

**Nanotecnologia na Dermocosmética:
Aplicação a formulações antienvhecimento**

Ana Rita Antunes Marçalo

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:

Prof. Doutora Ana Grenha

Faro, 2013



Nanotecnologia na Dermocosmética: Aplicação a formulações antienvhecimento

Ana Rita Antunes Marçalo

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências
Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:

Prof. Doutora Ana Grenha

Faro, 2013

**Nanotecnologia na Dermocosmética:
Aplicação a formulações antienvhecimento**

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

© Ana Rita Antunes Marçalo

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Um especial agradecimento à minha família, que constituiu o meu maior apoio ao longo destes cinco anos de curso. Foram incansáveis e uma fonte inesgotável de segurança para mim.

Ao meu namorado, um sincero e verdadeiro obrigado por estar sempre presente. Foi e continua a ser sem dúvida o meu porto de abrigo.

Aos meus amigos por terem sido mais que uma família e me terem feito sentir em casa dia após dia, mesmo estando a trezentos quilómetros das origens.

À minha orientadora Professora Doutora Ana Grenha por ter sido incansável na orientação prestada para a realização deste trabalho, bem como pelo tempo despendido e prontidão de resposta.

RESUMO

Novos e inovadores sistemas de entrega de agentes ativos estão a transformar o desenvolvimento de formulações no campo da dermocosmética.

A sociedade em que nos inserimos apresenta-se crescentemente preocupada com a saúde e aparência, o que tem aumentado a procura de formulações antienvhecimento eficazes.

A nanotecnologia aplicada à dermocosmética tem demonstrado potencialidades na entrega de ativos a nível tópico perante partículas de maior escala. Os nanomateriais apresentam características muito específicas, destacando-se o fato de apresentarem uma elevada razão área de superfície/volume permitindo um aumento da profundidade de penetração através das camadas da pele, além de permitirem uma libertação controlada do ativo em questão.

Uma grande variedade de ativos antienvhecimento, como antioxidantes, agentes despigmentantes, hidroxiácidos e agentes hidratantes, encontram-se em formulações com sistemas transportadores como lipossomas, nanocápsulas, nanoesferas, nanoemulsões, nanopartículas lipídicas e nanocristais. Estes sistemas de entrega podem atualmente ser encontrados em inúmeros produtos cosméticos, sendo utilizados pelos laboratórios de cosmética de referência.

Com esta monografia pretendem-se explorar os vários tipos de nanomateriais utilizados na formulação de cosméticos, as potencialidades de penetração destes através da pele, enfatizando o uso de nanoestruturas em formulações antienvhecimento.

PALAVRAS-CHAVE:

Nanotecnologia, Dermocosmética, Pele, Envelhecimento tópico, Nanomateriais, Penetração, Formulações antienvhecimento;

ABSTRACT

New and innovative drug delivery systems are transforming the development of skin care formulations.

Our society presents itself increasingly worried about health and appearance, for which the search for effective anti-aging formulations has increased.

Nanotechnology applied to skin care cosmetics has demonstrated a higher potential than larger particles in drug delivery at a topic level. Nanomaterials possess specific properties, the most important of which the high surface area/volume that allows a deeper penetration through skin layers, in addition to allowing a controlled release of the drug itself.

A large variety of anti-aging drugs, such as antioxidants, depigmenting agents, hydroxyacids and moisturizing agents, are found in formulations with drug delivery systems such as liposomes, nanocapsules, nanospheres, nanoemulsions, lipid nanoparticles and nanocrystals. These delivery systems may actually be found in countless cosmetic products, for they are used by the cosmetic laboratories.

This monograph intends to explore the several types of nanomaterials used in cosmetic formulation and their potential in penetrating skin, emphasizing the use of nanostructures in anti-aging formulations.

KEY-WORDS:

Nanotechnology, Skin care cosmetics, Skin, Skin aging, Nanomaterials, Penetration, anti-aging formulations;

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABELAS	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
INTRODUÇÃO	1
I. NANOTECNOLOGIA NA ENTREGA DE ATIVOS A NÍVEL TÓPICO	4
1. Conceito de nanotecnologia.....	4
2. A pele como local para entrega de nanomateriais.....	5
2.1. Estrutura da pele	5
2.2. A pele como barreira natural de proteção contra partículas	10
2.3. A entrega de nanomateriais a nível tópico	10
II. TIPOS DE NANOMATERIAIS UTILIZADOS EM DERMOCOSMÉTICA	15
1. Nanotransportadores Tipo Matriz	16
1.1. Nanopartículas Lipídicas Sólidas e Transportadores Lipídicos Nanoestruturados	16
1.2. Nanoesferas	18
1.3. Nanocristais	21
1.4. Cristais líquidos	22
1.5. Aquassomas	22
2. Nanotransportadores Tipo Reservatório	24
2.1. Sistemas transportadores nanométricos vesiculares lipídicos	24
2.2. Nanocápsulas	29
3. Nanoemulsões	29
III. CARATERIZAÇÃO DO ENVELHECIMENTO DA PELE	30
1. Tipos de envelhecimento da pele	30
1.1. Envelhecimento intrínseco	30
1.2. Envelhecimento extrínseco.....	31
2. Alterações estruturais resultantes do envelhecimento da pele	32
2.1. Mudanças na Epiderme	32
2.2. Mudanças na Derme.....	32
3. Principais fatores causadores de envelhecimento da pele	35

3.1. Danos causados pela exposição solar	35
3.2. Radicais Livres e Oxidação	36
3.3. Hábitos Tabágicos	38
3.4. Hormonas	38
3.5. Sistema imunitário	38
3.6. Estilo de Vida	39
IV. PRINCIPAIS ATIVOS UTILIZADOS EM FORMULAÇÕES NANOCOSMÉTICAS	
ANTIENVELHECIMENTO	40
1. Antioxidantes	40
2. Hidroxiácidos (HAs)	45
3. Agentes despigmentantes	46
4. Esfoliantes.....	46
5. Hidratantes	47
6. Protetores solares	47
7. Ácido Hialurónico	48
V. EXEMPLOS DE FORMULAÇÕES NANOCOSMÉTICAS ANTIENVELHECIMENTO	
COMERCIALIZADAS E FORMULAÇÕES EM INVESTIGAÇÃO	49
1. Formulações comercializadas atualmente.....	49
1.1. Formulações contendo Nanopartículas Lipídicas Sólidas (SLN) e Transportadores Lipídicos Nanoestruturados (NLC)	49
1.2. Formulações contendo Nanocápsulas	53
1.3. Formulações contendo Nanoesferas.....	55
1.4. Formulações contendo sistemas vesiculares lipídicos	55
1.5. Formulações contendo outros nanomateriais	57
2. Formulações em investigação / Estudos recentes	59
2.1. Formulações com nanopartículas poliméricas	59
2.2. Formulações com sistemas transportadores vesiculares lipídicos (lipossomas, niossomos, etossomos e transferossomas)	60
2.3. Formulações com nanocristais de apigenina	65
2.4. Formulações com nanolipossomas revestidos com quitosano	67
2.5. Formulações com nanopartículas de zinco revestidas por poliuretano	68
2.6. Formulações com SLN	68
CONCLUSÃO.....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Perspetiva da nanoescala em relação a objetos naturais.....	4
Figura 1.2 - Representação esquemática da estrutura da pele.....	6
Figura 1.3 - Diagrama simplificado do estrato córneo e duas vias de penetração através do mesmo.....	7
Figura 1.4 - Locais para entrega de nanopartículas na pele.....	11
Figura 1.5 - Acumulação de partículas nos folículos pilosos após massagem da pele...	13
Figura 2.1 - Nanotecnologia na dermocosmética.....	15
Figura 2.2 - Imagem representativa dos nanotransportadores tipo matriz.....	16
Figura 2.3 - Imagem representativa da morfologia das nanopartículas lipídicas.....	17
Figura 2.4 - Formação de uma estrutura cristalina com elevado grau de organização nas SLN e formação de uma matriz com muitas imperfeições (NLC).....	18
Figura 2.5 - Imagens MET típicas de nanoargilas porosas com uma estrutura hexagonal 2D e com uma estrutura cúbica.....	20
Figura 2.6 - Imagem representativa da estrutura trilamelar do aquassoma.....	23
Figura 2.7 - Imagem representativa da morfologia dos nanotransportadores tipo reservatório.....	24
Figura 2.8 - Estrutura de um lipossoma.....	25
Figura 2.9 - Mecanismo de penetração no transporte e entrega de ativos mediada por etossomas.....	27
Figura 2.10 - Imagem representativa da estrutura de um nanótopo.....	29
Figura 3.1 - Modificações patológicas decorrentes do envelhecimento extrínseco.....	32

