

***Mangifera indica* y *Psidium guayava*: determinación de la actividad antimicrobiana de las cáscaras liofilizadas en la formulación de una loción hidroalcohólica para el acné.**

***Mangifera indica* and *Psidium guayava*: determination of antimicrobial activity of lyophilized peels in the formulation of a hydroalcoholic lotion for acne.**

Marjorie Troncoso Valenzuela <sup>1</sup>, Sandra Gajardo Solari <sup>1,2</sup>, Julio Benites Vélchez <sup>1,2</sup>, José López Vivar <sup>1,2</sup>,  
Mauricio Rojas Arredondo <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad Arturo Prat. Iquique - Chile.

<sup>2</sup>Instituto de Etnofarmacología, Universidad Arturo Prat. Iquique - Chile.

Dirección para correspondencia: Sandra Gajardo Solari. Departamento de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Instituto de Etnofarmacología. Universidad Arturo Prat. Av. Arturo Prat N° 2120, Iquique, Chile.

Tel: 56-57-394635

Email: sandra.gajardo@unap.cl

Recibido para publicación en 11/08/10

Aceptado en 20/12/10

#### RESUMEN

*Mangifera indica* y *Psidium guayava* han sido utilizados por la medicina folclórica de diversos países de todo el mundo. El uso etnomédico está bien documentado: poseen diferentes actividades farmacológicas como hipoglucemiantes, antimicrobianos, antivirales, antiinflamatorios, antioxidantes, antidiarreicos, antialérgicos, hipotensores, hepatoprotectores y antitúxicos. Las cáscaras de estos frutos son productos de desecho y a la vez generan una problemática al momento de su eliminación, teniendo en cuenta todos los compuestos bioactivos que éstas poseen tales como flavonoides, taninos, ácido ascórbico, polifenoles. Se formularon lociones hidroalcohólicas en base a liofilizados de cáscaras de *M. indica* y *P. guayava* a las cuales se le realizaron estudios de estabilidad evaluando la variación de pH, centrifugación, estrés térmico, controles organolépticos y control microbiológico. Se realizó un test de parche para evaluar la posible reacción de sensibilidad que pueden ocasionar las lociones, comprobando que estas no producen irritación dérmica. Finalmente se determinó la CMI para medir la actividad antimicrobiana de las lociones sobre *S. epidermidis* y *S. aureus*, obteniéndose como resultado que las lociones de *M. indica* al 0,1% y *P. guayava* al 1% presentaron buena actividad frente a estas cepas, semejante a clindamicina.

**Palabras Clave:** *Mangifera indica*, *Psidium guayava*, loción, liofilizados, CMI.

#### ABSTRACT

*Mangifera indica* and *Psidium guayava* has been significantly used in folk medicine of different countries around the world, ethno-medical use is well documented, have different pharmacological activities such as hypoglycemia, antimicrobial, antiviral, anti-inflammatory, antioxidant, antidiarrheal, antiallergic, hypotensive, hepatoprotective, antitussive and anti-diarrhea. The peels of these fruits are waste products and simultaneously generate a problems at the time of disposal taking into account all these bioactive compounds, such as flavonoids, tannins, ascorbic acid, polyphenols were formulated hydroalcoholic lotions of the lyophilized of peel *Mangifera indica* and *Psidium guayava* to which were made stability studies, evaluating the change in pH, centrifugation, heat stress, organoleptic controls and microbiological control. We performed patch test to potential assess the sensitivity reaction that can cause the lotions, checking that they do not cause skin irritation. Finally, the MIC was determined for measuring the antibacterial activity of the lotions about *S. epidermidis* and *S. aureus*, result indicate that lotions *M. indica* 0,1% and *P. guayava* 1% showed good activity against these strains, like clindamycin.

**Key Words:** *Mangifera indica*, *Psidium guayava*, lotion, lyophilized, MIC.

## INTRODUCCIÓN

El acné es una enfermedad inflamatoria de la piel que involucra glándulas sebáceas y folículo piloso. Se caracteriza por la presencia de lesiones tales como pápulas, pústulas rojizas, comedones cerrados no inflamatorios (conocidos como puntos blancos), comedones abiertos (conocidos como puntos negros); ubicadas generalmente en las zonas de la frente, nariz, mentón, espalda y pecho. Se considera como una enfermedad que reúne varios factores entre los cuales se encuentran: genético, racial, dietético, condiciones climáticas, control hormonal de la actividad de la glándula sebácea, excreción de sebo y la flora bacteriana (*Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*).<sup>1,2,3</sup> La tendencia de la dermatología actual es iniciar el tratamiento de forma temprana y lo más efectiva posible para evitar las cicatrices físicas y psicológicas.<sup>4</sup> La terapia en los últimos años se basa en el empleo de antibióticos orales y/o sistémicos, uso de fototerapia y los nuevos tratamientos para las lesiones cicatriciales.<sup>5</sup>

Sobre la piel se aplican, ya sea con fines terapéuticos o cosméticos, numerosas formulaciones de diversa naturaleza fisicoquímica. Encontramos sólidas, semisólidas y líquidas, siendo las semisólidas y líquidas las más utilizadas en el acné.<sup>6</sup> Las lociones hidroalcohólicas son soluciones claras y transparentes, por lo que pueden contener cantidades variables de etanol. Las lociones en el sentido de soluciones tienen propiedades estabilizantes, refrescantes, tónicos, sedantes, astringentes, suavizantes y eventualmente desinfectantes según su proporción de alcohol y de principio activo.

