

MATRIZES DE HIDROGEL PARA A INCORPORAÇÃO DE PRINCÍPIOS ATIVOS PARA FINS COSMÉTICOS

Renata Hage Amaral, Roberta Grazielli Ramos Alves Passarelli Momesso, Carolina dos Santos Moreno, Ana Carolina Henriques Ribeiro Machado, Sizue Ota Rogero, José Roberto Rogero, Ademar Benévolo Lugão

IPEN / CNEN-SP – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Av. Professor Lineu Prestes, 2242 – Cidade Universitária – São Paulo / SP – CEP: 05508-000

RESUMO

A busca constante pela beleza ideal foi sempre uma grande preocupação das mulheres contemporâneas. Cada vez mais acessíveis e disponíveis a todos, os recursos da cosmética têm sido o caminho encontrado por muitos para melhorar a estética. Tendo em vista o tamanho deste mercado, as indústrias cosméticas promovem uma corrida tecnológica para inovar e melhorar seus produtos, tanto por meio da introdução de novos agentes ativos, quanto pela introdução no mercado de membranas à base de hidrogéis para a liberação controlada dos mesmos. O interesse pelos hidrogéis se baseia em suas características que, entre outras, podem ser destacadas a biocompatibilidade e a não toxicidade, além da semelhança das propriedades físicas com tecidos vivos, como o elevado conteúdo de água e a consistência macia e elástica. Associando a tecnologia de obtenção de diferentes matrizes poliméricas de hidrogel com a possibilidade de incorporação de diversos ingredientes ativos, este trabalho teve como objetivo desenvolver matrizes de hidrogel para fins cosméticos, avaliando além dos aspectos visuais e tácteis, a sua biocompatibilidade. As formulações de hidrogel obtidas apresentaram propriedades tanto visuais como tácteis adequadas e biocompatíveis, podendo ser utilizadas para incorporação dos princípios ativos com propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, cicatrizantes, estimulantes de regeneração tecidual e antienvhecimento.

1. INTRODUÇÃO

A busca constante pela beleza ideal foi sempre uma grande preocupação das mulheres contemporâneas. Cada vez mais acessíveis e disponíveis a todos, os recursos da cosmética têm sido o caminho encontrado por muitos para melhorar a estética. Novas pesquisas vêm sendo desenvolvidas para otimizar o desempenho dos produtos cosméticos e sua aceitação pelo consumidor. Tendo em vista o tamanho deste mercado, as indústrias cosméticas promovem uma corrida tecnológica para inovar e melhorar seus produtos, tanto por meio da introdução de novos agentes ativos, quanto pela introdução no mercado de membranas à base de hidrogéis para compor um sistema de liberação controlada.

O interesse pelos hidrogéis se baseia em suas características que, entre outras, podem ser destacadas a biocompatibilidade e a não toxicidade. Devido a estas satisfatórias características e a semelhança das propriedades físicas com tecidos vivos, como o elevado conteúdo de água e consistência macia e elástica, os hidrogéis tornaram-se atrativos para aplicações cosméticas e farmacêuticas. Como exemplo de aplicações temos as matrizes para sistemas de liberação de fármacos, bandagens para processos inflamatórios locais e máscaras para terapias cosméticas, nutrição e relaxamento da pele e em processos de cicatrização ou regeneração da pele, como no pós-peeling.

Sua capacidade de incorporação de diferentes princípios ativos e de propiciar a liberação dos mesmos, associada às propriedades oferecidas pela matriz de hidrogel, como a boa adesão à pele e baixa adesão a feridas ou cicatrizes, assegurar umidade estável do ambiente terapêutico, conforto, suavidade, flexibilidade e facilidade de aplicação, permitem a sua ampla utilização.

