

ESTUDO FOTOACÚSTICO DA CINÉTICA DE PENETRAÇÃO DE HIDRATANTES EM DIFERENTES FORMULAÇÕES

Christiane de Almeida Lobato¹, Paulo Roxo Barja²

¹UNIVAP/IP&D/FASBio, Av. Shishima Hifumi 2911, chrislobato@gmail.com

²UNIVAP/IP&D/FASBio, Av. Shishima Hifumi 2911, barja@univap.br

Resumo - Os hidratantes constituem uma importante classe de produtos cosméticos, apresentando ampla utilização na ação preventiva e também como coadjuvante da terapêutica dermatológica em diversas disfunções cutâneas. O presente trabalho relata a utilização da técnica fotoacústica em medidas *in vivo* e *in vitro* para avaliar a cinética de penetração de duas diferentes formulações de hidratante: a) creme com uréia a 10% e b) gel com DMAE a 5%. Os resultados obtidos mostram que a técnica fotoacústica permite investigar a cinética de absorção de produtos topicamente aplicados (*in vivo* e *in vitro*), e indicam que o hidratante em gel penetra mais rapidamente do que o hidratante em creme.

Palavras-chave: Hidratantes, Fotoacústica, Via transdérmica.

Área do Conhecimento: Engenharia Biomédica.

Introdução

Os hidratantes constituem uma das mais importantes classes de produtos cosméticos e de higiene corporal, uma vez que apresentam ampla utilização tanto para ação preventiva (prevenção do ressecamento da pele e retardamento do envelhecimento precoce) como também como coadjuvante da terapêutica dermatológica em diversas disfunções cutâneas (RODRIGUES et al apud LEONARDI, GASPAR, CAMPOS, 2002).

A comprovação da eficácia das substâncias ativas usadas nos produtos cosméticos, bem como os efeitos ocasionados pelas formulações na pele humana têm sido objeto de estudo da comunidade científica, resultando no desenvolvimento técnico e científico da indústria cosmética, que vem ganhando importância nos dias atuais. A pesquisa em cosmetologia tem se ampliado cada vez mais, através da interface com várias áreas das ciências básicas e aplicadas, entre elas a farmacologia, dermatologia, histologia, anatomia, fisiologia, microbiologia, química e física (SMITH, CALVO, 1991 apud LEONARDI, GASPAR, CAMPOS, 2002).

O aumento das pesquisas científicas relacionadas à pele nas últimas décadas tem beneficiado tanto os médicos dermatologistas como os profissionais que trabalham com o desenvolvimento de produtos cosméticos (LEONARDI, CAMPOS, 1997; RODRIGUES, 1997 apud LEONARDI, GASPAR, CAMPOS, 2002). Antes do emprego das metodologias não invasivas, a dermatologia e as áreas afins baseavam-se, na maioria das vezes, apenas na observação clínica, o que pode ser considerado um método pouco preciso, subjetivo. Com os avanços tecnológicos, porém, surgiram as

metodologias não invasivas, cientificamente comprovadas e não traumáticas, não envolvendo qualquer agressão ou desconforto aos pacientes ou aos voluntários que participam dos estudos. A aplicação dessas metodologias tem auxiliado a área cosmética, pois os profissionais que nela atuam têm conseguido avaliar de maneira quantitativa os efeitos dos produtos cosméticos (RODRIGUES, 1997 apud LEONARDI, GASPAR, CAMPOS, 2002).

Há décadas, a uréia vem sendo utilizada para o tratamento cosmético da pele seca. Uma característica particular da uréia é a capacidade de atrair a água para o estrato córneo, tanto intra quanto extracelularmente. Esta característica lhe confere a capacidade de gerar um tipo de hidratação denominada ativa, mantendo a pele hidratada por um período prolongado. A uréia é o único hidratante que apresenta um efeito de hidratação do interior das células, sendo capaz de se ligar a moléculas de água dentro das células e causando o aumento da hidratação. Outro benefício da alta solubilidade da uréia em água é gerar sob a pele compostos que, expostos a um ambiente de alta umidade, têm a capacidade de captar água deste meio (ESTETICDERM, 2007).

Via transdérmica: A aplicação tópica de medicamentos tem sido utilizada para tratamento de diversos processos patológicos. A eficácia do tratamento está associada à eficiência de penetração da droga nas camadas internas da pele, o que podemos chamar de via transdérmica, que visa promover efeitos sistêmicos. Esta via oferece muitas vantagens se comparada a outros meios de administração de drogas, pois exclui a possibilidade de degradação do fármaco pelo trato digestivo e a eliminação hepática, podendo manter

a droga por mais de sete dias no organismo (MITRAGOTRI, 2001; MACHET, BOUCAD, 2002).

