



# Avaliação da interação de compostos ativos hidratantes com modelo de biomembrana de *Crotalus durissus* por meio de calorimetria exploratória diferencial e espectroscopia RAMAN

Takaoka, M.S.<sup>1</sup>; Baby, A.R.<sup>1</sup>; Prestes, P.S.<sup>1</sup>; Pinto, C.A.S.O.<sup>1</sup>; Silva, V.R.L.<sup>1</sup>; Velasco, M.V.R.<sup>1</sup>; Kawano, Y.<sup>2</sup>; Kaneko, T.M.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Cosmetologia, Departamento de Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Cidade Universitária, Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Conjunto das Químicas, Cidade Universitária, Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, Brasil.

Recebido 25/08/2009 / Aceito 22/04/2010

## RESUMO

**O objetivo foi verificar as alterações no estrato córneo em modelos alternativos de membrana após a aplicação de ativos hidratantes envolvendo métodos biofísicos. O modelo de biomembrana utilizado foi a muda de pele de *Crotalus durissus* e os ativos hidratantes foram: uréia, silício orgânico, extrato vegetal de *Imperata cylindrica*, reação de xilitol e glicose e componentes de NMF. Os resultados da avaliação das alterações do modelo por meio de Espectroscopia Raman com Transformada de Fourier sugerem que os ativos hidratantes confirmam segurança necessária, pois não alteraram de forma acentuada a estrutura do estrato córneo. Utilizando-se Calorimetria Exploratória Diferencial pode-se indicar que a solução de silício orgânico e o gel hidrofílico com uréia apresentaram melhor poder hidratante.**

**Palavras-chave:** Estrato córneo. Hidratação. Métodos biofísicos. *Crotalus durissus*. FT-Raman, DSC.

## INTRODUÇÃO

A pele humana atua como excelente barreira, controlando a perda de água e de outros constituintes do meio interno e prevenindo, simultaneamente, a entrada de substâncias do meio externo. O grau de hidratação da pele favorece o papel do estrato córneo como barreira, com o passar dos anos, a capacidade de hidratação da pele diminui devido à constante exposição a agentes que a agredem, à deficiência do metabolismo, ao envelhecimento das fibras de colágeno e elastina e à deficiência da irrigação sanguínea periférica, dentre outros (Barry, 1983).

Visando melhorar o aspecto da pele, utilizam-se cosméticos hidratantes que aumentam a capacidade de retenção de água do estrato córneo (Lóden, 2003a; Lopes et al., 2008; Baby et al., 2008).

Dentre esses ativos hidratantes, podemos citar a uréia, a qual vem sendo muito empregada em produtos cosméticos com função de agente hidratante e também muito prescrita por médicos dermatologistas para tratamento de doenças de pele (Prestes et al., 2009); o silício orgânico, hialuronato de dimetilsilanol, o qual atua como hidratante biológico, regenerando o sistema de auto-hidratação e protegendo as fibras elásticas, pois com o envelhecimento, o teor de silício no ser humano diminui, acarretando em desestruturação do tecido conjuntivo; o extrato vegetal *Imperata cylindrica* atuando como hidratante da pele devido a um componente osmoregulador celular (Werner, 2007); os derivados de açúcar os quais estão sendo amplamente explorados e já patenteados com o apelo de estimular as glicosidases favorecendo o aumento dos lipídeos, promovendo melhora na função da barreira cutânea (Bruno, 2004); e por último os constituintes do NMF (*Natural Moisturizing Factor*), substâncias umectantes, cuja função é prevenir a evaporação hídrica por ligação molecular com a água (Lóden, 2003a).

Em estudos in vitro, a membrana preferencial de escolha é o estrato córneo humano, geralmente obtido em cirurgias ou autópsias. Todavia, devido à dificuldade de obtenção e armazenamento, o uso deste material é limitado. Isso leva à busca de um modelo de biomembrana alternativo. A pele de cobra representa uma barreira similar ao estrato córneo humano. As amostras podem ser obtidas sem o sacrifício de animais de experimentação, já que a pele de cobra é substituída aproximadamente a cada 2-3 meses no animal adulto, fornecendo material em abundância. Esta membrana é de fácil armazenamento e não sofre degradação microbiológica. Trata-se de um estrato córneo puro, não-viável e desprovido de folículos pilosos (Lacerda, 2003).

