

## Evaluación del efecto irritante e hidratante de ésteres de $\alpha$ -hidroxiácidos.

EDDA COSTA, OLOSMIRA CORREA, CECILIA ORLANDI\*,  
JENNY CISTERNAS

*Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile*

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar la irritación y el efecto hidratante de los ésteres de AHA's.

Se evaluó el efecto irritante de los ésteres málico, láctico y salicílico en comparación a sus respectivos ácidos utilizando dos grupos de voluntarios. Las concentraciones de ésteres y AHA's evaluadas en el primer grupo fueron 1%, 2,5% y 5% en aceite mineral como vehículo. En el segundo grupo se aplicaron ésteres y AHA's a una concentración de 4%, 6% y 8% en carbomer al 1% como vehículo.

Se determinó el efecto hidratante agudo de los ésteres málico, láctico y salicílico incluidos en una emulsión mediante la utilización de un Corneómetro CM 820. Las mediciones se realizaron a los 0,60 y 120 minutos sobre los brazos de voluntarios sanos con piel normal.

Los resultados obtenidos, a partir de la Prueba del Parche, fueron sometidos a un análisis estadístico con el que se concluyó que no existieron diferencias estadísticamente significativas entre el potencial de irritación de los ésteres de ácido láctico (EAL), málico (EAM) y salicílico (EAS) en relación a sus respectivos ácidos.

Los valores obtenidos en la evaluación del efecto hidratante se analizaron por un método estadístico sin obtener diferencias significativas entre las mediciones.

**Palabras clave:** Ésteres de  $\alpha$ -hidroxiácidos.— $\alpha$ -hidroxiácido.—Hidratación.—Irritación.—Corneómetro.

---

\* Clínica Dermatológica Orlandi.

### SUMMARY

#### Evaluation of irritation and moisturizing effect of $\alpha$ -hydroxyacids.

The purpose objective of this work was to evaluate the irritation and the moisturizing effect of the AHA's esters.

The irritation of malic, lactic ésteres and salicylic acid was evaluated by comparing to its their respective acids, using two groups of volunteers. The esters concentrations and acids were 1%, 2,5% and 5% in mineral oil for the first group. In the second group the concentration applied were 4%, 6% and 8% in carbomer.

The acute moisturizing effect of malic, lactic and salicylic esters included in an emulsion was determined by means of Corneómeter CM 820. The measurements were taken at 0,60 and 120 minutes in healthy volunteers with normal skin on their forearms.

The obtained results, with the Test of the Patch method, were submitted to statistical analysis, to establish if it had different response between AHA's and its esters in relation with the irritation on the skin.

The values obtained with the evaluation of the moisturizing effect of the sters ELA, EMA, ESA were analyzed by a statistical method obtaining no differences between the measurements.

**Key Words:** Esters  $\alpha$ -hydroxy acids.— $\alpha$ -hydroxy acid.—Moisturizing.—Irritation.—Corneometer.

### INTRODUCCIÓN

La incorporación de  $\alpha$ -hidroxiácidos (AHA's) en formulaciones dermatológicas y cosméticas ha experimentado durante los últimos años un gran aumento debido a que existe un mayor conocimiento acerca de sus propiedades queratolíticas, humectantes (1, 2), anti-acné (3) y anti-envejecimiento (4).

Los AHA's son ácidos carboxílicos que tienen un grupo hidroxilo en posición alfa a lo largo de la cadena carbonada. Se encuentran en forma natural en diversos alimentos, por ejemplo ácido glicólico (caña de azúcar), ácido láctico (leche agria), ácido málico (manzanas), ácido tartárico (uvas) y ácido cítrico (frutas cítricas). Además participan como metabolitos del ciclo de los hidratos de carbono y otros procesos importantes (5). Los AHA's difieren químicamente entre sí por su peso molecular y longitud de cadena.

El efecto producido por los AHA's depende de las concentraciones de uso. Al ser usados a bajas concentraciones en preparados

tópicos, los AHA's en un comienzo reducen la cohesión de corneocitos en los niveles más profundos del estrato córneo (6), produciendo una fragmentación tipo laminar. Esta situación se revierte con una aplicación continuada pudiendo alcanzar y mantenerse una nueva homeostasis (7). Concentraciones más altas de AHA's presentan efectos más profundos, pero menos específicos sobre la epidermis. Se incluyen reducción de cohesión de corneocitos, epidermolisis completa y separación epidérmica (7).