Figura 3.2 - Papel das MMPs no envelhecimento cutâneo.....	37
Figura 5.1 - Creme Cutanova NanoRepair Q10®.....	52
Figura 5.2 - Formulação Soleil Soft-Touch Anti-Wrinkle Sun Cream SPF15.....	54
Figura 5.3 - Formulação NutriMinC RE®.....	55
Figura 5.4 - Formulações atualmente no mercado contendo nanotransportadores nanométricos vesiculares lipídicos.....	57
Figura 5.5 - Formulação Genesphere®.....	58
Figura 5.6 - Nanoemulsão MarieLouise Vital®.....	58
Figura 5.7 – Formulação Cosmedix Opti Crystal Age®.....	59

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1 - Resumo das alterações significativas decorrentes do envelhecimento da pele	35
Tabela 5.1 - Formulações atualmente disponíveis baseadas em SLN e NLC	51
Tabela 5.2 - Exemplos de cosméticos contendo nanocápsulas existentes no mercado...54	
Tabela 5.3 - Efeito das várias formulações na atividade enzimática da catalase, superóxido dismutase e glutathione reduzida.....	61
Tabela 5.4 - Percentagem de encapsulação de ácido gálico e índice de deformabilidade dos niossomas elásticos e não elásticos.....	64
Tabela 5.5 - Percentagem da quantidade de ácido gálico no estrato córneo e na epiderme viável e derme.....	64

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 5.1 - Aumento do grau de hidratação da pele após aplicação da formulação Cutanova NanoRepair® e de uma outra formulação O/A com a mesma composição mas sem NLC.....	51
Gráfico 5.2 - Penetração da coenzima Q10 na pele depois da incorporação em NLC e da incorporação numa formulação de miglitol.....	52
Gráfico 5.3 - Valores de peróxido resultantes do teste de stress oxidativo para a formulação NanoLipid Restore CLR e de uma emulsão de referência.....	53
Gráfico 5.4 - Efeito de formulações baseadas em sistemas vesiculares nanométricos testadas na produção de sebo pela pele.....	62
Gráfico 5.5 - Percentagem de mudança do grau de hidratação da pele após aplicação de formulações baseadas em sistemas vesiculares nanométricos.....	63
Gráfico 5.6 - Comparação dos valores de EC ₅₀ de macrosuspensões com nanosuspensões de apigenina.....	66
Gráfico 5.7 - Estabilidade da vitamina E nos lipossomas revestidos por quitosano e lipossomas não revestidos.....	67
Gráfico 5.8 - Percentagem de aumento no grau de hidratação da pele após 1 e 2 meses de aplicação de formulações simples e formulações contendo SLN, ambas contendo coenzima Q10.....	69
Gráfico 5.9 – Percentagem de aumento no grau de elasticidade da pele após 1 e 2 meses de aplicação de formulações simples e formulações contendo SLN, ambas contendo coenzima Q10.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN – Ácido Desoxiribonucleico

AHA - α -Hidroxiácidos

ARN – Ácido Ribonucleico

AS - Ácido Salicílico

BHA - β -Hidroxiácidos

D - Derme

EC - Estrato córneo

ERO - Espécies Reativas de Oxigênio

EV - Epiderme viável

EVD - Epiderme viável e derme

GSH - Glutationa Reduzida

HAs – Hidroxiácidos

ILE – *Ilex paraguariensis*

MAPK - Família de proteínas cinases ativadoras de mitogénese

MET - Microscopia Eletrónica de Transmissão

MMPs - Metaloproteinases

NLC - Transportadores Lipídicos Nanoestruturados

SCCP – Comité Científico dos Produtos de Consumo

SLN - Nanopartículas Lipídicas Sólidas

SOD - Enzima Superóxido Dismutase

TNF - Fator tumoral necrótico

UV - Ultra-violeta

VE - Vitamina E

INTRODUÇÃO

A nanotecnologia constitui o ramo da ciência responsável pelo estudo e desenvolvimento de sistemas no âmbito da nanoescala, e tem atraído o interesse de inúmeros grupos de investigação em todo o mundo, devido ao seu enorme poder de aplicação transversal aos mais variados setores da ciência. Neste contexto, verifica-se a existência de uma infinidade de áreas onde a nanotecnologia oferece e pode vir a oferecer uma contribuição significativa, tais como, a medicina, a eletrónica, a informática, a física, a química, bem como, entre outros, ao nível do campo farmacêutico. [1]

A entrega de ativos a nível tópico tem vindo a constituir um desafio dadas as dificuldades em ultrapassar a barreira mecânica imposta pela pele, assim como na capacidade de promover uma entrega controlada das moléculas de princípio ativo em questão. Os nanomateriais surgem deste modo como uma excelente oportunidade para exercer uma entrega racional, direcionada e com possibilidade de alcance de maiores profundidades, características estas proporcionadas pelo tamanho no âmbito da nanoescala. [2]

A sociedade em que nos inserimos encontra-se cada vez mais focada na sua saúde e aparência e, como resultado, tem-se verificado uma procura crescente de formulações tópicas antienvhecimento. Os novos e inovadores sistemas baseados na nanotecnologia estão a transformar o desenvolvimento de formulações no campo da dermocosmética devido às potencialidades apresentadas pelos mesmos. [3]

A pele é o maior órgão do corpo humano e o responsável por providenciar uma barreira física contra a penetração de partículas, sendo que, no caso dos nanomateriais comprova-se a existência de um potencial de penetração aumentado em comparação com partículas de tamanhos superiores. [4]

A pele intacta oferece maior resistência à penetração de nanomateriais, no entanto, excelentes oportunidades são criadas quando essa barreira está comprometida, tal como na pele envelhecida ou com alguma doença. [4,5] Estruturalmente, a pele é dividida em três camadas principais, a epiderme, a derme e a hipoderme, apresentando estruturas associadas denominadas apêndices cutâneos. [6] De destacar que as funções barreira são essencialmente determinadas no estrato córneo, parte integrante da epiderme. [4,7] Apesar da principal função da pele ser a proteção do organismo do ambiente exterior atuando como barreira, a pele trata-se de um órgão complexo e dinâmico com outras funções. Estas incluem a sensibilidade, termorregulação, síntese de vitamina D, excreção de água e sais, bem com armazenamento de reservas como água e lípidos. [6]