Os medicamentos podem ser administrados em inúmeras formas farmacêuticas e por várias vias de administração. Os efeitos locais são obtidos pela aplicação direta no local desejado de ação. Os efeitos sistêmicos resultam de sua entrada no sistema circulatório e do subsequente transporte para o local da ação. Um fármaco pode ser manipulado em diversas formas farmacêuticas que resultam em diferentes velocidades de absorção. Entre os fatores que afetam a absorção percutânea dos medicamentos estão a natureza do próprio fármaco, a natureza do veículo e as condições da pele, como o nível de hidratação e tensão (ANSEL et al, 2000 apud ROSSI, BARJA, 2006).

Veículos permeantes diferem entre si não apenas na composição, mas também quanto a propriedades físicoquímicas como peso molecular, estrutura molecular, lipofilia, pH e grau de ionização. Estas propriedades afetam a permeabilidade da pele ao produto. A absorção cutânea também é influenciada pela condição da pele, nível de hidratação do estrato córneo e pH da superfície (HIKIMA; MAIBACH, 2006). Uma das opções experimentais para se avaliar a via transdérmica e diferentes permeantes é a técnica fotoacústica, que será descrita a seguir.

Fotoacústica: A técnica fotoacústica baseia-se no efeito fotoacústico, descoberto por Alexander Graham Bell em 1880 (BELL, 1880). Este efeito consiste na geração de ondas de pressão em uma câmara fechada (célula fotoacústica) devido à absorção de luz por uma amostra. Foi considerado apenas como uma curiosidade durante quase um século, tendo limitada utilização na década de 30 na detecção de poluentes em gases (PFUND, 1939). A partir do início da década de 1970, a técnica ganhou impulso (PARKER, 1973), sendo hoje considerada uma das principais técnicas de análise e caracterização de materiais.

O efeito fotoacústico é obtido em uma célula constituída por um recipiente fechado preenchido por um gás (em geral o ar), na qual existe uma janela de vidro que permite a entrada de luz. Um feixe de luz modulada atravessa a janela, atinge a amostra e por ela é absorvida. Por um processo de desexcitação não radiativo, a radiação absorvida é transformada em energia térmica.

Para explicar o efeito fotoacústico em sólidos, Rosencwaig e Gersho publicaram em 1976 o modelo do "pistão acústico" ou modelo Rosencwaig-Gersho (ROSENCWAIG, 1980). De acordo com este modelo, luz pulsada absorvida pela matéria é transformada em calor também pulsado, que por sua vez produz variação modulada de temperatura e pressão na interface entre a superfície do sólido e o gás adjacente, gerando ondas acústicas numa câmara fechada.

Este sinal é detectado por um microfone alojado em uma câmara conectada à célula fotoacústica. A amplitude do som depende da forma como o material estudado conduz o calor; em particular, depende da difusividade, condutividade e efusividade térmicas (ROSENCWAIG, 1980).

Para avaliar a cinética de penetração de produtos topicamente aplicados, a técnica fotoacústica constitui uma opção experimental que permite que se selecione a espessura de pele a ser estudada conforme a frequência de modulação incidente. Nos últimos anos, esta técnica tem sido bastante aplicada em diversas áreas da ciência, particularmente no estudo de temas biológicos e biomédicos (PUC CETI, 1997; VINHAS et al, 1997; SEHN et al, 2003; MOTTA, BARJA, 2006).

Objetivo do trabalho: O presente trabalho visa utilizar a técnica fotoacústica em medidas *in vivo* e *in vitro* para avaliar a cinética de penetração de duas diferentes formulações de hidratante: a) creme com uréia a 10%, b) gel com DMAE a 5%.

Metodologia

O experimento foi conduzido no laboratório de Fotoacústica Aplicada a Sistemas Biológicos (FASBio) do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D) da UNIVAP e compreendeu a realização de medidas *in vivo* (em voluntários) e *in vitro* (em amostras de VitroSkin®, pele artificial).

Participaram das medidas *in vivo* quatro voluntários do sexo feminino, com idade entre 20 e 35 anos, cientes e de acordo com os procedimentos do estudo segundo o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido devidamente assinado.

