

ELABORADO POR: Marissa Chalán

ESTADO DEL ARTE SOBRE “Aplicaciones cosméticas de análogos de las cruzioseptinas”

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la búsqueda de ingredientes naturales para formular productos cosméticos ha cobrado gran relevancia, impulsada por la creciente aceptación de estos productos en el mercado. El término "cosmético" proviene de la palabra griega "Kosm tikos", que se define como "capaz de arreglo" o "hábil en decoración", y está relacionado con conceptos de orden y armonía (Butler, 1993). En este sentido, los productos cosméticos naturales se entienden como aquellos que promueven la salud, el bienestar, la seguridad, el equilibrio entre la mente y el cuerpo, así como la armonía con la naturaleza y la tolerancia dermatológica (Mosquera, 2015).

Dentro de este contexto, los péptidos derivados de fuentes biológicas están emergiendo como candidatos prometedores debido a sus múltiples propiedades beneficiosas para la piel. Según Alencar-Silva et al. (2018), los péptidos antimicrobianos (AMP) son polipéptidos anfipáticos, catiónicos y de origen endógeno, generados por diversas fuentes naturales. Estos péptidos, que generalmente oscilan entre 12 y 50 aminoácidos, son capaces de combatir una amplia gama de patógenos, incluidos bacterias, virus y hongos. Los péptidos antimicrobianos (PAM) actúan sobre los microbios a través de diversos mecanismos, que han sido objeto de múltiples hipótesis. Uno de estos mecanismos es la despolarización fatal de la membrana bacteriana, que normalmente está energizada, lo que interfiere con su funcionamiento. Además, los PAM pueden formar poros en la membrana celular, permitiendo que el contenido celular se escape y provocando así la muerte celular. También se ha observado que algunos PAM inducen la activación de enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular del microbio, contribuyendo a su destrucción. Otro mecanismo implica la alteración de la distribución de lípidos en la bicapa lipídica de la membrana, lo que afecta sus funciones esenciales. Por último, ciertos péptidos, como la pirrococina, pueden dañar componentes críticos dentro de la célula microbiana tras ser internalizados (Zasloff, 2002).

Entre los diversos orígenes de los PAM, los péptidos derivados de anfibios han captado la atención de la comunidad científica debido a su diversidad estructural y funcional. Las pieles de las ranas y otros anfibios son ricas en estos compuestos, que no solo actúan como defensas contra infecciones, sino que también tienen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes (Rinaldi, 2002). Un grupo particular de estos péptidos son las cruzioseptinas, que se han aislado de la piel de la rana *Cruziophyla craspedopus*. Estas moléculas han demostrado tener actividad antimicrobiana significativa, lo que las convierte en candidatas prometedoras para aplicaciones cosméticas y farmacéuticas. Un estudio realizado por Proaño-Bolaños (2016) caracterizó 15 péptidos de la secreción de la piel de *Cruziophyla calcarifer* (rana de hoja espléndida), los cuales presentan características estructurales únicas, y fueron clasificados como parte de una nueva familia de péptidos denominada cruzioseptinas.

La relevancia de este tema se centra en la necesidad de innovar en la industria cosmética, que busca constantemente nuevos ingredientes que proporcionen beneficios adicionales sin comprometer la salud del consumidor ni el medio ambiente, a diferencia de lo que ocurre con los cosméticos convencionales. En particular, se busca un análogo de cruzioseptinas que sea efectivo para combatir cepas bacterianas responsables del mal olor en las axilas de seres humanos. La investigación sobre las aplicaciones de las cruzioseptinas no solo amplía el conocimiento en el campo de la biotecnología, sino que también abre nuevas oportunidades para el desarrollo de productos cosméticos más eficaces y responsables. Por lo tanto, es fundamental revisar los avances y estudios relacionados con este tema.

