

MELAVOID™

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 diffusa*, 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.

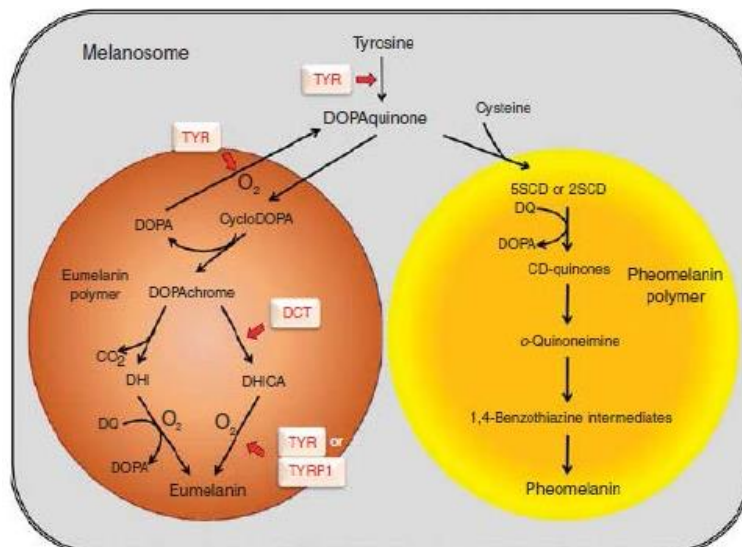


Figura 1: Esquema demonstrando via metabólica melanogênica (eumelanina/feomelanina).

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 peroxisômica) são fatores de transcrição ativados por ligante. São conhecidas três isoformas: α , δ/β e γ .

Os estudos sobre os mecanismos de ação do PPAR γ 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 γ 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 γ 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 γ 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 γ , sobre as fases prévias da rota metabólica da síntese de melanina.

Síntese de Melanina

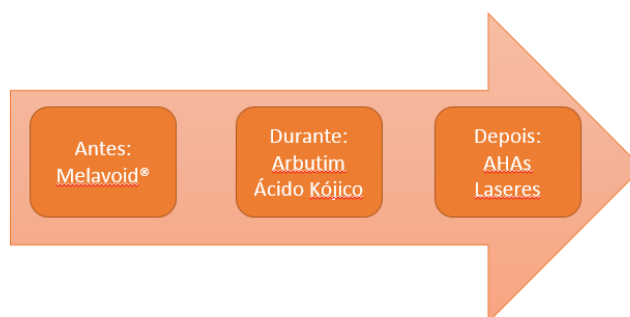


Figura 2: Posição de diferentes tratamentos clareadores em função de seu mecanismo de ação sob a melanogênese.

Comprovação de eficácia (*in vitro*)

1. Afinidade da união ao receptor PPAR γ

Este estudo determinou a afinidade da união de **Melavoid™** mediante um ensaio competitivo de união ao receptor PPAR γ (*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.

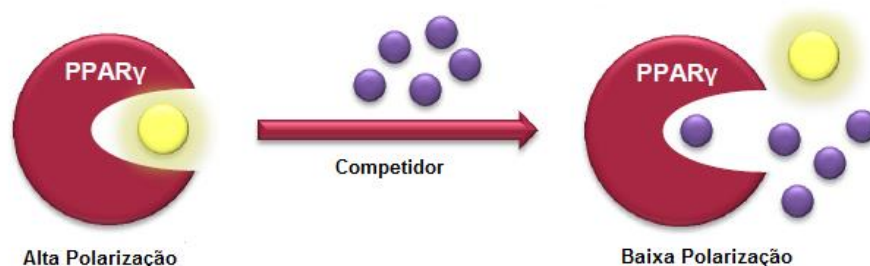


Figura 3: afinidade ao receptor PPAR γ

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 γ , mostrando uma IC50 entre 0,24% e 0,33%.