La proporción de alcohol debe ser baja desde el punto de vista dermatológico, sobre todo en las lociones faciales, para no deshidratar ni desengrasar demasiado la piel.

El acné es una patología principalmente tratada con medicamentos locales tópicos, pero debido a los inconvenientes que pueden presentarse (como efectos secundarios) se ha incrementado el uso de productos naturales en las diversas formulaciones disponibles para tratar esta patología. Las formas farmacéuticas más usadas en el tratamiento del acné son geles, lociones y cremas.<sup>7</sup>

Durante siglos, y basado en conocimientos empíricos, el hombre ha utilizado las plantas y frutos como fuente para la elaboración de medicamentos, ya sea en preparaciones tradicionales o en fármacos.<sup>8</sup> En las últimas décadas se han realizado innumerables estudios sobre la actividad antimicrobiana de principios activos de fuentes naturales, con la finalidad de combatir la prevalencia de ciertas enfermedades infecciosas, uniendo a esto, la desventaja que presentan los principales antibióticos sintéticos, en relación al espectro

de acción antibacteriana y/o los efectos colaterales que pueden originar.<sup>9,10</sup>

*M. indica* y *P. guayava*, conocidos comúnmente como mango y guayaba respectivamente, son frutos característicos de Pica, capital comunal y poblado prehispánico; localizado al sureste de Iquique, Chile. Ésta región posee aguas frescas y un sol generoso, características principales que permiten la agricultura. Los frutos mencionados, han sido utilizados ampliamente por la medicina folclórica de diversos países tropicales y subtropicales de todo el mundo. El uso etnomédico está bien documentado; sus extractos acuosos y alcohólicos poseen diferentes actividades farmacológicas como hipoglicemiantes, antimicrobianos, antivirales, antiinflamatorios, antioxidantes, antidiarreicos, antialérgicos, hipotensores, hepatoprotectores y antitúricos.<sup>11-14</sup>

Sus cáscaras son una fuente rica de compuestos bioactivos, en el caso de *M. indica* destacan polifenoles, carotenoides, vitaminas C y E, fibra dietética y enzimas;<sup>11</sup> *P. guayava* posee ácido ascórbico como mayor constituyente.<sup>12</sup>

La problemática que se presenta por los altos costos de la farmacoterapia para el acné, ha instado en los últimos años la investigación de nuevas alternativas a base de productos naturales, que demuestren alta efectividad y que puedan utilizarse como tratamiento en conjunto con el arsenal terapéutico actual. A pesar de los numerosos reportes bibliográficos existentes acerca de las propiedades antimicrobianas que exhibe *M. indica* y *P. guayava*, la finalidad del presente trabajo es utilizar liofilizados de cáscaras de dichos frutos que son productos de desechos y a la vez una fuente rica en compuestos bioactivos, elaborar una loción hidroalcohólica estable y segura para el tratamiento del acné y evaluar la actividad antimicrobiana de dicha loción.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**Activos Cosméticos.** Liofilizados de cáscaras de *M. indica* (Pica) y *P. guayava* (Pica).

**Reactivos.** Propilenglicol, glicerina, silicona, lauril éter sulfato de sodio, ácido cítrico, agua destilada, agua estéril, alcohol etílico grado perfumería 96°, etanol técnico, dimetilsulfóxido, trietanolamina, caldo CASO Merck, agar Müeller-Hinton Merck.

**Equipos e instrumentos.** Liofilizador Virtis Benchtop k, centrífuga EBA -20 Hettich, estufa WTB Binder, pH – metro WTN pH 3301/set, rotavapor Heidolph Laborota 4001, estufa de cultivo Memmert modelo 600 D06062, autoclave Vertical Phoenix AV – 50 Plus, refrigerador Tornado System Samsung, balanza granataria Sartorius BL500, balanza analítica. Sartorius MS 2105, vortex Mixer VM-300, ultrasonido Coler-

Parmer 8852, espectrofotómetro UV-VIS Genesys 2 thermospectronic.

**Bacterias.** *Staphylococcus aureus*, ATCC 25923; *Staphylococcus epidermidis*, cepa clínica aislada en la Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile.