2. ANTECEDENTES

2.1. Péptidos antimicrobianos en la piel.

Los péptidos antimicrobianos (AMP) son sintetizados en la piel y en las mucosas de las vías aéreas y digestivas; en estos sitios, entrada potencial de microorganismos, forman una barrera soluble que impide la infección. Los AMP son, predominantemente, pequeños péptidos catiónicos que inhiben el crecimiento de los microbios y tienen una acción citotóxica directa sobre bacterias, hongos y virus. Modifican la respuesta inflamatoria local y activan mecanismos de reacción inmunitaria adaptativa (Rivera et al. 2007)

Rollins-Smith (2009) plantea que, una de las mejores fuentes de péptidos antimicrobianos es la piel de los anfibios. En varios estudios, se han identificado algunos péptidos antimicrobianos en la piel de diferentes especies de anfibios. Por ejemplo, Dermatoxina, Dermaseptina, Plasticina, Filoseptina (Amiche et al. 2008) y Cruzioseptina (Proaño-Bolaños, 2016) son péptidos extraídos de la piel de algunas especies de anfibios.

2.2. Actividad antimicrobiana de cruzioseptinas.

La cruzioseptina (CZS) son péptidos antimicrobianos que llevan el nombre de *Cruziophyla*. Las CZS se caracterizaron a partir de las secreciones de la piel de *Cruziophyla calcarifer*, una rana distribuida desde el noroeste de Ecuador hasta el sureste de Nicaragua (Ron et al. 2022). Las cruzioseptinas son péptidos catiónicos que contienen entre 20 y 30 aminoácidos (Proaño-Bolaños, 2016). Los ensayos in vitro y los métodos computacionales han confirmado que las cruzioseptinas-1, 2 y 3 muestran actividad antimicrobiana contra las bacterias grampositivas *S. aureus* y las bacterias gramnegativas *E. coli* y la levadura *Candida albicans* (Proaño-Bolaños, 2016)

2.3. Cepas bacterianas causantes del mal olor axilar y formas de aislarlas.

Las cepas bacterianas que causan el mal olor en las axilas son principalmente de los géneros *Corynebacterium*, *Staphylococcus* (especialmente *Staphylococcus hominis*) y *Cutibacterium* (anteriormente conocido como *Propionibacterium*). Estas bacterias metabolizan sustratos provenientes de las glándulas apocrinas, como aminoácidos y dipéptidos, transformándolos en compuestos volátiles que generan olores. En particular, los *Corynebacterium* son responsables de la producción de tioalcoholes, que son compuestos con olores fuertes,

mientras que los *Staphylococcus* producen ácidos grasos volátiles que contribuyen a un olor más ácido. Este proceso de biotransformación es clave para la generación del mal olor corporal, ya que las bacterias convierten precursores no odoríferos en sustancias volátiles que son percibidas como desagradables. (James, 2020)

Un antecedente sobre el aislamiento de cepas bacterianas de las axilas se puede encontrar en el estudio de Uzeh et al. (2012) que describe el proceso de recolección de muestras mediante hisopos. En este estudio, se inocularon los hisopos inmediatamente después de la recolección en placas de agar apropiadas, como el agar manitol salado, agar sangre, agar nutritivo y agar Sabouraud. Las inoculaciones se realizaron en duplicado y se incubaron a 37 °C durante 24 horas para bacterias y a 25-27 °C durante 72-96 horas para hongos. Las colonias típicas observadas después de la incubación se recogieron de manera aséptica y se purificaron mediante subcultivo. La identificación de los aislamientos bacterianos se realizó en función de la morfología colonial y pruebas bioquímicas, como las pruebas de catalasa, coagulasa y oxidasa, así como pruebas de fermentación de azúcares. Del estudio se aislaron de sujetos humanos las siguientes cepas: *Bacillus cereus*, *Bacillus flexus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* y *Staphylococcus haemolyticus*.