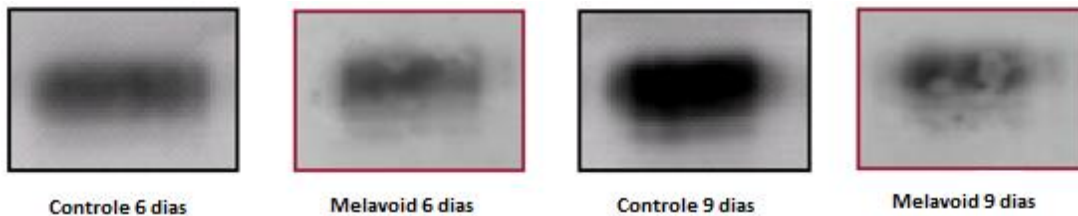
2. Estudo de atividade despigmentante em melanócitos humanos

Uma vez confirmada a afinidade de **Melavoid™** com PPAR γ , 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 incubação, **Melavoid™** foi capaz de reduzir a quantidade de tirosinase. Concluímos então que como consequência da ativação de PPAR γ , **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.

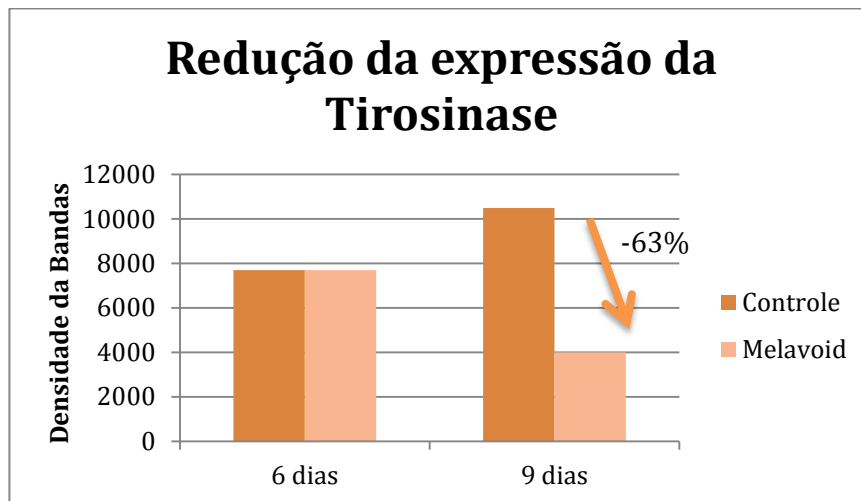


Gráfico 1: Teor de expressão de tirosinase

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 incubação.

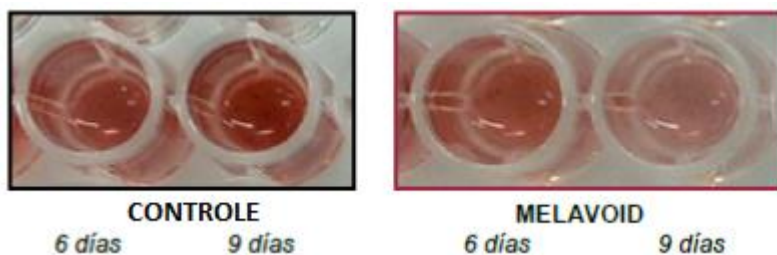


Figura 4. Imagem representativa do ensaio da atividade da Dopa Oxidase

O gráfico abaixo mostra a quantificação da atividade da tirosinase.