El hecho que los AHA's produzcan una reducción de la cohesión de corneocitos permiten el control de la piel seca y otros estados caracterizados por la retención del estrato córneo (8). En cuanto al efecto epidermolítico proporciona eficacia en el tratamiento del acné.

Pese a las propiedades antes mencionadas, el uso de AHA's ha sido cuestionado debido a que, al incorporarse en formulaciones sin neutralizar, se obtiene un pH demasiado bajo, produciendo dermatitis aguda e inactivando los sistemas enzimáticos presentes (9). Una alternativa a los problemas de irritación causado por el bajo pH sería su incorporación en sistemas tamponados, pero se ha demostrado que sus propiedades disminuyen en forma considerable (10).

Una de las posibilidades existentes para evitar el problema de irritación y no disminuir las propiedades que presentan los AHA's, sería interviniendo en su composición química. Es así como se han desarrollado una serie de ésteres derivados de los AHA's, los cuales mediante hidrólisis enzimática liberarían el ácido en forma gradual (11). Dentro de los más comunes se encuentran los ésteres del ácido láctico (EAL), málico (EAM), cítrico (EAC), tartárico (EAT) y salicílico (EAS).

Existe poca información científica con relación a las propiedades queratolíticas, humectantes, anti-acné y anti-envejecimiento de los ésteres de  $\alpha$ -hidroxiácidos, razón por la cual el objetivo principal de este trabajo fue determinar si éstos poseen efectos similares a sus respectivos ácidos causando una menor irritación en su aplicación.

## MATERIAL Y MÉTODOS.

### 1. EVALUACIÓN DEL EFECTO IRRITANTE DE LOS ÉSTERES EAL, EAM y EAS.

La evaluación del efecto irritante de los ésteres de AHA's (EAL, EAM y EAS) se realizó en forma comparativa con sus respectivos ácidos, AS, AM y AL, mediante la Prueba del Parche en 60 voluntarios sanos divididos en dos grupos de 30 personas cada uno.

En el primer grupo de voluntarios las concentraciones de ésteres de AHA's ácidos ensayadas, incorporados en aceite mineral y etanol respectivamente, fueron del 1%, 2,5% y 5%. En el segundo grupo, las concentraciones de ésteres de AHA's y ácidos fueron de 4%, 6% y 8% utilizando como vehículo Carbomer 934 al 1%.

El procedimiento utilizado en el estudio consistió en aplicar 0,2 mL de cada mezcla en las cámaras del parche Finn Chamber, recomendado por el Grupo Internacional de Dermatitis de Contacto Alérgica (ICDRG) (12). Asimismo, los respectivos vehículos fueron sometidos a evaluación. Posteriormente, los parches fueron colocados en las espaldas limpias de cada voluntario y se observaron las reacciones producidas a las 48 y 96 horas de su aplicación, las cuales fueron leídas según la tabla 1.

TABLA 1. *Lectura de las Reacciones Irritativas de acuerdo al Grupo Internacional de Dermatitis de Contacto (ICDRG) (12).*

Símbolo	Reacción
—	Reacción negativa
¿	Reacción dudosa
+	Reacción débil, eritema, pápulas y microvesículas, con inflamación importante
++	Reacción severa, eritema, pápulas y microvesículas, con infiltración importante
+++	Reacción extrema, ampolla o necrosis
IR	Reacción irritativa

## 2. MÉTODO DE ELABORACIÓN DE EMULSIONES.

Se desarrolló una emulsión base para incorporar los ésteres de  $\alpha$ -hidroxiácidos, utilizando materias primas que no presentaran efecto comedogénico y que pudiesen otorgar a la emulsión propiedades hidratantes adicionales que interfirieran con la evaluación de los ésteres (13).

