

## MELAVOID™

### CLAREADOR MULTIATIVO

### AÇÃO EM DIFERENTES TIPOS DE MANCHAS

Recentemente estudos demonstraram que a distribuição do pigmento melanina e a textura da pele variam segundo o estado de saúde e da idade. Uma coloração irregular é um dos indicadores cronológicos da pele, uma vez que o envelhecimento é também associado à presença de manchas.

Atualmente a hiperpigmentação afeta milhões de pessoas no mundo, e é a terceira maior preocupação cosmética, por ser um dos sinais evidentes do declínio da juventude.

As manchas ou discromias são irregularidades da coloração da pele, e se classificam de acordo com a sua origem, como por exemplo:

- Melasma (Cloasma): predominante no sexo feminino, está relacionado com fatores hormonais, cosméticos, exposição solar e herança genética.
- Hiperpigmentação pós- inflamatória: ocorre desencadeado por processo inflamatório como uma enfermidade, queimadura ou até simplesmente acne.
- Lentigos: manchas planas e ovaladas, que podem se localizar em qualquer parte do corpo. Estão ligados à uma superexposição solar. Geralmente surgem em pessoas de média idade e tendem a aumentar com o tempo.

**Melavoid™**, é um ativo clareador que atua sobre os mecanismos iniciais da pigmentação, reduzindo a atividade melanogênica e causando uma redução da tonalidade da pele e das manchas. É um extrato da raiz da planta *Boerhaavia difusa*, padronizado em boeravinonas.

#### Recomendação de uso

1,0 a 3,0%.

#### Aplicações

- Formulações faciais em geral
- Formulas Corporais (produtos diferenciados para axilas, virilha, mãos, joelhos e cotovelos)
- BB cream / Filtro solar
- Desodorantes
- Maquiagens

#### Vantagens

- Mecanismo de ação inovador
- Reduz a tonalidade da pele de forma homogênea e uniforme
- Efeito comparável ao ácido kójico sem afetar a viabilidade dos melanocitos
- Ganhador do 2º lugar no prêmio "Sepawa Innovation Award 2013" na Alemanha (2013)
- Premiado na *BSB Innovation Prize* na França, como ingrediente mais inovador.

#### Farmacotécnica

O produto apresenta-se na forma líquida, hidrossolúvel.

Pode ser adicionado em bases prontas ou no final do processo de manipulação das formulas em temperaturas abaixo de 50°C.

pH de estabilidade: 4,6 – 9.

Por sua origem botânica apresenta coloração e odor característicos que em baixas quantidades não comprometem a formulação.

#### Mecanismo de ação

Estudos evidenciaram dois tipos distintos de melanina, e estes é que darão origem as múltiplas tonalidades de pele existentes:

- Eumelanina: de cor marrom a negra, proporcionam tonalidades escuras.
- Feomelanina: pigmento amarelo a vermelho acastanhado, responsável pelas tonalidades claras.



A enzima chave envolvida na síntese de todas as melaninas, a partir de seu precursor inicial (tirosina) é a tirosinase. Uma sucessão de oxidações da tirosina catalisada pela tirosinase conduz a síntese de 3-4-dihidroxifenilalanina (DOPA) para produzir em seguida um composto intermediário comum: a dopaquinona (DQ). A partir deste ponto, duas vias distintas conduzem a formação das eumelaninas e das feomelaninas.