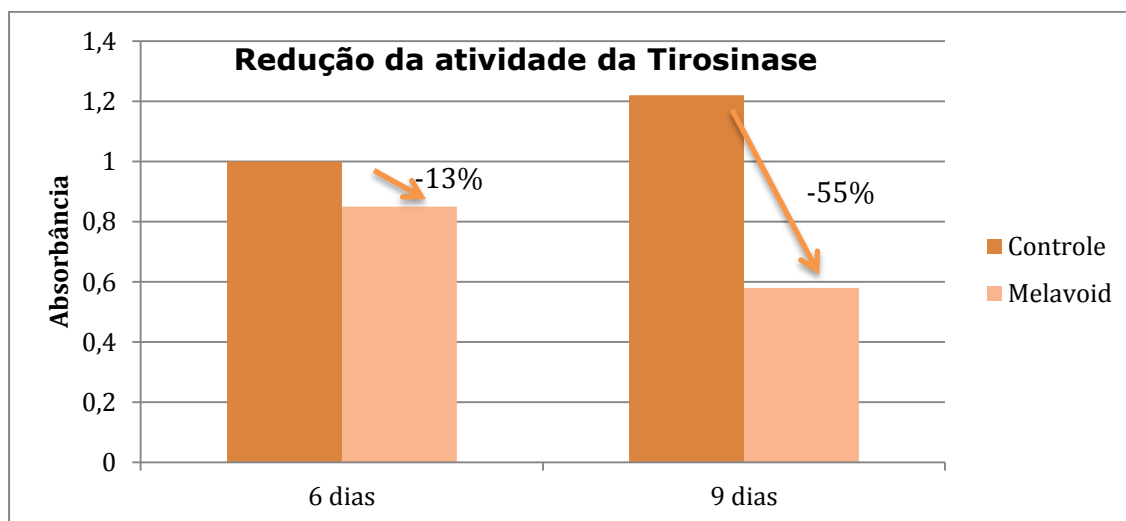


Gráfico 2: Redução da atividade da tirosinase.

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.

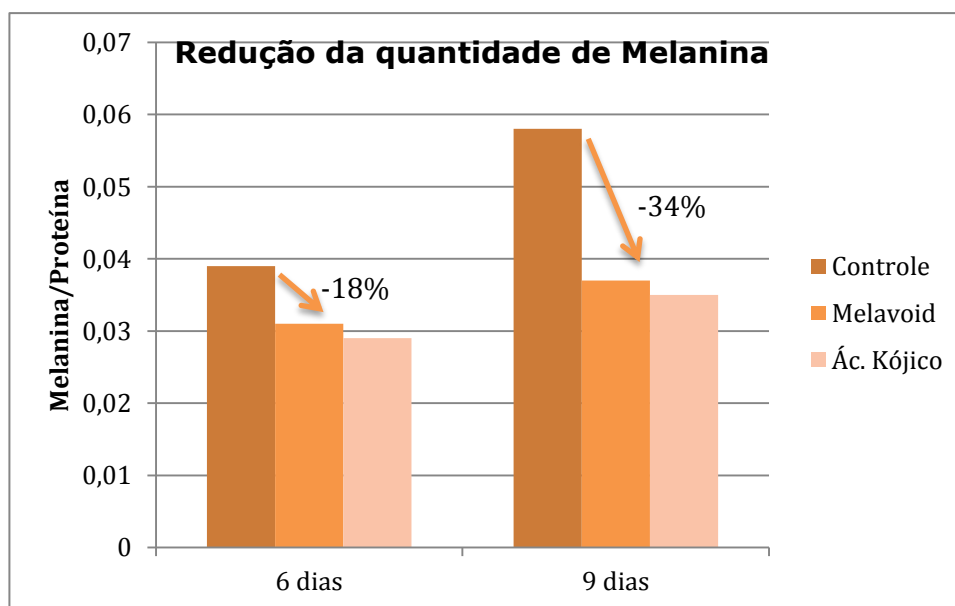
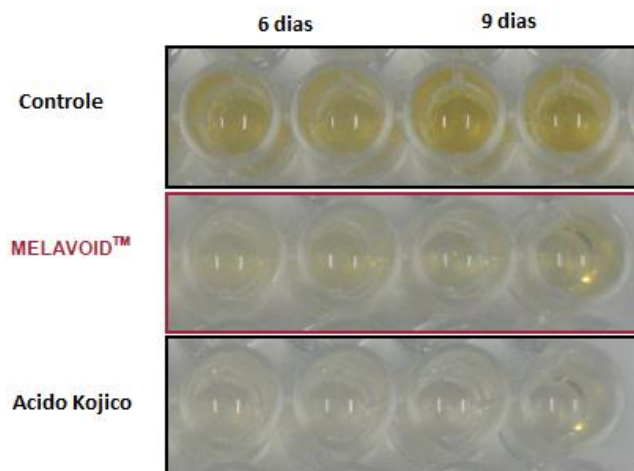


Gráfico 3: redução da quantidade de melanina.