As características do princípio ativo assim como o sistema de transporte são fatores determinantes no alcance da camada alvo pretendida. [2] Com o objetivo de conseguir uma aplicação tópica de ativo bem sucedida e com resultados visíveis, uma ampla variedade de nanoestruturas tem vindo a ser desenvolvida. [1] Os nanotransportadores subdividem-se essencialmente em nanotransportadores tipo matriz, cujo núcleo apresenta uma matriz contínua que promove a libertação do conteúdo via difusão ou erosão da mesma, e nanotransportadores tipo reservatório, que são compostos por um núcleo oco no qual as moléculas de ativo se encontram suspensas. [8] De entre os nanotransportadores tipo matriz destacam-se as nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) e os transportadores lipídicos nanoestruturados (NLC), nanoesferas de substâncias metálicas, não metálicas, de carbono, de sílica sintética, de polímeros naturais ou mesmo de polímeros sintéticos. Nanocristais ou cristais líquidos são também exemplos de formulações nanométricas tipo matriz. Os lipossomas e derivados destes constituem um importante exemplo de nanotransportadores tipo reservatório. Desta classe de nanotransportadores fazem também parte as nanocápsulas, sistemas que diferem das nanoesferas apenas na questão de não possuírem um sistema de matriz, uma vez que a sua constituição pode incluir os mesmos polímeros naturais, sintéticos ou restantes materiais. [2,8]

Estes sistemas transportadores nanométricos têm sido utilizados na formulação de uma variedade de ativos antienvelhecimento de forma a atenuar os sinais da idade na pele,

que se traduzem fundamentalmente por finas linhas e rugas, alterações de pigmentação e diminuição da espessura aparente da pele, ocasionados pela atrofia epidérmica e dérmica. [9] À medida que os anos passam, a pele experimenta várias mudanças distintas e progressivas. Algumas delas são intrínsecas, consequência do processo de envelhecimento determinado pela informação genética, enquanto outras são extrínsecas e influenciadas pelo ambiente e estilos de vida, tais como exposição solar ou hábitos tabágicos. [6]

As formulações nanométricas destinadas à eliminação dos sinais visíveis do envelhecimento da pele contêm essencialmente categorias de ativos tais como antioxidantes, hidroxiácidos, agentes despigmentantes, agentes esfoliantes, compostos hidratantes, ativos protetores solares ou até ácido hialurônico. [3] Inúmeras formulações antienvhecimento utilizando nanomateriais para incorporar ativos pertencentes a estas classes de ativos encontram-se atualmente no mercado patenteadas pelas mais conceituadas companhias de cosmética mundiais tornando estas formulações inovadoras crescentemente populares, enquanto paralelamente se encontram em estudo inúmeras formulações com nanotransportadores encapsulando vários ativos. [3]

I. NANOTECNOLOGIA NA ENTREGA DE ATIVOS A NÍVEL TÓPICO

1. Conceito de nanotecnologia

A nanotecnologia é uma inovadora área da ciência que manipula materiais ao nível da nanoescala. É um campo vasto que inclui o desenho, caracterização, produção e aplicação de estruturas, dispositivos e sistemas de controlo da forma e tamanho de partículas. [10] Esta ciência usa essencialmente estruturas atómicas e moleculares como blocos de construção fundamentais para a criação de novos produtos e dispositivos, designados nanomateriais. O prefixo “nano” provém do grego que significa “anão” e corresponde à bilionésima parte de uma grandeza, conseqüentemente um nanómetro é um bilionésimo do metro. De forma a ilustrar a nanoescala, a figura 1.1 apresenta esquematicamente as posições de alguns objetos numa escala de comprimento. [8] Trata-se assim de um termo relativamente recente que diz respeito ao controlo da matéria em escalas extremamente diminutas – nanométricas. [11]

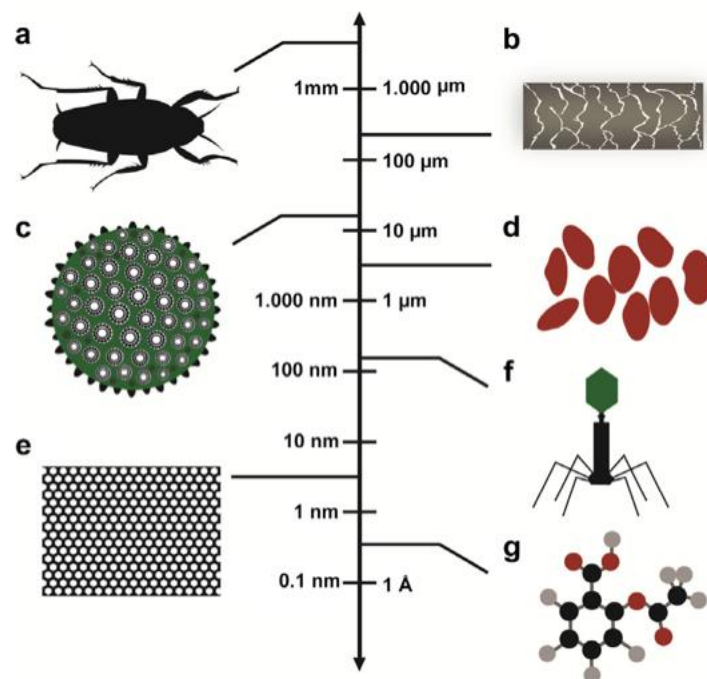


Fig. 1.1. Perspetiva da nanoescala em relação a objetos naturais: (a) inseto (b) cabelo (c) pólen (d) glóbulos vermelhos (e) rede nanocristalina de cobalto (f) bacteriófago (g) molécula de ácido acetilsalicílico. [Adaptado de 8]

Atualmente, partículas no âmbito da nanoescala são utilizadas com o intuito de desenvolver produtos em diversos campos. Assim, a nanotecnologia tem crescido progressivamente, sendo considerada uma área multidisciplinar em desenvolvimento explosivo, que acarreta um amplo número de aplicações transversais a distintas disciplinas como a química, a física, a biologia, a medicina, a engenharia e a informática. [12]

O uso da nanotecnologia encontra neste momento aplicações no âmbito da dermocosmética, de onde surge o termo ‘nanocosméticos’. É neste momento aplicada pelos laboratórios de cosmética de referência e considerada pelos mesmos como a mais nova e emergente tecnologia disponível, e mesmo como o caminho do futuro. [10,13]

2. A pele como local para entrega de nanomateriais

2.1. Estrutura da pele

A pele é o maior órgão do corpo humano, representando nos adultos cerca de 10% da massa corporal total com uma área de superfície de cerca de 2 m². [7]

Esta é constituída fundamentalmente por duas camadas. A derme é a camada que engloba uma grande variedade de tipos celulares, nervos, vasos sanguíneos e linfáticos embebidos numa rede de tecido conetivo. Acima da derme, e separada pela membrana basal, encontra-se a epiderme, composta por subcamadas de queratinócitos estratificados, onde as células do estrato córneo ou corneócitos se encontram num envelope rico em proteínas e com uma cobertura lipídica exterior, rodeada por uma matriz lipídica extracelular. Além dos componentes celulares estruturados da pele, existem os apêndices, que incluem as unidades pilosebáceas (foliculos capilares e glândulas sebáceas), bem como as glândulas écrinas e apócrinas. [4]

Fundamentalmente é a epiderme a camada que determina maioritariamente a profundidade de migração dos ativos através da pele, desempenhando o papel de maior importância como barreira à penetração. Trata-se do passo limitante deste processo. [5,14]