A estrutura da pele de cobra é formada por três camadas distintas. A pele mais externa (camada  $\beta$ ) é

*Autor correspondente:* Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Telma Mary Kaneko - Laboratório de Cosmetologia - Departamento de Farmácia - Faculdade de Ciências Farmacêuticas Universidade de São Paulo - USP - Av. Prof. Lineu Prestes, 580, bl. 13 Conjunto das Químicas - Cidade Universitária - CEP.05508-900 - São Paulo SP, Brasil - fone: +55 11 3091-3649 - fax: +55 11 3815-4418 - e-mail: tsakuda@usp.br

composta basicamente por  $\beta$ -queratina. Logo abaixo, localiza-se a camada intermediária, similar ao estrato córneo humano, composta de 3 a 5 camadas de células achatadas e extremamente finas, circundadas por lipídeos intercelulares. Esta camada atua como principal barreira à permeabilidade da água. A parte mais interna (camada  $\alpha$ ) é composta por  $\alpha$ -queratina (Lacerda, 2003; Baby et al., 2006a).

Espectroscopia Raman com transformada de Fourier (FT-Raman) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) são técnicas comprovadamente seguras que, utilizadas em conjunto, fornecem resultados precisos e confiáveis (Lopes, 2003). A espectroscopia Raman é uma técnica baseada nos modos vibracionais das ligações químicas de uma molécula, é utilizada na quantificação de droga em sistemas semi-sólidos ou sólidos, na caracterização da influência de modificadores de penetração cutânea no estrato córneo, na realização do monitoramento não-invasivo da penetração da droga na membrana, entre outros.

A Calorimetria Exploratória Diferencial é usada na indústria farmacêutica e de polímeros para caracterizar o comportamento térmico dos componentes do fármaco (Baby et al., 2006a; Baby et al., 2006b). Este método é amplamente utilizado para a avaliação de mudanças estruturais do estrato córneo permitindo a avaliação dos efeitos que compostos aplicados sobre a pele exercem sobre a sua estrutura (Leopold & Lippold, 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliação *in vitro* da interação de substâncias ativas hidratantes, tais como uréia, silício orgânico (DMSH<sup>®</sup>), extrato vegetal de *I. cylindrica* (Moist 24<sup>®</sup>), reação de xilitol e glicose (Aquaxyl<sup>®</sup>) e componentes de *NMF* (Hidrovital<sup>®</sup>), em modelo de biomembrana alternativa, estrato córneo de *C. durissus*, por espectroscopia Raman com transformada de Fourier e Calorimetria Exploratória Diferencial.

## MATERIAL E MÉTODOS

As preparações desenvolvidas apresentaram os seguintes componentes: carbômero 940; glicerina; sistema conservante composto de fenoxietanol e parabeno; trietanolamina; água deionizada; uréia; silício orgânico (Polytechno Indústrias Químicas Ltda); extrato vegetal de *I. cylindrica* (Croda do Brasil); composto de Xilitol + Glucose (Chemunion); componentes do *NMF* (Vital Especialidades Dermocósméticas Ltda); mudas de pele de cobra *C. durissus* (departamento de Herpetologia do Instituto Butantã).

Foram preparados soluções e géis hidrofílicos contendo os diferentes ativos hidratantes. As soluções foram preparadas em balões volumétricos de 100 mL. Pesaram-se aproximadamente 61,5 mg de cada hidratante, separadamente, e completou-se o volume com água destilada livre de gás carbônico. O gel hidrofílico foi preparado hidratando-se lentamente o carbômero 940 com água destilada, agitando com bastão de vidro e, em seguida, com agitador mecânico. Posteriormente adicionou-se a glicerina, o sistema conservante composto de fenoxietanol e parabeno e 4% de cada hidratante, separadamente, homogeneizando com espátula. Por último, acrescentou-se a trietanolamina em para pH 5,0 – 7,0. A composição quali/quantitativa (% p/p) está descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Composição quali/quantitativa (% p/p) das formulações.