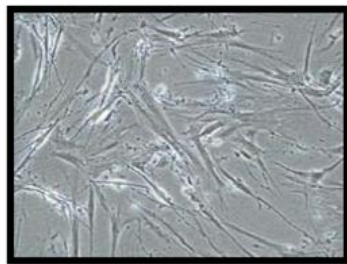
É de se destacar que o ácido kójico causou uma redução da quantidade de proteína nas culturas, o que implica em um efeito tóxico sobre as células. A redução foi de 11% em 6 dias de incubação e 26% em 9 dias. Pelo contrário, **Melavoid™** não causou nenhuma redução proteica, atestando uma viabilidade 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

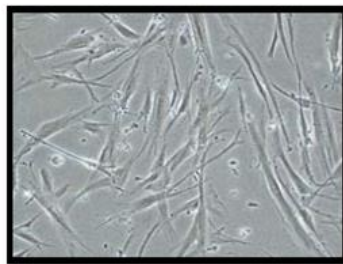
Finalmente realizou-se um estudo para avaliar a morfologia celular dos melanocitos encubados com distintos tratamentos. Como pode-se observar nas imagens abaixo, o controle negativo apresenta um cultivo típico, com morfologia fusiforme e abundantes dendritos (característicos dos melanócitos).

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° , se este parâmetro aumenta, significa que diminuiu a intensidade da pigmentação cutânea.

O gráfico abaixo mostra os valores médios de ITA° obtidos.

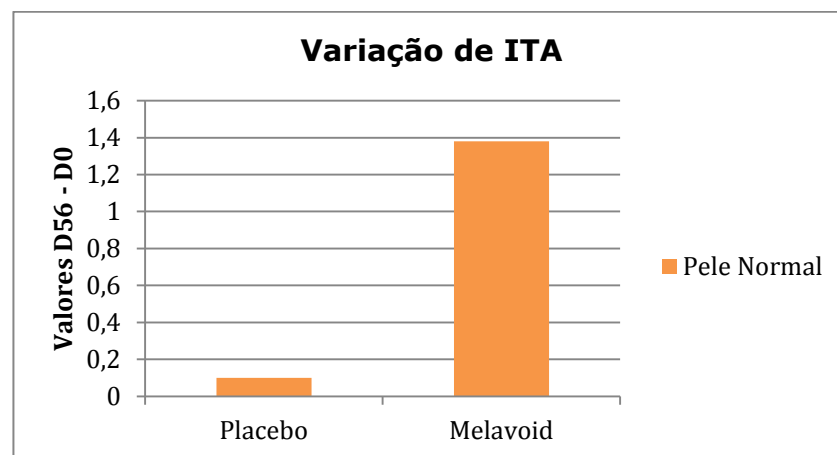


Gráfico 4: Variação do índice ITA°

Pode-se observar que o tratamento da pele com **Melavoid™** durante 56 dias causa uma redução da pigmentação da pele. O parâmetro ITA° 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^o), neste caso, avaliou-se uma mancha de no mínimo 4–5mm de diâmetro, previamente selecionada em cada lado da face (ativo x placebo).

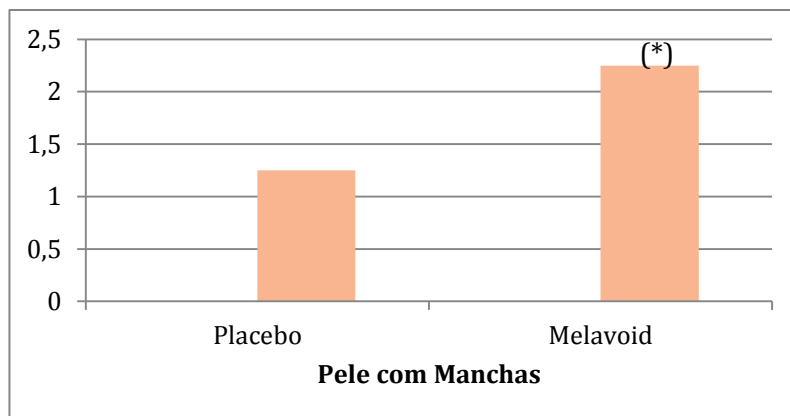


Gráfico 5: Avaliação da intensidade da mancha em peles manchadas.