La elaboración de las emulsiones a base de ésteres de  $\alpha$ -hidroxiácidos, se realizó mediante el método de fabricación tradicional de emulsiones. Se obtuvieron varias emulsiones en las que se utilizaron distintas parejas de tensoactivos como: laurato de sorbitán (Span® 20), estearato de sorbitán (Span® 60), oleato de sorbitán (Span® 80), laurato de sorbitán polioxietilénico (Tween® 20), estearato de sorbitán polioxietilénico (Tween® 60), oleato de sorbitán polioxietilénico (Tween® 80), derivados de lanolina (Solan® 10, 20, 30 y 100; Solulan® 5 y 16), derivados de sesquiestearato de metil glucósidos (Glucate® SS y Glucamate® SSE-20), Ceteareth 12 y 20 (Eumulgin® B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>) y estearato de glicerilo más PEG-100 estearato (Arlacel® 165). Los tensoactivos fueron incorporados en función del Balance Hidrófilo-Lipófilo (BHL) de la formulación ensayada, en concentraciones del 10%, 15% y 20%, en relación a la fase grasa. Se ensayaron tres preservantes (metilparabeno, propilparabeno y diazolidinilurea) con el fin de asegurar la estabilidad e inocuidad de la emulsión. La fase oleosa experimentó diversas modificaciones en la que se evaluaron materias primas como aceite mineral, petrolato blanco, monoestearato de glicerilo neutro, alcohol cetílico, triglicéridos del ácido cáprico/caprílico (Myritol® 318) y dibutil adipato (Cetiol® B) (14-16).

Los controles de calidad realizados a las emulsiones fueron los siguientes: evaluación de las características organolépticas, viscosidad (Brookfield LVF a 20°C), pH a temperatura ambiente (20°C) y 40°C (pHímetro Orion), estabilidad en estantería y acelerada (estufa Memmert a 40° C), durante 4 meses; y centrifugación a 3.500 r.p.m a temperatura ambiente durante 10 minutos (14, 16, 17).

### 3. EVALUACIÓN DEL EFECTO HIDRATANTE AGUDO DE ÉSTERES DE AHA's.

La determinación de la capacidad hidratante de las emulsiones desarrolladas con ésteres de AHA's, se realizó con el Corneómetro CM 820 Courage-Khazaka. Este instrumento mide la capacidad eléctrica de la piel, que se relaciona con el contenido de agua de la epidermis. Valores bajos de capacidad corresponden a pieles secas y valores altos a una piel hidratada. Las mediciones son dependientes de la temperatura y humedad ambiental, por esto la experiencia se realizó a  $25 \pm 5^\circ\text{C}$  y  $56 \pm 5\%$  de humedad relativa; condiciones que se mantuvieron constantes durante todo el tiempo que duró el estudio (18).

El efecto hidratante agudo de los ésteres de AHA's se evaluó en un panel de voluntarios. Para ello se incorporaron los ésteres de ácido málico, salicílico y láctico en la emulsión desarrollada en una concentración de 2%, utilizando como control la emulsión sin ésteres.

El estudio se realizó en la zona del antebrazo derecho de 31 voluntarios sanos de sexo femenino y masculino. Dos días previos al estudio, se les indicó a los voluntarios no utilizar ningún tipo de cosméticos en esa área y lavar sólo con agua. Antes de iniciar el experimento, los voluntarios se mantuvieron durante 30 minutos en condiciones ambientales controladas, con el objeto de lograr su adaptación y equilibrio al medio.

Se demarcaron cuatro áreas de  $4 \text{ cm}^2$  a lo largo del antebrazo. Luego se aplicó 0,1 mL de cada emulsión en estudio sobre las zonas delimitadas. Se realizaron mediciones con el Corneómetro a tiempo cero, 60 y 120 minutos.

## RESULTADOS

### I. EVALUACIÓN DEL EFECTO IRRITANTE DE ÉSTERES EAL, EAM y EAS

Los resultados del ensayo de irritación observados en el primer grupo de voluntarios a las 48 y 96 horas de aplicados los ésteres y

ácidos, evaluados según el Grupo Internacional de Dermatitis de Contacto Alérgica, se muestran en la figura 1.