Para a seleção de voluntários, foram adotados os seguintes critérios de exclusão: i) apresentar solução de continuidade (ferimento), ou qualquer alteração dermatológica; ii) apresentar alergia a qualquer dos componentes da fórmula do produto a ser aplicado; iii) possuir implante metálico no membro superior.

Além das medidas *in vivo*, foram realizadas 10 medidas em amostras de pele artificial (VitroSkin®).

No esquema experimental utilizado (Fig. 1), a luz emitida por uma lâmpada halógena de Tungstênio (Xelux, 24V-250W) é modulada mecanicamente (a 17Hz) com o auxílio de um modulador modelo SR540 (Stanford Research Systems) conectado, juntamente com o microfone da célula fotoacústica, a um amplificador síncrono (Stanford Research Systems, modelo SR530), que recebe as informações sobre a frequência de referência e o sinal fotoacústico. O amplificador síncrono faz a coleta do sinal do microfone, conectado a um microcomputador para aquisição dos dados.

Para a análise da cinética de penetração, foi utilizada uma célula fotoacústica aberta (OPC) de duas faces, sendo uma delas correspondente à janela de vidro por onde passa a luz incidente; na face oposta, foi posicionado o antebraço do voluntário (ou a amostra de VitroSkin®), sendo feita a vedação com o auxílio de graxa de silicone.

Os voluntários foram instruídos a não utilizar nenhum tipo de produto de uso tópico nos antebraços durante as 24 horas que precedem as medições.

Previamente à aplicação do produto, foi feita assepsia no local da aplicação (região do antebraço com área de 4cm² delimitada), com água corrente e sabão, secando-se em seguida a área com papel absorvente.

Para o cálculo da densidade dos produtos, foram pesados o anel e o alumínio, e o valor encontrado foi utilizado para tarar a balança, tornando possível pesar apenas o conteúdo de hidratante no orifício do anel de PVC.

Para o experimento, foram utilizadas duas formulações de hidratantes: a) creme com uréia a 10%, b) gel com DMAE a 5%.

A aplicação tópica de cada produto sob análise foi realizada com seringa com 0,1mL seguida de massagem (dedo enluvado, movimentos circulares) durante 20 segundos para melhor espalhamento.

Para avaliação da cinética de absorção do produto, medidas fotoacústicas sucessivas foram realizadas, oito delas *in vivo* (quatro no antebraço esquerdo, após aplicação de creme, e quatro no antebraço direito, após aplicação de Gel) e 10 *in vitro* (cinco amostras para aplicação de creme e cinco para aplicação de gel), à frequência de 17Hz, em varreduras de 50 pontos cada, correspondendo ao tempo aproximado de um minuto por medida. As medidas foram repetidas na seguinte seqüência: i) antes da aplicação; ii) dois minutos após a aplicação; iii) 30 minutos após a aplicação; iv) uma hora após a aplicação; v) duas horas após a aplicação; vi) três horas após a aplicação, sendo posteriormente calculada a amplitude.

Os dados foram armazenados no computador e as curvas de ajuste geradas através do programa Origin 7.5® (Microcal Software Inc.).

O tempo de penetração foi obtido através do monitoramento da amplitude do sinal PA em função do tempo. A evolução temporal do sinal PA foi ajustada pela equação abaixo:

$$y = y_0 + Ae^{-x/t}$$

em que t é o tempo típico de penetração, parâmetro de interesse do presente estudo.

A análise estatística empregou o teste Mann-Whitney e foi efetuada através do programa InStat® 3.0.

Resultados

O cálculo da densidade não mostrou diferença entre as diferentes formulações do hidratante, sendo para ambas obtido o valor de 1,3g/cm³.

Os valores obtidos para o tempo típico de permeação t após ajuste das curvas experimentais encontram-se expressos na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetro “tempo típico” t obtido para as medidas *in vivo* e *in vitro* realizadas (valor médio ± desvio padrão).

	Creme	Gel
<i>In vivo</i>	86 ± 55	30 ± 15
<i>In vitro</i>	88 ± 32	29 ± 12
Geral	87 ± 33	30 ± 9

Após as medidas, foi feita a análise estatística utilizando-se o teste Mann-Whitney para medidas não paramétricas. No entanto, apesar da Tabela 1 indicar tempo típico de penetração bem superior para o creme em comparação com o gel, não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre o tempo de penetração do creme e o do gel.

Discussão

Quanto à cinética de permeação, conforme o ajuste efetuado, verifica-se um tempo típico de penetração do creme próximo a 90 minutos, tanto para a pele humana quanto para a VitroSkin®. Para o tempo típico de penetração do gel, obteve-se o valor médio de cerca 30 minutos tanto para a pele humana quanto para a VitroSkin® (Tabela 1).