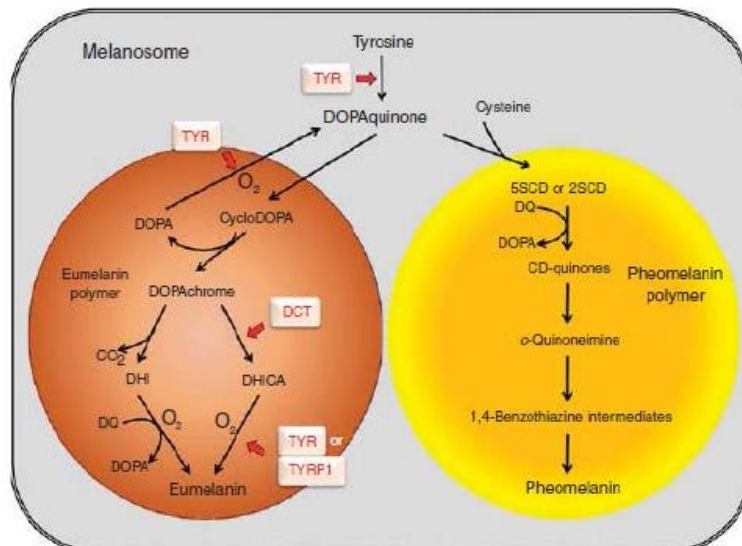


Figura 1: Esquema demonstrando via metabólica melanogênica (eumelanina/feomelanina).

Recentemente tem-se demonstrado a importância da regulação gênica do processo de pigmentação da pele, mais especificamente na rota de síntese da melanina.

A transcrição dos genes que codificam a tirosinase e outras enzimas como a proteína relacionada com a tirosinase 1 (Typr-1) estão sob controle do fator de transcrição associado com microftalmia (MITF). Este fator é crucial, tanto para proliferação dos melanócitos quanto para a melanogênese.

**Melavoid™** se apresenta como um novo ativo cosmético que regula a melanogênese através da modulação gênica dos melanócitos.

### Mecanismos de regulação da pigmentação

Os receptores PPARs (receptores ativados por proliferação peroxissômica) são fatores de transcrição ativados por ligante. São conhecidas três isoformas:  $\alpha$ ,  $\delta/\beta$  e  $\gamma$ .

Os estudos sobre os mecanismos de ação do PPAR $\gamma$  em células responsáveis pela pigmentação da pele (melanócitos) não tem sido tão extensos quanto em outros tipos de células. A origem destes estudos tem sido em casos de melanoma. Sem dúvidas, a aplicação destes conhecimentos por parte da indústria cosmética tem levado estes receptores como alternativa de um novo mecanismo para diversos compostos com atividade clareadora. Verificou-se que os agonistas deste receptor são capazes de atuar diretamente sobre os melanócitos e influir em sua atividade.

Os primeiros estudos sobre a influência de PPAR $\gamma$  sobre a melanogênese realizado em células de melanoma demonstraram que os compostos ativadores do receptor inibiam sua proliferação de forma dose-dependente e reduziam a produção de tirosinase e/ou a vida média desta enzima.

Foi descrita a influência de PPAR $\gamma$  sobre certos reguladores chaves da melanogênese, como é o caso do gene regulador do fator de transcrição associado à microftalmia (MITF). Em resumo, se observa que a principal consequência da união de um ativador de PPAR $\gamma$  nos melanócitos é a redução da produção de tirosinase, o que se traduz em uma redução da melanogênese.



Dentre os distintos tipos de mecanismos de modulação da melanogênese dos ingredientes cosméticos, **Melavoid™** apresenta um novo conceito baseado em sua atuação através de sua união ao receptor PPAR $\gamma$ , sobre as fases prévias da rota metabólica da síntese de melanina.

## Síntese de Melanina

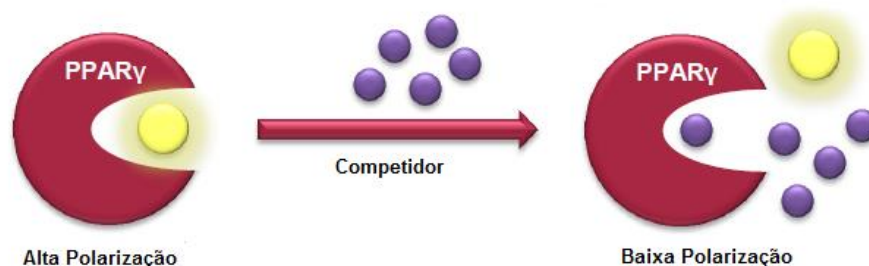


**Figura 2: Posição de diferentes tratamentos clareadores em função de seu mecanismo de ação sob a melanogênese.**

### Comprovação de eficácia (*in vitro*)

#### 1. Afinidade da união ao receptor PPAR $\gamma$

Este estudo determinou a afinidade da união de **Melavoid™** mediante um ensaio competitivo de união ao receptor PPAR $\gamma$  (*Polarscreen™ PPAR Competitor Assay*). Este ensaio mede a capacidade que um composto tem de substituir um ligante fluorescente que está acoplado ao domínio de união PPAR. Quanto maior a afinidade do ativo ao receptor, maior a capacidade de substituição, e isso pode-se medir através da fluorescência.