**Antibiótico control.** KLINA<sup>®</sup>, clindamicina 1% Laboratorio Royal Pharma.

**Colección.** Los frutos fueron adquiridos en la localidad de Pica, Región de Tarapacá, a 114 kilómetros al sureste de Iquique, Chile; en los meses de diciembre - marzo del 2010; con un grado de madurez que se reflejan por el color, ausencia de daños mecánicos y firmeza al tacto.

**Liofilización.**<sup>15,16</sup> Las cáscaras de *M. indica* y *P. guayava* previo lavado y congelado a -2°C por 24 horas, fueron sometidas a liofilización a una temperatura de -73°C y una presión de 17 - 20 µbar por 48 horas; el tiempo de despresurizado fue de 10 segundos y la humedad ambiental fue de 45% en este periodo. Se incorporaron dichas cáscaras liofilizadas por separado a una procesadora de alimentos para obtener un polvo fino, luego se almacenaron en bolsas con cierre hermético en un lugar seco y a la oscuridad. Todo este procedimiento se llevo a cabo en el Departamento de Agricultura del Desierto sede Huayquique de la Universidad Arturo Prat, Chile.

**Preformulación.** Se realizó una serie de ensayos de preformulación antes de tener la formulación definitiva, descartando formulaciones por la separación de fases y por no cumplir con las características organolépticas adecuadas para esta formulación. Estas fueron preparadas mediante la mezcla y agitación de cada uno de sus componentes a temperatura ambiente, hasta lograr una mezcla homogénea.

#### Métodos de control de calidad<sup>15,17,18</sup>

**Evaluación de características organolépticas.** Las lociones se sometieron a evaluación de color, aspecto, olor y sensación al tacto.

**Centrifugación.** Se realizó 24 horas después de haber elaborado cada loción y después de ser sometidas a estrés térmico, en una centrífuga a 3000 rpm y 25°C, durante 30 minutos.

**Medición de pH.** Para la determinación del pH de cada loción, se midió directamente introduciendo el electrodo en las lociones, una vez por día durante 15 días y luego una vez por semana durante 3 meses; además se midió el pH antes y después del estrés térmico.

#### Evaluación de estudios de estabilidad de las lociones.

**Estabilidad preliminar:** Consiste en mantener las muestras a condiciones extremas de temperatura, realizando ensayos en relación a diferentes parámetros de acuerdo con la formulación cosmética en estudio.<sup>15</sup> Durante 15 días se observaron las lociones que se mantuvieron a temperaturas de 4°C y 40°C. Los

parámetros utilizados para esta medición fueron pH y características organolépticas como olor, color y aspecto de las lociones de liofilizados de *M. indica* y *P. guayava*.

**Estabilidad en estantería:** Es un test en el cual se someten las formulaciones a las mismas condiciones que estarían almacenadas en el mercado. Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente (25°C) por un período de tres meses.

**Estabilidad acelerada:** Las muestras se mantuvieron refrigeradas a 4°C y en estufa a 40°C por un período de tres meses.

**Estrés térmico:** Las muestras se sometieron a temperaturas de 4°C y 40°C, alterándolas cada 24 horas, por un período de 12 días.

#### Control Microbiológico.

**Preparación de las placas Petri y medio para cultivo.** Las placas Petri fueron llevadas a esterilización vía seca en una estufa a 200°C por 40 minutos. Se preparó el medio para el cultivo según la indicación del fabricante: 34 g de agar Müeller - Hinton en un litro de agua destilada. En este ensayo se prepararon 3,4 g en 100 mL de agua destilada en un matraz erlenmeyer y se tapó con algodón hidrófobo carde, se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 121°C; posterior a esto y bajo campana, se incorporó el agar en las placas y se dejó enfriar hasta su gelificación.

**Inoculación.** El área de trabajo se esterilizó con etanol y se mantuvo encendido el mechero Bunsen durante todo el ensayo para evitar contaminación. Se tomaron las muestras de cada loción con una tórula estéril y se sembró en la placa con el medio de cultivo. Se realizó por duplicado.

**Incubación.** Se dejaron las placas con las muestras en la estufa a 37°C, se evaluó el crecimiento microbiano a las 24, 48 y 96 horas.

#### Test de Parche.

Se realizó el test a 30 voluntarios que previamente se les solicitó firmar la carta de consentimiento informado, se aplicó una pequeña muestra de las lociones con liofilizados de *M. indica* y *P. guayava* más la loción base, en una gasa estéril de 1x1 cm y fijada con cinta adhesiva 3M<sup>®</sup>; éstas se colocaron en la parte interna/superior del brazo de los voluntarios. Los parches se retiraron a las 48 horas y se observó al retiro de éste la existencia de alguna reacción alérgica.

#### Actividad antimicrobiana.

En este estudio se utilizó la concentración mínima inhibitoria mediante el método de diluciones, para determinar la actividad antimicrobiana in vitro.