Apesar de haver diferença no tempo de penetração dos produtos, o teste estatístico realizado não apresentou significância estatística para a comparação efetuada. Isto pode ser atribuído ao número ainda reduzido de medidas realizadas. De todo modo, os resultados já obtidos apontam a tendência de absorção mais rápida para o produto aplicado na forma de gel. Esta tendência está de acordo com as informações fornecidas por fisioterapeutas, que recomendam aplicação tópica de produtos na forma gel. Isto se deve ao fato deste veículo apresentar fácil espalhamento, não ser gorduroso e ser capaz de veicular rapidamente princípios ativos hidrossolúveis e lipossomas (CORREA et al, 2005).

Por outro lado, o fato de se obter médias iguais para medidas realizadas na pele humana e na VitroSkin® indica a eficácia da utilização desta amostra para realização de testes desta natureza.

Conclusão

O trabalho efetuado mostra que a técnica fotoacústica permite investigar a cinética de absorção de produtos aplicados na pele (*in vivo*) ou em medidas *in vitro*. Os valores encontrados nas medidas efetuadas até o momento indicam maior rapidez de penetração para o hidratante em gel do que para o hidratante em creme. Esta tendência será investigada em medidas adicionais nos dois substratos, para confirmação dos resultados.

Referências

- BELL, A.G. On the production and reproduction of sound by light, *Am J. Sci.*, p.120-305, 1880.

- CORREA, N.M.; CAMARGO JR, F.B.; IGNÁCIO, R.F.; LEONARDI, G.R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* v.41, n.1, São Paulo, 2005.

-ESTETICDERM

<www.esteticderm.com.br/artigos/hidratat.htm>
Acesso em: 09/01/2007

- HIKIMA, T.; MAIBACH, H. Skin Penetration Flux and Lag-Time of Steroids Across Hydrated and Dehydrated Human Skin *in Vitro*. *Biol. Pharm. Bull.*, v.29, n.11, p.2270-2273, 2006.

- LEONARDI, G.R.; GASPAR, L.R.; CAMPOS, P.M.B.G.M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. *An. Bras. Dermatol.*, v. 77, n. 5, p. 563-569, 2002.

- MACHET, L; BOUCAD, A. Phonophoresis: efficiency, mechanisms and skin tolerance. *Int. J. Pharmaceutics*, v. 243, p. 1-15, 2002.

- MITRAGOTRI, S. Effect of therapeutic ultrasound on partition and diffusion coefficients in human stratum corneum. *J. Controlled Release*, v. 71, p.23-29, 2001.

- MOTTA, J.P. ; BARJA, P.R. Classificação de Fototipos de Pele: Análise Fotoacústica Versus Análise Clínica. In: X Encontro Latino Americano De Iniciação Científica E Vi Encontro Latino Americano De Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, p.261-264, 2006.

- PARKER, J. G. Optical-Absorption in glass – Investigation using an acoustic technique. *Appl. Opt.*, v.12, n.12, p. 2974-2977, 1973.

- PFUND, A. H. Atmospheric Contamination. *Science*, p. 326-327, 1939.

- PUCETTI, G.; LAJOMRI, F.; LEBLANC, R.M. Pulsed photoacoustic spectroscopy applied to the diffusion of sunscreen chromophores in human skin: the weekly absorbent regime. *J. Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v.39, p.110-120, 1997.

- ROSENCWAIG, A. Studies in Biology. In: *Photoacoustics and Spectroscopy*, New York, John Wiley & Sons, p. 219-231, 1980.

- ROSSI, R.C.P.; BARJA, P.R. Estudo fotoacústico das propriedades de penetração de arnica montana de uso tópico na pele humana. In: ENVIRONMENTAL AND HEALTH WORLD CONGRESS, Santos, p. 328-331, 2006.

- SENH, E.; SILVA K. C.; RETUCI, V. S.; MEDINA A. N.; BAESSO, M. L. Photoacoustic spectroscopy to evaluate the penetration of sunscreens into human skin in vivo: A statistic treatment. *Rev. Sci. Instr.*, v.74, n.1, p.758-760, 2003.

- VINHA, C. A.; HAAS, U. Qualitative and semiquantitative analysis of dried fufus and seasoning products of paprika using photoacoustic spectroscopy. *J. Agricultural and Food Chemistry*, v. 45, n. 4, p.1273-1277, 1997.