**Figura 3: afinidade ao receptor PPAR $\gamma$**

Foram avaliadas diferentes concentrações de **Melavoid™** para determinar a IC50 (concentração de ativo que é capaz de deslocar 50% do ligante fluorescente unido ao receptor), utilizando rosiglitazona como controle positivo. **Melavoid™** possui boa afinidade de união PPAR $\gamma$ , mostrando uma IC50 entre 0,24% e 0,33%.

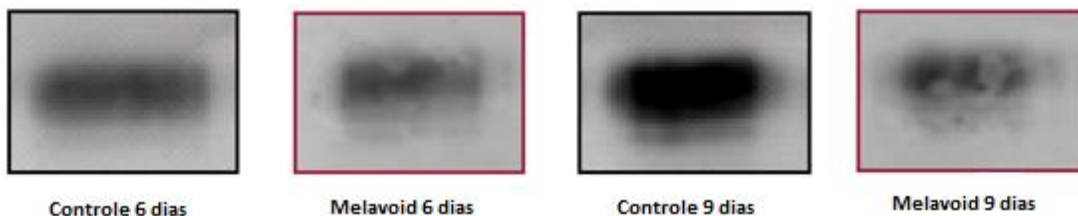
#### 2. Estudo de atividade despigmentante em melanócitos humanos

Uma vez confirmada a afinidade de **Melavoid™** com PPAR $\gamma$ , foi investigada sua ação em culturas de melanócitos humanos (*Normal Human Epidermal Melanocytes*) com objetivo de avaliar sua ação sobre a melanogênese. Para isso foi avaliada a expressão da tirosinase, a atividade desta enzima e a quantidade de melanina, após incubação das células NHEM com **Melavoid™** (0,7% durante 6 e 9 dias).

### A – Expressão da Tirosinase

Para avaliar a quantidade de tirosinase, utilizou-se a técnica de *Western Blot* com anticorpo primário mouse anti-tirosinase. A quantificação das bandas obtidas realizou-se mediante densitometria. Foram comparados os resultados obtidos com do ativo com controle negativo.

Abaixo pode-se observar as imagens das bandas *Western Blot* correspondentes a enzima tirosinase nos diferentes tempos de incubação.



Pode-se observar que a enzima tirosinase aumentou significativamente ao aumentar o tempo de incubação. Isto reflete uma importante atividade melanogênica das células. Após 9 dias de encubação, **Melavoid™** foi capaz de reduzir a quantidade de tirosinase. Concluimos então que como consequência da ativação de PPAR $\gamma$ , **Melavoid™** reduz a expressão da enzima chave na melanogênese em melanócitos humanos.

O gráfico abaixo mostra a quantificação das bandas obtidas mediante uma análise densitométrica. Podemos notar que **Melavoid™** causa uma redução de quantidade de tirosinase em 63% em relação ao cultivo controle.