En otro estudio realizado por Osungunna y Sotunde (2024) para aislar cepas bacterianas de las axilas, se seleccionaron individuos de los cuales se tomarán muestras utilizando hisopos estériles, asegurando que el proceso se realice en condiciones controladas para evitar la contaminación. Las muestras se transportaron a un laboratorio en medios estériles y se inoculan en agua peptonada estéril, incubándose a 37 °C durante 24 horas para permitir el crecimiento bacteriano. Posteriormente, se tomó una alícuota del cultivo y se siembra en placas de agar nutritivo, que se incuban nuevamente a 37 °C durante 24 horas. Las colonias morfológicamente distintas que se desarrollan se identifican mediante métodos microbiológicos estándar, como la tinción de Gram y pruebas bioquímicas. En el estudio mencionado, se identificaron varias cepas bacterianas, siendo las más prevalentes *Staphylococcus epidermidis* (25.45%) y *Staphylococcus haemolyticus* (23.64%), mientras que *Micrococcus luteus* fue la menos representada (2.73%). Estos aislados se almacenan en tubos de agar para su uso posterior en pruebas de susceptibilidad a antibióticos y estudios sobre su capacidad para formar biofilm. En el contexto de las cepas bacterianas aisladas de las axilas, la formación de biofilm es especialmente relevante, ya que puede contribuir a la persistencia de las bacterias en la piel y a la producción de mal olor corporal. En el estudio mencionado, se utilizó el método de Congo Red Agar (CRA) para evaluar la capacidad de los aislados bacterianos para formar biofilm. Se encontró que *Staphylococcus epidermidis* tenía la mayor capacidad para formar biofilm entre los aislados, lo que puede estar relacionado con su resistencia a los antimicrobianos y su papel como patógeno oportunista. La formación de biofilm no solo está asociada con infecciones, sino que también puede complicar el tratamiento, ya que las bacterias en biofilm son más difíciles de erradicar debido a su resistencia inherente a los antibióticos.

2.4. Análogos de cruzioseptinas con actividad significativa contra diversas cepas de bacterias que afectan la piel.

La patente US 10,428,126 B2 se basa en investigaciones previas sobre los péptidos antimicrobianos, en particular los de tipo Dermaseptinas, que fueron inicialmente aislados de la piel de ranas de la especie *Phyllomedusa* en 1991. Estos péptidos pertenecen a una familia de péptidos catiónicos y anfipáticos que exhiben actividad citolítica rápida contra una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, virus, protozoos, levaduras y hongos filamentosos.

Los Dermaseptinas han demostrado ser especialmente efectivos contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, como *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, lo que los convierte en candidatos ideales para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos en un contexto de resistencia creciente a los antibióticos. Investigaciones anteriores han mostrado que estos péptidos pueden inducir la lisis celular en bacterias al interactuar con las membranas celulares, lo que resulta en la formación de poros y la pérdida de integridad celular.

Además, estudios han indicado que la modificación de la estructura de los Dermaseptinas, como la sustitución de aminoácidos específicos, puede mejorar su selectividad y eficacia, reduciendo al mismo tiempo la toxicidad hacia células eucariotas. Esto ha llevado a un interés creciente en el diseño racional de análogos de Dermaseptinas que mantengan su actividad antimicrobiana mientras se minimiza el riesgo de efectos adversos en células humanas.

En el siguiente estudio realizado por Cuesta et al. (2021) los resultados obtenidos al estudiar cruzioseptinas fueron comparados con las dermaseptinas (DRP) previamente reportadas. En términos de tamaño, ambas familias de péptidos contienen más de 20 residuos, siendo las dermaseptinas aproximadamente 4 aminoácidos más largas. Se clasifica a ambas familias como péptidos catiónicos, con una carga neta a pH 7 que oscila entre 2 y 4. Es interesante notar que los péptidos más activos de ambas familias (CZS-1 y DRP-SP2) exhiben un carácter más básico (4 a pH 7), lo que se relaciona con su mecanismo de acción propuesto de lisis de membrana. Además, ambas familias presentan actividad antimicrobiana frente a *E. coli* y *A. aureus*. Todas las cruzioseptinas mostraron actividad contra *C. albicans*, mientras que la dermaseptina mostró actividad indefinida en todos los casos, excepto para DRP-SP2. En la investigación se identificó una patente que describe el uso del péptido dermaseptina en la formulación de un desodorante. La patente WO 2011/073440 A2 (2009), menciona principalmente a un método para tratar el mal olor corporal, en particular de las axilas y los pies, la cual consiste en aplicar sobre la piel una cantidad eficaz de una composición.

