO DE **QUÍMICA Y  
FARMACÉUTICA**

**AUTORA**

NARCISA ERIKA BONE PRADO

**TUTOR**

LCDO. PABLO ARMANDO CHACÓN MORALES PhD.

**CO-TUTORA**

FERNANDA KOLENYAK DOS SANTOS PhD.

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**2019**



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA  
UNIDAD DE TITULACIÓN**



**FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN**

<b>TÍTULO Y SUBTÍTULO:</b>	Desarrollo de cristales líquidos para incorporar un extracto comercial de <i>Arnica montana</i> y evaluar su permeación cutánea		
<b>AUTOR(ES)</b>	Bone Prado Narcisa Erika		
<b>REVISOR(ES)/TUTOR(ES)</b>	Lcda. Carolina Santiago, Ph.D. (Revisor); Lcdo. Chacón Morales Pablo Armando PhD. (Tutor); Kolenyak dos Santos Fernanda PhD. (Cotutora).		
<b>INSTITUCIÓN:</b>	Universidad de Guayaquil		
<b>UNIDAD/FACULTAD:</b>	Ciencias Químicas		
<b>MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:</b>			
<b>GRADO OBTENIDO:</b>	Tercer Nivel- Química y Farmacéutica		
<b>FECHA DE PUBLICACIÓN:</b>		<b>No. DE PÁGINAS:</b>	51
<b>ÁREAS TEMÁTICAS:</b>	Tecnología Farmacéutica		
<b>PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:</b>	<i>Arnica montana</i> , cristal líquido, liberación prolongada, permeación cutánea		
<b>RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras):</b>	<p>Para el desarrollo del presente proyecto de investigación, se prepararon cristales líquidos para la incorporación de la <i>Arnica montana</i>. El sistema con y sin principio activo fue caracterizado por microscopia de luz polarizada donde se observó la formación de estrías y cruces de malta, lo que indica la presencia de sistemas de fase hexagonal y lamelar respectivamente. La adición de la <i>Arnica</i> mostró un campo oscuro, lo que sugiere la formación de cristal líquido. La calorimetría diferencial de barrido mostró la interacción entre los componentes de la formulación. El estudio de permeación y retención cutánea fue estudiado empleando piel de oreja de chanco y evaluado por 10 horas. Los resultados mostraron que los cristales líquidos aumentaron la permeación del principio activo hacia la sangre, los cuales podrían actuar como transportadores. Con los resultados obtenidos, se sugiere que los cristales líquidos son sistemas prometedores en la administración cutánea de la <i>Arnica montana</i>.</p>		
<b>ADJUNTO PDF:</b>	x	SI	NO
<b>CONTACTO CON AUTOR/ES:</b>	<b>Teléfono:</b> 0988405622	<b>E-mail:</b> <a href="mailto:narjes_48@hotmail.com">narjes_48@hotmail.com</a> <a href="mailto:narcisa.bonep@ug.edu.ec">narcisa.bonep@ug.edu.ec</a>	
<b>CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:</b>	<b>Nombre:</b> Sede Ciencias Químicas <b>Teléfono:</b> 042293680 <b>E-mail:</b> <a href="http://www.fcq.ug.edu.ec">www.fcq.ug.edu.ec</a>		



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS**  
**CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA**  
**UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 22 de Febrero de 2019

**Q.F. MARIANITA DE JESUS RENDON MARISCAL, M.Sc.**  
**DIRECTORA DE LA CARRERA**  
**FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS**  
**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL**  
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación: **"DESARROLLO DE CRISTALES LÍQUIDOS PARA INCORPORAR UN EXTRACTO COMERCIAL DE ÁRNICA MONTANA Y EVALUAR SU PERMEACIÓN CUTÁNEA"** de la estudiante **NARCISA ERIKA BONE PRADO**, indicando ha cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que la estudiante está apta para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,

LCDO. PABLO ARMANDO CHACÓN MORALES, PHD  
PASAPORTE N° 136895246



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA  
UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 26 de Febrero de 2019

**Dra.**

**Marianita Rendón Mariscal  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL  
Ciudad.-**

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la **REVISIÓN FINAL** del Trabajo de Titulación **DESARROLLO DE CRISTALES LÍQUIDOS PARA INCORPORAR UN EXTRACTO COMERCIAL DE ARNICA MONTANA Y EVALUAR SU PERMEACIÓN CUTÁNEA** de la estudiante **NARCISA ERIKA BONE PRADO**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de 17 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- Los soportes teóricos son de máximo 5 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

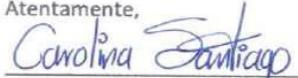
Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que la estudiante **NARCISA ERIKA BONE PRADO** está apta para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

  
DOCENTE TUTOR REVISOR

Ph.D. Carolina Santiago Dugarte

C.I. 1757829237



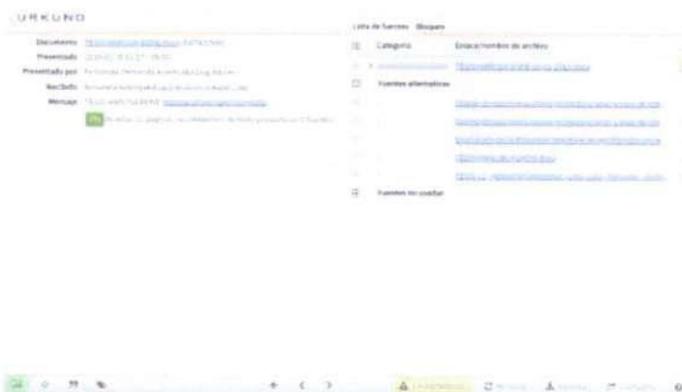
**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA  
UNIDAD DE TITULACIÓN**



## CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

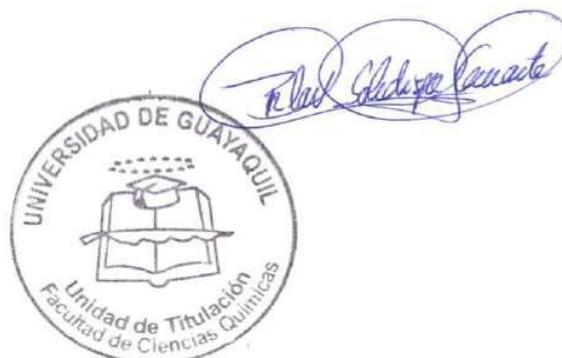
**PABLO ARMANDO CHACÓN MORALES PhD**, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por la estudiante **NARCISA ERIKA BONE PRADO, C.C.: 0930207691**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **QUÍMICO Y FARMACÉUTICO**.

Se informa que el trabajo de titulación: "**DESARROLLO DE CRISTALES LÍQUIDOS PARA INCORPORAR UN EXTRACTO COMERCIAL DE ÁRNICA MONTANA Y EVALUAR SU PERMEACIÓN CUTÁNEA**", ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio (indicar el nombre del programa antiplagio empleado) quedando el 0 % de coincidencia.



[https://secure.arkund.com/view/46347809-753974-507560?fbclid=IwAR3Q\\_IJAb0i-YYU8Dr5Kv-Mz3Kp5xhlkeiXqsTu3JSl499YiEuBI1q0Q6YA#q1bKLVayio7VUSrOTM/LTMTMTsxLTIWymqgFAA==](https://secure.arkund.com/view/46347809-753974-507560?fbclid=IwAR3Q_IJAb0i-YYU8Dr5Kv-Mz3Kp5xhlkeiXqsTu3JSl499YiEuBI1q0Q6YA#q1bKLVayio7VUSrOTM/LTMTMTsxLTIWymqgFAA==)

**Chacón Morales Pablo Armando PhD**  
Pasaporte No. 136895246



## Urkund Analysis Result

**Analysed Document:** TESIS NARCISA-BONE.docx (D47432980)  
**Submitted:** 1/31/2019 7:27:00 AM  
**Submitted By:** fernanda.kolenyakd@ug.edu.ec  
**Significance:** 0 %

Sources included in the report:

Instances where selected sources appear:

0



A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Fernanda Kolenyak", written over a circular stamp.



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA  
UNIDAD DE TITULACIÓN



## LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS

Yo, **Narcisa Erika Bone Prado** con C.I. No. **0930207691**, certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **"DESARROLLO DE CRISTALES LÍQUIDOS PARA INCORPORAR UN EXTRACTO COMERCIAL DE ÁRNICA MONTANA Y EVALUAR SU PERMEACIÓN CUTÁNEA"** son de mi absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN\*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.

**Narcisa Erika Bone Prado**  
C.I. No. **0930207691**

\*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.



Universidad de Guayaquil

**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS**  
**CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA**  
**UNIDAD DE TITULACIÓN**



Guayaquil, 31 de Enero del 2019

**APROBACIÓN DEL TUTOR**

En calidad de tutores del Trabajo de Titulación, Certifico: Que hemos asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es **“DESARROLLO DE CRISTALES LÍQUIDOS PARA INCORPORAR UN EXTRACTO COMERCIAL DE ÁRNICA MONTANA Y EVALUAR SU PERMEACIÓN CUTÁNEA.”**, presentado por NARCISA ERIKA BONE PRADO, con cédula de ciudadanía N° 0930207691, previo a la obtención del título de Químico y Farmacéutico.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Anti- plagio del programa URKUND. Lo Certifico-

**FIRMA DE TUTOR DE TESIS**

Pablo Armando Chacón Morales PhD.

**FIRMA CO-TUTORA DE TESIS**

Fernanda Kolenyak Dos Santos PhD.



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA  
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 26 de Febrero de 2019

## CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrada Ph.D. CAROLINA SANTIAGO DUGARTE, tutora revisora del trabajo de titulación: "DESARROLLO DE CRISTALES LÍQUIDOS PARA INCORPORAR UN EXTRACTO COMERCIAL DE ARNICA MONTANA Y EVALUAR SU PERMEACIÓN CUTÁNEA" certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por NARCISA ERIKA BONE PRADO C.I.: 0930207691, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Química y Farmacéutica, en la Carrera de Química y Farmacia de Facultad de Ciencias Químicas, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

A handwritten signature in blue ink that reads "Carolina Santiago".

Ph.D. Carolina Santiago Dugarte

Cédula de Identidad No. 1757829237

---

**CERTIFICADO DEL TRIBUNAL**

**Acta de Registro de la Sustentación Final**

El Tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación de la Srta. NARCISA ERIKA BONE PRADO, después de ser examinado en su presentación, memoria científica y de defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación. Denominado:

DESARROLLO DE CRISTALES LÍQUIDOS PARA INCORPORAR UN EXTRACTO COMERCIAL DE ARNICA MONTANA Y EVALUAR SU PERMEACIÓN CUTÁNEA



**Lcda. CAROLINA SANTIAGO DUGARTE PhD**

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



**MARÍA DEL CARMEN VILLACRÉS, PhD**

DOCENTE – MIEMBRO DEL TRIBUNAL



**Q.F. MARÍA ELENA JIMENEZ M.Sc.**

DOCENTE – MIEMBRO DEL TRIBUNAL



**AB. FRANCISCO PALOMEQUE ROMERO**

SECRETARIO GENERAL



Universidad de Guayaquil

**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS**  
**CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA**  
**UNIDAD DE TITULACIÓN**



---

Guayaquil, 31 de Enero del 2019

### **CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

La suscrita, **NARCISA ERIKA BONE PRADO**, autora de este trabajo declaramos ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN, nos corresponde a nosotros exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma, a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaramos que el trabajo en mención es de nuestra autoría, que todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además ratifico que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de ningún título, ni en ninguna universidad estatal y/o privada, nacional y/o extranjera.

