



## 10º Congresso de Pesquisa

# ESTUDO DA ESTABILIDADE, AÇÃO ANTIOXIDANTE, AVALIAÇÃO SENSÓRIA E EFICÁCIA DE SISTEMAS LÍQUIDO-CRISTALINOS ACRESCIDOS DE CACAU ORGÂNICO ASSOCIADOS OU NÃO À ELETROESTIMULAÇÃO MICROGALVÂNICA NA ATENUAÇÃO DE RUGAS PERIORBICULARES

### Autor(es)

---

MARIANI PIRES DE CAMPOS

### Co-Autor(es)

---

GISLAINE RICCI LEONARDI  
MARLUS CHORILLI

### Apoio Financeiro

---

FAP/UNIMEP

### 1. Introdução

---

Ultimamente várias áreas da ciência vêm se unindo a fim de compreender, elucidar, retardar e reverter o processo do envelhecimento da pele. O processo de envelhecimento cronológico cutâneo é responsável por promover a modificação do material genético, a diminuição da capacidade de proliferação celular, resultando na perda de elasticidade, da capacidade de regular o metabolismo e na redução da eficiência da replicação do tecido (DZUBOW, 2000; RYAN, 2004). Todas estas alterações resultam em formação de rugas (SADICK, 2002). Dentre inúmeras opções em cosméticos destinados à prevenção da manifestação dos sinais de envelhecimento destacam-se aqueles constituídos de alfa-hidroxiácidos, vitaminas A, C, E, compostos anti-oxidantes naturais como cacau orgânico (HEINRICH et al., 2006; MITANI et al., 2007). O cacau - *Theobroma cacao* L. é constituído de triglicerídeos e ácidos graxos (50%) compostos polifenólicos e taninos condensados (5 a 10%), e 1 a 2% de bases púricas representadas pela teobromina, em média 1,5%; e cafeína (0,16 a 0,4%), além de teofilina (COSTA, 2002; SIMÕES et al., 2007). Muitos veículos podem ser usados na preparação de formas cosméticas. A escolha adequada do veículo à qual a substância ativa será incorporada é de fundamental importância para a estabilidade e absorção desta e, conseqüentemente, para a eficácia do produto final. Alguns veículos podem ser usados para obter as características físicas e químicas desejadas do produto ou para melhorar a aparência ou, ainda, para melhorar a sensação do produto quando aplicado na pele (MAIA CAMPOS, BONTEMPO e LEONARDI, 1994). Hoje tem-se visto na literatura muitos pesquisadores procurando obter veículos que possuem cristais líquidos. (FERRARI, 1998; MORAIS et al., 2005). Dentre os tipos de cristais líquidos encontrados nos produtos cosméticos, os liotrópicos são os mais predominantes e formam-se espontaneamente em muitos tipos de sistemas emulsionados. Quando presentes, por exemplo, na interface de uma emulsão A/O, aumentam a estabilidade da emulsão, pois promovem aumento na rigidez da membrana interfacial (FERRARI, 1998; MORAIS et al., 2005). A utilização de cristais líquidos em cosméticos apresenta vantagens funcionais relacionadas ao fato de: promoverem liberação controlada de substâncias ativas; incorporarem princípios ativos em matrizes líquido-cristalinas ou mesmo em formulações que os contenham, pois os cristais líquidos protegem as substâncias ativas sensíveis à degradação térmica ou fotodegradação; promoverem aumento da retenção de água no estrato córneo proporcionando aumento na hidratação cutânea (MORAIS et al., 2005). Por outro lado, correntes elétricas, de baixa intensidade, também têm sido muito utilizados nas clínicas, para melhorar a textura da pele. A corrente galvânica regulada em

microampère tem sido utilizada para atenuar rugas, uma vez que compila os efeitos intrínsecos da corrente galvânica com a inflamação aguda decorrente da aplicação invasiva (GUIRRO; GUIRRO, 2004).