La invención se refiere a composiciones que comprenden, en un medio cosméticamente aceptable, al menos un péptido antimicrobiano, Filoseptina o dermaseptina. Además, menciona que los desodorantes o métodos clásicos para tratar este mal olor suelen resultar poco beneficiosos para el que lo usa, por lo que menciona que es importante identificar nuevas formulaciones antimicrobianas que sean capaces de eliminarlos microorganismos responsables de los olores desagradables, pero que, por lo demás, sean respetuosas con la flora microbiana beneficiosa para la piel.

La patente menciona el uso de estos péptidos modificándolos para obtener una mejor respuesta, menciona las formulaciones con porcentajes de inhibición y concentraciones propias para obtener el producto.

CONCLUSIONES

La revisión del estado del arte sobre las aplicaciones cosméticas de análogos de cruzioseptinas revela varios hallazgos significativos. Entre las fortalezas, destaca la creciente evidencia que respalda la actividad antimicrobiana de los péptidos antimicrobianos (AMP), específicamente las cruzioseptinas, en la lucha contra cepas bacterianas responsables del mal olor corporal. Estudios como los realizados por Proaño-Bolaños (2016) y Cuesta et al. (2021) proporcionan datos sólidos sobre la eficacia de estos péptidos frente a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, así como su potencial para ser utilizados en formulaciones cosméticas innovadoras. Sin embargo, en esta revisión bibliográfica también se identificaron vacíos de información significativos. Muchos estudios se han centrado en la caracterización inicial de los péptidos, pero hay una falta de investigaciones que evalúen su efectividad en condiciones reales de uso en cosméticos. La mayoría de los ensayos se han llevado a cabo *in vitro*, lo que limita nuestra comprensión sobre cómo estos péptidos se comportarán en la piel humana y su interacción con la flora microbiana cutánea. Además, la variabilidad en las concentraciones de péptidos y la falta de estandarización en las metodologías de aislamiento y evaluación de cepas bacterianas plantean desafíos para la reproducibilidad y comparación de resultados. En este sentido, persisten varios problemas por resolver y vacíos informativos sobre las cruzioseptinas y sus análogos dentro del contexto cosmético. Por tanto, es urgente llevar a cabo estudios clínicos que evalúen la efectividad y seguridad de estos péptidos en productos cosméticos aplicados a humanos. Asimismo, se requiere más investigación sobre la estabilidad de estos péptidos en formulaciones cosméticas y su interacción con otros ingredientes. En cuanto a los resultados esperados, la mayoría de los estudios revisados cumplieron con las expectativas al demostrar la actividad antimicrobiana de las cruzioseptinas y su potencial uso en cosméticos. Sin embargo, es necesario adoptar un enfoque más integral que incluya estudios sobre eficacia en condiciones de uso real y la evaluación del impacto a largo plazo en la salud de la piel. En conclusión, aunque los análogos de cruzioseptinas presentan un futuro prometedor en aplicaciones cosméticas, es fundamental avanzar en la investigación para abordar las limitaciones actuales y maximizar su potencial en el mercado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alencar-Silva, T., Braga, M. C., Santana, G. O. S., Saldanha-Araujo, F., Pogue, R., Dias, S. C., ... & Carvalho, J. L. (2018). Breaking the frontiers of cosmetology with antimicrobial peptides. *Biotechnology advances*, 36(8), 2019-2031.