\_\_\_\_\_  
**NARCISA ERIKA BONE PRADO**

**C.I.0930207691**

## **AGRADECIMIENTO**

*Agradezco a Dios, nada de esto podría ser posible sin ti Padre, gracias por bendecirme, guiarme, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad a lo largo de mi existencia y mi carrera.*

*A mis padres por todo su amor, comprensión, apoyo y por sus innumerables consejos que me brindaron en las decisiones que he tomado a lo largo de mi vida, unas buenas, otras malas y les agradezco infinitamente porque sé que con su cariño y educación me han formado como una mujer de bien.*

*A mi esposo y amigo Luis Jervez, por estar siempre a mi lado en todo momento y ser mi compañero inseparable, quiero agradecerte todo el amor que me das, por hacer que sea él, el que haga latir de felicidad mi corazón.*

*De igual manera mis agradecimientos a la Universidad de Guayaquil, a toda la Facultad de Ciencias Químicas, a mis profesores en especial a la Dra. Fernanda Kolenyak y al Dr. Pablo Chacón quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional y durante todo este proceso el cual permitió el desarrollo de este trabajo, gracias por su paciencia, dedicación, apoyo incondicional.*

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	XIX
ABSTRACT .....	XX
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I. PROBLEMA.....	3
I.1    PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
I.2    FORMULACIÓN PROBLEMA .....	3
I.3    HIPÓTESIS .....	3
I.4    JUSTIFICACIÓN .....	4
I.5    OBJETIVOS .....	5
I.5.1    OBJETIVO GENERAL.....	5
I.5.2    OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
CAPITULO II. REVISÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
II.1    Arnica montana .....	6
II.2    La piel .....	7
II.2.1    La epidermis.....	8
II.2.2    La dermis .....	9
II.2.3    Hipodermis.....	10
II.3    Vía cutánea para administración de fármacos .....	10
II.4    Sistemas de liberación controlada de fármacos.....	10
II.4.1    Cristales Líquidos (CL).....	11
CAPÍTULO III. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN.....	15
III.1    MATERIALES .....	15
III.1.1    Materias primas .....	15
III.1.2    Equipos.....	15
III.2    METODOLOGÍA .....	15
III.2.1    Preparación de los cristales líquidos.....	15
III.2.2    Microscopía de luz polarizada.....	16
III.2.3    Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	16
III.2.4    Preparación de la solución madre .....	16
III.2.5    Estudios de Permeabilidad cutánea <i>in vitro</i> .....	17
III.2.6    Estudio de retención cutánea <i>in vitro</i> .....	17
CAPÍTULO IV. RESULTADOS.....	18
IV.1    Preparación de los Cristales Líquidos .....	18
IV.2    Evaluación Microscópica: Microscopia de Luz polarizada .....	18
IV.3    Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	20

IV.4 Construcción de una curva analítica.....	22
IV.5 Estudios de Permeabilidad cutánea <i>in vitro</i> .....	23
IV.6 Estudio de retención cutánea <i>in vitro</i> .....	25
CONCLUSIÓN.....	27
RECOMENDACIÓN.....	28
BIBLIOGRAFÍA .....	29
ANEXOS.....	36

**ÍNDICE DE TABLAS**

<b>Tabla 1.</b> Composición de los Cristales Líquidos con y sin Arnica Montana .....	15
--	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Flor de Arnica montana.....	6
<b>Figura 2.</b> La piel y sus partes.....	8
<b>Figura 3.</b> Relación de la fase líquido-cristalina con las fases sólida y líquida.....	11
<b>Figura 4.</b> Representación esquemática de formación de los cristales líquidos: termotrópicos..	13
<b>Figura 5.</b> Representación esquemática de las diferentes estructuras cristalinas.....	13
<b>Figura 6.</b> Fases de los cristales líquidos calamíticos: a) fase nemática y b) fase esméctica.....	14
<b>Figura 7.</b> Ejemplos de estructuras de un cristal líquido calamítico (A) y discótico .....	14
<b>Figura 8.</b> Cristal líquido sin y con principio activo.....	18
<b>Figura 9.</b> Microscopía de luz polarizada de los sistemas sin Arnica montana .....	19
<b>Figura 10.</b> Microscopía de luz polarizada de los sistemas con Arnica montana.....	20
<b>Figura 11.</b> DSC para los componentes de la formulación.....	21
<b>Figura 12.</b> DSC para los cristales líquidos .....	21
<b>Figura 13.</b> Curva analítica de la Arnica montana.....	22
<b>Figura 14.</b> Perfil de permeación cutánea del Arnica libre y encapsulada en los CL.....	24
<b>Figura 15.</b> Curva retención de la muestra vs fármaco .....	25

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo I.</b> Extracto comercial de Arnica montana .....	36
<b>Anexo II.</b> Micropipeta Labnet del laboratorio de análisis de medicamentos .....	36
<b>Anexo III.</b> Microscopio del laboratorio de Química Orgánica.....	36
<b>Anexo IV.</b> Espectrofotómetro UV- Vis Shimadzu del laboratorio de análisis de medicamentos	36
<b>Anexo V.</b> Viales Eppendorf de 2mL de cada colecta unas CL y otras con p.a. ....	36
<b>Anexo VI.</b> Extracción del estrato corneo de la oreja de cerdo. ....	36
<b>Anexo VII.</b> Datos para la elaboración de la curva de permeación y retención cutánea para la liberación prolongada de la muestra. ....	37
<b>Anexo VIII.</b> Datos para la elaboración de la curva de permeación y retención cutánea para la liberación prolongada de fármaco. ....	37

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**Am:** *Arnica montana*

**Ao:** Ácido oleico

**P.A:** Principio activo

**CL:** Cristales líquidos

**CLT:** Cristales líquidos Termotrópicos

**CLL:** Cristales líquidos Liotrópicos

**N:** Nemática

**Sm:** Esméctica

**UV:** Ultravioleta

**DMLP:** Microscopía de luz polarizada

**DSC:** Calorimetría diferencial de barrido

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

### **Ácido hialurónico:**

Es una biomolécula constituyente de los seres vivos se concentra en las articulaciones, los cartílagos y la piel. Es una sustancia que se encuentra de manera natural en nuestro organismo. En efecto, pertenece al colágeno que se encuentra en la piel. Ayuda a mantenerla hidratada.

### **Anejos cutáneos:**

Son estructuras dependientes de la piel. Proceden de las células epidérmicas de la capa basal, constituidos por el pelo, las uñas y las glándulas sebáceas y sudoríparas.

### **Capa papilar:**

La dermis papilar compone la dermis; está constituida por tejido conectivo laxo, ubicada por debajo de la epidermis.

### **Células de Langerhans:**

También conocidas como células dendríticas, participan en la inmunidad de piel, ayudando a reconocer y destruir los microorganismos que ingresan a la piel, son sensibles a la luz UV.

### **Células de Merkel:**

Células localizadas en la capa basal de la epidermis, en los dedos, en las mucosas y en la vaina epitelial exterior de los folículos pilosos.

### **Condroitinsulfato:**

Se encuentra asociado a proteínas constituyendo agregados de alto peso molecular denominados proteoglicanos. Una cadena de condroitín puede estar constituida por más de 100 azúcares individuales.

### **Dermatansulfato:**

Tipo de proteoglicano de la matriz extracelular que se encuentra en la piel y en los vasos sanguíneos.

**Desmosomas:**

Estructuras celulares que mantienen adheridas a células vecinas.

**Glucosaminoglicanos:**

Polisacárido muy largo y no ramificado, compuesto por unidades repetitivas de disacáridos.

**Melanocitos:**

Los melanocitos son células especializadas en la producción de melanina, el principal pigmento responsable de la coloración de la piel, los ojos y el pelo

**Membrana basal:**

Lámina delgada y con gran flexibilidad de colágeno, cuya función principal es darle sostén a los distintos tejidos que conforman al cuerpo humano.

**Micelas:**

Conjunto de moléculas que constituye una de las fases de los coloides, las cuales tienen una "cabeza" polar y una "cola" no polar adheridas a una partícula o glóbulo de una sustancia que se encuentra en un medio en el cual no es soluble.

**Paralelismo:**

Igualdad de distancia entre todos los puntos de dos o más líneas o planos.

**Queratinocitos:**

Células que producen queratina y producen citocinas que son moléculas solubles que regulan las células epiteliales y células dérmicas.

**Queratinas:**

Son una familia compleja de proteínas que forman las células epiteliales constituyen el 90% de la epidermis, ayudan a proteger la piel, y los tejidos subyacente.

**Queratohialina:**

Es la encargada de formar queratina blanda que se localiza en la epidermis y en algunas partes del pelo.

**Zigomorfa:**

Órgano o parte orgánica del organismo entero, que tiene simetría bilateral en un solo plano en dos partes iguales.



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS CARRERA:  
QUÍMICA Y FARMACIA



## UNIDAD DE TITULACIÓN

---

**“DESARROLLO DE CRISTALES LIQUIDOS PARA INCORPORAR UN EXTRACTO COMERCIAL DE *ARNICA MONTANA* Y EVALUAR SU PERMEACIÓN CUTÁNEA”**

**Autor:** Narcisa Erika Bone Prado

**Tutor:** Lcdo. Pablo Armando Chacón Morales PhD.

### RESUMEN

Para el desarrollo del presente proyecto de investigación, se prepararon cristales líquidos para la incorporación de la *Arnica montana*. El sistema con y sin principio activo fue caracterizado por microscopia de luz polarizada donde se observó la formación de estrías y cruces de malta, lo que indica la presencia de sistemas de fase hexagonal y lamelar respectivamente. La adición de la *Arnica* mostró un campo oscuro, lo que sugiere la formación de cristal líquido. La calorimetría diferencial de barrido mostró la interacción entre los componentes de la formulación. El estudio de permeación y retención cutánea fue estudiado empleando piel de oreja de chancho y evaluado por 10 horas. Los resultados mostraron que los cristales líquidos aumentaron la permeación del principio activo hacia la sangre, los cuales podrían actuar como transportadores. Con los resultados obtenidos, se sugiere que los cristales líquidos son sistemas prometedores en la administración cutánea de la *Arnica montana*.

**Palabras Claves:** *Arnica montana*, cristal líquido, liberación prolongada, permeación cutánea.



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS**  
**CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA**  
**UNIDAD DE TITULACIÓN**



---

**"DEVELOPMENT OF LIQUID CRYSTALS TO INCORPORATE A COMMERCIAL EXTRACT OF  
*ARNICA MONTANA* AND EVALUATE ITS CUTANEOUS PERMEATION".**

**Author:** Narcisa Erika Bone Prado

**Advisor:** Lcdo. Pablo Armando Chacón Morales PhD

**ABSTRACT**

For the development of the present research project, liquid crystals were prepared for the incorporation of the *Arnica montana*. The system with and without active principle was characterized by polarized light microscopy where the formation of striations and malt crosses was observed, which indicates the presence of hexagonal and lamellar phase systems respectively. The addition of the *Arnica* showed a dark field, which suggests the formation of liquid crystal. The differential scanning calorimetry showed the interaction between the components of the formulation. The permeation and skin retention study was studied using pig ear skin and evaluated for 10 hours. The results showed that the liquid crystals increased the permeation of the active principle to the blood, which could act as transporters. With the results obtained, it is suggested that liquid crystals are promising systems in the cutaneous administration of *Arnica montana*.