## 2. Objetivos

---

O objetivo deste trabalho foi verificar a estabilidade, a ação antioxidante, os efeitos sensoriais de sistemas líquido-cristalinos acrescidos de cacau orgânico, bem como a eficácia na atenuação de rugas periorbitares associado ou não à eletroestimulação microgalvânica.

## 3. Desenvolvimento

---

O sistema líquido cristalino foi preparado por meio do aquecimento da fase aquosa separadamente da fase oleosa. Uma vez alcançado a temperatura de aproximadamente 75°C de ambas as fases, verte-se a fase aquosa sob a fase oleosa, realizando-se a agitação manual até a obtenção de uma emulsão de aspecto homogêneo, sem grumos aparentes, luminosas e com brilho intenso. Ao produto recém-obtido foi incorporado com auxílio de pequena quantidade de agente molhante (propilenoglicol 3 gotas) o cacau orgânico na concentração de 5%, seguido da homogeneização até a obtenção de um produto com coloração característica. A formulação recém-preparada foi acondicionada em amostras (n=3), sendo estas mantidas em temperatura ambiente (25°C), estufa (37°C) e geladeira (5°C). Todas as amostras, acondicionadas nas diferentes temperaturas e condições ambientais foram analisadas quanto suas estabilidades avaliação visual, teste de centrífuga, determinação do pH (ANVISA, 2007), comportamento reológico (SPELLMEIER; HEBERLÉ, 2007) e presença de cristais-líquidos, com a ressalva que para esta última análise não se recomenda a realização do ensaio em triplicada por questões metodológicas. A composição da formulação é constituída por: cacau orgânico (5%), cera alto-emulsionante Wax NF (11%), propilenoglicol (5%), fenoxietanol e parabenos (0,50%), óleo de macadâmia (3%), amônio acriloidimetil-aurato copolímero (0,45%) e água destilada qsp 100%. A avaliação sensorial foi realizada em voluntários de ambos sexos e todos grupos étnicos e idade entre 18 à 50 anos (n=92). Para avaliação de eficácia participaram 26 mulheres saudáveis, idade entre 30 e 45 anos, portadoras de rugas periorbitares, divididas em 4 grupos: cacau (C, n=7), veículo (V, n=7), cacau associado à eletroterapia (CE, n=7) e veículo associado à eletroestimulação (VE, n=6). Foram critérios de exclusão: portadoras de quelóide, psoríase, vitiligo, diabete, menopausa, hipercotisolismo, alergia à níquel, uso de corticóides, ou atividade laboral com grande exposição solar. As voluntárias aplicaram as formulações uma vez ao dia (à noite), na região periorbicular, por 60 dias e fator de proteção solar padronizado de manhã e no meio do dia, incluindo a região palpebral. As voluntárias não tinham ciência se o produto aplicado continha ou não o cacau. Previamente à aplicação da CG foi realizada assepsia com álcool 70° da região periorbicular dos olhos. O tratamento com eletroestimulação microgalvânica (Striat Ibramed Ind. Br. de Equipamentos Médicos Lt. Amparo, São Paulo, Brasil), foi aplicado numa intensidade de 100A, intradérmica, onde utilizou-se como eletrodo ativo (pólo negativo), agulhas de acupuntura de 5mm, descartáveis, e eletrodo positivo posicionado na face posterior do braço. Após o tratamento foi aplicado fator de proteção solar para evitar discromias. O tratamento foi realizado 1 vez/semana por 60 dias, totalizando 8 sessões. Para a avaliação, a pele das voluntárias foram fotografadas antes e após o tratamento, pelo microscópio (CDD color, modelo I-Scope), com aumento de 10 vezes, sendo transferidas para o Corel Photo-Paint 8, colocando-se uma grade quadriculada, totalizando 266 quadrados com área de 1,2 cm, e analisadas pelo método de planimetria por contagem de pontos (MANDARIM-DE-LACERDA, 1994). Contou-se o número de quadrados ocupados por rugas dos diferentes graus. Para aumentar a confiabilidade da análise das imagens foi realizado estudo cego simples. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Metodista de Piracicaba UNIMEP (processo nº 24/10). A análise estatística foi feita pelo aplicativo Bioestat 5.0. As diferenças do antes e depois dos achados morfométricos intra-grupos, utilizou-se o teste não paramétrico de Friedman. Para comparação entre os grupos, foi empregado o teste de Kruskal-Wallis seguido por Student-Newman-Keuls. O nível de significância foi de 5%.