Princípios ativos de origem vegetal, mineral ou marinha, são pesquisados há muitas décadas pelas suas propriedades terapêuticas. Com os avanços das pesquisas os mais tradicionais voltaram a destacar-se na área cosmética pela padronização de seus princípios ativos e comprovação científica do seu efeito, enquanto que paralelamente os mais “tecnológicos” estimulam ainda mais o desejo, tanto de mulheres quanto o de homens, de alcançar a eterna juventude. Dentre estes podemos ressaltar:

- ❖ A camomila (*M. chamomilla L.*) é uma erva originária da Europa, cultivada em todo o mundo, inclusive na região centro-sul do Brasil. Utilizada na cosmética na forma de extrato glicólico, é uma das plantas mais estudadas e usadas no mundo todo pelas suas propriedades terapêuticas. Constituída por óleos essenciais (principalmente alfa-bisabolol e azuleno), flavonóides, vitamina C, ácidos graxos, mucilagens e aminoácidos, possui ação emoliente, anti-radicais livres, antiinflamatória, anti-séptica e calmante.
- ❖ O Resveratrol, descoberto em 1976 por Langcake e Pryce, é encontrado em várias plantas, sendo as uvas (*Vitis vinifera*) e seus produtos considerados as fontes mais importantes. Este composto faz parte do conjunto das fitoalexinas, produzidas por alguns espermatófitos em resposta ao estresse causado por estímulos exógenos, como a radiação ultravioleta, dano mecânico ou ataque por fungos patogênicos (principalmente *Botrytis cinérea*). Age como um “scavenger” de espécies reativas, como os radicais livres de oxigênio. Possui atividade antioxidante e exerce efeitos protetores em determinados danos oxidativos, sendo considerado um dos maiores constituintes antioxidantes presentes no vinho tinto, propriedade decorrente do grupo fenol presente na sua estrutura química. Possui ainda ação antiinflamatória e atividade contra dermatófitos e bactérias da pele em humanos.
- ❖ Citrulil-arginina - Observando a vida selvagem na região subártica do Atlântico, pesquisadores verificaram que as algas vermelhas resistiam a baixas temperaturas do inverno extremo, assim como a pouca luminosidade devido os dias serem mais curtos. Estudaram e desenvolveram um extrato padronizado natural, puro e nativo de uma alga vermelha originária das águas geladas do mar Ártico, constituída principalmente de dipeptídeo citrulil-arginina. Este extrato é derivado da biomassa de uma planta marinha selecionada sob condições perfeitamente controladas: frio intenso, pouca luminosidade e processo de extração específico que permite padronização dos principais constituintes (dipeptídeo citrulil-arginina, aminoácido taurina e agentes osmoreguladores). O Extrato de algas vermelhas possui cerca de 7,5% de resíduo seco, onde $\frac{3}{4}$ destes constituintes estão claramente identificados. Um dos principais componentes é o dipeptídeo citrulil-arginina, rico em nitrogênio, representando cerca de 7% do extrato seco. Outros componentes importantes são: o aminoácido taurina (importante fonte de energia celular), o agente osmoregulador floridosídeo e seus isômeros representando cerca de 13% do resíduo seco, contém ainda sais minerais (Ca, Mg, K, Cl). Este extrato possui uma excelente ação antioxidante, lipolítica, antiinflamatória e citoestimulante. A propriedade de citoestimulação é de grande importância, pois quando ocorre o contato deste princípio ativo com as células fibroblásticas há diferenciação e multiplicação das mesmas havendo síntese de colágeno e fibras elásticas evidenciando que os fibroblastos são células diretamente envolvidas no processo de reparação tecidual.
- ❖ Óleos infusos são preparados de ervas em óleo para extração de princípios ativos das ervas medicinais. Os óleos de girassol e açaí são utilizados nestas preparações por serem ricos em vitaminas e minerais, essenciais para o organismo e pele. São utilizados em várias formas farmacêuticas conferindo-lhes propriedades fitocosméticas, principalmente nutritivas.
- ❖ Açaí (*Euterpe oleracea*) é uma palmeira nativa do Brasil, cultivada na Bacia Amazônica, especialmente nos estados do Pará, Maranhão e Amapá. Conhecido por ser um fruto muito nutritivo, rico em fitoesteróis, antocianinas, ácidos graxos essenciais (principalmente ácido linoléico, em torno de 12%, e ácido oléico, em torno de 60%), vitamina C, vitamina E, manganês, cobre, bromo e zinco. Levando em consideração que o açaí é composto por mais de 50% de matéria graxa, o óleo de açaí, que possui os mesmos benefícios do fruto, tem sido amplamente pesquisado para fins cosméticos devido ao seu poder de regeneração do tecido epitelial através da ação antioxidante, hidratante, reguladora de lipídeos e estimulante do processo de cicatrização.
- ❖ O girassol (*Helianthus annuus Linné*), planta originária da América do Norte, é utilizado na alimentação tradicionalmente pelos índios. Seu óleo, extraído a partir das sementes, passou a ser utilizado na Europa no século XVII. Rico em triglicérides apresenta elevada concentração de ácido linoléico (68%), ácido oléico (21%), alfa-tocoferol, compostos fenólicos, colina e betaína, o que lhe oferece alta