**Keywords:** *Arnica montana*, liquid crystal, prolonged release, skin permeability

## INTRODUCCIÓN

La *Arnica montana* (Am) es una planta aromática perenne conocida naturalmente como estornudadera. Es usada tradicionalmente en forma de tintura para uso tópico debido a que contiene propiedades antiinflamatorias, analgésica, antifúngica, entre otros (Gómez, 2017; Arroba & Elizabeth, 2018). La vía tópica es muy estudiada como alternativa para la administración de fármacos sobre la capa más externa de la piel. Estas formulaciones contienen uno o más fármacos cuyo propósito es solucionar los problemas cutáneos, manteniendo el efecto farmacológico en la superficie y/o dentro del área de aplicación sin alcanzar al torrente circulatorio, para poder conseguir un efecto local esperado con formulaciones tópicas, ésta debe incluir el aumento del tiempo de permanencia de la composición sobre la zona de interés, así como el desarrollo de matrices que controlan la liberación del fármaco (González,2017; Quirino et al.,2017).

Los sistemas de liberación controlada de fármacos fueron desarrollados con la finalidad de mejorar las limitaciones que presentan los sistemas convencionales, ya que mantienen la concentración de los fármacos en un período prolongado, utilizando dosis única. El fármaco es liberado en una concentración suficiente para producir el efecto terapéutico, después se sigue liberando lentamente en un periodo que dura aproximadamente de 6-8 horas (Ferreira, 2016; Marras, 2016; Bonilla, 2018).

Los transportadores de medicamentos iniciaron con estructuras de liposomas, para abrir camino al trabajo con nanotransportadores, entre ellos, los cristales líquidos(CL) que en la actualidad desempeñan un papel importante como vehículos de medicamentos, estos transportadores mejoran la estabilidad de un fármaco para poder ser aplicado por vía dérmica. La principal razón del uso de los cristales líquidos es de gran interés debido a que, además de ser un potencial para el sistema de administración controlada de medicamentos, también sirve como

alternativa para la administración de medicamentos con baja toxicidad (Singhvi, Banerjee & Khosa, 2018; Czajkowska-Kosnik, Szekalska & Winnicka, 2018).

Un CL es un estado de agregación que se encuentra entre las fases sólidas y líquidas. Ésta es llamada mesofase, y se caracteriza por tener un orden de orientación de largo alcance y un orden de posición de corto alcance. Así, el cristal líquido adquiere algunas propiedades tanto de sólidos como de líquidos (Castro, 2017; Marín, 2017).

Considerando esto, el presente proyecto tiene como finalidad desarrollar cristales líquidos para incorporar un extracto comercial de Arnica montana y evaluar su permeación cutánea.

## **CAPÍTULO I. PROBLEMA**

### **I.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La *Arnica montana* es una planta aromática muy usada en forma de tintura para uso externo. Actualmente se usan preparados con los extractos de *Arnica* para estimular la circulación y el corazón. Su flor posee sustancias que presentan propiedades antiinflamatorias, para aliviar contusiones, torceduras, traumatismos, moretones, esguinces, espasmos musculares, dolores musculares, de las articulaciones y la artritis a menudo asociados con la actividad deportiva, ya sea en forma de tintura o en aceite y siempre por vía tópica. Sin embargo, se necesita varias aplicaciones del producto para presentar los efectos mencionados, esto dificulta su uso, ya que las cremas convencionales no favorecen la penetración de la *Arnica*, de esta manera, se requieren dosis elevadas de la sustancia activa con la finalidad de llegar hacia la sangre. Las cremas convencionales no presentan la propiedad transportadora, es decir, para que una sustancia activa pueda penetrar la piel y llegar a la sangre, esta necesita cruzar el estrato corneo y toda la epidermis, en este contexto, los sistemas de liberación prolongados, presentan una importante ventaja, ya que sus reducidos tamaños de partículas facilitan el transporte de sustancias activas y además mantienen su acción por un periodo prolongado.

### **I.2 FORMULACIÓN PROBLEMA**

¿Podrán los cristales líquidos aumentar la permeación cutánea del extracto comercial de *Arnica montana*?

### **I.3 HIPÓTESIS**

Los cristales líquidos aumentan la permeación cutánea del extracto comercial de *Arnica montana*.

## I.4 JUSTIFICACIÓN

Los sistemas de liberación prolongados son caracterizados por aumentar el tiempo de permanencia de fármacos en el torrente sanguíneo, además pueden actuar como transportadores de sustancias activas en la piel hacia a la sangre. La *Arnica montana* es de gran importancia para tratar los problemas de circulación sanguínea incluyendo las varices, para esto se debe utilizar la crema por un período prolongado. Debido a la escasez de cremas para tratamiento de la circulación sanguínea a base de sistemas de liberación prolongada, se propone desarrollar una nueva alternativa tecnológica de crema que puede favorecer la eficacia terapéutica y disminuir el número de dosis administradas.

## **I.5 OBJETIVOS**

### **I.5.1 OBJETIVO GENERAL**

- Desarrollar cristales líquidos para incorporar un extracto comercial de *Arnica montana* y evaluar su permeación cutánea.

### **I.5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la caracterización fisicoquímica de los cristales líquidos con y sin *Arnica montana*.
- Estudiar la permeación cutánea de la *Arnica montana* incorporado a los cristales líquidos.

## CAPITULO II. REVISÓN BIBLIOGRÁFICA

### II.1 *Arnica montana*

La *Arnica montana* (Am) es una planta aromática perenne conocida naturalmente como estornudadera, guerrillera o tabaco de montaña, está oficialmente incluida en la Farmacopea Europea (Gómez, 2017). Sin embargo existen otras especies como: *A. angustifolia*, *A. chamissonis* L., *A. cordifolia*, *A. latifolia* y *A. sororia*, y la *Heterotheca inuloides* que comúnmente recibe el nombre de “*Arnica*” y se utiliza de igual forma, pero esta no presenta las mismas propiedades del *Arnica montana* (Gafner, 2016; Sugier et al., 2017; Rodríguez-Chávez et al., 2017).

Tiene una altura aproximadamente entre 20 y 60 cm, con pocas ramas, en la base se encuentra una roseta de hojas lanceoladas, distribuidas en el suelo, su tallo es erguido y del centro de la roseta emerge un tallo redondeado y piloso que terminan con forma de cabezuela, de 7-8 cm de diámetro. Las flores de la Am son amarillas, periféricas, liguladas, compuestas por un cáliz, representado por cerdas erizadas y de puntas finas, con una corola zigomorfa, como muestra en la *Figura 1* (Gómez, 2017; Karenina, 2018).



*Figura 1.* Flor de *Arnica montana*.

Fuente: Ceballos (2015)

En su composición química se encuentra un aceite fundamental rico en alcaloide llamado *Arnicina*, cuya función es reducir los efectos de las contusiones musculares y tumefacción, además presenta la *Inulina*, que

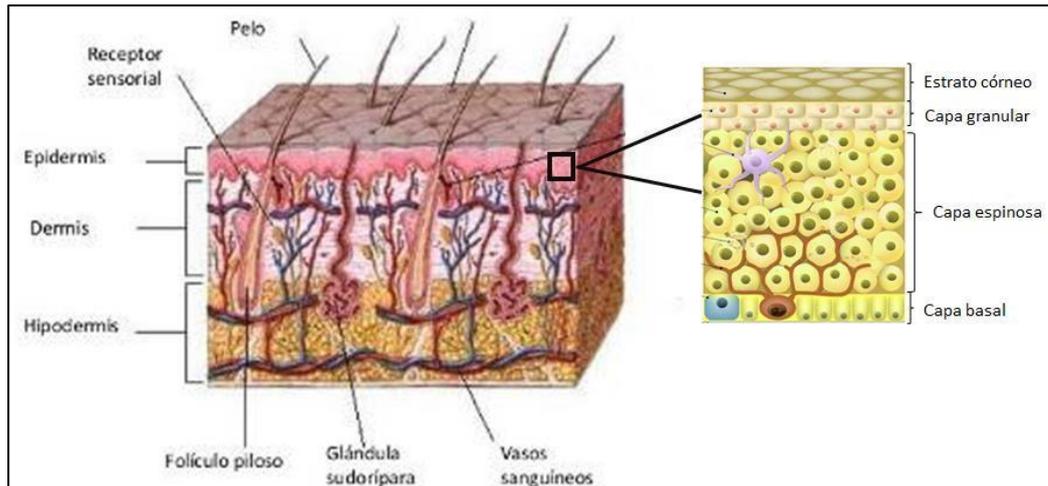
es una sustancia amilácea la cual actúa promoviendo una posible dilatación sobre los vasos sanguíneos y los capilares (Sainz,2016). Es usada tradicionalmente en forma de tintura para uso tópico debido a sus distintas funciones, como: cerrar heridas, contiene propiedades antiinflamatorias, analgésica, antifúngica, entre otros. (Gómez, 2017; Arroba & Elizabeth, 2018). El uso tópico del Am para el tratamiento de contusiones ha sido muy aceptado debido a sus propiedades antiinflamatorias que auxilia en la circulación sistémica (Oliosio et al., 2016; Waizel-Bucay, Waizel-Haiat & Revilla-Peñaloza, 2017).

En un estudio realizado por Oliosio y colaboradores (2016), los autores evaluaron la actividad antiinflamatoria de la Am. Los resultados sugieren una posible regulación del Am, sobre la disminución de los genes proinflamatorios lo que implican un efecto relevante en la actividad antiinflamatoria. Con lo expuesto, los autores concluyen que la *Arnica montana* presenta una ligera pero significativa acción antiinflamatoria.

En los últimos años, se han desarrollado varios estudios, sobre el efecto antiinflamatorio y celular de *Arnica montana*, uno de ellos fue realizado por Cubillos (2018) en las cuales evaluó el efecto antiinflamatorio por medio de modelos de inflamación aguda y crónica, que mostró un efecto significativo en la reducción de la respuesta inflamatoria de *Arnica montana* asociado con una reducción significativa de la permeabilidad vascular inducida por histamina.

## **II.2 La piel**

La piel (*Figura 2*), forma parte del sistema tegumentario considerada como una barrera de separación para proteger los órganos más vitales. Está formada por tres capas (epidermis, dermis e hipodermis) que proporcionan una barrera protectora contra los acometidos mecánicos, químicos, tóxicos, calor, frío, radiaciones UV y microorganismos patógenos además, debido a su propiedad semipermeable, la piel evita la pérdida de agua y electrolitos (Wilkinson y Moore, 1990; Kolarsick, et al., 2011; Pérez & Noriega, 2018).



*Figura 2.* La piel y sus partes.

## II.2.1 La epidermis

La epidermis es un tejido que cuenta con un epitelio plano estratificado queratinizado, contiene terminaciones nerviosas pero no vasos sanguíneos además, están compuestas básicamente por las células como son: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans, y las células de Merkel (Martí, 2017; Maceo, 2018).

### II.2.1.1 Estratos de la epidermis

La epidermis es una capa en constante renovación que está organizada en cinco estratos: basal, espinoso, granuloso, lúcido y córneo como se observa en la (Delgado, 2017; Megías, Molist y Pombal, 2018).