## 4. Resultado e Discussão

---

Quanto aos parâmetros organolépticos pré-estabelecidos todas as formulações desenvolvidas foram consideradas normais, sem alteração visível, de aspecto homogêneo, brilho intenso, com sensação de luminosidade. Referente à cor e ao odor, foram classificadas normais sem alteração visível, apresentado-se com cor branca, odor característico da matéria-prima. Quando submetidas ao estresse físico rotacional da centrífuga, as amostras demonstram referir-se de um sistema emulsionado devidamente estável. pH, reologia. A avaliação por microscopia de luz polarizada demonstrou a presença de estruturas anisotrópicas características de cristais líquidos lamelares. O resultado da avaliação sensorial estão descritos na tabela 1. Na análise da eficácia, a análise estatística intra-grupo demonstrou alterações significativas nas diferenças dos números de quadrados ocupados por rugas nos períodos pré e 7º dia pós tratamento (PRÉ/7) com o intervalo entre a avaliação realizada no 7º e 30º dia pós tratamento (PÓS 7/30) para os grupos VE e CE (tabela 2), demonstrando que ao longo do tempo os resultados do tratamento não se mantêm, contradizendo Baran e Maibach (1998) que mencionam que os resultados da eletroestimulação persistem por meses após o término do tratamento. Os grupos C e V mantiveram-se estáveis, provavelmente, pela ação hidratante das formulações, que apresentam a base cosmética em sistema

líquidocristalino. Morais (2006) relata que esse sistema possui vantagens funcionais como a retenção de água no estrato córneo. Em relação à formulação acrescida de cacau, nossos dados corroboram Heinrich et al (2006) ao mencionarem que o flavonol proporciona aumento no fluxo sanguíneo cutâneo, diminuição da perda de água transepidermica e fotoproteção, favorecendo a hidratação. Ao analisar a resposta de cada olho, no direito houve piora significativa no grupo CE entre a avaliação realizada PÓS 7/30 em comparação ao período PRÉ/7. Os grupos V e VE não possuíam rugas de grau 2 no pré tratamento. As rugas de grau 1 no olho direito do grupo CE teve piora significativa da sua extensão comparando a diferença entre o período PRÉ/7 e PÓS 7/30. Na análise entre os grupos, foi possível observar no olho esquerdo que o VE apresentou melhora significativa em relação ao grupo C, quando comparamos o período PRÉ/30 (figura1). A comparação dos diferentes graus de rugas entre os grupos, demonstrou diferenças significativas para o grau 1 do olho esquerdo quando comparados no período PRÉ/30, sendo que o grupo C produziu piora das rugas em relação ao V. Todavia observa-se que em números absolutos, que o grupo C teve reduzido a zero as rugas de grau 2, o que aumenta as de grau 1. O mesmo ocorreu na comparação deste grupo com o VE e do VE com o CE. Ao analisar a resposta de cada olho, o total de números de quadrado ocupados por rugas de grau 1, observamos melhora significativa para o grupo VE proporcionada pela CG, que corrobora Guirro e Guirro (2004) e Scoriza et al (2005) que relatam os efeitos fisiológicos da corrente como a eletroforese, eletrosmose e a vasodilatação importantes no processo de preenchimento das rugas. Nelson; Hays e Currier (2003) mencionam que CG objetiva a compilação dos efeitos intrínsecos como a inflamação, o aumento da permeabilidade às moléculas e o extravassamento de leucócitos. A suavização das rugas corrobora Baran e Maibach (1998) ao relatarem sua amenização frente ao tratamento da eletroestimulação. A resposta do grupo CE no olho direito, demonstrou aumento significativo no tamanho de rugas no período entre o 7 e 30 dia pós tratamento. Considerando que este grupo iniciou o tratamento com rugas de grau 2 e que zeraram na avaliação do 7º dia, assim aumentando as de grau 1, o que explica a suposta piora. O efeito benéfico encontrado para as rugas de grau 2 se deve tanto pela ação do cacau, quanto pelo efeito da CG. Hirata; Sato e Santos (2004) menciona que ações oxidativas em sistemas biológicos podem ser retardadas por meio de antioxidantes naturais, principalmente de compostos fenólicos, flavonóides e taninos, que captam os radicais livres e interceptam o O<sub>2</sub> ativo formando radicais estáveis, assim combatendo o envelhecimento tecidual. O resultado do grupo CE pode estar relacionado os efeitos do cacau relatado por Ribas; Sousa e Sartoretto (2006), onde seus componentes como xantinas (teofilina, teobromina e cafeína), flavonóides e taninos, possuem ação anti-inflamatória, sendo antagonista aos receptores da adenosina, que promove liberação de mediadores químicos no processo inflamatório (RANG; DALE, RITTER, 2001). Dessa forma, pode-se observar interação antagonônica do cacau e da CG no processo inflamatório.