**Concentración mínima inhibitoria. Obtención de la cepa de *S. epidermidis*.** Una de las cepas en estudio, *S. epidermidis*, se obtuvo de la Universidad Católica del

Norte de Antofagasta, Chile, la cual fue enviada en un tubo Eppendorf a 4°C. Esta cepa fue sembrada con un asa estéril en placas de agar sangre por el método de estriado e incubadas por 24 horas a 37°C en estufa para microbiología. Al cabo de este periodo las cepas fueron resembradas en tubos de ensayos con caldo CASO para su utilización.

**Preparación de los extractos de liofilizados.** Se pesaron 10 g de liofilizado de cáscaras de *M. indica* y *P. guayava*, se dejaron macerar por 24 horas con etanol 96%. A continuación se filtró al vacío y se llevó a un rotavapor para eliminar el alcohol. De los extractos obtenidos se pesaron 1200 mg de *P. guayava* para aforar a 10 mL de DMSO, obteniendo una concentración de 120 mg/mL y 600 mg de *M. indica* para aforar a 5 mL de DMSO, obteniendo una concentración de 120 mg/mL.

**Preparación del antibiótico control.** Según lo indicado por el fabricante, KLINA® contiene clindamicina al 1%. Se pesaron 100 mg de clindamicina para aforar a 10 mL de agua estéril, obteniendo una concentración de 10 mg/mL.

**Preparación del caldo de cultivo.** Se preparó a partir de las indicaciones del fabricante: 30 g de CASO se disolvieron en 1 L de agua destilada, en los ensayos realizados se disolvieron 15 g en 500 mL de agua destilada según el requerimiento; se agregaron 4 mL en tubos de ensayos de 20 mL tapados con algodón hidrófobo cardé. En el ensayo con el antibiótico control se disolvieron 4,5 g en 150 mL de agua destilada según el requerimiento; se agregaron 3 mL en tubos de ensayo de 5 mL tapados con algodón hidrófobo cardé. Luego se esterilizaron en autoclave durante 15 minutos a 121° C incluyendo los tubos del ensayo con el antibiótico control.

**Inoculación.** Se trabajó bajo campana de flujo laminar, manteniendo el área esterilizada. Se agregaron las siguientes cantidades a los tubos que contenían el medio de cultivo: 10, 50, 100, 400, 600 y 1000 µL de loción base; 10, 50, 80, 100, 200, 400, 500, 600, 800 y 1000 µL de etanol; 10, 50, 80, 100, 200, 400, 500, 600, 800 y 1000 µL de loción con liofilizados; 10, 100, 300, 500 y 1000 µL de extractos de liofilizados y 10, 50, 100, 200, 400, 500, 600, 800, 1000, 1500, 2000 y 2500 µL de clindamicina. Se realizó por duplicado. A continuación se introdujo un asa microbiológica en los tubos con las bacterias y luego se sembró en el caldo.

**Incubación.** Se realizó a 37° C por 24, 48 y 96 horas.

El crecimiento bacteriano se determinó a través de la absorbancia a 660 nm en un espectrofotómetro. El 100% de crecimiento bacteriano se obtuvo por incubación de la bacteria en caldo (control positivo). El porcentaje de crecimiento bacteriano se calculó por regla de tres simple. Se graficó porcentaje de crecimiento bacteriano versus logaritmo de la concentración.

## RESULTADOS

**Preformulación.** Antes de obtener la formulación definitiva, se elaboró una serie de lociones (Tabla 1) con diferentes concentraciones de cada uno de sus componentes, para luego evaluar su estabilidad, las cuales fueron descartadas por no obtener buenos resultados en dicha evaluación.

Las lociones formuladas de *M. indica* y *P. guayava* que se observan en la Tabla 2 mostraron un comportamiento constante en el tiempo en los estudios de estabilidad y controles de calidad, manteniendo su pH, características organolépticas y ausencias de microorganismos contaminantes de la formulación.

Tabla 1. Fórmulas porcentuales de las preformulaciones de las lociones.

Componentes	PF1	PF2	PF3	PF4	PF5
	%	%	%	%	%
Propilenglicol	15	15	15	15	15
Alcohol	30	40	25	20	20
Glicerina	-	-	40	30	30
Silicona	-	-	-	10	20
Agua destilada <i>c.s.p.</i>	100	100	100	100	100

PF: preformulación;

*c.s.p.*: cantidad suficiente para.

**Tabla 2. Fórmulas porcentuales de las lociones de *M. indica* (1) y *P. guayava* (2).**

Materias Primas (1)	%	Materias Primas (2)	%
Alcohol (96%)	25	Alcohol (96%)	25
Propilenglicol	15	Propilenglicol	15
Lauril éter sulfato de sodio	0,5	Lauril éter sulfato de sodio	0,5
Extracto de liofilizado <i>M. indica</i>	0,1	Extracto de liofilizado <i>P. guayava</i>	1
Agua <i>c.s.p.</i>	100	Agua <i>c.s.p.</i>	100

*c.s.p.*: cantidad suficiente para.