- **Estrato basal**

Es el estrato que se encuentra en los más profundo de la piel, consta de células cilíndricas, citoplasma basófilo, numerosos desmosomas y está compuesta por una fila de células que une la epidermis a la membrana basal con las células del estrato espinoso además está constituida por células madre que producen mitosis el cual promueven constantemente células nuevas que van ascendiendo a la epidermis hasta que se desprenden en la superficie cutánea (Del Castillo, 2016; Sotomayor, 2017).

- **Estrato espinoso.**

El estrato espinoso comprende células que sintetizan queratina y está formado por melanocitos y células de Langerhans las cuales se encuentran unidos por puentes celulares, que son los que confieren a las células su apariencia espinosa (Delgado,2017; Ordóñez,2018).

- **Estrato granuloso.**

El estrato granuloso posee queratinocitos que se caracterizan por tener el citoplasma cargado de gránulos de queratohialina que es un precursor de la queratina. Los gránulos se fusionan con la membrana plasmática y contribuyen a formar una barrera que impermeabiliza e impide la penetración de sustancias (Gómez, 2017;Chugchilan, 2018).

- **Estrato lúcido.**

El estrato lúcido presenta células carentes de núcleo, debido a esto, es posible observar una mayor actividad enzimática. Éste es más evidente en la piel gruesa como es las palmas de las manos y las plantas de los pies ya que éstos posee una capa de queratinocitos responsables de la producción de queratina (Gómez, 2017).

- **Estrato córneo.**

Es la capa más superficial de la piel, está formado por células muertas (queratinizadas), endurecidas aplanadas llamadas córneas. Están firmemente unidas entre sí formando estructuras semejantes a las tejas, abarcan aproximadamente de 15 a 20 estratos celulares (Gómez, 2017; Chugchilan, 2018).

## **II.2.2 La dermis**

Está localizada por debajo de la epidermis, es un sistema integrado de fibras filamentosas, elásticas y tejido conectivo amorfo formado por la sustancia fundamental, colágeno y elastina. La sustancia fundamental impregna una considerable cantidad de agua formando un gel, está compuesta por glucosaminoglicanos, ácido hialurónico, condroitinsulfato y dermatansulfato (Martí,2017; Sinche,2018).

La dermis está dividida básicamente en dos capas, siendo una denominada papilar y la otra reticular. La capa papilar rodea los anejos cutáneos, es la parte más superficial y limita su parte superior con la epidermis. La capa más profunda es llamada reticular, está formada normalmente por fibras de colágeno más gruesos y se encuentra en contacto su parte inferior con la hipodermis (González, 2017).

### **II.2.3 Hipodermis**

Es la capa más profunda de la piel denominada grasa subcutánea o panículo adiposo, su principal célula es el adipocito, sirve de almacén de energía además, de aislante térmico, es un reservorio de fluidos, electrolitos, energía y actúa como protector mecánico frente a golpes, está compuesta de tejido conectivo laxo y tejido graso que permiten el movimiento de la piel, también consta de ligamentos cutáneos, nervios cutáneos, lóbulos de grasa, fibras colágenas, vasos sanguíneos y linfáticos. El grosor de la hipodermis varía de acuerdo a la localización, el peso corporal, el sexo o la edad (Hernández, 2016; Winther, 2017).

### **II.3 Vía cutánea para administración de fármacos**

La vía tópica es muy estudiada como alternativa para la administración de fármacos sobre la capa más externa de la piel. Estas formulaciones contienen uno o más fármacos cuya intención es solucionar los problemas cutáneos, manteniendo el efecto farmacológico en la superficie y/o dentro del área de aplicación sin alcanzar al torrente circulatorio, para poder conseguir un efecto local esperado con formulaciones tópicas, ésta debe incluir el aumento del tiempo de permanencia de la composición sobre la zona de interés, así como el desarrollo de matrices que controlan la liberación del fármaco (González,2017; Quirino et al.,2017).

### **II.4 Sistemas de liberación controlada de fármacos**

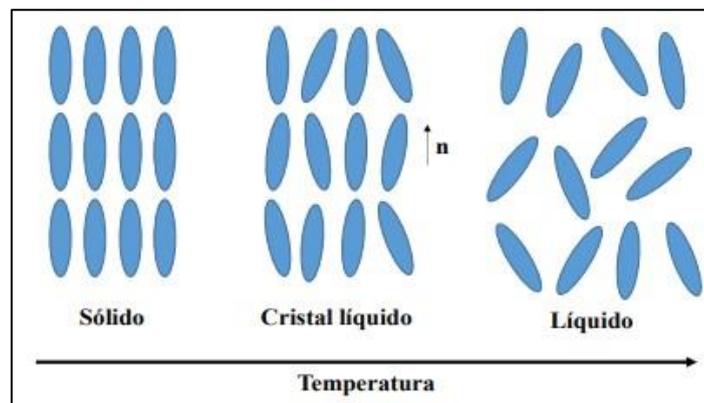
Los sistemas de liberación controlada de fármacos fueron desarrollados con la finalidad de mejorar las limitaciones que presentan los sistemas convencionales, ya que mantienen la concentración de los fármacos en un período prolongado, utilizando dosis única. El fármaco es liberado en una

concentración suficiente para producir el efecto terapéutico, después se sigue liberando lentamente en un periodo que dura aproximadamente de 6-8 horas (Ferreira, 2016; Marras, 2016; Bonilla, 2018).

#### II.4.1 Cristales líquidos (CL)

Los cristales líquidos (CL) fueron descritos por primera vez en 1888 por el botánico austriaco Friedrich Reinitzer al calentar una muestra de benzoato de colesterilo. Reinitzer observó que aparecía un líquido turbio a 145 °C y luego un líquido transparente a 178 °C., pero fue en 1889 que el físico alemán Otto Lehmann que descubrió su estructura molecular cristalino, designándolo como cristal líquido (Díaz, 2015; Quirino et al.,2017).

Un CL es un estado de agregación que se encuentra entre las fases sólidas y líquidas (Figura 3). Ésta es llamada mesofase, y se caracteriza por tener un orden de orientación de largo alcance y un orden de posición de corto alcance. Así, el cristal líquido adquiere algunas propiedades tanto de sólidos como de líquidos (Castro, 2017; Marín, 2017).



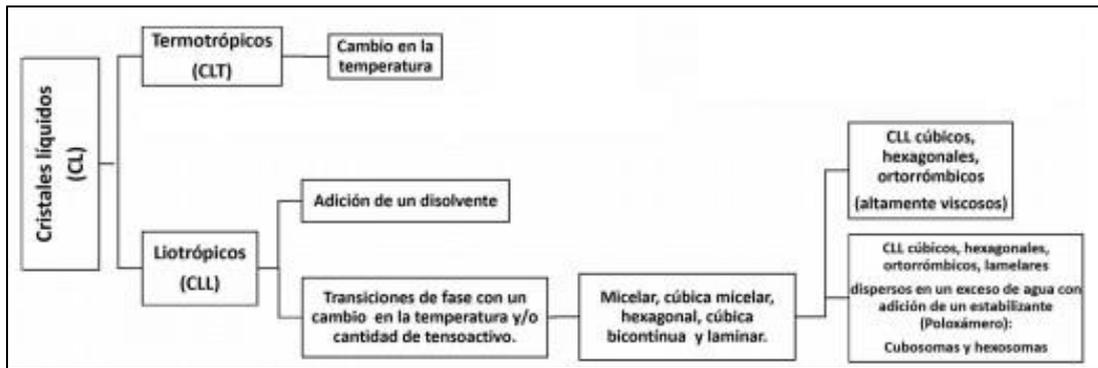
**Figura 3.** Relación de la fase líquido-cristalina con las fases sólida y líquida

Fuente: Pastor (2018)

Los cristales líquidos pueden clasificarse de acuerdo a su composición en:

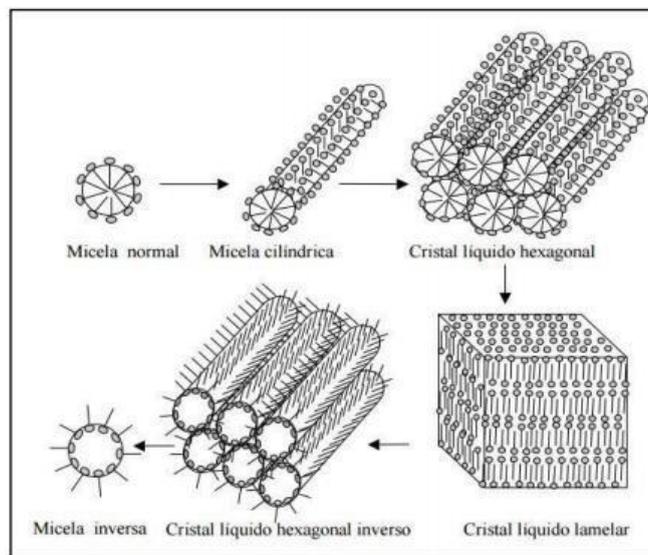
- **Termotrópicos:** Presentan la fase cristalina cuando se genera por transición de mesofase a la temperatura de ciertos sólidos, de modo que aumente la temperatura, estos materiales pasan de sólido cristalino a cristal líquido, posteriormente, a líquido isotrópico y finalmente a la fase de vapor. Cuando el cristal líquido termotrópico (CLT) posee mesofase en los procesos de calentamiento y de enfriamiento, son denominados enantiotrópica o termodinámicamente estable, cuando la fase cristalina solo se encuentra en el proceso de enfriamiento a este tipo transición de fase se le conoce como monotrópica o termodinámicamente inestable (Levi, 2016; Fuentes, 2017).
- **Liotrópicos (CLL):** Estos son formados cuando se destruye la red cristalina, normalmente por la adición del algún disolvente. La mesofase de los CLL son dependientes de la concentración y de la temperatura dentro de un intervalo de 20 y 80 °C, así como en condiciones mecánicas óptimas: agitación, ultrasonificación, etc; también, están constituidos por moléculas anfifílicas que presentan dos regiones: una polar que es la parte hidrofílica (cabeza) y una apolar que es hidrofóbica (cola) (López, 2015; Fuentes, 2017).

Al incrementar la concentración del solvente y/o la temperatura, la hidratación y solvatación de las moléculas tipo varilla forman micelas que pueden ser clasificadas como: a) La laminar que resulta de los cilindros que se acomodan en láminas que se alternan en capas polares y no polares, b) La hexagonal donde la cantidad de agua o disolvente no polar que se agrega es limitada, c) La hexagonal inversa y, d) La cúbica que se forma al cambiar la geometría molecular durante la solvatación (Sánchez, 2017; Quirino et al., 2017). La representación esquemática se muestra en la Figura 4 y 5.



**Figura 4.** Representación esquemática de formación de los cristales líquidos: termotrópicos

Fuente: Quirino, et al., (2017).



**Figura 5.** Representación esquemática de las diferentes estructuras cristalinas.

Fuente: Jiménez (2017)

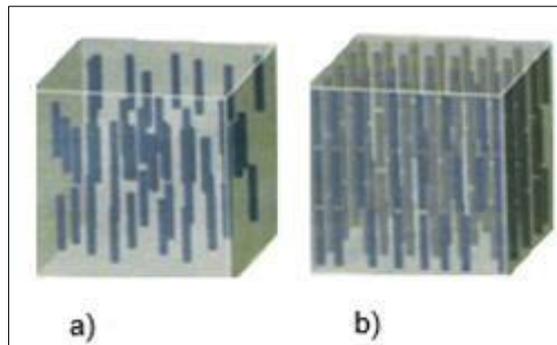
### Clasificación de los CLT

Las moléculas que constituyen un cristal líquido se denominan mesógenos. Según su forma geométrica los cristales líquidos termotrópicos se clasifican en:

1. **Calamíticos:** Están compuestos por dos o más anillos aromáticos y uno o varios grupos terminales flexibles además, expresan la relación longitud/diámetro la cual es muy alta, contiene moléculas alargadas forma de vara, rodillo o bastón es decir que presenta un eje más largo que los

otros dos. La representación de las diferentes fases cristalinas están exhibidas en la Figura 6.