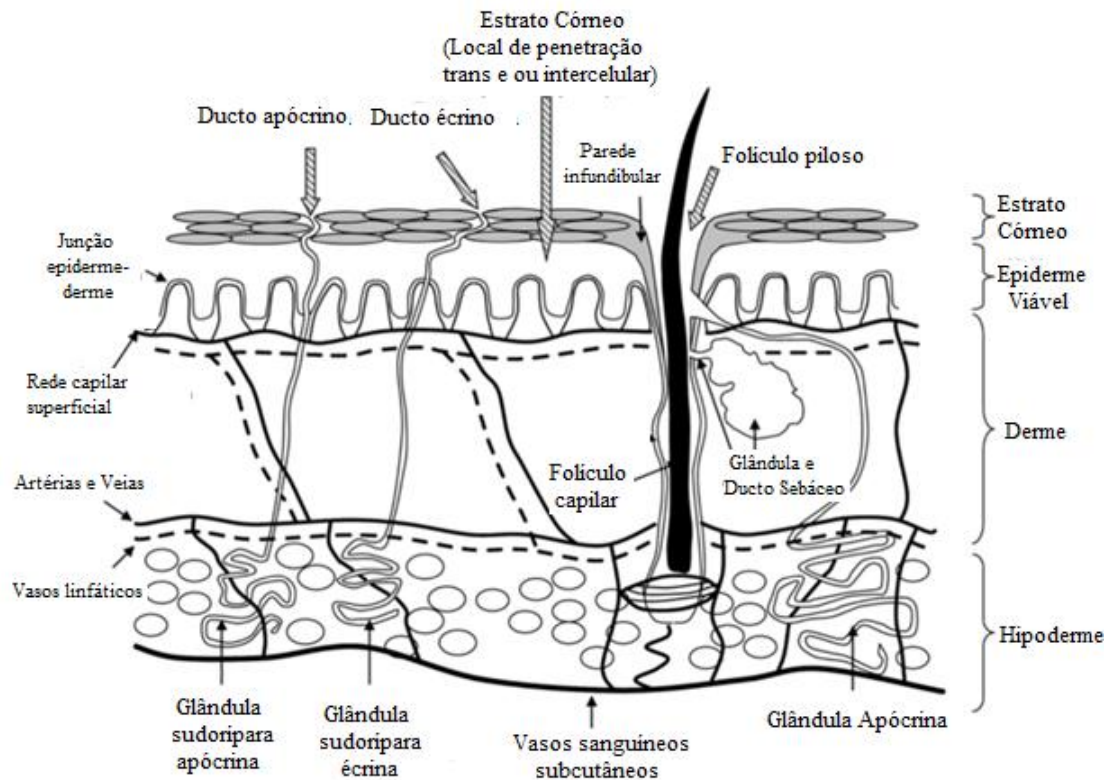


Fig. 1.2. Representação esquemática da estrutura da pele [Adaptado de 14]

2.1.1. O estrato córneo

O estrato córneo (EC) é a camada mais exterior da epiderme. Os queratinócitos migram num processo de diferenciação desde a junção derme-epiderme para o EC num período de cerca de duas semanas, e é nos estágios finais que ocorre a transformação de queratinócitos em corneócitos, embebidos numa matriz lipídica densa e altamente organizada. A permanente migração dos corneócitos em direção à superfície contribui para a eliminação de patógenos, células cancerígenas ou matéria particulada. Os corneócitos compreendem uma densa rede de filamentos de queratina. A matriz lipídica intercelular compreende uma mistura de ceramidas, colesterol, triglicéridos e ácidos gordos. [14]

O transporte de substâncias através do EC ocorre maioritariamente por difusão passiva. Subdividem-se em três principais vias, sendo estas a transcelular (através dos

corneócitos e atravessando os lípidos), paracelular (entre os corneócitos) e via apêndices. [5,7]

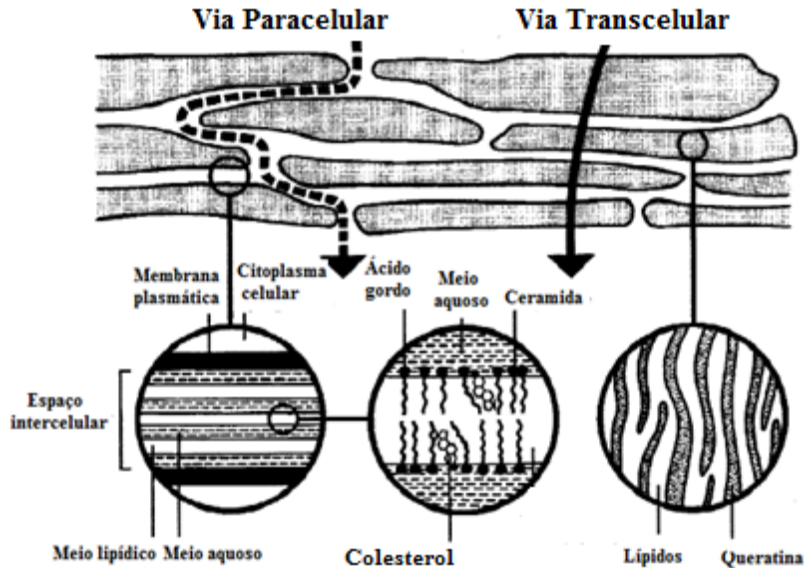


Fig. 1.3. Diagrama simplificado do estrato córneo e duas vias de penetração através do mesmo [Adaptado de 5]

Cobrindo os corneócitos, na superfície do EC está uma fina (0,4-10 μm) camada irregular e descontínua, de sebo secretado pelas glândulas sebáceas contendo bactérias e células mortas. Esta camada funciona como barreira adicional à permeação através do EC. [4]

2.1.1.1. Vias de transporte de substâncias exógenas através do estrato córneo

Originalmente pensava-se que os compostos hidrofóbicos e hidrofílicos penetravam no EC através de vias distintas, com os solutos hidrofílicos através da via transcelular e os solutos mais lipofílicos através da via paracelular. No entanto, a percepção da dificuldade da divisão entre os compartimentos lipofílicos e hidrofílicos no EC levou a que a penetração dessa forma fosse considerada improvável. Este fato foi suportado por evidências histoquímicas e teóricas que demonstraram que a difusão através dos lípidos intercelulares é a mais provável para a maioria dos solutos. [4,7]

A entrega de princípios ativos via apêndices é uma alternativa real para exercer a entrega através do EC. Os folículos apresentam uma grande extensão em profundidade na pele, a espessura da camada do EC é progressivamente reduzida no local em que o folículo se encontra e existe uma extensa rede capilar com capacidade para transportar solutos difundidos através do folículo. [4,7]

2.1.1.2. Camada acídica característica do EC

A superfície da pele caracteriza-se por apresentar um pH entre 4.2-5.6, o qual varia consoante o local anatómico bem como com o género, grau de transpiração, sebo e grau de hidratação. O EC tem uma variedade de funções tais como a defesa contra micro-organismos, a manutenção da permeabilidade da barreira, a preservação da integridade e coesão dos corneócitos, que é regulada por enzimas proteolíticas sensíveis ao pH, e também a função de restrição da inflamação por inibição da libertação de citocinas.