Componente	Nome químico	INCI	Nome comercial	(% p/p) Gel base					
				G1	G2	G3	G4	G5	G6
Carbômero		<i>carbomer</i>	Carbopol <sup>®</sup> 940	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Glicerina									
Sistema conservante		<i>glycerin</i> <i>phenoxyethanol</i> <i>(and) methylparaben</i> <i>(and) ethylparaben</i> <i>(and) butylparaben</i> <i>(and) propylparaben</i> <i>(and) isobutylparaben</i>	Glicerina Fenoben <sup>®</sup>	5,0 0,15	5,0 0,15	5,0 0,15	5,0 0,15	5,0 0,15	5,0 0,15
Trietanolamina		<i>triethanolamine</i>	Trietanolamina	qsp pH 5,0	qsp pH 5,0	qsp pH 5,0	qsp pH 5,0	qsp pH 5,0	qsp pH 5,0
Água deionizada		<i>aqua</i>		qsp 100	qsp 100	qsp 100	qsp 100	qsp 100	qsp 100
Uréia		<i>urea</i>	Uréia	-	4	-	-	-	-
Silício orgânico		<i>dimethylsilanol hyaluronate</i>	DMSH <sup>®</sup>	-	-	4	-	-	-
Extrato vegetal de <i>Imperata cylindrica</i>		-	Moist <sup>®</sup> 24	-	-	-	4	-	-
Composto de Xilitol + Glucose		<i>xylitylglucoside</i> <i>(and)</i> <i>anhydroxylitol</i> <i>(and)</i> <i>xylitol</i>	Aquaxyl <sup>®</sup>	-	-	-	-	4	-
Componentes de <i>NMF</i>		<i>sodium lactate</i> <i>(and)</i> <i>glycerin</i> <i>(and)</i> <i>lactic acid</i> <i>(and)</i> <i>propylene glycol</i> <i>(and)</i> <i>urea</i> <i>(and)</i> <i>glucose</i> <i>(and)</i> <i>saccharose</i> <i>(and)</i> <i>fructose</i> <i>(and)</i> <i>lactose</i> <i>(and)</i> <i>hydrolyzed collagen</i> <i>(and)</i> <i>sodium chloride</i> <i>(and)</i> <i>potassium chloride</i> <i>(and)</i> <i>preservative</i>	Hidrovital <sup>®</sup>	-	-	-	-	-	4

Após o preparo das soluções, como o dos géis, mediram-se seus valores de pH. O peagômetro Hanna Instruments foi calibrado utilizando soluções padrão de pH 4,0 e 7,0. Realizou-se diluição 1:10 das soluções e dos géis em cálices de 10 mL, utilizando água deionizada com pH 7,0.

As amostras das biomembranas foram preparadas utilizando porções ventrais de membrana de muda de *C. durissus*, que foram recortadas com tesoura e lavadas com água destilada corrente à temperatura ambiente. Permaneceram imersas em água em placas de Petri por 1 h para re-hidratação. Após este período, foram secas entre folhas de papel de filtro quantitativo, sob leve compressão, e deixadas à temperatura ambiente por trinta minutos. Em seguida, foi realizada a técnica de *tape-stripping* com fita Transpore<sup>TM</sup>, uma única vez (Baby et al., 2006a; 2006b).

Posteriormente, as biomembranas foram transferidas para placas de Petri onde permaneceram em contato (imersas) com as soluções ou os géis por 2 h, separadamente. Decorrido o tempo indicado, as amostras foram retiradas, lavadas com água destilada, secas entre folhas de papel de filtro quantitativo, sob leve compressão, e permaneceram armazenadas em dissecador até o momento do uso. As membranas foram utilizadas para os experimentos com

espectroscopia de Raman com transformação de Fourier (FT-Raman) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) (Baby et al., 2006a; Baby et al., 2006b).

### Espectroscopia Raman com transformada de Fourier (FT-Raman)

Na análise com espectrômetro Raman FT Raman - BRUKER RFS 100/S, *software* OPUS, as amostras tratadas foram acondicionadas no compartimento destinado à análise. As condições do experimento foram às seguintes (Baby et al., 2006b):

- potência do laser → 250 mW;
- resolução → 4 cm<sup>-1</sup>;
- abertura → 10 mm;
- número de varreduras → 128;
- modo de preparo das amostras → uma camada com espelho e sem laminula.

### Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Na técnica do DSC, as amostras da pele de muda de cobra de aproximadamente 2,5mg de massa seca foram seladas hermeticamente em cadinho de alumínio. As amostras foram submetidas às condições descritas a seguir utilizando-se o equipamento DSC 10 – Differential Scanning Calorimeter – TA Instruments (Baby et al., 2006a):

- temperatura inicial → 25,00°C;
- rampa de resfriamento → 20,00°C.min<sup>-1</sup> até 0°C;
- isoterma → 5 min;
- rampa de aquecimento → 10,0°C.min<sup>-1</sup> até 200°C;
- rampa de resfriamento → 20,00°C.min<sup>-1</sup> até 0°C;
- isoterma → 5 min;
- rampa de reaquecimento → 10,00°C.min<sup>-1</sup> até 200°C;
- temperatura final → 25,00°C.