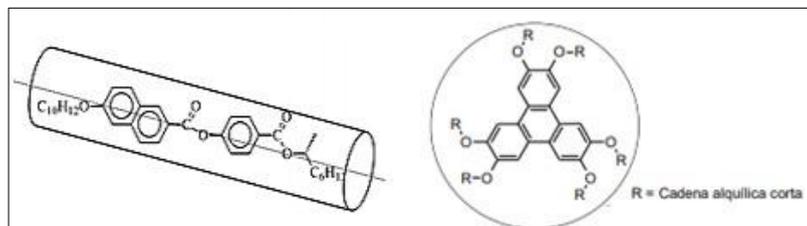
- **Fase nemática (N):** Las moléculas del cristal líquido carecen de orden posicional, sin embargo poseen orden orientacional paralelamente unas a otras. La mesofase debe su fluidez a la facilidad con que las moléculas pueden deslizarse unas sobre otras mientras mantienen su paralelismo (Zimmermann, 2015; Fuentes, 2017).
- **Fase esméctica (Sm):** Las moléculas se localizan en capas que mantienen orden de orientación y de posición, tienden a alinearse por sí mismas en diferentes planos (Contreras, 2015; Santos, 2016).



**Figura 6.** Fases de los cristales líquidos calamíticos: a) fase nemática y b) fase esméctica.

Fuente: García y Moyano (2016)

2. **Discóticos:** poseen forma de disco con núcleos rígidos aromático rodeado por al menos tres cadenas alquiales flexibles (Figura 7), también expresan la relación longitud/diámetro la cual es muy pequeña, además contiene moléculas con forma de disco (Alatorre,2016; Pastor,2018)



**Figura 7.** Ejemplos de estructuras de un cristal líquido calamítico (A) y discótico

Fuente: Adaptada de Alatorre (2016)

## CAPÍTULO III. METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

### III.1 MATERIALES

#### III.1.1 Materias primas

- Aceite (Ácido Oleico).
- Agua destilada
- *Arnica montana*
- Tensoactivo (Tween 80).

#### III.1.2 Equipos

- Balanza (mg): Genersa<sup>®</sup> S.A. instrumentación química
- Fotomicroscopio (Microscopio Leica DMLP)
- Espectrofotometro UV: Shimadzu<sup>®</sup> UV-VIS 1700 PharmaSpec
- Calorimetría diferencial de barrido (DSC): Mettler DSC1
- Permeador cutáneo
- Vórtex
- Lavadora ultrasónica

### III.2 METODOLOGÍA

#### III.2.1 Preparación de los cristales líquidos

Los Cristales Líquidos (LC) fueron preparados, según el punto del diagrama de fases desarrollado por Reyes y Murillo (2018). Para ello, se utilizó Tween 80 (60%) como tensoactivo, ácido oleico al 10% (aceite) y agua (30%). Las muestras serán caracterizadas con y sin *Arnica montana*.

*Tabla 1.* Composición de los Cristales Líquidos con y sin Arnica Montana

Muestra	Agua (%)	Tw80 (%)	Ao (%)	Am (%)
CL	30	60	10	–
CL-Am	30	60	10	20

### **III.2.2 Microscopía de luz polarizada**

Se observaron las estructuras de los cristales líquidos por medio de un fotomicroscopio (Microscopio Leica DMLP) el cual está equipado con una cámara: primero, bajo el campo brillante y, en segundo lugar, bajo luz polarizada (usando polarizadores cruzados) para así investigar la presencia de la fase cristalina líquida en cada muestra. Se utilizó el software Leica IM 1000 para analizar las micrografías obtenidas.

### **III.2.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)**

El análisis DSC se realizó en la “Universidade Estadual Paulista (UNESP-Araraquara, Brasil)”, por medio del equipo Mettler DSC1 (Mettler Toledo, Gieben, Suiza), con ayuda del software STAR® se calculará la entalpia, la temperatura inicial y de fusión. El análisis se realizará bajo una purga de nitrógeno ( $40\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ), se utilizó una bandeja estándar de aluminio vacía ( $40\ \mu\text{L}$ ) como referencia. Se tomó aproximadamente  $4,0\ \text{mg}$  de muestra para el análisis. Los barridos del DSC se registraron a una velocidad de calentamiento y enfriamiento de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Las muestras se congelaron de  $25^{\circ}\text{C}$  a  $-80^{\circ}\text{C}$  y luego se calentaron desde  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta  $120^{\circ}\text{C}$ .

### **III.2.4 Preparación de la solución madre**

La solución madre fue preparada a una concentración de 20 %: se midió  $10\ \text{mg/mL}$  de *Arnica montana*, se disolvieron previamente en  $20\ \text{mL}$  de *buffer* a pH 7.4 y se llevó a un volumen final de  $50\ \text{mL}$ , se tomó  $100\ \mu\text{L}$  y se llevó a un volumen de  $25\ \text{mL}$ .

#### **III.2.4.1 Construcción de una curva analítica**

La metodología se realizó empleando los parámetros descritos por la USP 38 NF 33 (2015). Se construyó una curva analítica de 6 puntos, realizando diluciones a partir de una solución madre de  $50\ \text{mg/mL}$ , todas las lecturas se realizaron por triplicado.

### **III.2.5 Estudios de Permeabilidad cutánea *in vitro*.**

En los ensayos de permeación y retención cutánea *in vitro*, las orejas fueron lavadas, los pelos en exceso fueron removidos con la ayuda de una tijera. A continuación, se disecaron las orejas, separando la piel del cartílago con la ayuda de una lámina y luego separada del tejido adiposo. Antes del ensayo, las pieles fueron hidratadas, y recortadas en tamaños adecuados para los ensayos de permeabilidad cutánea. En seguida se colocaron en la célula de difusión, con el lado de la dermis hacia abajo en contacto con la solución receptora y la parte superior, es decir el estrato córneo se añadió la formulación.

### **III.2.6 Estudio de retención cutánea *in vitro***

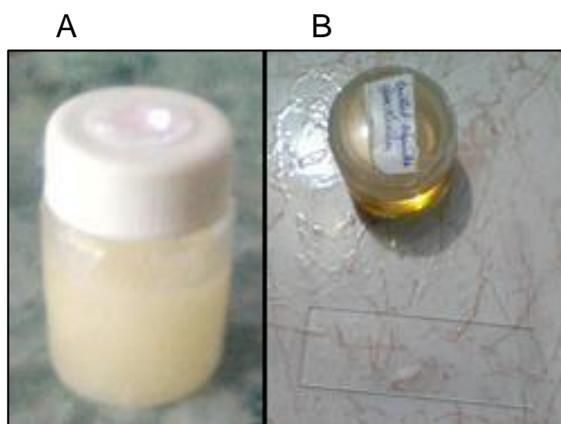
La piel quedó expuesta por 6 o 12 horas en las condiciones experimentales de la permeación cutánea *in vitro*. Al final del experimento, las pieles fueron retiradas de la célula de difusión. Las pieles fueron fijadas en superficie lisa y el área expuesta a la formulación (1,77 cm<sup>2</sup>) se sometió a la técnica *tape stripping* (Silva, 2011) para la eliminación del estrato córneo (EC) usando 16 cintas adhesivas (Scotch 750 3M), para cada piel.

Las cintas se colocaron en un tubo de ensayo que contiene 5 mL de metanol, se agitó en vórtex por 2 minutos y posteriormente se colocó en la lavadora ultrasónica por 30 minutos. La solución fue filtrada y cuantificada por espectrofotometría ultravioleta.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS

### IV.1 Preparación de los Cristales Líquidos

Los CL son sistemas homogéneos que se caracterizan por su transparencia y estabilidad a por un tiempo prolongado sin que ocurra la separación de fases. Estos sistemas fueron preparados según lo descrito en el capítulo III la sección III.2.1, y el resultado se muestra en la Figura 8.

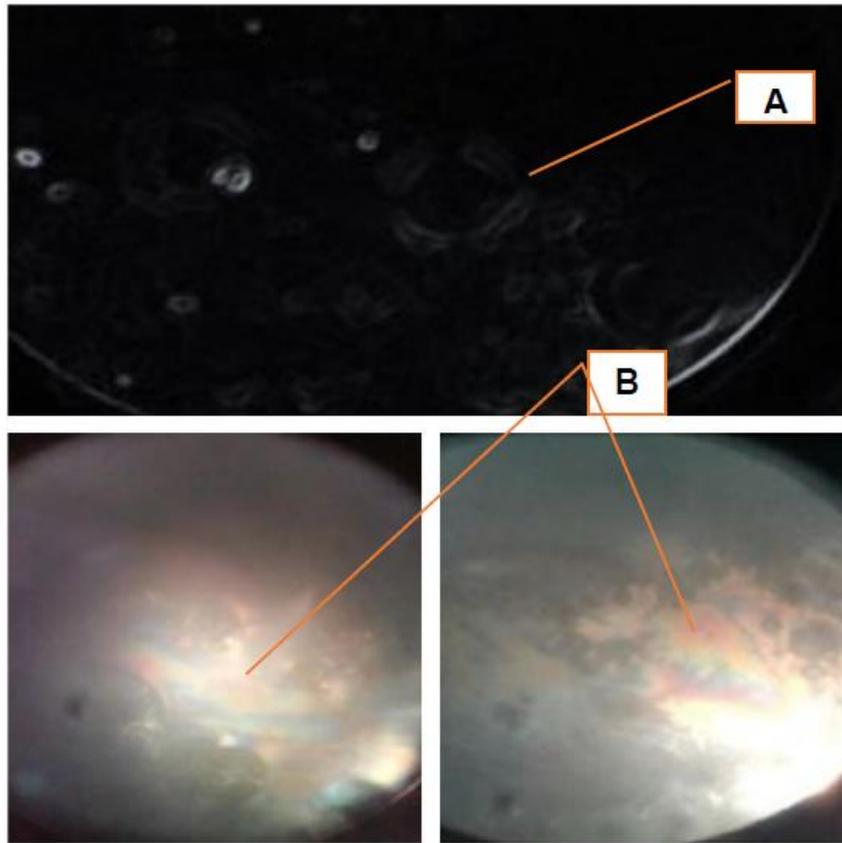


**Figura 8.** Cristal líquido sin y con principio activo  
Fuente:Autora

Es posible observar un sistema blanquecino (A) para los cristales líquidos sin *Arnica*. La adición del principio activo llevó a la formación de un sistema amarillo transparente, lo que sugiere que el *Arnica* organizó la estructura y estabilizó el sistema.

### IV.2 Evaluación Microscópica: Microscopia de Luz polarizada

La microscopía de luz polarizada permite visualizar y caracterizar estructuras cuando la refracción de la luz cruza un filtro polarizador, los cristales líquidos se determinan por tener un orden de orientación ordenada y cristalina además, las moléculas poseen un plano de polarización en diferentes esquemas de colores y textura. La Figura 9 muestra los resultados de microscopia de luz polarizada para los CL sin y con *Arnica*.