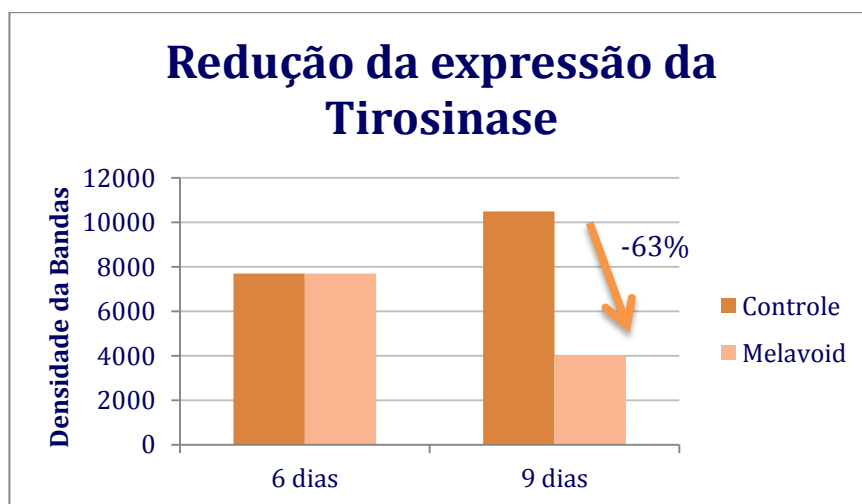


Gráfico 1: Teor de expressão de tirosinase

### B – Avaliação da atividade da tirosinase

Foi determinada a atividade após oxidação da tirosinase mediante análise espectrofotométrica a 490nm, quantificando o aumento da absorbância devido a formação do complexo MTBH (3-methyl-2-benzothiazolinona hydrazone- quinona), originado por ação da tirosinase. Utilizou-se um controle negativo.

Na imagem seguinte observa-se a coloração das culturas e a determinação da atividade oxidativa. Uma maior coloração no pocinho indica maior atividade enzimática. Observa-se uma baixa atividade enzimática (coloração) nos cultivos tratados com **Melavoid™**, sendo esta redução mais evidente após 9 dias de encubação.

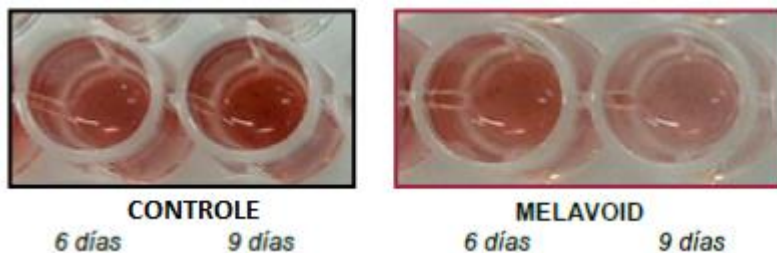


Figura 4. Imagem representativa do ensaio da atividade da Dopa Oxidase

O gráfico abaixo mostra a quantificação da atividade da tirosinase.

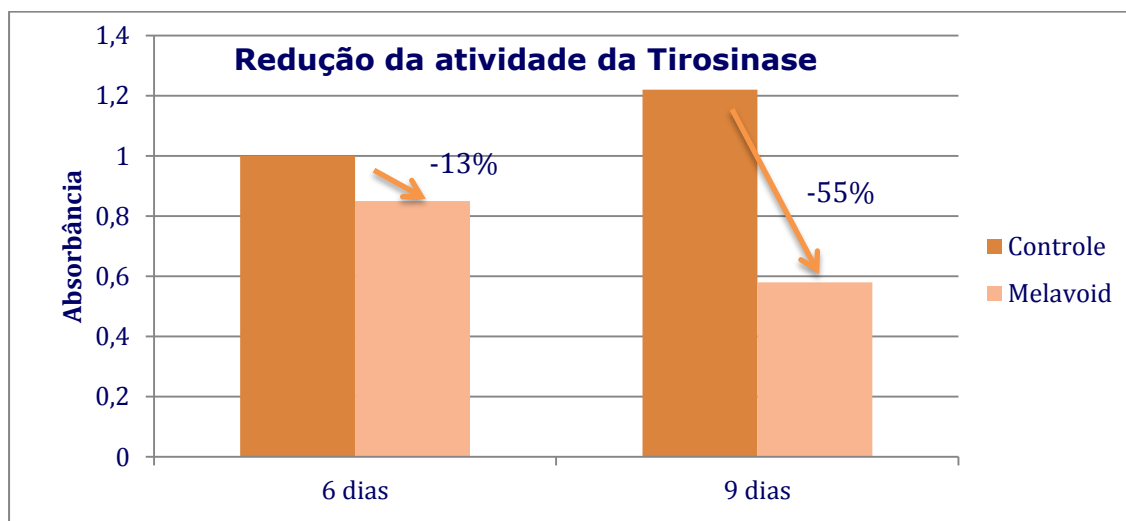
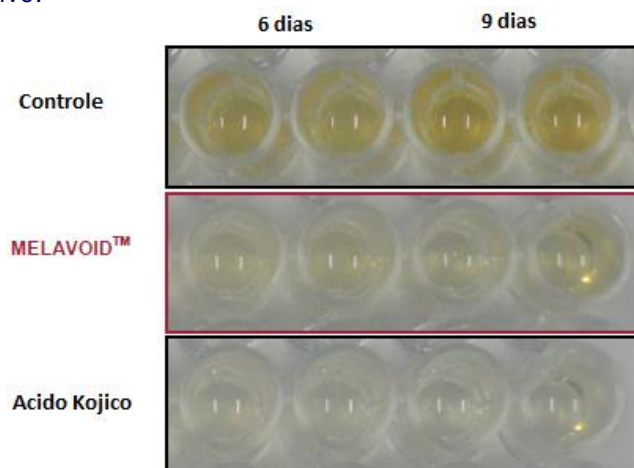