## 5. Considerações Finais

---

Conclui-se que foi possível obter um Sistema Líquido-Cristalino provido da substância ativa tratada como cacau orgânico que se manteve estável diante de parâmetros físico-químicos e reológicos de análises. Este produto cosmético ainda apresentou características sensoriais adequadas para sua aceitação no mercado consumidor, demonstrando se tratar de um produto que supre as exigências técnicas de formuladores e aos rigores sensoriais do mercado consumidor. Quanto à eficácia pode-se observar um resultado satisfatório na atenuação das rugas periorbitulares utilizando a eletroestimulação microgalvânica associado ao sistema líquido-cristalino acrescido ou não de cacau orgânico.

## Referências Bibliográficas

---

- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos: Uma Abordagem Sobre os Ensaios Físicos e Químicos. Brasília: ANVISA, v.1, 52p. 2004.
- BARAN, Robert .; MAIBACH, Howard. Textbook of cosmetic dermatology. 2ª ed., Abingdon, Oxford: Taylor & Francis, p. 643-655, 1998.
- COSTA, Aloísio Fernandes. Farmacognosia. 5ª ed., Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, p. 742-747, 2002.
- DZUBOW, Leonard. Envelhecimento Facial. In: COLEMAN III, William P.; HANKE W; ALT, T. et al. Cirurgia Cosmética: Princípios e Técnicas, 2ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, p. 7-17, 2000.
- FERRARI, Márcio. Obtenção e aplicação de emulsões múltiplas contendo óleo de andiroba e copaíba. 1998. 147p. Dissertação. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1998.
- GUIRRO, Elaine Caldeira de Oliveira.; GUIRRO, Rinaldo Rorberto de Jesus Fisioterapia Dermato-Funcional. 3ª Ed., Barueri-SP: Manole, p. 122-135, 281-302, 2004.
- HEINRICH Ulrike, NEUKAM Karin, TRONNIER Hagen, et al. Longterm ingestion of high flavanol cocoa provides photoprotection against UV-induced erythema and improves skin condition in women. J Nutr v. 136, p. 1565-1569, 2006.
- HIRATA, Lilian Lúcio; SATO, Mayumi Eliza Otsuka; SANTOS, Cid Aimbiré de Moraes Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo. Acta Farm. Bonaerense. v. 23, n. 3, p. 418-24, 2004.
- MAIA CAMPOS, Patrícia M.B.G.; BONTEMPO, Érika MGB; LEONARDI, Gislaíne R. Bases dermocosméticas. Rev. Cosmiatr. Med. Est., v.2, n.2, p.32-5, 1994.
- MANDARIM-DE-LACERDA, Carlos Alberto. Manual de qualificação morfológica: morfometria, halometria e esterologia. 2ª ed., Rio de Janeiro: Cebio, p. 8-12, 1994.