O pH ácido da superfície da pele pode também suportar a barreira à penetração de nanopartículas em alguns casos. A um pH mais baixo as forças eletrostáticas decrescem e a agregação das nanopartículas é promovida, desfavorecendo a capacidade de penetração. Por outro lado, numa situação de manutenção da integridade e coesão do EC que a camada acídica proporciona, as nanopartículas que conseguem penetrar, mais dificilmente são expulsas durante a descamação. [4]

2.1.2. Epiderme Viável

A Epiderme Viável (EV) apresenta um ambiente avascular e é constituída maioritariamente por queratinócitos e aproximadamente 40% de proteínas, 40% de água e 15-20% de lípidos. [14]

A maior parte das enzimas responsáveis pelas funções de barreira da pele localizam-se nesta camada. De notar que uma grande variedade de nanopartículas são biodegradáveis através de hidrólise, atividade enzimática e forças físicas. [4]

2.1.3. Derme e camadas mais profundas

Localizada imediatamente antes da epiderme, a derme trata-se da camada mais espessa da pele, com cerca de 4 mm em profundidade. A sua camada mais exterior, a derme papilar, apresenta finos feixes de colagénio, fibras de elastina, fibrócitos, bem como água, eletrólitos, proteínas plasmáticas e complexos de polipéptidos. [14]

Abaixo desta camada situa-se a derme reticular, formada maioritariamente por grossos feixes de colagénio e de fibras elásticas. [14]

Protegida pela barreira da epiderme, a derme aloja os vasos sanguíneos, linfáticos e sistema nervoso na pele, assim como os vários apêndices. Abaixo da derme reticular situa-se a hipoderme (tecido adiposo subcutâneo). Compreendendo microtúbulos de tecido adiposo e fibras de colagénio, esta também aloja os vasos sanguíneos, linfáticos e nervos, servindo de reservatório energético. É a hipoderme que conecta a pele às estruturas mais profundas como aos músculos e ossos. [14]

2.1.4. Apêndices

A entrada cónica à superfície da pele para o folículo piloso (denominada infundíbulo) estende-se aproximadamente 500 µm em profundidade (até depois da junção epiderme-derme). Entretanto verifica-se a conexão com o ducto sebáceo que exerce a ligação do folículo com a glândula sebácea. Glândulas sebáceas são também encontradas independentemente dos folículos pilosos, maioritariamente no rosto. Esta glândula produz sebo, uma substância lipofílica contendo triglicéridos, esqualeno, colesterol e os seus ésteres. O sebo preenche o infundíbulo e desempenha vários papéis como a proteção contra microrganismos, controlo da temperatura corporal, transporte de antioxidantes para a superfície da pele, bem como manutenção da integridade da pele. O sebo leva aproximadamente oito horas a efetuar a passagem do ducto sebáceo para a superfície da pele. A parede do infundíbulo é uma continuação do EC cuja espessura diminui ao longo do folículo. [14]

O folículo é altamente vascularizado, uma vez que a sua base é rodeada por vasos sanguíneos interconectados. [14]

As glândulas écrinas produzem suor de forma a auxiliar a arrefecer o corpo por evaporação. Estas glândulas estão situadas no final da derme ou na hipoderme, e conectadas com a superfície através de um ducto de aproximadamente 100 µm de diâmetro. Água, sais e eletrólitos podem sofrer reabsorção através desse ducto de forma a manter a homeostasia. [14]

A pele contém ainda glândulas apócrinas e apoécricinas. Nos adultos, os ductos apócrinos conectam com o infundíbulo. As glândulas apoécricinas aparecem na adolescência, e possuem características de ambas as glândulas écrinas e apócrinas. Estas glândulas e ductos são também altamente vascularizados, assim como as glândulas apócrinas. [14]

Apesar dos folículos pilosos representarem apenas 0.1% da superfície da pele no humano, a sua complexa vascularização e profunda invaginação tornam bastante significativo o seu potencial de entrega de ativos. [4]

2.2. A pele como barreira natural de proteção contra partículas

De entre as múltiplas e complexas funções da pele, destaca-se a prevenção da invasão do organismo por atuar como barreira defensiva em relação ao ambiente exterior. A pele desenvolveu mecanismos de defesa que lhe conferem proteção física, imunológica, metabólica e contra raios UV e matéria particulada. Muitas das nanopartículas consideradas naturais, entre as quais se encontram vírus, bactérias, poeiras e alergénios, entre outros, não penetram através da pele humana, a não ser que essa barreira esteja comprometida. Por outro lado, este órgão pode ser utilizado como porta de entrada para substâncias terapêuticas com a exploração destas propriedades. [4]

2.3. A entrega de nanomateriais a nível tópico

A pele tem sido historicamente usada para a entrega tópica de compostos ativos. A entrega por nanomateriais na pele está a ser crescentemente utilizada para facilitar terapias locais uma vez que estes têm demonstrado alcançar maiores profundidades ao longo das camadas da pele, permitem o direcionamento para determinados locais da mesma, assim como há a possibilidade de apresentarem um perfil de libertação

controlada, em comparação com materiais de ordens de grandeza superiores. Este alcance de profundidades maiores, bem como as especificidades da entrega associada ao uso de nanomateriais é importante no grau de efetividade das substâncias formuladas. [2,15]

De uma forma geral, a entrega mediada por nanopartículas na epiderme e na derme sem a presença de uma modificação da barreira não tem demonstrado um potencial significativo. Quando a barreira está comprometida, tal como na pele envelhecida ou com alguma doença, é quando se verifica um maior potencial para penetração. [4]

Na figura 1.4 podemos ver os potenciais locais que podem constituir alvos para os nanomateriais, sendo que estes incluem a superfície da pele, rugas, e folículos pilosos. [4,5]

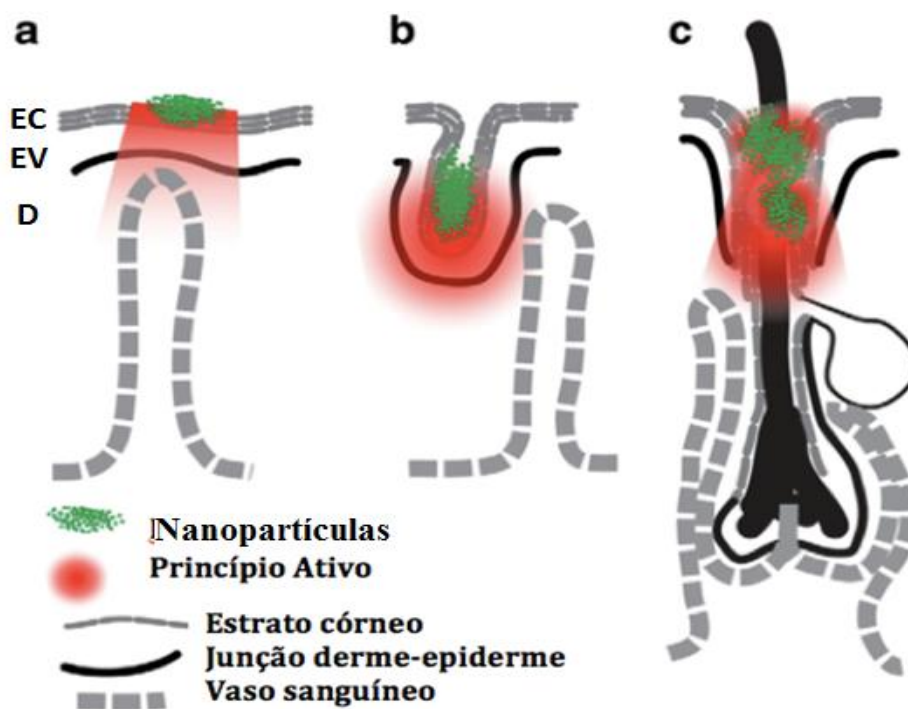


Fig. 1.4. Locais para entrega de nanopartículas na pele. A entrega de ativos a nível tópico ocorre maioritariamente em três locais: Através do estrato córneo (EC) (a), rugas/sulcos (b), e aberturas dos folículos pilosos (c). As nanopartículas encontram-se representadas a verde e o princípio ativo a vermelho. Outros locais de entrega são a epiderme viável (EV) e a derme (D). [Adaptado de 4]

Uma preocupação primordial relaciona-se com a segurança associada às nanopartículas utilizadas, uma vez que a reatividade e toxicidade das partículas são potenciadas com o decréscimo do tamanho das mesmas. [16]

Os parâmetros que determinam a toxicidade dos nanomateriais incluem o pequeno tamanho apresentado, que aumenta a área de superfície e portanto a área de exposição de grupos reativos, a composição química (grau de pureza, cristalinidade, propriedades eletrónicas), a estrutura de superfície, que se relaciona com os tipos de grupos de superfície e reatividade dos mesmos, a componente magnética, a solubilidade, a forma e a tendência para agregação das nanopartículas. [16]