Gráfico 2: Redução da atividade da tirosinase.

**Melavoid™** foi capaz de reduzir em 55% a atividade enzimática após 9 dias de incubação com melanócitos humanos, sendo portanto considerado um potente agente despigmentante.

### C – Avaliação da quantidade de melanina

Para determinar a quantidade de melanina, as células NHEM foram tratadas com NaOH 1M a 90°C até dissolver a melanina por completo. A dissolução obtida foi medida espectrofotometricamente em um leitor com placas a 400nm. Utilizaram-se dois controles, negativo (sem produto), e 100ppm de ácido kójico (controle positivo). Na figura abaixo observa-se uma baixa produção de melanina nas culturas incubadas com **Melavoid™** e com controle positivo.



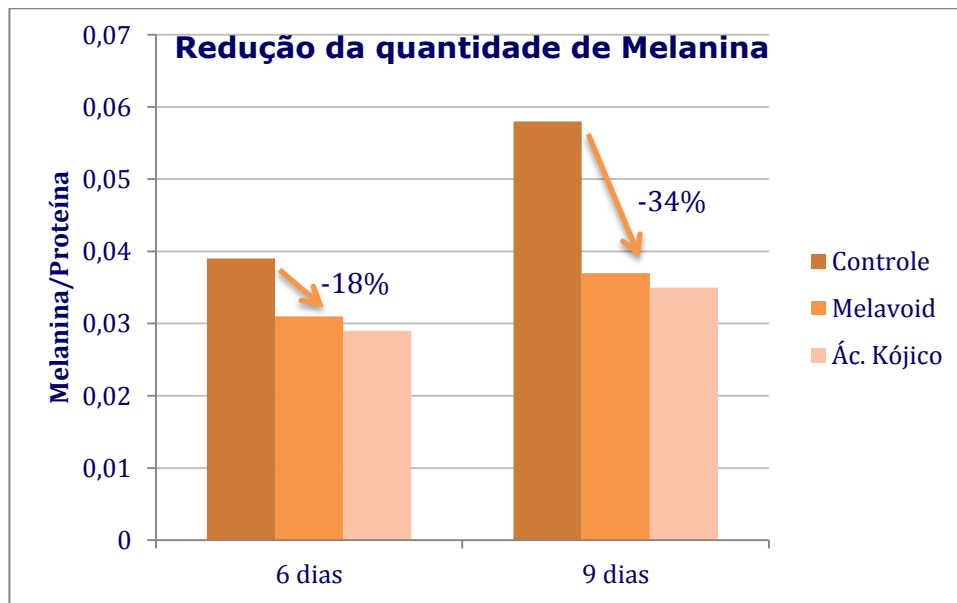


Gráfico 3: redução da quantidade de melanina.