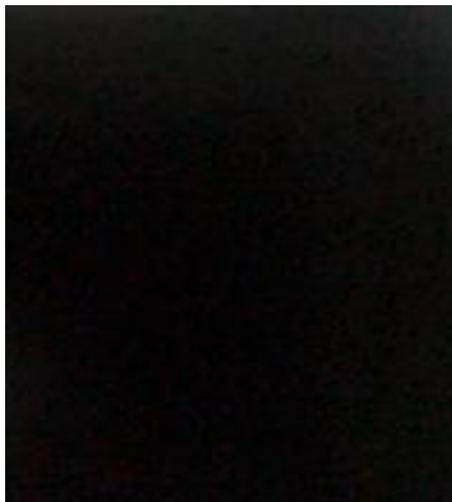


*Figura 9.* Microscopía de luz polarizada de los sistemas sin Arnica montana

Fuente: Autora

Es posible observar la formación de cruz de malta (A) y estrías (B) lo que indica la formación de cristales líquidos de fase lamelar y hexagonal respectivamente. Resultados semejantes fueron mostrados por Reyes y Baque (2018) y Díaz y Ferrín (2018), en los cuales desarrollaron cristales líquidos para la incorporación del gemfibrozilo, confirmando la presencia de cruces de malta y estrías, de tal manera que sugieren la formación de cristales líquidos de fase lamelar y hexagonal.

En la Figura 10 se exhibe los resultados para la microscopía de luz polarizada para los CL con *Arnica*



*Figura 10.* Microscopía de luz polarizada de los sistemas con *Arnica montana*.

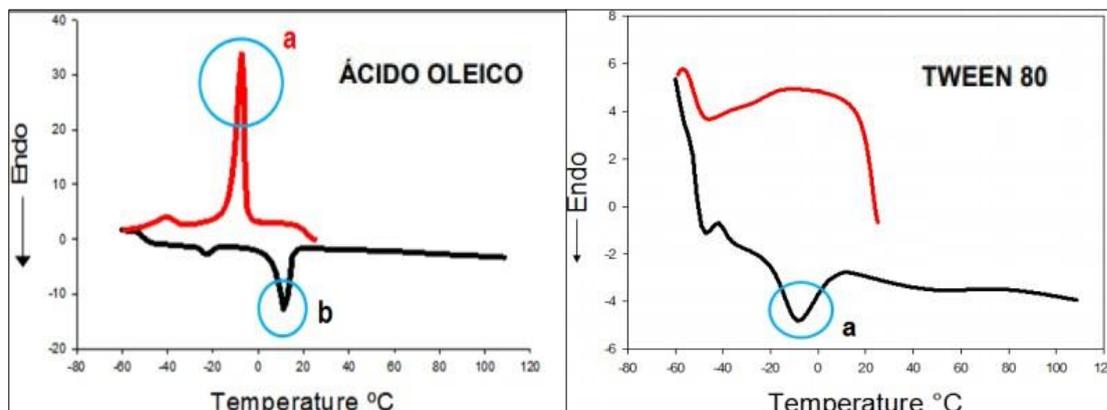
Fuente: Autora

Los cristales líquidos de fase cubica son caracterizados por presentar campo oscuro en la microscopía de luz polarizada. Sin embargo, esta no es una técnica suficiente para caracterizar los cristales líquidos para ellos se requiere otras técnicas más específicas, tales como Dispersión de Rayos X de Ángulo Reducido (SAXS), Difracción de Rayos X, tamaño de partículas, entre otros. Con esta técnica de microscopía es posible suponer el sistema formado. Debido a lo expuesto, en la Figura 10, con la presencia de un campo oscuro se sugiere la formación de cristales líquidos de fase cúbica una vez que los sistemas se presentaron con un aspecto viscoso, a diferencia de las microemulsiones que son visualmente caracterizados como sistemas fluidos.

### **IV.3 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)**

El análisis térmico comprende técnicas que analizan el cambio de la Capacidad calórica de un material ( $C_p$ ) con la temperatura en atmósferas controladas: calentamiento, enfriamiento, los datos de éstos análisis se obtienen en función de la temperatura y las propiedades físicas del material. Como resultado se obtienen curvas de análisis térmico y las características de estas curvas (picos, discontinuidades o cambios de pendiente se

relacionan con eventos térmicos de la muestra) (Venegas, 2017). La Figura 11 muestra los resultados de DSC para los componentes de la formulación. La curva en negro representa el calentamiento y en rojo el enfriamiento.

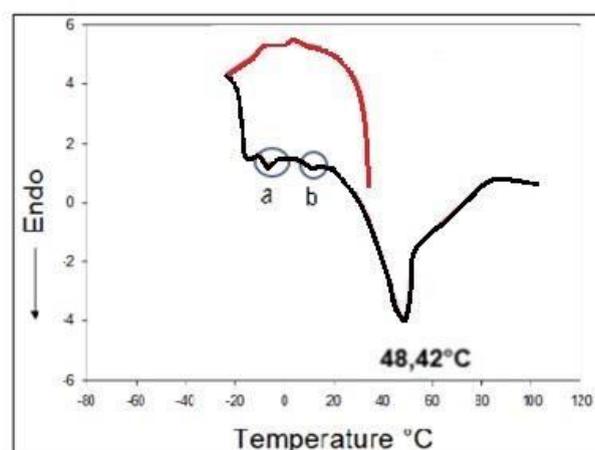


**Figura 11.** DSC para los componentes de la formulación

Fuente: Autora

Se puede visualizar que el ácido oleico presenta dos picos de fusión endotérmico y exotérmico, a una temperatura de  $-5^{\circ}\text{C}$  mostró un pico de fusión exotérmico angosto (a), de esta manera se puede sugerir que el material es cristalino. Mientras que a una temperatura de  $-8.43^{\circ}\text{C}$  se puede observar que el Tween 80 presenta un pico endotérmico ancho lo que indica que el material es cristalino.

La Figura 12 muestra los resultados de DSC para los cristales líquidos



**Figura 12.** DSC para los cristales líquidos

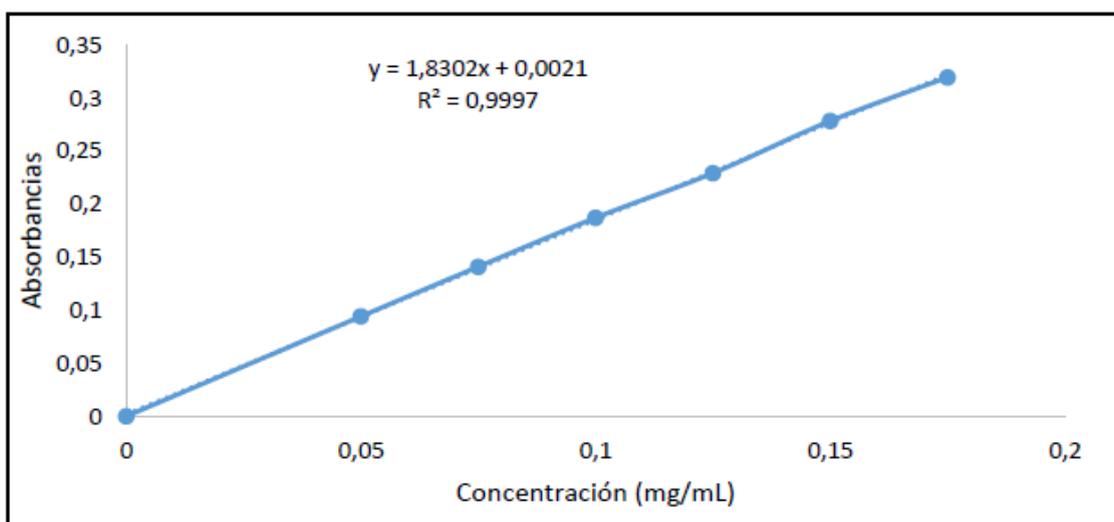
Fuente: Autora

Se puede observar en la Figura 12 que los CL indicaron un pico de fusión a  $48.42^{\circ}\text{C}$ . El pico a esta temperatura no fue observado para ningún

componente de la fórmula, debido a esto se sugiere la formación de un nuevo material cristalino con el cambio de temperatura en el análisis térmico, además se observa una transición *vítrea* (b) lo que aumenta la hipótesis de formación de un material cristalino. Se propone una interacción entre el Tw80 y AO debido a la disminución de los picos de fusión (a) con esto se plantea la formación de los cristales líquidos (datos confirmados por la microscopia de luz polarizada). Reyes y Baque (2018), también observaron la presencia de pico para los cristales líquidos con gemfibrozilo (GMZ). Con lo expuesto, los autores sugieren la formación de un nuevo material cristalino.

#### IV.4 Construcción de una curva analítica

Para adquirir los resultados de linealidad se elaboró una curva analítica de calibrado a partir de las diluciones de una solución madre, el valor de coeficiente de correlación ( $R^2$ ) fue 0,9997 como se presenta en la Figura 13. Este valor demuestra que la curva es lineal para los fines propuestos en esta experimentación.



**Figura 13.** Curva analítica de la Arnica montana

Fuente: Autora

En los resultados obtenidos en la Figura 13 se observa linealidad de la relación obtenida entre concentración y la absorbancia. Los valores de  $R^2$  obtenidos en la construcción de la curva de *Arnica montana* fueron 0,9997,

en este contexto, R es no menos de 0,995 para valoraciones de Categoría I que son usados para la cuantificación de los componentes principales de fármacos o ingredientes activos de acuerdo con la USP 38 NF33 (2015).

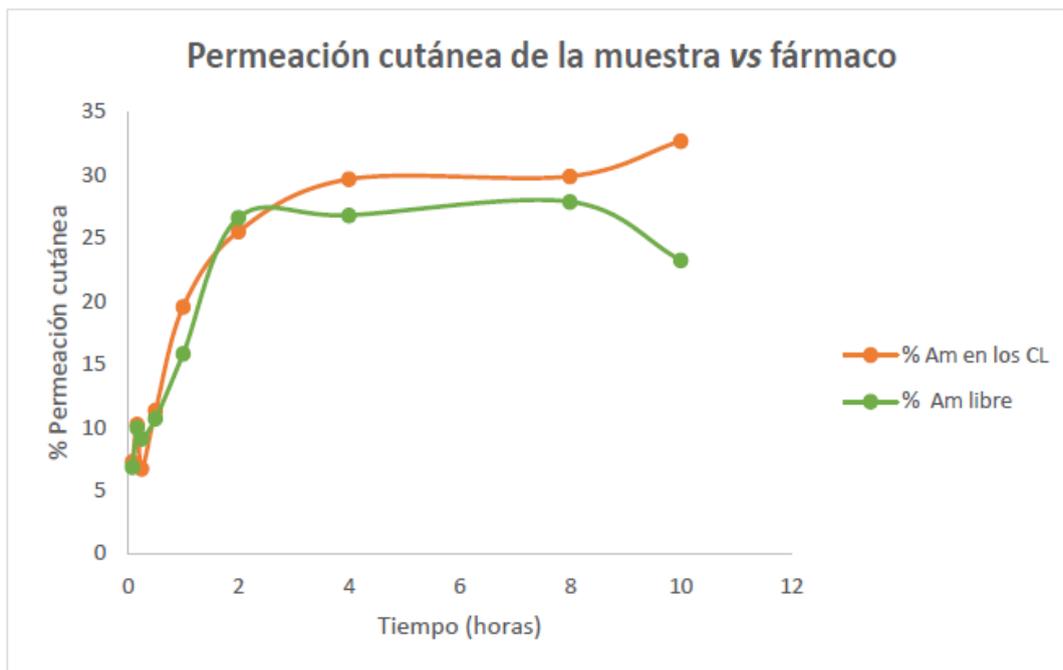
Resultados semejantes fueron encontrados por Pérez y Rojas (2016), los autores validaron un método para cuantificación de acetaminofén tabletas de 500 mg, y obtuvo un valor de 1 en el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) demostrando que la curva es lineal para la objetivo del trabajo.