As temperaturas de transição foram determinadas considerando-se os valores máximos endotérmicos dos picos observados nas curvas de aquecimento. As curvas de aquecimento foram construídas plotando-se os valores de fluxos de calor, que foram normalizados usando-se a massa da amostra (W/g) por temperatura.

## RESULTADOS

### Espectroscopia Raman com transformada de Fourier (FT-Raman)

Os resultados obtidos por FT-Raman encontram-se nas Figuras 1 e 2.

### Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Os resultados obtidos por calorimetria exploratória diferencial encontram-se nas Figuras 3 a 6.

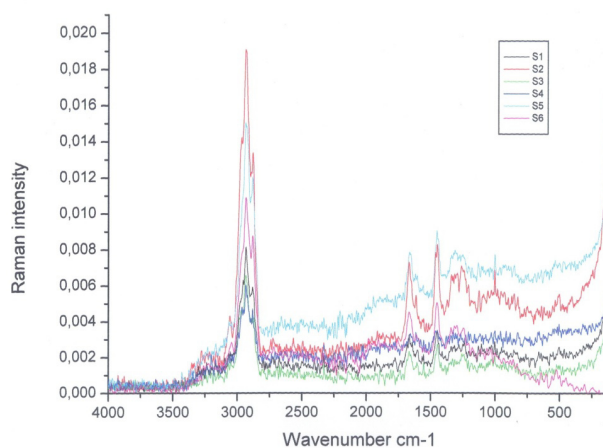


Figura 1. Espectro FT-Raman das soluções a 4% dos ativos hidratantes. Sendo S1 – solução controle; S2 – solução de uréia; S3 – solução de silício orgânico; S4 – solução de extrato vegetal de *I. cylindrica*; S5 – solução de composto de Xilitol + Glucose; S6 – solução de componentes de NMF.

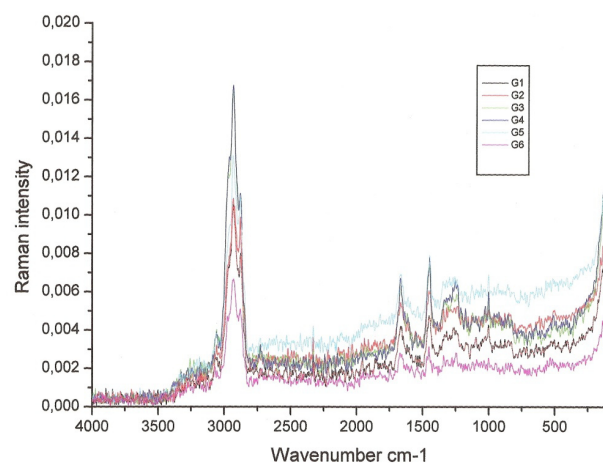


Figura 2. Espectro FT-Raman dos géis a 4% dos ativos hidratantes. Sendo G1 – gel controle; G2 – gel de uréia; G3 – gel de silício orgânico; G4 – gel de extrato vegetal de *I. cylindrica*; G5 – gel de composto de Xilitol + Glucose; G6 – gel de componentes de NMF.

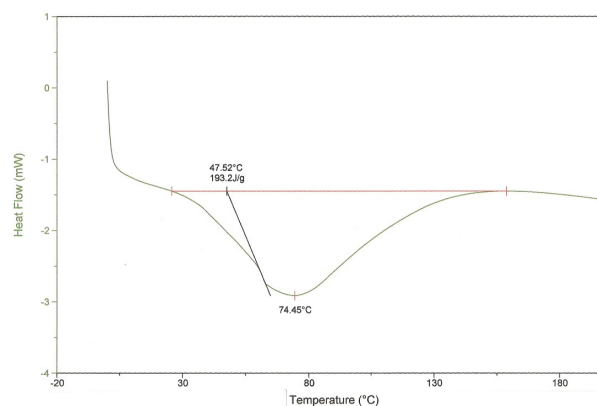


Figura 3. Curva DSC da primeira corrida da solução S1 (controle).