- MITANI, Hiroaki ; RYU, Akemi; SUZUKI, Tadashi; et al., Topical application of plant extracts containing xanthine derivatives can prevent UV-induced wrinkle formation in hairless mice. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* v. 23, p. 8694, 2007.
- MORAIS, Gislaine G.; SANTOS, Orlando D.H, MASSON, Daniela S. et al. Development of O/W emulsions with annatto oil (*Bixa orellana*) containing liquid crystal. *J. Dispers. Sci. Technol.*, v.26,n.5, p.591-596, 2005.
- MORAIS, Gislaine G. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidos de xantina para o tratamento da hidrolipodistrofia ginóide (celulite). 2006. 158p. Dissertação. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.
- NELSON, Roger M; HAYS, Karen W; CURRIER, Dean P. *Eletroterapia Clínica.* 3 ed. São Paulo: Manole, p. 183-289, 2003.
- RANG, Humphrey P; DALE, Maureen M; RITTER, JM et al. *Farmacologia.* 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 144-45, 2001.
- RIBAS, Marina de Oliveira; SOUSA, Maria Helena; SARTORETTO, Josiane et al. Efeito da *Schinus terebinthifolius* Raddi sobre o processo de reparo tecidual das lesões ulceradas induzidas na mucosa bucal do rato. *Rev Odonto Ciência.* v. 21, n. 53, p. 245-52, 2006.
- RYAN, Terence. The ageing of the blood supply and the lymphatic drainage of the skin. *Micron* v. 35, p. 161171, 2004.
- SADICK, Neil S. Structural Approach to Nonablative Rejuvenation. *Cosmetic Dermatol*, v.15, n. 12, p. 39-43, 2002.
- SCORIZA, Juliana M.; PIRES-DE-CAMPOS, Maria Silvia M; POLACOW, Maria Luiza O et al. Estudo da eletroestimulação microgalvânica isolada ou associada à vitamina A palmitato nas rugas periorbitais. In: 13º Congresso de Iniciação Científica: UNIMEP/CNPQ, 2005.
- SIMÕES, Cláudia M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G., et al. *Farmacognosia da Planta ao Medicamento.* 6ª ed., Porto Alegre, RS: Editora da UFSC, p. 895-896, 2007.
- SPELLMEIER, Fernanda; HEBERLÉ, Graziela A. Bases Emulsionadas: Comparativo de Estabilidade Acelerada. *Cosmetics & Toiletries*, v. 19, p.68-70, 2007.

## Anexos

**Tabela 1.** Frequência de notas dadas pelos voluntários às questões de avaliação sensorial.

QUESTÕES	FREQUÊNCIA DE ATRIBUIÇÃO DE NOTAS (ESCALA 1-5)				
	1	2	3	4	5
Quanto à <u>Espalhabilidade</u> <sup>(1)</sup>	0	4	12	28	48
Quanto à <u>Pegajosidade</u> <sup>(2)</sup>	40	30	14	6	2
Quanto ao Aspecto Visual do <u>Produto</u> <sup>(1)</sup>	0	2	10	52	28
Quanto ao Odor do <u>Produto</u> <sup>(1)</sup>	2	8	8	44	30
Sensação após a <u>Aplicação</u> <sup>(1)</sup>	0	2	20	44	26

(1) Compreende-se as notas de 1 à 5 como sendo: 1) Péssimo; 2) Ruim; 3) Razoável; 4) Bom; 5) Excelente.

(2) Compreende-se as notas de 1 à 5 como sendo: 1) Não Pegajoso; 2) Pouco Pegajoso; 3) Razoavelmente Pegajoso; 4) Pegajoso; 5) Muito Pegajoso.