**Evaluación de características organolépticas.** Ambas lociones mantuvieron su aspecto fluido, color y olor característico. (Tabla 3)

**Centrifugación.** Al centrifugar las lociones luego de su formulación y del estrés térmico, no hubo presencia de separación de los componentes.

**Medición de pH.** Las lociones base mostraron valores de pH de 6; luego de incorporarles los liofilizados hubo un descenso del pH que oscilaba entre 4,0 - 4,5, por lo que se realizó un ajuste con trietanolamina al pH normal de la piel, manteniéndose estables. (Figura 1)

**Evaluación de estudios de estabilidad de las lociones.** Los resultados obtenidos demuestran que las lociones a temperatura ambiente y elevada conservan su

estabilidad fisicoquímica, características organolépticas y pH durante el tiempo de estudio. (Tabla 4)

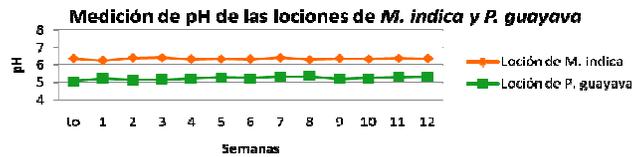
**Control Microbiológico.** No se evidenció crecimiento bacteriano en las lociones en estudio luego de 24, 48 y 96 horas post incubación.

**Test de Parche.** Al no presentar reacciones alérgicas los voluntarios en estudio, se consideraron ambas lociones como no irritantes.

**Actividad antimicrobiana.** En la Tabla 5 se presentan los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) en comparación con un antibiótico control (clindamicina).

**Tabla 3. Características organolépticas de las lociones de *M. indica* y *P. guayava*.**

Características organolépticas	Loción de <i>M. indica</i>	Loción de <i>P. guayava</i>
Aspecto	Fluido y homogéneo	Fluido y homogéneo
Color	Naranja pálido	Naranja
Olor	Característico mango	Característico guayaba
Sensación al tacto	Agradable	Agradable



**Figura 1. Medición de pH de las lociones de *M. indica* y *P. guayava* a las 12 semanas.**  
t<sub>0</sub>: 24 horas posteriores a las formulaciones de las lociones

**Tabla 4. Medición de pH en estabilidad de estantería (25°C), estabilidad acelerada (4°C) y (40°C) en un período de tiempo de 3 meses.**

Estudio	Tiempo	pH	
		LM 0,1%	LG 1%
Estabilidad en estantería 25°C	1 día	6,35	5,04
	1 semana	6,22	5,2
	1 mes	6,3	5,18
	2 meses	6,29	5,31
	3 meses	6,35	5,30
Estabilidad acelerada 4°C	1 día	6,39	5,24
	1 semana	6,17	5,20
	1 mes	6,22	5,38
	2 meses	6,32	5,33
	3 meses	6,09	5
Estabilidad acelerada 40°C	1 día	6,45	5,9
	1 semana	6,4	5,53
	1 mes	6,39	5,58
	2 meses	6,27	5,6
	3 meses	6,3	5,62

LM: Loción de mango; LG: Loción de guayaba.

**Tabla 5. Concentración mínima inhibitoria de las lociones de *M. indica* 0,1% y *P. guayava* a 1% y del control clindamicina 10 mg/mL.**

Microorganismo	CMI (mg/mL)		
	Loción de <i>M. indica</i>	Loción <i>P. guayava</i>	Clindamicina
<i>S. aureus</i>	0,398	0,435	0,384
<i>S. epidermidis</i>	0,331	0,425	6,3

## DISCUSIÓN

Se formularon varias lociones base con diferentes concentraciones de etanol 96%, las cuales fueron variando según las referencias bibliográficas y las pruebas observadas. La proporción de alcohol con la finalidad de limpieza, varía según el tipo de piel oscilando en 10% a 50%, debido a que bajo el valor mínimo de este rango la propiedad conservante del alcohol no bastaría para la loción; teniendo que incorporar en forma extra un agente conservante.<sup>5</sup> Se comenzó con 9 lociones base a concentraciones de 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% y 50% de alcohol, se optó por la loción al 25% ya que cumple con la finalidad de limpieza y a la vez no deshidrata el

estrato corneo de la piel como sucede con las concentraciones superiores.<sup>19</sup>

La utilización del propilenglicol como uno de los componentes seleccionados, se debió a que sus funcionalidades se adecuaban a los requerimientos de la formulación: primeramente es humectante, como loción para el tratamiento del acné además de limpiar la piel, al no reseca evita posibles irritaciones. Por otra parte, debido a que es un mejor solvente que glicerina, la cual fue descartada en la etapa de preformulación porque le entregaba a la piel una sensación aceitosa; tercero por ser químicamente estable cuando se mezcla con etanol y agua, como es el caso de esta formulación y por último por ser mínimamente tóxico en la utilización tópica. La

concentración utilizada fue de 15% ya que en este rango se utiliza como humectante y conservante.<sup>20</sup>

El lauril éter sulfato de sodio se utilizó a una concentración de 0,5%, en este rango se ocupa como detergente a nivel tóxico; puede utilizarse hasta una concentración de 1%, pero a esta concentración se generaba mucha espuma la cual se debía retirar con agua posterior a la aplicación de la loción, se disminuyó la concentración a 0,5% la cual no generaba demasiada espuma y cumplía con la función de remover el exceso de grasitud existente en la piel.