atividade antioxidante, cicatrizante, antiulcerosa, nutritiva e antienvhecimento. Em adição, é rico em precocenos, o que lhe confere ação inseticida.

Os ácidos graxos linoléico (Ômega 6) e oléico (Ômega 9), conhecidos como ácidos graxos essenciais, não são sintetizados pelo organismo humano, devendo ser fornecidos pela dieta. Sua deficiência causa condições anormais da pele (dermatite, ressecamento e escamações), redução na regeneração dos tecidos, aumento da susceptibilidade às infecções, aumento dos níveis de colesterol sanguíneo, entre outros.

2. OBJETIVOS

Associando a tecnologia de obtenção de diferentes matrizes poliméricas de hidrogel com a possibilidade de incorporação de diversos ingredientes ativos tanto de origem vegetal como marinha, nas mesmas, este trabalho teve como objetivo desenvolver diferentes matrizes de hidrogel para fins cosméticos, avaliando além dos aspectos visuais e tácteis, a sua biocompatibilidade.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Matéria prima utilizada para síntese das matrizes de hidrogel

Foram sintetizadas três diferentes tipos de matrizes de hidrogel. As matrizes 1 e 2 foram obtidas a partir de poli (N-vinil-2-pirrolidona) (PVP) proveniente da BASF em solução aquosa, utilizando o poli (etileno glicol) (PEG) 300 da Oxiteno como plastificante e o ágar da Oxoid como gelificante. A matriz 3 foi obtida a partir de PVP, em solução aquosa, e glicerol proveniente da Oxiteno.

3.2. Diferentes formulações para obtenção das matrizes de hidrogel.

Os componentes e suas concentrações estão descritos abaixo nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1. Descrição da formulação dos hidrogéis de PVP + PEG + Ágar

Matriz	PVP (%)	PEG (%)	Ágar (%)
1	8	1,5	1,0
2	6	1,5	0,5

Tabela 2. Descrição da formulação do hidrogel de PVP + Glicerol

Matriz	PVP (%)	Glicerol (%)
3	20	5

As diferentes formulações de hidrogéis foram preparadas mediante aquecimento até completa dissolução e homogeneização dos componentes. A matriz 1 foi obtida vertendo-se cerca de 50mL da formulação em placa de Petri com 20cm de diâmetro e as matrizes 2 e 3 vertendo-se 5mL da formulação em moldes circulares de 5cm de diâmetro. Todas foram seladas, embaladas adequadamente e enviadas para irradiação em uma fonte de raios gama de Co-60. A radiação ionizante é utilizada para reticulação de hidrogéis, apresentando a vantagem de ocorrer simultaneamente a reticulação e a esterilização do produto. As matrizes 1 e 2 foram irradiadas na dose de 20kGy e a matriz 3 na dose de 15kGy.

3.3. Ensaio de citotoxicidade

Para que a matriz de hidrogel possa ser utilizada como um biomaterial deve ser feita a avaliação da biocompatibilidade. O primeiro teste para avaliar a biocompatibilidade de um material é o ensaio de citotoxicidade realizado *in vitro*.