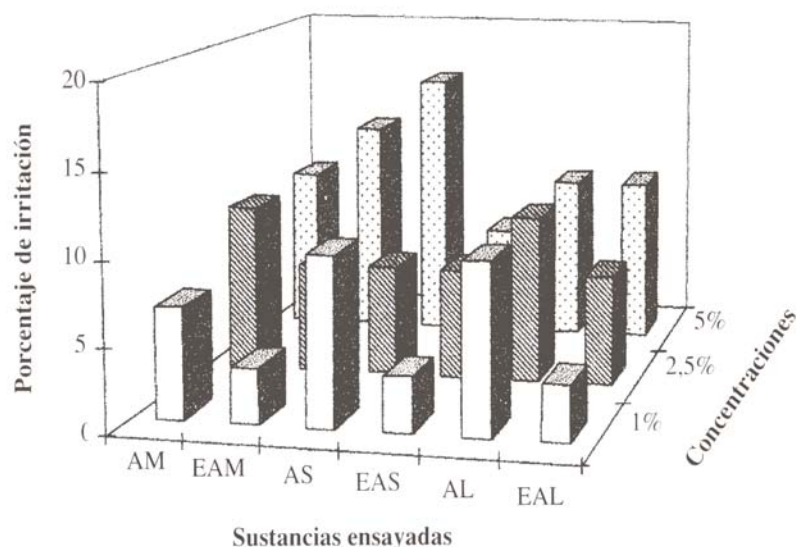


FIGURA 1. Resultados del ensayo de irritación de los ésteres málico, láctico y salicílico y sus respectivos ácidos, en concentraciones de 1; 2,5 y 5%, realizado en 30 voluntarios sanos.

Los resultados obtenidos en el primer grupo de voluntarios, presentados en la figura 1, muestran que a las concentraciones ensayadas de ésteres y ácidos (1; 2,5 y 5%), la diferencia entre la respuesta presentada por los voluntarios no difiere significativamente entre ésteres y ácidos (Ensayo de rangos signados Wilcoxon, para variables discretas) (19). De lo anterior se puede concluir que, a concentraciones iguales o inferiores al 5% de las sustancias ensayadas, los ésteres de AHA's poseen similar capacidad irritante que sus respectivos ácidos.

Los resultados del ensayo de irritación observados en el segundo grupo de voluntarios a las 48 y 96 horas de aplicados los ésteres y ácidos evaluados según el Grupo Internacional de Dermatitis de Contacto Alérgica, se muestran en las figuras 2 y 3.

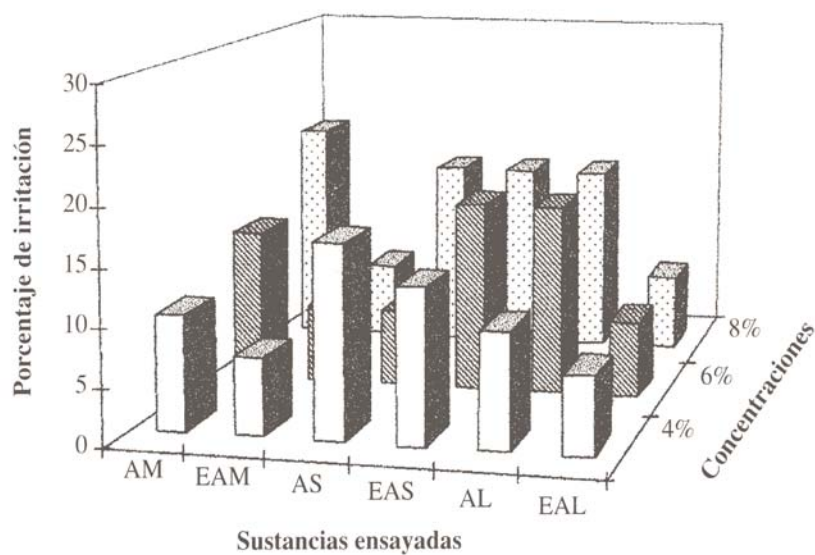


FIGURA 2. Resultados del ensayo de irritación de los ésteres málico, láctico y salicílico y sus respectivos ácidos en concentraciones de 4; 6 y 8%, realizado en 30 voluntarios sanos, observado a las 48 horas.