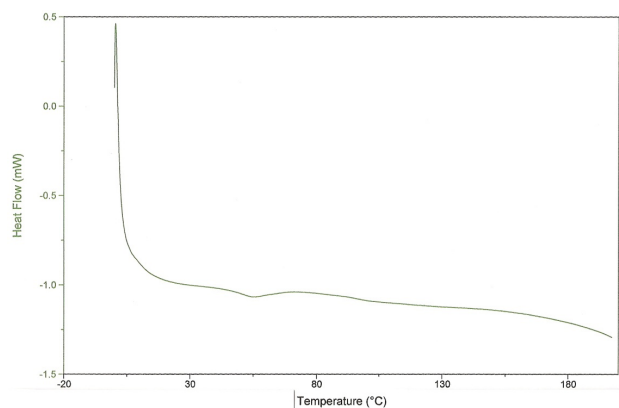


Figura 4. Curva DSC da segunda corrida da solução S1 (controle).

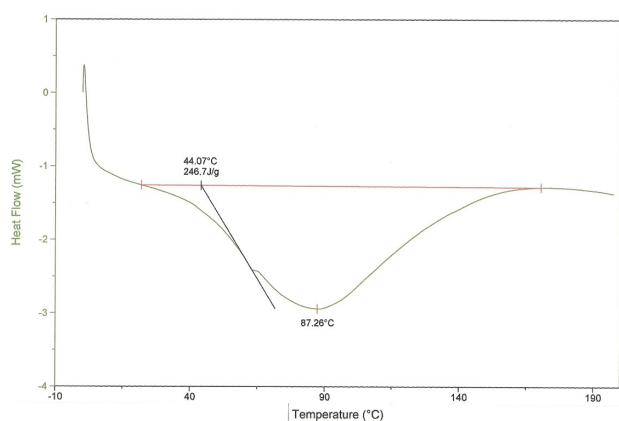


Figura 5. Curva DSC da primeira corrida do gel G1 (controle).

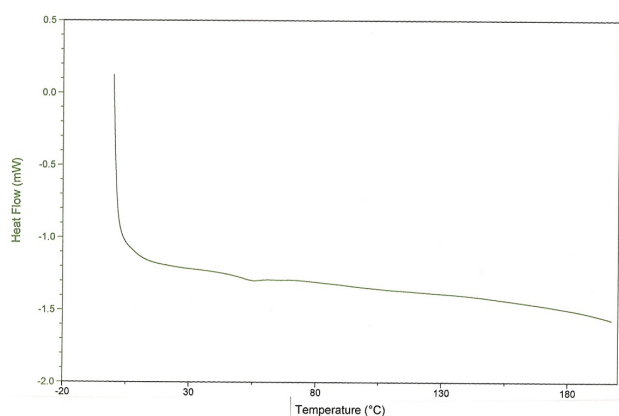


Figura 6. Curva DSC da segunda corrida do gel G1 (controle).

A Tabela 2 apresenta a entalpia e a temperaturas de pico das soluções e géis contendo diferentes ativos a 4%, observada durante a primeira corrida.

Tabela 2. Entalpia e temperaturas de pico das soluções e géis contendo diferentes ativos a 4%.

Amostra	Entalpia (J/g)	T <sub>pico</sub> (°C)
S1	193,2	74,45
S2	225,2	71,71
S3	241,3	83,05
S4	160,2	77,09
S5	207,7	68,31
S6	191,7	71,83
G1	246,7	87,26
G2	261,4	83,75
G3	144,0	79,13
G4	162,8	68,09
G5	205,3	66,96
G6	195,3	70,69

Legenda: S1 – solução controle; S2 – solução de uréia; S3 – solução de silício orgânico; S4 – solução de extrato vegetal de *I. cylindrica*; S5 – solução de composto de Xilitol + Glucose; S6 – solução de componentes de NMF, G1 – gel controle; G2 – gel de uréia; G3 – gel de silício orgânico; G4 – gel de extrato vegetal de *Imperata cylindrica*; G5 – gel de composto de Xilitol + Glucose; G6 – gel de componentes de NMF.

## DISCUSSÃO

### Espectroscopia Raman com transformada de Fourier (FT-Raman)

Willians et al. (1992) utilizaram a espectroscopia Raman com transformada de Fourier para estudar a estrutura do estrato córneo verificando o espectro vibracional e comparando-o com o espectro obtido com a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier.