É de se destacar que o ácido kójico causou uma redução da quantidade de proteína nas culturas, o que implica em um efeito tóxico sobre as células. A redução foi de 11% em 6 dias de incubação e 26% em 9 dias. Pelo contrário, **Melavoid™** não causou nenhuma redução proteica, atestando uma viabilidade celular praticamente igual à cultura controle. Isso comprova que **Melavoid™** é capaz de conseguir a mesma redução de pigmento que o ácido kójico, porém sem afetar a viabilidade dos melanócitos.

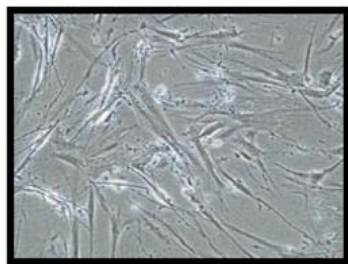
Melavoid reduz em 34% a quantidade de pigmento sintetizado pelos melanócitos sem afetar sua viabilidade.

#### D – Morfologia celular

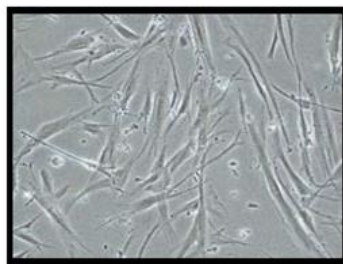
Finalmente realizou-se um estudo para avaliar a morfologia celular dos melanocitos encubados com distintos tratamentos. Como pode-se observar nas imagens abaixo, o controle negativo apresenta um cultivo típico, com morfologia fusiforme e abundantes dendritos (característicos dos melanócitos).

Na cultura tratada com ácido kójico, a morfologia se mantém e sem dúvidas a densidade é menor. **Melavoid™** mantém a viabilidade dos melanócitos, com densidade similar ao controle, sem dúvidas pode-se observar claramente como diminuem o número de dendritos das células, acentuando muito mais o aspecto fusiforme das células.

Esta perda de dendritos tem uma importância decisiva para a melanogênese, já que em uma situação *in vivo*, reduziria a transferência de melanina aos queratinócitos, evitando assim um acúmulo de pigmento na epiderme.



Controle



Ácido kojico



Melavoid™

### Comprovação de eficácia (*in vivo*)

Realizou-se um estudo em 20 voluntárias asiáticas para avaliar a eficácia de **Melavoid™** conforme o protocolo:

- ✓ 20 voluntárias asiáticas.
- ✓ Formulação 3,0% de **Melavoid™** aplicada hemiface, versus placebo.
- ✓ 56 dias, aplicação duas vezes ao dia.
- ✓ Duas áreas: pele normal e manchas.

#### 1 – Avaliação da pele normal, sem manchas

Efeito clareador de **Melavoid™** foi avaliado mediante uma medida instrumental colorimétrica realizada com Spectrofotometro CM-2600D, Minolta. Foi realizado em uma área facial homogênea, sem manchas em cada lado da face (ativo e placebo).

Calculou-se o parâmetro  $ITA^{\circ}$ , se este parâmetro aumenta, significa que diminuiu a intensidade da pigmentação cutânea.

O gráfico abaixo mostra os valores médios de  $ITA^{\circ}$  obtidos.