Ayoub (2016) realizó un estudio acerca del desarrollo y validación de métodos espectrofotométricos y quimiométricos simples para la determinación simultánea de la empagliflozin (EMP) y la metformina (MET) en forma simultánea: Formulación farmacéutica recientemente aprobada y aplicada en donde para la validación del método obtuvieron un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) de 1 y 0.9999 respectivamente demostrando de ésta manera que la curva es lineal.

Matiz-Melo, Rodríguez-Cavallo, Osorio, (2017) realizaron un estudio comparativo de la calidad biofarmacéutica de marcas comerciales y multifuente de tabletas de Ibuprofeno en el mercado donde en términos de validación del método obtuvieron un valor de  $R^2 > 0,999$ , demostrando que la curva es lineal.

#### **IV.5 Estudios de Permeabilidad cutánea *in vitro*.**

La permeación cutánea *in vitro* es una herramienta que puede facilitar la absorción de numerosas sustancias a través de una estructura porosa, principalmente una membrana para obtener resultados terapéuticos, y para identificar los parámetros que intervienen en la liberación del principio activo en la superficie cutánea y su propagación en las capas de la piel como se muestra en la Figura 14 (Umebayashi, 2017).



**Figura 14.** Perfil de permeación cutánea del Arnica libre y encapsulada en los CL

Fuente: Autora

Cuando se realizó el estudio de permeación para la *Arnica montana* incorporada en los CL, se observa un aumento en la absorción del P.A, lo que se sugiere que actúe como transportador y facilite el paso del Am hacia la sangre. Este resultado puede ser satisfactorio ya que se puede aplicar estos sistemas para tratamiento de enfermedades que requiere la absorción de fármacos. Los sistemas de liberación prolongada, han sido estudiados debido a su tamaño reducido de partícula que puede favorecer la permeación de fármacos hacia el torrente sanguíneo.

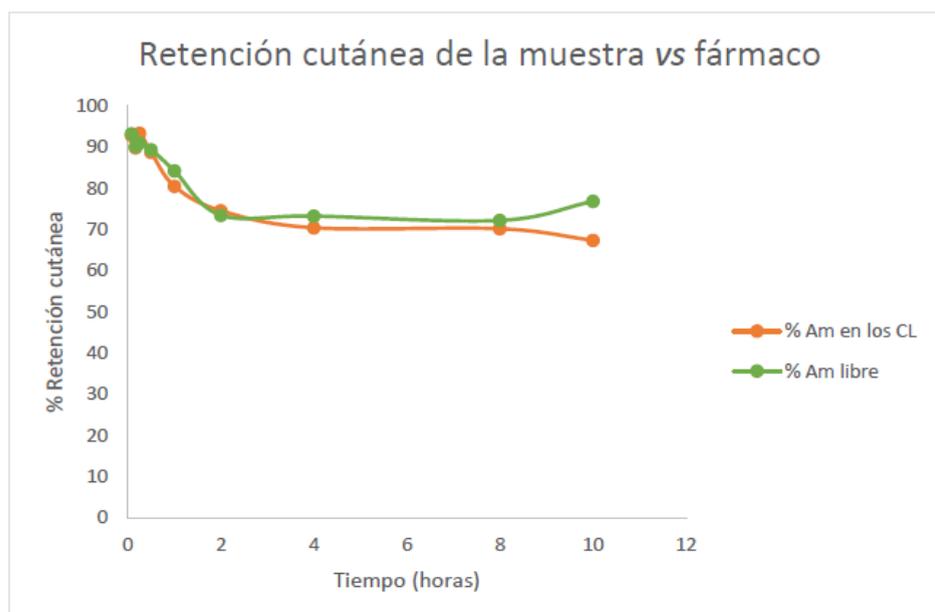
Un estudio realizado por Li y colaboradores (2017), los autores observaron la actividad permeadora de pramipexole incorporado a nanocristales, para ello, se utilizaron piel de oreja de conejo, las muestras fueron evaluadas por 24 horas en el medio receptor (solución salina) a 180 rpm, los resultados mostraron que el reducido tamaño de partículas de los nanocristales pueden mejorar eficazmente la permeación transdérmica de pramipexol a través de vías transepidérmicas y transfoliculares, además, observaron un aumento constante y significativo en la solubilidad Pramipexol. Los autores concluyeron que los nanocristales servirían

como una alternativa para aumentar la permeación de la pramipexol en la piel y mejorar el cumplimiento del paciente con la enfermedad de Parkinson.

Sosa y colaboradores (2017) desarrollaron nanoemulsiones con anfotericina B para el tratamiento de la candidiasis y *Aspergillus*. En los estudios de liberación *in vitro*, los autores utilizaron membrana de celulosa y evaluaron por 72 horas en un medio receptor de metanol/ N-dimetilformamida /agua (55:15:30 v/v/v) a una agitación de 600 rpm. Los resultados mostraron que pasado este período, hubo una liberación de 100%, contra 10% del fármaco libre. Con lo presentado, los autores sugieren que las nanoemulsiones son vehículos que mejoran la liberación prolongada.

#### IV.6 Estudio de retención cutánea *in vitro*

La retención cutánea fue evaluada después de la prueba de permeación, con la retirada de la piel de la oreja de cerdo, tratada para que el fármaco se pueda cuantificar, la obtención de valores relativos a la retención en el estrato córneo se realizó con un 20% de *Arnica montana* permitiendo evaluar cómo se da la difusión del fármaco. La Figura 15 Muestra los resultados de la retención cutánea *in vitro* de la muestra y del fármaco después de 10 horas de experimento.



**Figura 15.** Curva retención de la muestra vs fármaco

Fuente: Autora

Los resultados mostraron un mayor porcentaje de Am cuantificado, esto sugiere que ésta se queda retenida en la piel, esto está en conformidad con lo mostrado en los estudios de permeación, ya que se observa una menor cantidad de principio activo permeado. Patel y colaboradores (2015) desarrollaron un nuevo gel a base de microemulsión para la administración tópica de isotretinoína para el tratamiento del acné. El estudio de retención cutánea fue realizado posteriormente a los estudios de permeación cutánea, para ello, la piel de conejo fue lavada con agua y metanol y mantenidas al vortex por 10 minutos para la total remoción del activo. Los resultados mostraron que las ME acumularon más isotretinoína en la piel que el producto convencional. Los autores discuten que cuanto más permea la isotretinoína, menos retiene la piel y puede provocar efecto secundario adverso sistémico. En este sentido, ellos sugieren que las ME pueden ser una alternativa tecnológica para la incorporación de la isotretinoína.

## CONCLUSIÓN

Se desarrollaron cristales líquidos y se incorporó un extracto comercial de *Arnica montana* y cumpliendo con los análisis de los resultados para evaluar la permeación cutánea se llega a las siguientes conclusiones:

- Al caracterizar de manera fisicoquímica a los cristales líquidos se observó que la *Arnica* interacciona con la matriz del sistema.
- Se determinó la permeación cutánea al incorporar *Arnica montana* a los cristales líquidos donde se observó un aumento en la absorción del principio activo lo que sugiere que actúa como transportador y facilite el paso del Am hacia la sangre.

## RECOMENDACIÓN

- Se recomienda estudiar a fondo el Extracto de *Arnica montana* para vía cutánea y la elaborar alguna formulación de uso tópico que sirvan para las várices debido a las propiedades que presenta el *Am* sobre todo incorporado en los cristales líquidos.
- Realizar estudios de toxicidad dérmica de los cristales líquidos con y sin *Arnica montana*.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alatorre, N. (2016). Formulación a escala laboratorio de cristales líquidos luminiscentes. Instituto Politécnico Nacional. p 1-67.
2. Arroba,C., Elizabeth,A .(2018). Uso de plantas medicinales como analgésico antiinflamatorio en la parroquia Salasaca. Universidad Técnica de Ambato.p 16-50.
3. Ayoub,B .(2016). Desarrollo y validación de espectrofotometría simple y Métodos quimiométricos para la determinación simultánea de empagliflozina y metformina: aplicados a una formulación farmacéutica recientemente aprobada. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 168. p 118-122.
4. Bonilla, M. (2018). Elaboración de una nano-emulsión de liberación controlada. Universidad Central del Ecuador. p 1-172.
5. Cardoso,M .(2017). *Fração enriquecida de isoflavonas agliconas de soja (Glycine max): estudos farmacotécnicos, físico-químicos, analíticos e de permeação cutânea. Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. p 1-359.*
6. Castro,C.(2017). Cristales líquidos poliméricos foto-sensibles ensamblados a yodopentafluorobenceno mediante puente de halógeno. Centro de Investigación en Química aplicada. p 1-156.
7. Ceballos,A.(2015). *Arnica (Arnica Montana):* Alicia Ceballos Nutrición, Herbolaria y Terapias Alternativas.recuperado de: <https://aliciaceballosblog.wordpress.com/2015/10/28/122/> (URL).

8. Contreras,A .(2015). Susceptibilidad Magnética en un Coloide Dipolar: Aproximación de Boltzmann y MSA. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. p 1-69.
9. Cubillos,G.(2018). Estrategias de protección inmunitaria. Una visión desde la homeopatía fundamentada en nanopartículas. Universidad Nacional de Colombia. p 1-60.
- 10.Chugchilan,S.(2018). Guía de autocuidado para prevenir la formación de úlceras por presión en pacientes geriátricos de 65 a 80 años de edad atendidos en medicina interna del hospital provincial Puyo. Facultad de Ciencias Médicas. p 1-79
- 11.Czajkowska-Kosnik,A., Szekalska,M., Winnicka,K.(2018). *Nanostructured lipid carriers: a potential use for skin drug delivery systems. Pharmacological Reports.* p 1-46.
- 12.Del Castillo,C.(2016). Medicamentos a base de plantas en dermatología: últimos avances. *Universidad Complutense.* P 1-20.
- 13.Delgado,D. (2017). Efecto positivo del maquillaje en personas que padecen vitíligo entre las edades de 20 a 35 años. Universidad Galileo. p 1-87.
- 14.Díaz,F .(2015). Síntesis y estudio de las propiedades termodinámicas y mesogénicas de éteres derivados de ácidos aromáticos. Universidad de Almería. p 1-69.
- 15.Díaz,G., Ferrín,D. (2018). Efecto de la relación entre tensoactivo y cotensoactivo elaborando diagrama de fases para la formación de cristales líquidos (LC) que contienen *Gemfibrozilo*. Universidad De Guayaquil. Facultad De Ciencias Químicas. p 1-90.
- 16.Ferreira,A .(2016). *Síntese e caracterização das propriedades térmicas de materiais moleculares conjugados derivados de Benzilidenocetonas.* Universidade Federal da Paraíba. p 1-95

17. Fuentes,A .(2017). Aplicaciones fotónicas de celdas híbridas a base de silicio amorfo. *INAOE*. p 1-65.
18. Gafner,S., Applequist,W .(2016). *On Adulteration of Arnica montana. ABC- AHP-NCNPR Botanical Adulterants Program.*
19. García,S., Moyano,M .(2016). *Características y aplicaciones de los cristales líquidos. Imagen recuperada de: <https://slideplayer.es/slide/1661321/>.*
20. Gómez,L .(2017). Evaluación de la actividad antioxidante en los extractos obtenidos por Co2 supercrítico de dos especies vegetales *plantago major (plantaginaceae)* y *Arnica montana I (Asteraceae)*. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. p 1-68.
21. Gómez, M. (2017). *El color y la edad de la piel: el fotoenvejecimiento. Universidad de Sevilla.* p 1-31.
22. González.(2017). Desarrollo de formulaciones transdérmicas. Universidad Complutense. p. 1-20.
23. Hernández,E .(2016). Uso de la ropa compresiva en pacientes víctimas de quemaduras ingresados en el primer semestre del año 2015 a la fase intrahospitalaria y ambulatoria de la asociación pro niños quemados de nicaragua – aproquen. Universidad Nacional Autónoma De Nicaragua Unan Managua. p 1-72.
24. Jiménez,M .(2017). Elaboración y caracterización de cristales líquidos. Bioactivos. Universidad Veracruzana. p 1-68.
25. Karenina,A .(2018). *Matricaria recutita e Arnica montana no tratamento da dor causadas por inflamação.* Faema. p 9-28.
26. Kolarsick,J., Kolarsick,M., Goodwin,C..(2011). *Anatomy and Physiology of the Skin.* Nursing Center. Vol.3 Num 4 p. 1-11.