Vários estudos identificaram a possibilidade das nanopartículas não biodegradáveis poderem ser retidas pelo sistema reticulo-endotelial. Além disto, há ainda o potencial de desenvolvimento de toxicidade local, comprovado por registos recentes em que nanopartículas provocaram a indução da apoptose dos queratinócitos. [4]

O mecanismo principal pelo qual os nanomateriais causam dano celular é a formação de espécies reativas de oxigénio (ERO). Tal como referido, a diminuição do tamanho está relacionada com o aumento da reatividade dos grupos de superfície. Essas reações são responsáveis pela indução de stress oxidativo nas células e criação de ERO. [16]

Estes factos ilustram a extrema importância e necessidade da monitorização *in vitro* e especialmente *in vivo*. [4]

Os benefícios da entrega de ativos mediada por nanomateriais sobrepõem-se em larga escala ao possível potencial de toxicidade, no entanto, uma vez que esse potencial pode existir em alguns casos, este assunto tem atraído atenção por parte das agências regulamentares por todo o mundo. [4]

A probabilidade da penetração dos nanomateriais ao longo das camadas da pele foi recentemente revista pelo Comité Científico dos Produtos de Consumo (SCCP), que concluíram alguns aspetos em relação a esta exposição dérmica:

1. Há evidência de penetração nos tecidos viáveis (tanto na epiderme como eventualmente na derme) em relação a partículas de tamanho muito pequeno (menor que 10 nm);

2. Há evidências de que certos efeitos mecânicos, como a aplicação de massagem, potencializam a penetração de nanomateriais;

Há dados provenientes de outros estudos que descrevem casos em que nanopartículas de tamanho superior a 20 nm penetram através do estrato córneo, sendo possível atingirem a epiderme viável. [4]

2.3.1. Fricção/massagem da pele para potenciação da entrega de ativos

A penetração da nanomateriais na pele tem um elevado potencial de entrega controlada de ativos em concentrações terapêuticas. A potenciação da penetração através da fricção e massagem foi verificada em vários estudos efetuados.

Estudos efetuados em pele de suíno com massagem e sem massagem revelaram que a massagem de partículas de 400-700 nm de diâmetro resultou em elevados níveis de penetração folicular. (Fig. 1.5) [4,17]

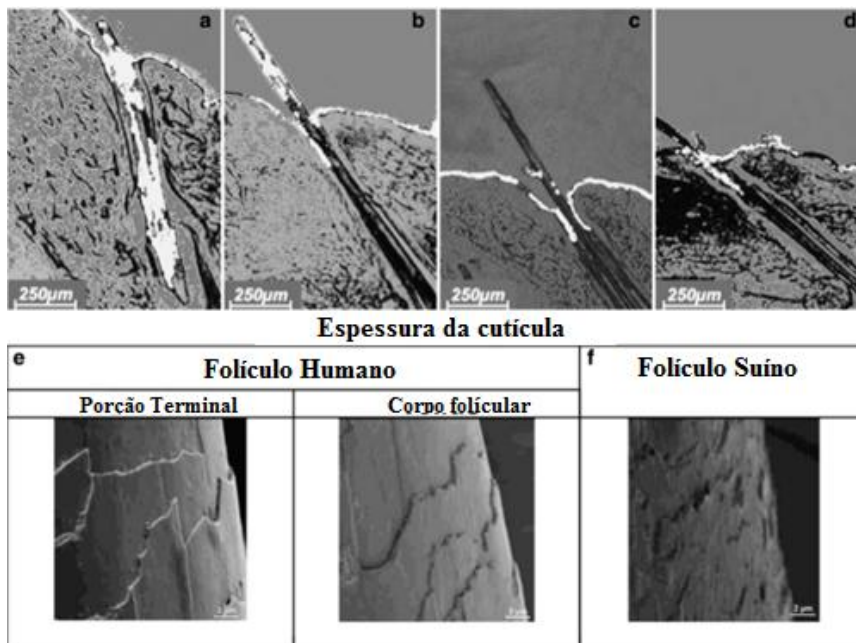


Fig. 1.5. Acumulação de partículas nos folículos pilosos após massagem da pele. Pele massajada foi tratada com moléculas de corante particulado e não particulado, nos painéis a e b, respetivamente. Os painéis c e d mostram a pele, sem massagem, tratada com moléculas de corante particulado (painel c) e não particulado (painel d). Os painéis e e f mostram a constituição do folículo humano, bem como dos folículos de origem suína [4,16,18]

Um trabalho de Noting Lademann demonstra ainda que partículas de 40 nm penetram mais profundamente nos folículos quando o eixo piloso é desviado, isto é, com o ato de massajar, o pelo é desviado para um dos lados, aumentando a área e a profundidade da abertura (infundíbulo). [4,18]

Deste modo, podemos verificar que o grau de penetração dos nanomateriais pode ser influenciado por inúmeros aspetos, como a constituição da própria formulação em que estão incluídos, o tipo de pele e a natureza da fricção/massagem aplicada. [4]

II. TIPOS DE NANOMATERIAIS UTILIZADOS EM DERMOCOSMÉTICA

A aplicação tópica de compostos ativos é ainda um desafio devido às dificuldades no controlo e determinação da quantidade exata de ativo que atinge as diferentes camadas da pele. As características do princípio ativo assim como o sistema de transporte são responsáveis pela diferente distribuição na pele. Diferentes estratégias têm vindo a ser utilizadas de forma a aumentar a biodisponibilidade local de vários compostos ativos para administração tópica. Uma das estratégias inclui a formulação do ingrediente ativo em sistemas transportadores nanométricos. [2]

Hoje em dia, uma ampla variedade de nanoestruturas são comumente utilizadas na formulação dos mais recentes produtos cosméticos. [1]

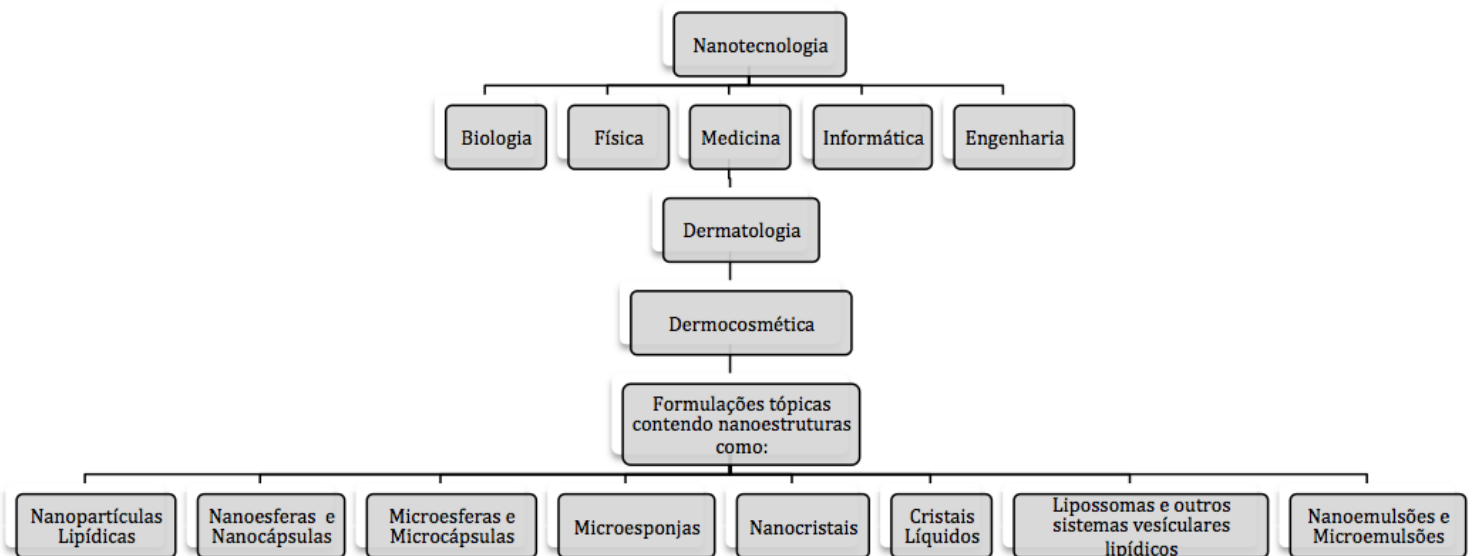


Fig. 2.1. Nanotecnologia na dermocosmética [Adaptado de 1]