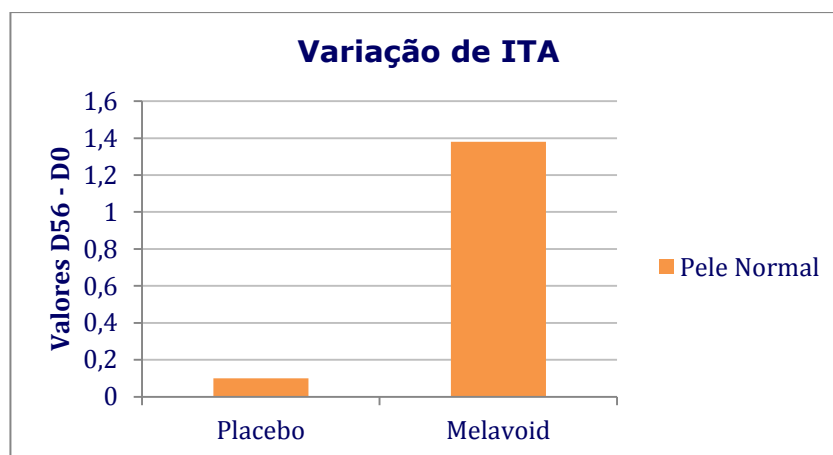


Gráfico 4: Variação do índice ITA

Pode-se observar que o tratamento da pele com **Melavoid™** durante 56 dias causa uma redução da pigmentação da pele. O parâmetro  $ITA^{\circ}$  melhora em até 28% na pele sem manchas, com uma variação de 3%.

#### 2 – Avaliação da pele com manchas

A intensidade da cor da pele hiperpigmentada foi avaliada de forma instrumental mediante o cálculo do ângulo tipológico individual ( $ITA^{\circ}$ ), neste caso, avaliou-se uma mancha de no mínimo 4-5mm de diâmetro, previamente selecionada em cada lado da face (ativo x placebo).

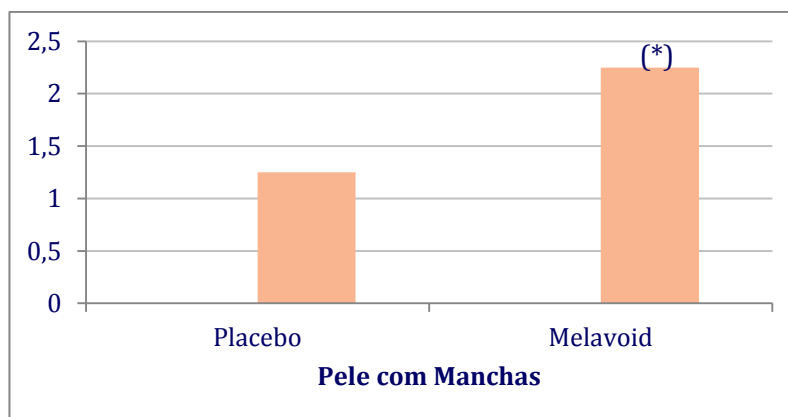


Gráfico 5: Avaliação da intensidade da mancha em peles manchadas.

Podemos observar que **Melavoid™** após 56 dias de tratamento causa uma redução de pigmentação, o parâmetro ITA<sup>o</sup> teve uma melhora de 5% na região das manchas. Em continuação, realizou-se um estudo de evolução do número de manchas e imperfeições pigmentares da pele das voluntárias asiáticas utilizando o equipamento Visia™. Este equipamento permite avaliar três tipos de discromias:

- Manchas superficiais: lesões tipicamente de cor marrom ou avermelhadas, possuem tamanhos e formas variadas e são visíveis a olho nú.
- Manchas UV: resultam de agressão solar. Não são visíveis em condições normais de luz, mas com o tempo podem vir a ser.
- Manchas marrons: lesões interiores e profundas da pele, produzidas por excesso de melanina. Não visíveis no início a olho nú, mas podem vir a ser.