Em nossos experimentos, as amostras apresentaram espectros FT-Raman de boa definição, principalmente na região relativa a vibrações de estiramento C-H assimétrico e simétrico, como exemplo, dos grupos CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> que absorvem na região de 3100-2700 cm<sup>-1</sup> e estão relacionados aos lipídeos. Na Figura 1 observamos que a amostra S2 (solução de uréia) apresentou maior intensidade, seguida das amostras S5 (solução de composto de Xilitol + Glucose) e S6 (solução de componentes de NMF); as amostras S3 (solução de silício orgânico) e S4 (solução de extrato vegetal de *I. cylindrica*) apresentaram intensidades menores que S1 (solução controle). Na Figura 2, as amostras G3 (gel de silício orgânico) e G4 (gel extrato vegetal de *Imperata cylindrica*) apresentaram intensidades iguais e maiores que as demais, seguidas da amostra G5 (gel de composto de Xilitol + Glucose); a amostra G2 (gel de uréia) apresentou intensidade semelhante à de G1 (gel controle) e a amostra G6 (gel de componentes de NMF) apresentou a menor intensidade.

Em estruturas helicoidais uma forte banda Raman para amida I ocorre próximo de 1652 cm<sup>-1</sup> (Akhtar et al., 1997). Outras bandas evidentes em espectros de estrato córneo humano e que são facilmente reconhecidos utilizando o FT-Raman, são as bandas que aparecem em torno de 1438 cm<sup>-1</sup> e estão relacionadas com a deformação angular do CH<sub>2</sub>. Ao analisarmos a Figura 1, verificamos a presença de bandas fortes nas amostras S5 (solução de xilitol + glucose) e S2 (solução de uréia), seguida da amostra S6 (solução de componentes de NMF); a amostra S4 (extrato vegetal de *I. cylindrica*) apresentou resultado semelhante ao de S1 (solução controle) e a amostra S3 (solução de silício orgânico) teve intensidade menor que este. No caso da Figura 2, as bandas com maior intensidade correspondem



às amostras G3 (gel de silício orgânico), G4 (extrato vegetal de *I. cylindrica*) e G5 (gel de xilitol + glucose), seguidas da amostra G2 (gel de uréia) e a amostra G6 (gel de componentes de NMF) teve a menor intensidade.

Os efeitos da hidratação do tecido nos espectros FT-Raman são mínimos, e causam poucas mudanças na intensidade das bandas das moléculas ou na posição de número de onda das bandas espectrais. Segundo Williams et al. (1992), a variação dos espectros inter e intramostras é mínima. A diferença entre a intensidade das bandas de diferentes doadores é esperada devido ao conteúdo lipídico do estrato córneo.

Assim, as bandas encontradas nos espectros FT-Raman das amostras de muda de pele de cobra corroboram com a literatura e podemos sugerir que os ativos hidratantes estudados confirmam segurança, já que não provocam alterações significativas na estrutura conformacional do estrato córneo.

### Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O estudo do estrato córneo utilizando DSC vem evoluindo ao longo dos anos. Van Duzee (1975) utilizou esta técnica para estudar as propriedades termo-estruturais dos lipídeos e proteínas do estrato córneo humano.

Golden et al. (1987) estudou o estrato córneo utilizando a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e espectroscopia infravermelho. Estas técnicas eram anteriormente usadas para estudos de transição de lipídeos e proteínas em uma variedade de sistemas biológicos e sintéticos, fornecendo informações independentes, porém complementares, sobre a estrutura das cadeias de hidrocarboneto dos lipídeos.

Já Moghimi et al. (1996) estudaram um modelo de matriz lamelar para os lipídeos do estrato córneo, caracterizando-o e comparando-o com a estrutura intercelular do estrato córneo humano, propondo que este modelo seja utilizado para estudos de interação entre promotores, fármacos e os lipídeos intercelulares.

A técnica DSC tem sido utilizada para estudar as transições térmicas em estrato córneo de mamíferos. Tipicamente, as transições térmicas ( $T_{\text{pico}}$ ) ocorrem a 35-42°C, 60-77°C, 70-90°C e 95-120°C e referem-se a T1, T2, T3 e T4, respectivamente (Al-Saidan, et al., 1998). T1, T2 e T3 são atribuídas a mudanças de fase nas bicamadas lipídicas intercelulares e T4 é associada à desnaturação de proteínas. No estrato córneo humano, uma quinta transição a 51-55°C foi encontrada e atribuída a ligação covalente de lipídeos ao envelope de queratinócitos (Cornwell et al., 1996).

As transições no perfil térmico obtido com o DSC refletem a fusão dos domínios estruturais que resultam em mudanças na capacidade de calor e fornecem informações a nível macroscópico. Utilizando este método, quando a amostra é submetida a aquecimento, a taxa de calor que flui por ela é proporcional à sua capacidade de calor. Este gráfico nos fornece dois dados importantes: a temperatura de pico ( $T_{\text{pico}}$ ) e a entalpia. A  $T_{\text{pico}}$  corresponde à máxima taxa de evolução do aquecimento detectado; isso não representa a taxa máxima de mudança, nem o fim do processo

endotérmico (Dodd et al., 1987). A entalpia representa a quantidade de calor necessária para que haja a evaporação da água presente na amostra e/ou a fusão da sua estrutura cristalina. Pode-se dizer que quanto maior a entalpia, mais elevada é a quantidade de água presente na amostra.