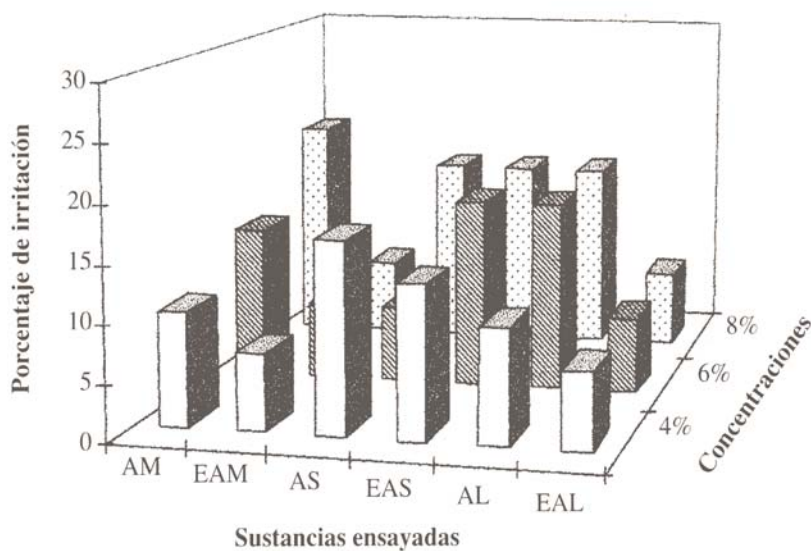


FIGURA 3. Resultados del ensayo de irritación de los ésteres málico, láctico y salicílico y sus respectivos ácidos en concentraciones de 4; 6 y 8%, realizado en 30 voluntarios sanos, observado a las 96 horas.



Para el segundo grupo de voluntarios donde las concentraciones aplicadas fueron superiores (4; 6 y 8%), se observó mayor respuesta irritante con los ácidos. El estudio estadístico indicó que las diferencias no fueron significativas (Ensayo de rangos signados Wilcoxon, para variables discretas) (19).

## 2. DESARROLLO DE LA FORMULACIÓN COSMÉTICA.

La forma cosmética seleccionada para la incorporación de los ésteres de AHA's fue una emulsión del tipo o/w. La emulsión base inicial se muestra en la tabla 2.

TABLA 2. *Emulsión base inicial desarrollada para incorporar los ésteres de AHA's.*

<b>Materias primas</b>	<b>Porcentaje</b>
Aceite mineral	10 %
Monoestearato de glicerilo neutro	3%
Alcohol cetílico	2%
Pretolato blanco	5%
Emulgentes no-iónicos	c.s
Conservante	c.s
Agua destilada	c.s.p 100%

De acuerdo a los ensayos realizados, se logró estabilizar la emulsión al incorporar estearato de glicerilo y PEG-100 estearato (Arlacel® 165) como emulgente. Las materias primas seleccionadas para la formulación final, no debían ser irritantes ni poseer acción hidratante, para lo cual, se realizó una búsqueda bibliográfica y se contó con la información del dermatólogo asesor (Orlandi, C., 2000). Por este motivo, se debió sustituir algunas materias primas presentes en la formulación inicial, pero sin dejar de considerar las características organolépticas de la emulsión. El conservante fue seleccionado

en función de su efectividad y bajo poder irritante. La formulación final se muestra en la tabla 3.

TABLA 3. *Formulaciones finales con los ésteres de  $\alpha$ -hidroxiácidos incorporados.*

Materias primas	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3
Monoestearato de glicerilo y PEG-100 estearato	5%	5%	5%
Alcohol cetílico	6%	6%	6%
Triglicérido de ácido cáprico/caprílico	2%	2%	2%
Ester ácido láctico (EAL)	2%	—	—
Ester ácido salicílico (EAS)	—	2%	—
Ester ácido málico (EAM)	—	—	2%
Conservante	0,1%	0,1%	0,1%
Solución tampón ftalato de potasio	c.s pH5	c.s pH 5	c.s pH 5
Agua destilada	c.s.p 100%	c.s.p 100%	c.s.p 100%

### 3. CONTROL DE CALIDAD

#### Viscosidad

En la tabla 4 se muestran los valores de viscosidad determinados utilizando un viscosímetro Brookfield LV4 con aguja 4,12 r.p.m y a 20°C.

TABLA 4. *Viscosidad de las formulaciones finales.*

Emulsión	Viscosidad
Ester ácido málico (EAM)	7.250
Ester ácido láctico (EAL)	7.750
Ester ácido salicílico (EAS)	15.000
Base	12.250

### Estabilidad

- Acelerada (40°C): Por un periodo de 16 semanas, todas las emulsiones se mantuvieron estables.
- Estantería: por un periodo de 16 semanas todas las emulsiones se mantuvieron estables.
- Centrífuga: las emulsiones fueron sometidas a 3.500 r.p.m durante 10 minutos, siendo todas resistentes a este ensayo.

### pH

La tabla 5 muestra los valores de pH determinados en un pHímetro Orion, los cuales fueron obtenidos mediante mediciones sucesivas durante 16 semanas, tanto a temperatura ambiente (20°C) y 40 °C.

TABLA 5. Valores de pH determinados a las formulaciones finales.