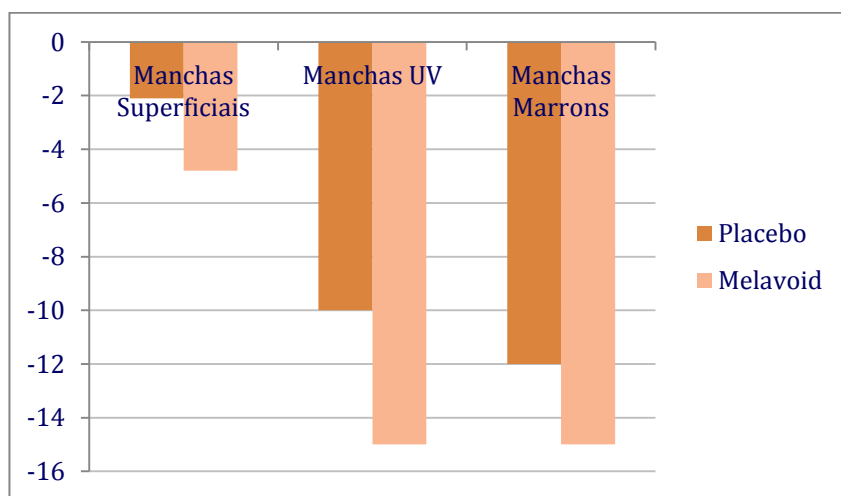


Gráfico 6: Redução da pigmentação em diferentes manchas.

A redução máxima obtida por **Melavoid™** nos distintos tipos de manchas pigmentares foram:

- ✓ -19% manchas superficiais
- ✓ -15% manchas UV
- ✓ -28% manchas marrons

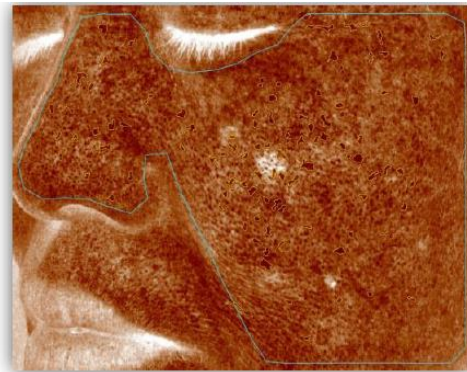
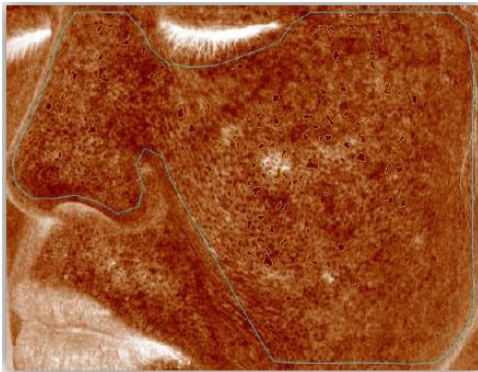
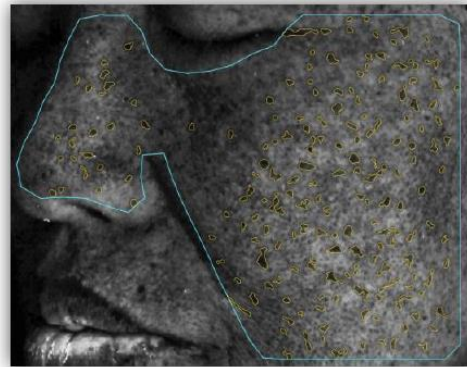
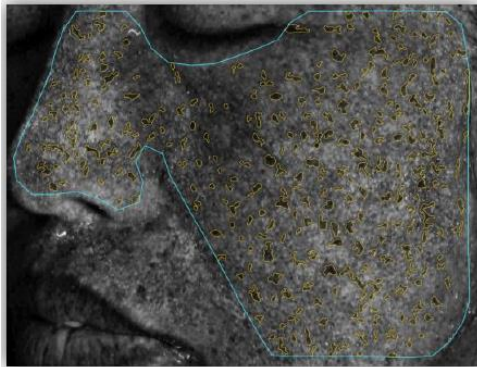
Portanto, **Melavoid™** tem dupla ação sobre as manchas:

Reduz manchas superficiais visíveis;

Atua profundamente reduzindo o cúmulo de pigmentação interna, que também contribuem no aspecto e tônus da pele. Reduzindo as manchas independente de sua origem.







#### **Associações Sugeridas**

Pode ser associado a diversas classes cosméticas como outros despigmentantes, como o Citrolumine 8™, além de ativos antienvhecimento como o CelltoCell®. **Melavoid™** é um ingrediente versátil e pode ser utilizado em formulações para rosto e corpo.

#### **Referências bibliográficas**

1. Material do fabricante.

*Última atualização: 11/11/2015 DP.*