Amiche, M., Ladram, A. y Nicolas, P. (2008). Consistent nomenclature of antimicrobial peptides isolated from frogs of the subfamily Phyllomedusinae. *Peptides* 29(11), 2074–2082

Butler, H. (1993). Microbiological control of cosmetics. In Poucher's *Perfumes, Cosmetics and Soaps: Volume 3 Cosmetics* (pp. 572-606). Dordrecht: Springer Netherlands.

Cuesta, S. A., Reinoso, C., Morales, F., Pilaquinga, F., Morán-Marcillo, G., Proaño-Bolaños, C., ... & Meneses, L. (2021). Novel antimicrobial cruzioseptin peptides extracted from the splendid leaf frog, *Cruziohyla calcarifer*. *Amino Acids*, 53(6), 853-868.

James, A. G. (2020). The axillary microbiome and its relationship with underarm odor. *Skin Microbiome Handbook: From Basic Research to Product Development*, 79-129.

Jiang, Z., Hodges, R. S., Gera, L., y Mant, C. T. (2019). Dermaseptin-type and piscidin-type antimicrobial peptides (U.S. Patent No. 10,428,126 B2). U.S. Patent and Trademark Office.

Mosquera Tayupanta, T. (2015). *La investigación en la cosmética natural*. Cuenca - Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana

Mwangi J, Hao X, Lai R, Zhang ZY. Antimicrobial peptides: new hope in the war against multidrug resistance. *Zool Res.* 2019 Nov 18;40(6):488-505. doi: 10.24272/j.issn.2095-8137.2019.062. PMID: 31592585; PMCID: PMC6822926.

Osungunna, M. O., y Sotunde, D. J. (2024). Susceptibility profiles of biofilm-forming bacterial isolates from armpits to antibiotics and selected roll-on deodorants marketed in Nigeria. *Igbinedion University Okada Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(2), 1-8.

Proaño-Bolaños, C., Zhou, M., Wang, L., Coloma, L. A., Chen, T., & Shaw, C. (2016). Peptidomic approach identifies cruzioseptins, a new family of potent antimicrobial peptides in the splendid leaf frog, *Cruziohyla calcarifer*. *Journal of Proteomics*, 146, 1-13.

Rinaldi, A. C. (2002). Péptidos antimicrobianos de la piel de anfibio: un escenario en expansión. *Current Opinion in Chemical Biology*, 6(6), 799–804. [https://doi.org/10.1016/s1367-5931\(02\)00401-5](https://doi.org/10.1016/s1367-5931(02)00401-5)

Rivera, L. E. C., Ramos, A. P., & Desgarenes, C. P. (2007). Péptidos antimicrobianos: antibióticos naturales de la piel. *Dermatología Revista Mexicana*, 51(2), 57-67.

Rollins-Smith, L. (2009). The role of amphibian antimicrobial peptides in protection of amphibians from pathogens linked to global amphibian declines. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1788, 1593–1599. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMEM.2009.03.008>

Ron, S., Read, M., y Pazmiño-Armijos, G. *Cruziohyla calcarifer* En: Ron SR, Merino-Viteri A, Ortiz DA (Eds) (2022). *Anfibios del Ecuador*. Version 2022.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/FichaEspecie/Cruziohyla%20calcarifer>

Samain. H., (2009). Deodorant composition base don antimicrobial peptides and method for treating body odour (WO 2011/073440 A2)

Uzeh, R., Omotayo, E., Adesoro, O., Ilori, M., y Amund, O. (2012). Microbial assessment of the armpits of some selected university students in Lagos, Nigeria. *International journal of biological and chemical sciences*, 6(6), 5022-5029.

Zasloff, M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature* 415, 389–395 (2002). <https://doi.org/10.1038/415389a>

Revisado por

PhD. Carolina Proaño B.