O ensaio de citotoxicidade foi realizado utilizando-se o método de incorporação do vermelho neutro seguindo normas internacionais e metodologia publicada anteriormente. Os extratos das amostras de hidrogel e do controle negativo (*pellets* de PVC) foram preparados pela imersão dos mesmos em meio de cultura celular (MEM). Foram feitas diluições dos extratos obtidos e da solução de fenol 0,02% que foi utilizada como controle positivo. Em seguida as diluições foram colocadas em contato com uma cultura de células de tecido conectivo de camundongo da linhagem NCTC clone 929 da ATCC (American Type Culture Collection). A toxicidade foi verificada pela viabilidade celular através da medida da quantidade do corante vermelho neutro incorporado nas células vivas. A quantificação do corante foi realizada em espectrofotômetro, leitora ELISA modelo Sunrise da Tecan, em filtro de 540nm e o cálculo da porcentagem de viabilidade celular feito em relação ao controle de células do ensaio.

O potencial tóxico foi determinado quantitativamente pelo índice de citotoxicidade ($IC_{50\%}$). O $IC_{50\%}$ é a concentração de extrato que provoca a morte de 50% da população celular do ensaio.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As matrizes obtidas apresentaram características como boa aderência à pele, maciez ao toque, refrescância e transparência. Além disso, a boa resistência à manipulação e flexibilidade, que permitem a moldagem e o desenho em muitas formas, associadas à capacidade de incorporação de diversos ativos de origem sintética ou natural, hidrofílicos ou hidrofóbicos, criam a possibilidade da ampla utilização e aplicação deste tipo de matriz; podendo ser utilizadas em diferentes tipos de pele, faixa etária, partes do corpo e afecções da pele, alcançando ampla faixa de mercado.

Na Fig.1 estão apresentadas as fotos das membranas de hidrogel aplicadas na pele. Pode ser observado que estas membranas ficam bem aderidas e transparentes. A membrana de hidrogel quando aplicada na pele causa uma ótima sensação de refrescância e conforto, devido à grande quantidade de água na sua formulação e sua maciez.



Figura 1. Demonstração de aplicação de matrizes de hidrogel: (a) hidrogel de PVP+Glicerol; (b) hidrogel de PVP+PEG+Ágar; (c) hidrogel de PVP+Glicerol+Óleo de Girassol.

A biocompatibilidade das matrizes foi avaliada por testes preliminares de citotoxicidade, esta medida foi realizada pelo cálculo do índice de citotoxicidade $IC_{50\%}$ que é a concentração do extrato que reduz em 50% a viabilidade celular no ensaio. O $IC_{50\%}$ foi obtido colocando-se em gráfico a porcentagem de viabilidade celular em relação à concentração do extrato. As curvas de viabilidade celular obtidas no ensaio estão apresentadas na Fig. 2, onde pode ser observado que as matrizes avaliadas mostraram comportamento semelhante ao controle negativo, ou seja, apresentaram curva acima do $IC_{50\%}$, indicando não citotoxicidade e potencial para serem utilizadas para incorporação e liberação controlada de diferentes princípios ativos.

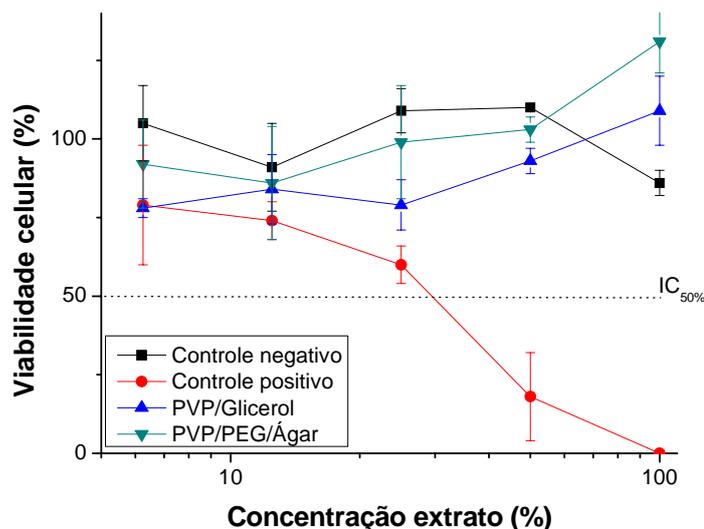


Figura 2. Curvas de viabilidade celular das matrizes poliméricas de PVP/PEG/Ágar e PVP/Glicerol no ensaio de citotoxicidade *in vitro* pelo método de incorporação do vermelho neutro.