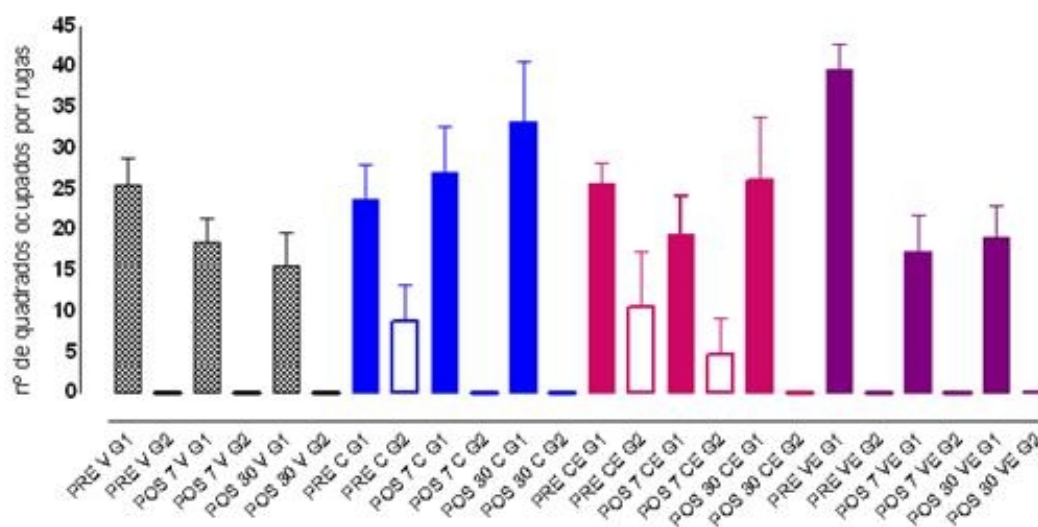
**Tabela 2.** Média e desvio padrão da diferença do total do número de quadrados ocupados pelo total de rugas em ambos os olhos, total de rugas no olho direito e rugas de grau 1 no olho direito, nos diferentes intervalos de tempo, da região periorbital das voluntárias dos grupos cacau (C, n=7), veículo (V, n=7), cacau e eletroterapia (CE, n=7) e veículo e eletroterapia (VE, n=5)

TOTAL	C	V	CE	VE
PRÉ/7	14,6 ± 30,3	22 ± 17,7	32,2 ± 28,3	32,6 ± 12,8
POS 7/30	-11,7 ± 22,8	7,1 ± 22,9	-12,4 ± 27,2*	-4,8 ± 14,7*
PRÉ/30	-0,4 ± 20,4	14,9 ± 23,4	-19,9 ± 27,2	23 ± 22,7
OD	C	V	CE	VE
PRÉ/7	9,4 ± 22,1	15,1 ± 16,6	20,3 ± 16,3	10,2 ± 9,8
POS 7/30	-5,7 ± 20,9	-10 ± 12,4	-10,4 ± 15,5†	-3 ± 14,7
PRÉ/30	3,7 ± 12,9	5,1 ± 18,3	9,9 ± 16,8	7,2 ± 13,9
G1 OD	C	V	CE	VE
PRÉ/7	2,8 ± 21,6	7,5 ± 13,5	-16,5 ± 22,8	6,2 ± 10,8
POS 7/30	-5,7 ± 20,9	-10 ± 12,4	-15,6 ± 18,6‡	-3 ± 14,7
PRÉ/30	-2,8 ± 12,4	-2,4 ± 22,9	-1 ± 27,9	3,2 ± 7,5

\*p<0.05, comparado ao período PRÉ/7 do mesmo grupo.

†p<0.05, comparado ao período PRÉ/7 do mesmo grupo.

‡p<0.05, comparado ao período PRÉ/7 do mesmo grupo.



**Figura 1.** Total de quadrados ocupados por rugas de grau 1 e 2 do olho esquerdo em número absoluto, nos períodos pré tratamento (PRÉ), 7 e 30 dias após tratamento (PÓS 7 e PÓS 30).