Se elaboraron lociones patrones a concentración 1, 2, 3, 4 y 5% de liofilizado de *M. indica* y *P. guayava*. Se prefirieron estas concentraciones debido a la estabilidad y aspecto que presentaron las lociones, en rangos superiores de concentración las lociones presentaban separación del liofilizado y, a rangos inferiores no se podía establecer la concentración bactericida. Al incorporar los liofilizados a la loción, éstos no solubilizaron. En el caso de *M. indica* fue el que menos solubilizó, estudios bibliográficos indican que las cáscaras de *M. indica* poseen carotenoides, fibra dietética, vitamina E, compuestos insolubles en agua y a los cuales se les puede atribuir dicha insolubilidad. En el año 2008 se realizaron estudios de los componentes bioquímicos de *P. guayava* encontrando como mayores constituyentes bioactivos en sus cáscaras la vitamina C y fibra dietética,<sup>12</sup> siendo esta última la responsable de la insolubilidad del liofilizado. Por lo tanto se procedió a incorporar el liofilizado a las lociones mediante su extracto etanólico, el cual se pudo solubilizar de buena forma dejando una loción estable.

Las lociones base mostraron valores de pH aproximado a 6 que va acorde con el rango de pH normal de la piel 5,5 - 6,5,<sup>15</sup> al incorporarles los liofilizados a las distintas concentraciones antes ya mencionadas, hubo un descenso del pH que oscilaba entre 4,0 - 4,5, debido a la acidez que poseen los liofilizados de *M. indica* y *P. guayava*. Las cáscaras de *P. guayava* poseen como mayor constituyente químico bioactivo el ácido ascórbico<sup>12</sup> y los componentes existentes mayoritariamente en las cáscaras de *M. indica* son polifenoles y ácido ascórbico;<sup>11</sup> por lo tanto la acidez presentada por los liofilizados de las cáscaras de ambos frutos pueden atribuirse a estos compuestos. Las lociones fueron ajustadas con TEA al pH normal de la piel, manteniéndose estables.

Mediante el test de estabilidad en estantería, se estableció que al mantener sus propiedades físicas y químicas sin variación alguna durante 3 meses el producto es estable en esta condición de almacenamiento. El test de estabilidad acelerada le confiere condiciones para el envejecimiento acelerado a las formulaciones, para así poder seleccionar las que poseen mejor características de estabilidad química y física, indicándonos cuál de las formulaciones son

estables para seguir con ensayos futuros. Se puede concluir que las lociones en estudio son estables con el pasar del tiempo manteniendo sus características tales como: olor, color, aspecto y pH.

La presencia de agua y componentes orgánicos en las formulaciones favorece el crecimiento de microorganismos. En algunos casos, éstos afectan la estructura de los agentes conservantes influenciando en la estabilidad del producto, justificando la evaluación microbiológica de éste con el desarrollo de las Buenas Prácticas de Manufactura. Se entiende que la calidad microbiológica de un cosmético no debe depender exclusivamente de su sistema conservante, sino también del correcto desarrollo de la formulación.<sup>17</sup>

Resultó negativa la presencia de *S. aureus*, *E. coli*, *S. aeruginosa* y *Salmonellas* en las lociones en estudio a las 24, 48 y 96 horas de incubación, atribuyendo dicha ausencia a la actividad antimicrobiana que poseen en sí las lociones y a la correcta manipulación de todas las condicionantes al momento de su elaboración.

La finalidad de las lociones fue mantener el propósito de formular un producto con sentido natural, incluyendo los mínimos componentes de características sintéticas tales como conservantes, colorantes y fragancias; a los cuales se les atribuye estar involucrados en las reacciones de sensibilidad producida por cosméticos. Las reacciones alérgicas que se producen mayoritariamente en el ámbito de la cosmética son las reacciones de tipo IV o de hipersensibilidad celular tardía, necesitando un período de tiempo de 24 a 48 horas para que se presenten los síntomas; debido a esto la retirada de los parches con las respectivas lociones sucedió al cabo de 48 horas y se procedió con la observación.<sup>21,22</sup> Las lociones en estudio se consideraron como no irritantes al no presentar reacciones alérgicas los voluntarios en estudio; entregando seguridad, confiabilidad y siendo éstas aptas para la utilización por parte de los usuarios sin que esto genere un riesgo para la piel.