27. Levi, R. (2016). *Síntese, Caracterização e Estudo de Novos Cristais Líquidos Curvados e/ou Policatenares derivados de Chalcona e Cianopiridina. Universidade Federal de Santa Catarina. p 1-186.*
28. Li, Y., Wang, D., Lu, S., Zeng, L., Wang, Y., Song, W., Liu, J. (2018). *Pramipexole nanocrystals for transdermal permeation: characterization and its mechanism of improvement. p 1-33.*
29. López, G. (2015). *Síntese de moléculas discóticas derivadas do heterociclo tris-[1,2,4]-triazolo-[1,3,5]-triazina para aplicação como sensores ópticos. Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC. p 1-103.*
30. Maceo, A. (2018). *Anatomía y fisiología de la cresta de fricción en la piel adulta. p 2-26.*
31. Marras, T. (2016). *Diseño, preparación y caracterización de hidrogeles de agarosa para liberación controlada de fármacos. Universidad Complutense de Madrid. p 1-151.*
32. Marín, S. (2017). *Estudio de fases de un modelo de copolímeros dibloque. UNAM. p 1-121.*
33. Matiz-Melo, G., Rodríguez-Cavallo, E., Osorio, M. (2017). *Estudio comparativo de la calidad biofarmacéutica de marcas comerciales y multifuente de tabletas de ibuprofeno en el mercado colombiano. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. Vol 46 .N 1. p 48-70.*
34. Megías, M., Molist, P., Pombal, M. (2017). *Atlas de Histología Animal y Vegetal. Facultad de Biología. Universidad de Vigo. p 76-77.*
35. Oliosio, D., Marzotto, M., Bonafini, C., Brizzi, M., Bellavite, P. (2016). *Arnica montana effects on gene expression in a human macrophage cell line. Evaluation by quantitative Real-Time PCR. Homeopathy. p.1-17.*

36. Ordóñez, A. (2018). Identificación de los factores causales de quemaduras, en las distintas etapas de la vida, en pacientes atendidos por el personal de atención prehospitalaria del Cuerpo de Bomberos del Distrito Metropolitano de Quito, durante el periodo de enero a diciembre 2017. Universidad Central Del Ecuador. p 1-105.
37. Pastor, M. (2018). Materiales moleculares líquido cristalinos: comportamiento de fase y luminiscente de compuestos de coordinación basados en ligandos  $\beta$ -dicetona funcionalizados. Cristales líquidos iónicos. Conductividad. Universidad Complutense de Madrid. p 1-375.
38. Patel, M., Patel, R., Parikh, J., Patel, B. (2015). *Novel isotretinoin microemulsion-based gel for targeted topical therapy of acne: formulation consideration, skin retention and skin irritation studies Cross Mark*. p 539-553.
39. Pérez, J., Noriega, M. (2018). La Piel: Estructura y Funciones. Universidad de Cantabria. p 1-7.
40. Pérez, E., Rojas, A. (2016). Validación de un método para cuantificación de acetaminofén en tabletas de 500mg por espectrofotometría ultravioleta para la prueba de uniformidad de contenido. *InterSedes Vol 17.No 35*.
41. Quirino-Barreda, C., Gazga-Urioste, C., Juárez-Sandoval, J., Faustino-Vega, A., Noguez-Méndez, N., Macín-Cabrera, S., Melo Ruíz, V. (2017). *Cristales líquidos liotrópicos. Nanoestructuras biomiméticas para uso tópico medicinal. Mundo Nano*. Vol 10. Num 19 p 7-25
42. Reyes, L., Baque, A. (2018). Influencia de la concentración tensoactivo y agua en formación de cristales líquidos utilizados en fármaco de baja solubilidad (gemfibrozilo). Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas.

43. Rodríguez-Chávez,J., Egas,V., Linares,E., Bye,R., Hernández,T., Espinosa-García,F.,Delgado,G.(2017). *Mexican Arnica (Heterotheca inuloides Cass. Asteraceae: Astereae): Ethnomedical uses, chemical constituents and biological properties. Journal of Ethnopharmacology. Vol.195 p.39-63.*
44. Sainz, S. (2016). *Efecto farmacológico, homeopático y tóxico de Arnica montana: una revisión bibliográfica. Revista Pilares Vol 6 No. 16 p 12-15.*
45. Sánchez,I.(2017). *Materiales moleculares cristal líquido y luminiscentes para dispositivos electroluminiscentes y sensores, compuestos de coordinación de ligandos  $\beta$ -dicetonato y derivados de pirazol a iones lantánidos o fragmentos BX<sub>2</sub>. Universidad complutense de Madrid. p 1483.*
46. Santos,D.(2016). *Cristais líquidos como ferramenta de ensino em física moderna e contemporânea. Universidade Federal de Santa Catarina. p 1-73.*
47. Sinche,K.(2018). *Conocimientos, actitudes y prácticas, relacionados a exposición solar y fotoprotección en el personal operativo de la Policía Nacional, del Cantón Zamora. Universidad Nacional de Loja. p.7-40.*
48. Sosa,L., Clares,B., Alvarado,H., Bozal,N., Domenech,O., Calpen,A.(2017). *Amphotericin B releasing topical nanoemulsion for the treatment of candidiasis and aspergillosis, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicin. p 1-40.*
49. Sotomayor,M. (2017). *Presencia de células de piel en el goteo de líquido cefalorraquídeo en la anestesia espinal. Hospital Goyeneche, Arequipa 2017. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. p 1-72.*

50. Singhvi, G., Banerjee, S., Khosa, A. (2018). *Lyotropic liquid crystal nanoparticles: A novel improved lipidic drug delivery system. Organic Materials as Smart Nanocarriers for Drug Delivery.* p 472-516.
51. Sugier, D., Sugier, P., Kowalski, R., Kolodziej, B., Olesinska. (2017). *Foliar boron fertilization as factor affecting the essential oil content and yield of oil components from flower heads of Arnica montana L. and Arnica chamissonis Less. cultivated for industry. Ind. Crops & Prod.* Vol. 109 p.587-597.
52. USP 38 NF 33. (2015). Vol 1 p. 1-2176.
53. Venegas, D. (2017). *Calorimetría Diferencial De Barrido.* Departamento de Ciencia e Ingeniería de Materiales, Universidad de Concepción. p 1-7.
54. Waizel-Bucay, J., Waizel-Haiat, S., Revilla-Peñaloza, F. (2017). *Los productos herbolarios, la coagulación sanguínea y la cirugía otorrinolaringológica. An Orl Mex.* Vol.62 p.115-142.
55. Wilkinson, J., Moore, R. (1990). *La piel y productos para la piel. Cosmetología de Harry.* Madrid, Editorial Díaz de Santos, S. A.
56. Winther, G. (2017). *Protocolo profesional de la micropigmentación para la esteticista de la universidad galileo. Universidad Galileo.* p 1-79
57. Zimmermann, P. (2015). *Síntese, caracterização e estudo da influência de heterociclos e da ligação azo nas propriedades de moléculas líquido-cristalinas. Universidade federal de Santa Catarina.* p 1-57.

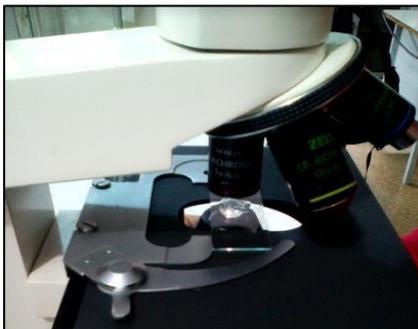
## ANEXOS



**Anexo I.** Extracto comercial de Arnica montana



**Anexo II.** Micropipeta Labnet del laboratorio de análisis de medicamentos



**Anexo III.** Microscopio del laboratorio de Química Orgánica



**Anexo IV.** Espectrofotómetro UV- Vis Shimadzu del laboratorio de análisis de medicamentos



**Anexo V.** Viales Eppendorf de 2mL de cada colecta unas CL y otras con p.a.



**Anexo VI.** Extracción del estrato corneo de la oreja de cerdo.

**Anexo VII.** Datos para la elaboración de la curva de permeación y retención cutánea para la liberación prolongada de la muestra.

<b>TIEMPO (Horas)</b>	<b>ABS (200 nm)</b>	<b>CONC. (µg)</b>	<b>CONC. REAL</b>	<b>(%) DE MUESTRA PERMEADA</b>	<b>% MUESTRA RETENIDA</b>
0,083	0,0396	0,0073	2,9117	7,2793	92,7207
0,167	0,0598	0,0102	4,0853	10,2132	89,7868
0,25	0,0357	0,0067	2,6855	6,7137	93,2863
0,5	0,0675	0,0113	4,5280	11,3201	88,6799
1	0,1243	0,0196	7,8226	19,5564	80,4436
2	0,1654	0,0255	10,2064	25,5161	74,4839
4	0,1940	0,0297	11,8653	29,6632	70,3368
8	0,1955	0,0299	11,9555	29,8888	70,1112
10	0,2148	0,0327	13,0763	32,6906	67,3094

**Anexo VIII.** Datos para la elaboración de la curva de permeación y retención cutánea para la liberación prolongada de fármaco.

<b>TIEMPO (Horas)</b>	<b>ABS (200 nm)</b>	<b>CONC. (µg)</b>	<b>CONC. REAL</b>	<b>% DE FÁRMACO PERMEADO</b>	<b>% FÁRMACO RETENIDO</b>
0,083	0,0366	0,0068	2,7383	6,8459	93,1541
0,167	0,0582	0,0100	3,9893	9,9731	90,0269
0,25	0,0521	0,0091	3,6387	9,0967	90,9033
0,5	0,0632	0,0107	4,2786	10,6966	89,3034
1	0,0986	0,0158	6,3358	15,8394	84,1606
2	0,1729	0,0266	10,6447	26,6117	73,3883
4	0,1743	0,0268	10,7220	26,8050	73,1950
8	0,1816	0,0279	11,1499	27,8749	72,1251
10	0,1497	0,0232	9,2958	23,2395	76,7605