Segundo Caspers et al. (2001), o estrato córneo é uma barreira que separa as células viáveis da epiderme do meio externo. Esta camada é recoberta por uma camada de células mais interna do estrato córneo, que contém aproximadamente 75% de água. As células mais externas do estrato córneo ficam em contato com o meio ambiente e são menos hidratadas, dependendo amplamente da umidade relativa do ambiente. Assim, há um visível gradiente hídrico no estrato córneo. Pode-se sugerir que quanto mais elevada a  $T_{\text{pico}}$ , mais profunda é a camada da pele em que a água encontra-se.

Durante a varredura DSC podemos observar duas transições térmicas. A transição térmica da primeira corrida deve-se, principalmente, à evaporação da água presente na membrana, enquanto a que ocorre na segunda corrida é devida, principalmente, à fusão da estrutura cristalina do estrato córneo. Tanto as amostras tratadas com as soluções como as que ficaram em contato com os géis apresentaram curvas DSC semelhantes às apresentadas nas Figuras 3, 4, 5 e 6.

Considerando que medidas termodinâmicas estão sujeitas a um erro de 10%, segundo Tabela 2, podemos sugerir que em todas as amostras, tratadas com solução ou gel, a água encontra-se em uma camada com profundidade semelhante, já que as  $T_{\text{pico}}$  variam em uma mesma faixa. Portanto, não ocorrem alterações na biomembrana, após a aplicação dos ativos, permitindo maior hidratação cutânea.

Comparando as entalpias das soluções a 4%, as amostras S2 (solução de uréia), S3 (solução de silício orgânico) e S5 (solução de xilitol + glucose) apresentaram maior conteúdo de água, em relação ao controle, após a aplicação das respectivas soluções. A membrana S4 (solução de extrato vegetal de *I. cylindrica*) teve seu conteúdo de água reduzido e a amostra S6 (solução de componentes de NMF) apresentou aproximadamente o mesmo conteúdo hídrico do controle. Neste caso, pode-se sugerir que a solução de silício orgânico apresenta melhor poder hidratante.

Comparando as entalpias dos géis a 4%, somente a amostra G2 (gel de uréia) aumentou o conteúdo hídrico da membrana. Todos os outros géis utilizados diminuíram a quantidade de água presente na amostra. Sugere-se que esta redução pode ser devida à maior afinidade dos princípios ativos com componentes da formulação do gel base do que com a estrutura da membrana e devido à natureza higroscópica destes compostos.

Os resultados encontrados corroboram com Lóden (2003b), que revisou a eficácia de substâncias hidratantes. Foi verificado comportamento semelhante, pois alguns produtos levaram a alterações na pele, como eczemas, ao invés de melhorar a sua hidratação.

Os ativos hidratantes confirmam segurança, pois não alteraram de forma acentuada a estrutura do estrato córneo de acordo com espectro FT-Raman. Os ativos hidratantes, quando presentes no gel, não aumentaram a permeabilidade hídrica do estrato córneo. A solução de silício orgânico e o gel de uréia apresentaram melhor poder hidratante.

## ABSTRACT

*Study of the interaction of moisturizers with a Crotalus durissus biomembrane by differential scanning calorimetry and RAMAN spectroscopy*

**The objective of this research was to use biophysical techniques to investigate the alterations induced in a biomembrane model of the stratum corneum by the application of moisturizers. The biomembrane was obtained from the skin shed by the rattlesnake *Crotalus durissus* and the active moisturizing compounds were: urea, dimethylsilanol hyaluronate, *Imperata cylindrical* plant extract, carbohydrates and natural moisturizing factors (NMF components). Results from FT-Raman spectroscopy suggested that the moisturizers were safe, since they did not promote modifications in the structure of the stratum corneum. Differential scanning calorimetry results indicated that the solution containing the organic silicon compound and the gel with urea showed the best hydrating effects on the stratum corneum.**