#### Actividad antimicrobiana.

**Concentración mínima inhibitoria bacteriana.** Ensayos previos determinando la CMI de las lociones bases, demostraron que el etanol 96% no inhibe el crecimiento bacteriano de *S. aureus* y *S. epidermidis* a las 96 horas de la observación, esto se puede atribuir a las resistencias de dichas bacterias, por ser cepas clínicas.

En un principio al plantearse la hipótesis de la formulación de una loción hidroalcohólica, se tomó en cuenta la posible interferencia del alcohol como componente en sí con la actividad antimicrobiana,<sup>20</sup> pudiendo así enmascarar y/o no demostrar la actividad antimicrobiana de los extractos de liofilizados de *M. indica* y *P. guayava*.

El etanol absoluto se utilizó como un control de referencia para poder así corroborar el ensayo realizado

con la loción base, la cual no presentó actividad antimicrobiana frente a las cepas bacterianas en estudio. Los resultados obtenidos de este ensayo indican que a las 96 horas de observación se obtuvo un valor de 111 µL/mL como concentración mínima inhibitoria bacteriana para ambas cepas en estudio.

En cuanto a las lociones, la loción patrón de *M. indica* al 1% fue la que tuvo actividad antimicrobiana y en el caso de la loción patrón de *P. guayava* fue al 5%.

La actividad antimicrobiana de clindamicina (antibiótico control) fue 0,384 mg/mL, levemente superior a la loción de *P. guayava* y muy cercana a la actividad presentada por la loción de *M. indica* la cual fue de un 0,398 mg/mL ante *S. aureus*.

Cabe destacar que *S. epidermidis* es una cepa de aislamiento clínico, dichas cepas muchas veces son obtenidas de lesiones infectadas y han desarrollado una gran resistencia a los antibióticos. La resistencia de esta bacteria hacia ambientes adversos ha sido ampliamente documentada en estudios que incluyen su resistencia a bajos pH, bajas temperaturas y presencia de ácidos orgánicos, entre otros.<sup>23</sup> Por otra parte, la resistencia de *S. epidermidis* a diversos agentes antibacterianos tales como aminoglucósidos, β-lactámicos, ampicilina, oxacilina, gentamicina, macrólidos, lincosaminas y fluorocinolonas también ha sido ampliamente demostrada.<sup>24, 25</sup> Esto podría explicar el valor obtenido de CMI de clindamicina frente a *S. epidermidis*, motivo por el cual se necesitó una mayor concentración del antibiótico para inhibir el crecimiento de dicha bacteria, en comparación con las concentraciones de las lociones en estudio que fueron menores.

Es importante destacar que los valores de CMI obtenidos por las lociones no le restan importancia a la acción antibiótica de clindamicina. A pesar de necesitar una concentración mayor para inhibir el crecimiento de *S. epidermidis*, ésta se encuentra dentro del rango que es utilizada en la formulación antibiótica para el tratamiento del acné con la cual se realizaron los ensayos de comparación.

Entre ambas lociones, la mayor actividad antimicrobiana la presenta la loción de *M. indica* frente a *S. aureus* y *S. epidermidis*. Se puede atribuir estas acciones a los compuestos fenólicos que conforman las cáscaras de dicho fruto, como es el caso de los taninos que forman un complejo con proteínas ricas en prolina, inhibiendo la síntesis proteica de las células bacterianas a las cuales se les atribuiría dicha acción.<sup>12, 14, 26</sup>

*P. guayava* posee en sus cáscaras como mayor constituyente ácido ascórbico, pudiendo designarle a éste la responsabilidad de la actividad presentada por dicha loción, basado en los reportes bibliográficos que sugieren que algunos ácidos orgánicos como el ácido ascórbico, ácido rosmérico, ácido caféico por ejemplo, son compuestos que inhiben el crecimiento de algunas bacterias.<sup>27</sup>

Tanto la loción hidroalcohólica formulada en base a cáscaras de *Mangifera indica* como la de *Psidium guajava*, demostraron ser seguras y estables, presentando actividad antimicrobiana similar a clindamicina frente a los patógenos involucrados en el acné, pudiendo representar a futuro una importante alternativa como coadyuvantes en el tratamiento de esta patología.

#### AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad Arturo Prat.

A la Dirección General de Investigación de la Universidad Arturo Prat, por el financiamiento del proyecto DI 0048-09.