1. Nanotransportadores Tipo Matriz

Os nanotransportadores tipo matriz têm uma matriz contínua, exercendo lentamente a entrega do seu conteúdo via difusão a partir da matriz ou via erosão da própria matriz.

[8]

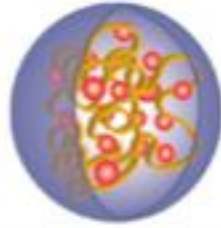


Fig. 2.2. Imagem representativa da morfologia dos nanotransportadores tipo matriz [Adaptado de 8]

1.1. Nanopartículas Lipídicas Sólidas e Transportadores Lipídicos Nanoestruturados

As Nanopartículas Lipídicas Sólidas (SLN) e os Transportadores Lipídicos Nanoestruturados (NLC) estão entre os sistemas transportadores mais promissores no que toca à formulação de cosméticos. [8]

São sistemas transportadores sólidos à temperatura ambiente e altamente capazes de transportarem substâncias lipofílicas. Diferem na composição da matriz lipídica, pois enquanto as SLN são constituídas inteiramente por lípidos sólidos, os NLC contêm na sua constituição lípidos sólidos e óleos. Estes sistemas diferem ainda no que respeita à sua capacidade de incorporação de substâncias ativas, uma vez que os NLC apresentam uma capacidade de incorporação muito superior. [8]

As vantagens da utilização de SLN e NLC incluem a elevada estabilidade dos agentes ativos no interior das nanopartículas durante o armazenamento, as propriedades de libertação modificada que se verificam com estes sistemas, bem como a boa oclusão da pele que aumenta muito o particionamento das substâncias ativas no estrato córneo. [8]

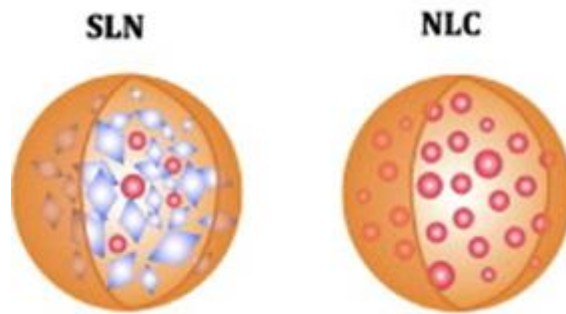


Fig. 2.3. Imagem representativa da morfologia das nanopartículas lipídicas [Adaptado de 8]

As SLN foram desenvolvidas no início dos anos 90 como alternativa a sistemas transportadores como emulsões, lipossomas e nanopartículas poliméricas. São produzidas através da substituição da fase oleosa de uma emulsão O/A por um lípido sólido ou uma mistura de lípidos sólidos, de modo a que a matriz lipídica da partícula esteja sólida à temperatura ambiente e corporal. As SLN são compostas por 0,1% a 30% de lípidos sólidos dispersos em meio aquoso e se necessário, 0,5% a 5% de surfatante. O tamanho médio destas nanopartículas situa-se entre os 40 a 1000 nm. [19]

As NLC são a segunda geração das nanopartículas lipídicas, sendo produzidas utilizando misturas de lípidos sólidos e líquidos (óleos), numa razão que pode variar entre 70:30 a 99.9:0,1, respetivamente. Devido à presença de óleos nestas misturas, verifica-se um decréscimo do ponto de fusão comparativamente às SLN, no entanto as misturas obtidas são igualmente sólidas à temperatura ambiente e corporal. O conteúdo em sólidos dos NLC pode atingir os 95%. [8,19]

Os NLC foram desenvolvidos para contornar potenciais limitações associadas às SLN, proporcionando maior capacidade de incorporação de compostos ativos, menor potencial de libertação de molécula ativa durante o armazenamento, bem como apresentam um menor conteúdo em água. [8,19]

As SLN são produzidas a partir de lípidos sólidos apenas, e devido ao elevado grau de organização produzido, o número de imperfeições entre os cristais formados é reduzida, podendo conduzir à libertação de ativo. Através da criação de uma matriz menos

ordenada nos NLC, através da mistura de lípidos sólidos com lípidos líquidos, uma maior quantidade de ativo pode ser incorporada. (Fig. 2.3)

Os ativos cosméticos podem localizar-se entre as cadeias de ácidos gordos, entre as camadas lipídicas, ou ainda em imperfeições da matriz sólida. [19]

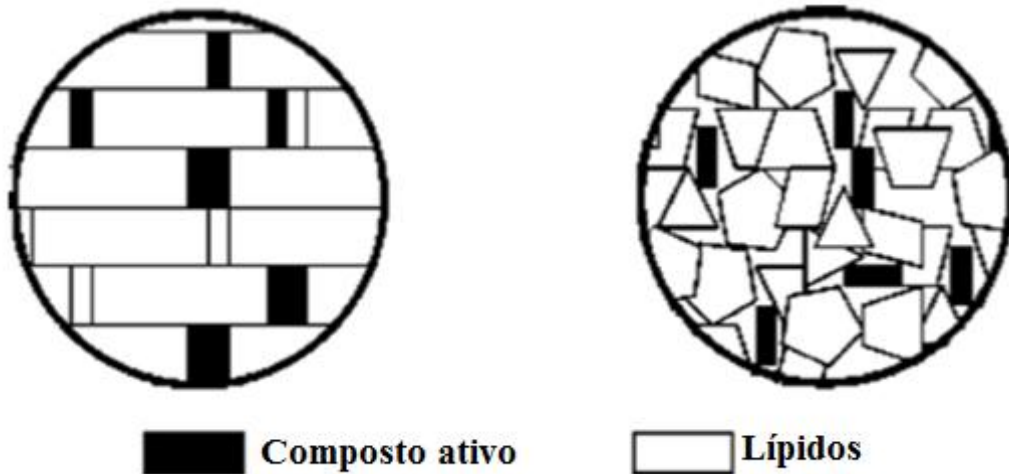


Fig. 2.4. Formação de uma estrutura cristalina com elevado grau de organização nas SLN (esquerda) através de moléculas com formas semelhantes, limitando a capacidade de armazenamento de ativos. Formação de uma matriz de NLC (direita) com muitas imperfeições, o que conduz a uma capacidade de armazenamento aumentada. [Adaptado de 19]

As SLN, por serem dispersões com um conteúdo em água entre os 70-99.9% poderão conduzir a problemas no que toca ao seu conteúdo numa formulação tópica final. Formulações de NLC com concentrações mais elevadas em lípidos podem ser produzidas, o que simplifica a incorporação num produto final. Um concentrado de NLC é simplesmente adicionado a uma formulação tópica, com uma quantidade reduzida de água. [19]

1.2. Nanoesferas

As nanoesferas variam entre um diâmetro de 1 e 999 nm. Estas tratam-se de sistemas tipo matriz enquanto que as nanocápsulas, abordadas mais à frente, se tratam de um sistema tipo reservatório.