Emulsión	pH			
	Inicio		Final (16 semanas)	
	20°C	40°C	18°C	40°C
Ester ácido málico (EAM)	5,21	5,06	5,35	4,59
Ester ácido láctico (EAL)	4,88	4,72	4,58	4,18
Ester ácido salicílico (EAS)	5,25	5,15	4,99	4,47
Base	5,26	5,17	5,02	4,60

#### 4. ENSAYO DE HIDRATACIÓN

Se determinó el efecto hidratante de los ésteres EAM, EAS y EAL incorporados en la emulsión desarrollada comparando su efecto con la emulsión base.

La prueba se realizó en 31 voluntarios, 18 mujeres y 13 hombres, con edades entre 19 y 50 años (edad promedio: 30 años). Todos los

voluntarios cumplieron los requisitos exigidos para participar en este estudio. Los resultados de las mediciones se presentan en la figura 4.

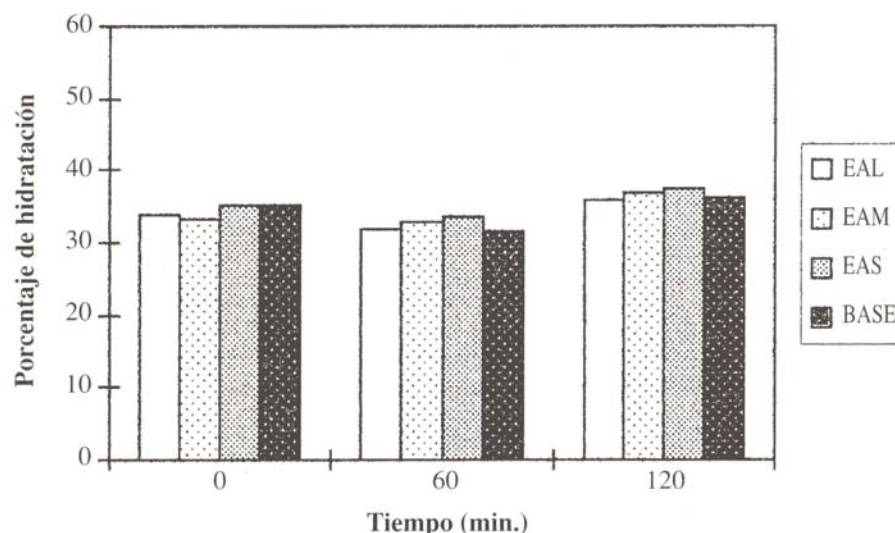


FIGURA 4. Efecto hidratante agudo de ésteres de AHA's obtenido en 31 voluntarios, utilizando el Corneómetro CM 820.

Al analizar el gráfico anterior, se aprecian variaciones en los porcentajes de hidratación producidos por los ésteres EAM, EAL, EAS, a los tiempos ensayados. De acuerdo con las mediciones realizadas a tiempo cero (antes de aplicar las emulsiones), en el gráfico se observa que la base no presentó un gran efecto hidratante, lo cual avala la selección de las materias en el desarrollo de las emulsiones.

Para determinar si las diferencias entre los valores de hidratación a tiempo cero, 60 y 120 minutos tenían alguna significancia estadística, se realizó un análisis de varianza (ANOVA). Este último es un método estadístico para variables continuas utilizado para el análisis de varianza, permitiendo comparar las medias de los porcentajes de hidratación entre el tiempo cero, 60 y 120 minutos después de aplicadas las emulsiones (20).

La aplicación de las emulsiones y el registro de datos fue realizada, utilizando la metodología de simple ciego. Los valores basales

corresponden a la medición inicial, donde los voluntarios se encuentran sin tratamiento.

Los resultados obtenidos de las mediciones, realizadas a los voluntarios, fueron sometidos a estudios estadísticos (análisis de varianza, ensayo de Kruskal-Wallis) para determinar la importancia de la diferencia obtenida entre los valores.

De acuerdo con los estudios realizados donde se comparó cada emulsión con sus distintas mediciones (basal, 60 minutos y 120 minutos) y los valores entre las diferentes emulsiones, se llegó a la conclusión que la diferencia entre las mediciones basales y las posteriores no fueron estadísticamente significativas.

Por medio de la evaluación del efecto hidratante mediante la medición de la capacidad de la piel, se concluyó, que la aplicación aguda de ésteres de ácido málico, salicílico y láctico no aumentó la hidratación de la piel. Estos resultados no se pueden generalizar a otras técnicas de medición de hidratación.