#### REFERENCIAS

1. Krauteim A, Gollnick H. Acne: Topical treatment. Clin Dermatol. 2004; 22: 398-407.
2. Jaramillo M, Bazalar D. Significación etiológica del *Propionibacterium acnes* en el desarrollo del acné vulgaris. Folia Dermatol. 2006; 17(1): 25-31.
3. Vilaverde J, Yoshiko P, Amante H. Padrões clínicos de acné em mulheres de diferentes faixas etárias. An bras Dermatol. 2009; 84(4): 349-54.
4. Thiboutot D, Gollnick H, Bettoli V, Dréno B, Kang S, Leyden J. New insights into the management of acne: an update from the Global Alliance to Improve Outcomes in Acne group. J Am Acad Dermatol. 2009; 60(5): 1-50.
5. Gilaberte Y. Dermatología pediátrica: ¿qué hay de nuevo en el acné?. Rev Pediatr Aten Primaria. 2009; 10(17): 303-316.
6. Vila J. Tecnología Farmacéutica Volumen II: Formas Farmacéuticas. 1ª ed. Madrid: Síntesis; 2001.
7. Gualtieri M, González M, Contreras K, Noguera M, Uzcátegui E, Villasmil S, Villalta C. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de *Azadirachta indica*. INHRR. 2008; 39(2): 12-16.
8. De los Ríos C, Hidalgo D, Quintero M, Marqués G, Crescente O. Estudio preliminar *in vitro* de la actividad biológica de *Chromolaena voglii* (Robinson) H. Huber. Rev Fac Farm. 1999; 36: 2-5.
9. Cáceres A, Cano O, Samayoa B, Aguilar L. Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. I. Screening of 84 plants against enterobacteria. J Ethnopharmacol. 1990; 30(1): 55-73.
10. Dimayuga R, García S. Antimicrobial screening of medicinal plants from Baja California Sur Mexico. J Ethnopharmacol. 1991; 31: 181-192.
11. Ajila C, Bhat S, Prasada Rao U. Valuable components of raw and ripe peels from two Indian mango varieties. Food Chem. 2007; 102: 1006-1011.
12. Perez R, Mitchell S, Vargas R. *Psidium guajava*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol. 2008; 117: 1-27.
13. Wauthoz N, Balde A, Saïdou E, Van Damme M, Duez P. Ethnopharmacology of *Mangifera indica* L. Bark and Pharmacological Studies of its Main C-

- Glucosylxanthone, Mangiferin. *Int J Biomed Pharmaceut Sci.* 2007; 1(2): 112-119.
14. Akinpelu D, Onakoya T. Antimicrobial activities of medicinal plants used in folklore remedies in south-western. *Afr J Biotechnol.* 2006; 5(11): 1078-1081.
  15. Isaac V, Cefali L, Chiari B, Oliveira C, Salgado H, Correa M. Protocolo para ensaios fisico-químicos de fitocosméticos. *Rev. cienc. farm. básica apl.* 2008; 29(1): 81-96.
  16. Vila J. *Tecnología Farmacéutica Volumen I: Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas.* 1ª ed. Madrid: Síntesis; 2001.
  17. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos.* 2ª ed. Brasília: Anvisa; 2008.
  18. Velasco M, Maciel C, Sarruf F, Pinto C, Consiglieri V, Kaneko T, Baby A. Desenvolvimento e Teste Preliminar Estabilidade de formulações cosméticas acrescidas de extrato comercial de *Trichilia catigua* Adr. Juss (e) *Ptychopetalum olacoides* Benth. *Rev. cienc. farm. básica apl.* 2008; 29(2): 181-196.
  19. Sánchez F, Gómez P. *Bases para la atención farmacéutica del acné vulgar.* 1ª ed. Madrid: Díaz de Santos; 2000.
  20. Rowe R, Sheskey P, Quinn M. *Handbook of pharmaceutical excipients.* 6th ed. London: Pharmaceutical press; 2009.
  21. Arduso L. Prueba del parche. *Enfoques.* 2002; 3(1): 7-9.
  22. Sandoval C. *Tópicos Sobre Cosmética.* 1ª ed. Concepción: Universidad de Concepción; 1994.
  23. Estrada H, Gamboa M, Chaves C, Arias M. Evaluación de la actividad antimicrobiana de la miel de abeja contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* y *Aspergillus niger*. Evaluación de su carga microbiológica. *ALAN.* 2005; 55(2): 167-171.
  24. Pinilla G, Muñoz L, Ruiz A, Chavarro B, Cifuentes Y. Aislamiento de *Staphylococcus epidermidis* portador de integrón clase 1 en un paciente con sepsis neonatal. *Infectio.* 2009; 13(3): 196-202.
  25. Garcia C, Pardo J, Seas C. Bacteremia por *Staphylococcus epidermidis* y absceso de partes blandas en un paciente postoperado: reporte de un caso. *Rev Med Hered.* 2003; 14(4): 221-223.
  26. Mahmood E. The use of *Psidium guajava* Linn. in treating wound, skin and soft tissue infections. *Sci. Res. Essays.* 2009; 4(6): 605-611.
  27. Monroy A, Martínez I, Totosaus A. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de etanólicos de romero y chile ancho y su aplicación en un batido cárnico. *Nacameh.* 2009; 3(1): 21-32.