**Keywords:** Stratum corneum. Hydration. Biophysical techniques. *Crotalus durissus*. FT-Raman, DSC.

## REFERÊNCIAS

- Akhhtar W, Edwards HGM, Farwell DW, Nutbrown M. Fourier-transform Raman spectroscopic study of human hair. *Spectrochim Acta, A: Mol Biomol Spectrosc.* 1997; 53(7):1021-31.
- Baby AR, Lacerda ACL, Velasco MVR, Lopes PS, Kawano Y, Kaneko TM. Evaluation of the interaction of surfactants with stratum corneum model membrane from *Bothrops jararaca* by DSC. *Int J Pharm.* 2006a; 317(1):7-9.
- Baby AR, Lacerda AC, Velasco MV, Lopes PS, Kawano Y, Kaneko TM. Spectroscopic studies of stratum corneum model membrane from *Bothrops jararaca* treated with cationic surfactant. *Coll Surf B: Bioint.* 2006b; 50(1):61-5.
- Baby AR, Lacerda AC, Pinto CASO, Lopes PS, Velasco MV, Kaneko TM. Métodos Biofísicos Empregados na Análise do Estrato Córneo. *Lat Am J Pharm.* 2008; 27(1): 124-30.
- Barry BW. *Dermatological formulations: percutaneous absorption.* New York: Marcel Dekker; 1983. v.18, p.1-48.
- Bruno M. Use of carbohydrates to improve skin barrier function, patente 20040062739. 2004 Apr.
- Caspers PJ, Lucassen GW, Carte EA, Bruining HA, Puppels GJ. In vivo confocal Raman microspectroscopy of the skin: noninvasive determination of molecular concentration profiles. *J Invest Dermatol.* 2001; 116(3):434-42.
- Cornwell PA, Barry BW, Bouwstra JA, Gooris GS. Modes of action of terpene penetration enhancers in human skin; Differential scanning calorimetry, small-angle X-ray diffraction and enhancer uptake studies. *Int J Pharm.* 1996; 127(1):9-26.
- Dodd JW, Tonge KH, Currell BR. *Thermal methods.* New York: John Wiley and Sons Inc; 1987. 360p.
- Golden GM, Guzek DB, Kennedy AH, Mckie JE, Potts RO. Stratum corneum lipid phase transitions and water barrier properties. *Biochemistry* 1987; 26(8):2382-8.
- Lacerda ACL. Avaliação da influência de tensoativos na pele de muda de cobra (*Bothrops jararaca*) por Espectroscopia Fotoacústica no Infravermelho, Calorimetria Exploratória Diferencial e Espectroscopia de Raman. [Dissertação] São Paulo: Faculdade de Ciências farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2003.
- Leopold CS, Lippold BC. An attempt to clarify the mechanism of the penetration enhancing effects of lipophilic vehicles with differential scanning calorimetry (DSC). *J Pharm Pharmacol.* 1995; 47(4):276-81.
- Lóden M. Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorders. *Am J Clin Dermatol.* 2003a; 4(11):771-88.
- Lóden M. Do moisturizers work? *J Cosmet Dermatol.* 2003b; 2(3-4):141-9.
- Lopes PS. Avaliação da eficácia e segurança da Papaina como promotor de absorção cutâneo utilizando técnicas biofísicas e cultura celular de queratinócitos humanos. [Tese] São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2003.
- Lopes PS, Pinto CASO, Baby AR, Velasco MVR, Taqueda ME, Kaneko TM. Evaluation of in vitro percutaneous enhancement effect of papain and pequi oil on diclofenac sodium permeation through human skin. *Rev Bras Cienc Farm.* 2008; 44(2):225-31.
- Moghimi HR, Williams AC, Barry BW. A lamellar matrix model for stratum corneum intercellular lipids. II. Effect of geometry of the stratum corneum on permeation of model drugs 5-fluorouracil and oestradiol. *Int J Pharm.* 1996; 131(2):117-29.
- Prestes PS, Rigon RB, Corrêa NMN, Leonardi GR. Avaliação da estabilidade físico-química de emulsão acrescida de uréia dispersada, ou não, em propilenoglicol. *Rev Ciênc Farm Básica Apl.* 2009; 30(1):37-43.
- Van Duzee BF. Thermal analysis of human stratum corneum. *J Invest Dermatol.* 1975; 65(4):404-8.
- Werner SB. *Herbablia, Plantactiv and Aloveria. High-quality plant extracts for cosmetics.* [cited 2007 nov 16] Available from: <http://www.scf-online.com>
- Williams AC, Edwards HGM, Barry BW. Fourier transform Raman spectroscopy: A novel application for examining human stratum corneum. *Int J Pharm.* 1992; 81:R11-R14.