### CONCLUSIONES

- El potencial de irritación de los ésteres de ácido láctico (EAL), málico (EAM) y salicílico (EAS) en relación a sus respectivos ácidos, no presentó diferencias estadísticamente significativas en el grupo de voluntarios evaluados.
- En la evaluación del efecto hidratante agudo de los ésteres EAL, EAM y EAS, incorporados al 2% en la emulsión desarrollada, en voluntarios sanos a tiempo cero, 60 y 120 minutos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las mediciones.

### BIBLIOGRAFÍA

- (1) DAHL, A. Y DAHL, M. (1983) 12% Lactate Lotion for the Treatment of Xerosis. A double-blind Clinical Evaluation. *Arch. Dermatol.* I 19: 27-30
- (2) ROSSI, B. Y VERGANINI, A. (1997) Mecanismos de hidratación de la piel. *Cosm. Toilet* 9 (6): 36-39.

- (3) HOWARD, M.; SHAMBAN, A.; MOY, L. Y MOY, R. (1992) Study Shows that Acne improves with glycolic acid regimen. *Cosmet. Dermatol.* Nov: 32-35.
- (4) SMITH, W. P. (1995) Hidróxi-Acidos e o Envelhecimento Cutáneo. *Cosm. Toilet.* 7 (5): 72-78.
- (5) VAN SCOTT, E. Y YU, R. J. (1984) Hyperkeratinization, corneocyte cohesion, and alpha hydroxy acids. *J. Am. Acad. Dermatol.* 11 (5): 867-879.
- (6) VAN SCOTT, J. Y YU, R. J (1989) Alpha Hydroxy Acids: therapeutic potentials. *Can. J. Dermatol* 1 (5): 108-112
- (7) WONG, W. (1999) los alfa-hidroxiácidos. La estrella del futuro. *Dermatol. Cosmet.* 9 (1): 5-12
- (8) VAN SCOTT, J. Y YU, R. (1974) Control of keratinization with  $\alpha$ -Hydroxy acids and related compounds. *Arch. Dermatol.* 110: 586-590.
- (9) DRAELOS, D. (1997) Dermatologic considerations of AHA's. *Cosm. Dermatol.* 10 (3): 14-18.
- (10) SMITH, W. P (1994) Glycolic Acid, pH and Anti-aging. *Esthetic News* 2, 1:10-11.
- (11) CELLENO, L.; VASELLI, A.; TOLAINI, M. V.; SERAFINI, G.; FERIA, G. Y GENOVA, C. (1995) A study to assess the moisturizing, keratolytic, antiacne and anti-aging effect of alpha-hydroxyacid esters. Scuola Diretta a fini speciali per Tecnici Cosmetici. Facoltà di Medicina e Chirurgia "Angostino Gemelli" Università Cattolica del Sacro Cuore. 277-310.
- (12) ARNDT, K. (1986) Manual de Terapéutica Dermatológica. 3ª Edición. Editorial Médica Panamericana S.A., España.
- (13) BRONAUGH, R. Y MAIBACH, H. (1992) Primary Irritant Allergic Contact, Phototoxic and Photoallergenic Reactions to Cosmetics and Tests to Identify Problem Products. En: Principles of Cosmetics for the Dermatologist. Ed. Frost & Horwitz.
- (14) ANSEL, H. (1985) Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms. Fourth Edition, ed. Lea & Febiger, U.S.A.
- (15) Handbook of Pharmaceutical Excipients. (1994) Edited by A. Wade and P.J. Weller, ed. The Pharmaceutical Press London.
- (16) LACHMAN, L. Y LIEBERMAN, H. (1986) The Theory and Practice of Industrial Pharmacy. Third Edition. Ed. Lea & Febiger, U.S.A.
- (17) KLEIN, K. (1994) Formulation skin care emulsions. *Cosm. Toil.* 109 (7): 63-66
- (18) Información Técnica Corneómetro CM 820 Courage + Khazaka (1990). Köln-West Germany.
- (19) WAYNE, D. (1997) Bioestadística. Bases para las Ciencias de la Salud. 3ª ed. Noruega Editores. México.
- (20) SPIEGEL, M. (1991) Estadística 2ª Edición. MacGraw Hill Ineramericana Companies. Inc., Madrid.