Podemos observar que **Melavoid™** após 56 dias de tratamento causa uma redução de pigmentação, o parâmetro ITA^o 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.

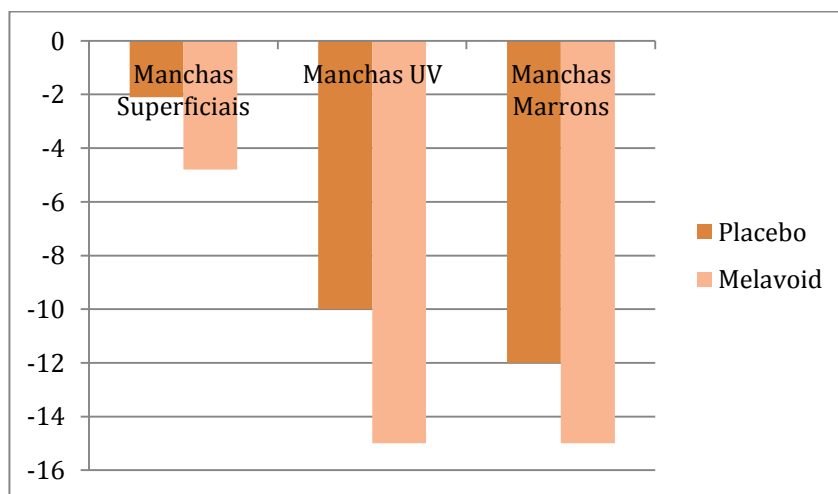


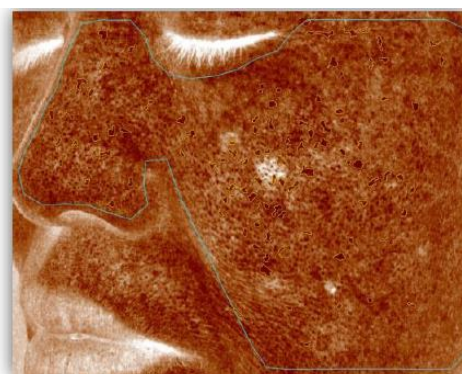
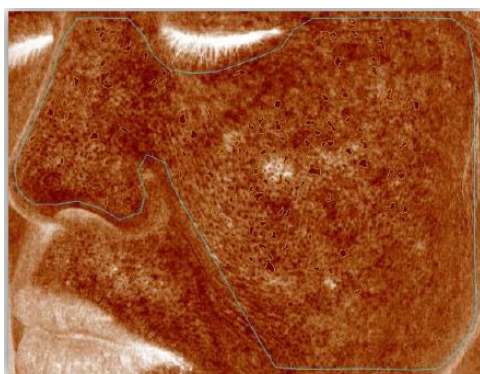
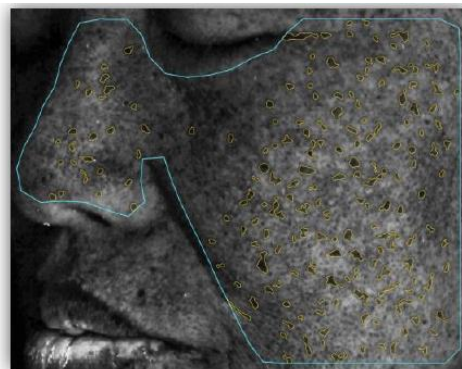
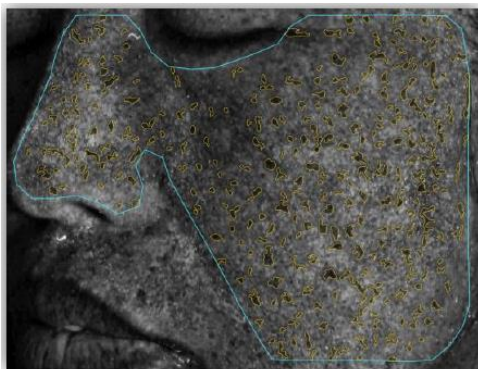
Gráfico 6: Redução da pigmentação em diferentes manchas.

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.