Todas essas características citadas tornam estas matrizes potenciais soluções para o mercado cosmético, conduzido pela crescente necessidade de novas tecnologias, produtos eficientes e qualidade plena e pela constante preocupação em atender as expectativas dos consumidores, promovendo o bem estar dos mesmos.

5. CONCLUSÃO

Todas as formulações de hidrogel obtidas apresentaram propriedades tanto visuais como tácteis adequadas e biocompatíveis (não citotóxicas), podendo ser utilizadas para incorporação dos princípios ativos como extratos de camomila e de algas vermelhas (citrulil-arginina), óleos de açaí e de girassol, assim como o resveratrol.

Com a incorporação destes ingredientes as diferentes membranas de hidrogel podem apresentar características muito interessantes para o mercado de produtos cosméticos, atendendo assim as expectativas do público consumidor.

AGRADECIMENTOS

Beraca, CNPQ, CAPES, EMBRARAD e Íon Tecnologia e Serviços.

BIBLIOGRAFIA BÁSICA

ALONSO, J. R. *Tratado de Fitomedicina*. Argentina: ISIS Ediciones SRI, 1998. p. 690 – 695.

AOUDA, F. A. *Síntese e caracterização óptica, morfológica e mecânica de hidrogéis de poliacrilamida com material eletro-óptico confinado: polímero condutor e cristais líquidos*. Tese (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2005;

FREMONT, L. Biological effects of resveratrol. *Life Sciences*, v. 66, n. 8, 2000, p. 663-673;

GUSMAN, J., MALONNE, H., ATASSI, G. A reappraisal of the potential chemopreventive and chemotherapeutic properties of resveratrol. *Carcinogenesis*, v. 22, n. 8, 2001, p. 1111-1117;

Informações Técnicas Íon Tecnologias e Serviços, São Paulo, 2005.

ISO 10993-5 (1992), International Standard: Biological valuation of Medical Devices – Part 5: Tests for Cytotoxicity: *in vitro* methods.

JORGE, N.; SOARES, B. B. P. S.; LUNARDI, V. M.; MALACRIDA, C. R. Alterações Físico-Químicas dos Óleos de Girassol, Milho e Soja em Frituras. **Química Nova**, V. 28, n. 6, 2005, p. 947-951;

LEONARD, S.S.; XIA, C., JIANG, B.H., STINEFELT, B., KLANDORF, H., HARRIS, G.K., SHI, X. Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 309, 2003, p. 1017-1026;

LUBRANO, C.; ROBIN, J. R.; KHAIAT, A. Composition em acides grãs, stérols et tocophérols d'huiles de pulpe de fruits de six espèces de palmiers de Guyane. **Oléagineux**, v. 49, n.2, 1994. p. 59-65 ;

RODAS, A.C.D., **Desenvolvimento de membranas como composto dermo-epidérmicos**. 2004, 149p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear - Aplicação) – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, IPEN/CNEN-SP, São Paulo.2004

ROGERO, S.O.; LUGÃO, A.B.; IKEDA, T.I.; CRUZ, A.S. (2003), Teste *in vitro* de Citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. **Mat. Research**, v. 6, n. 3, p. 317-320.

ROGEZ, H. **Açaí: Preparo Composição e Melhoramento da Conservação**. Belém: EDUFPA, 2000. Cap. IV.

SILVA, L.; ONIKI, G. H.; AGRIPINO, D. G.; MORENO, P. R. H.; YOUNG, M. C. M.; MAYWORM, M. A. S.; LADEIRA, A. M. Biciclogermacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae). **Rev. Bras. Farmacognosia**. V. 17, n.3, Julho – Setembro, 2007;

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAM, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre / Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2003.

TURATTI, J. M.; GOMES, R. A. R.; ATHIÉ, I. **Lipídeos: Aspectos Funcionais e Novas Tendências**. Campinas: ITAL, 2002. 69 p.