Este tipo de sistema nanoparticulado pode ter diferentes origens e assim apresentar uma grande variedade de materiais na sua constituição. Em seguida são descritos alguns exemplos de materiais que podem constituir as nanoesferas. [3]

1.2.1. Nanopartículas de substâncias ativas metálicas e não metálicas

Metais como ouro, platina e prata, bem como, óxidos de titânio, zinco ou ferro são amplamente utilizados no âmbito da formulação de nanocosméticos. [8]

No que respeita a outras substâncias ativas não metálicas, caso essas apresentem maior biodisponibilidade e/ou comprovada eficácia sob a forma de nanopartículas, quando comparada com o mesmo material sob a forma molecular, faz sentido esta formulação. A arbutina, extrato de uva-ursina, constitui um exemplo de substância ativa não metálica que oferece comprovada eficácia aquando da sua formulação sob a forma de nanopartículas para a aplicação tópica. [8]

1.2.2. Nanopartículas derivadas do carbono

Nanomateriais derivados de átomos de carbono tais como grafeno e fulerenos são exemplos de alguns dos nanomateriais mais estudados.

Os fulerenos caracterizam-se por captar eficazmente radicais livres, conferindo deste modo um efeito protetor à pele. [3,8]

1.2.3. Nanoargilas e Nanomateriais porosos de sílica sintética

Materiais de sílica naturais (nanoargilas) e as suas variantes existem na forma cristalina e na forma amorfa, e são amplamente utilizados pela indústria da cosmética.

As variantes sintéticas de sílica apresentam estruturas altamente organizadas com tamanhos de poro uniformemente distribuídos, que têm sido extensivamente investigadas como nanotransportadoras de várias substâncias ativas. De salientar que

devido às suas características estruturais, as nanopartículas de sílica proporcionam uma entrega controlada de ativo. [8]

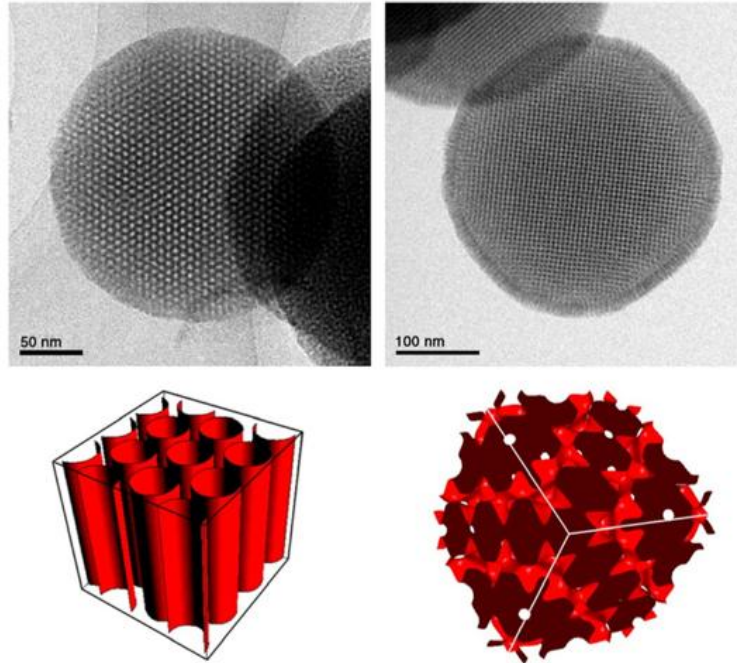


Fig. 2.5. Imagens MET típicas de nanoargilas porosas com uma estrutura hexagonal 2D (esquerda) e com uma estrutura cúbica 3D (direita) [8]

1.2.4. Nanopartículas poliméricas

Como exemplos de nanomateriais poliméricos naturais utilizados na formulação de cosméticos temos a celulose e o quitosano. A vantagem decorrente da utilização destes materiais prende-se com a sua baixa toxicidade.

A celulose é um dos mais comuns materiais utilizados na indústria farmacêutica e cosmética. Os poros que constituem a celulose funcionam como veículos para efetuar a entrega de ativos. Nanocristais de celulose estabilizados com carboximetilcelulose possuem uma elevada capacidade de estabilização e de conferir viscosidade ao sistema. Devido à celulose não ser solúvel em água, o perfil de viscosidade é tipicamente menos suscetível a variações de temperatura, pH ou força iónica, comparativamente aos hidrocolóides solúveis em água utilizados como agentes espessantes. Os avanços na ciência da nanocelulose têm sido exponenciais nos últimos anos.

O quitosano trata-se de outro dos polímeros mais comuns utilizados sob a forma de nanopartículas em cosméticos. Aspectos de segurança do quitosano foram revistos e quando usado em formulações não parenterais, o quitosano não é tóxico. Este potencia a passagem através da pele através do aumento do conteúdo em água do estrato córneo, e altera a fluidez das membranas celulares através da despolarização das membranas carregadas negativamente, o que se traduz na diminuição do potencial de membrana. O quitosano apresenta atividade hemostática local, tendo a capacidade de ativar macrófagos e estimular as citocinas, fato que despertou interesse na aplicação deste material na cicatrização de feridas. Os produtos hidrolíticos do quitosano, tais como a *N*-acetil-glucosamina, um importante constituinte dos tecidos dérmicos, constituem uma outra importante razão para aplicações no âmbito da reparação tecidual. Nanopartículas de quitosano têm mostrado ainda possuir propriedades de proteção contra os raios UV e propriedades de transporte de compostos ativos cosméticos. [8]

Os polímeros sintéticos biodegradáveis tipicamente incluídos em formulações tópicas são alfa-poli-ésteres tais como ácido poliglicólico (PGA), ácido poli-L-lático (PLA), ácido polilático-co-glicólico (PLGA) e policaprolactona (PCL), todos eles possuindo ligações éster hidrolisáveis.

Nanopartículas de polímeros sintéticos são transportadores adequados para vitaminas e antioxidantes, podendo oferecer inúmeros benefícios. Utilizando nanopartículas poliméricas (30-150 nm) contendo agentes ativos, estas penetram através do estrato córneo até à camada externa da camada mais exterior da derme e de seguida derramam o agente ativo na pele, enquanto permanecem na camada mais exterior da derme. O material proporciona elevada estabilidade ao agente ativo na formulação, adquire uma elevada taxa de absorção o que se traduz numa redução da irritação da pele, o que é aplicável a uma variedade de agentes ativos. [8]

1.3. Nanocristais

Nanocristais são agregados que compreendem várias centenas a milhões de átomos que combinados, são usados para a entrega de ativos pouco solúveis. O tamanho típico destes agregados é entre 10-400 nm e eles exibem propriedades físicas e químicas algures entre as dos sólidos e moléculas. [3]

1.4. Cristais líquidos

Os cristais líquidos tratam-se de um estado da matéria no intermédio da fase cristalina e líquida, que se forma pela perda parcial ou completa da ordenação posicional em sólidos cristalinos, conservando a ordem da orientação das moléculas constituintes. Assim, os cristais líquidos apresentam assim estabilidade mecânica semelhante à dos sólidos, mas são capazes de fluir como líquidos. [20,21]

Os cristais líquidos formam uma multicamada em redor das partículas da formulação fazendo decrescer a energia de Van der Waals e aumentando a viscosidade que por sua vez aumenta a estabilidade da formulação. Estes podem mudar significativamente a velocidade de liberação dos fármacos, aumentando solubilidade, absorção e controle da biodisponibilidade. Podem também alterar a farmacocinética, diminuindo a toxicidade e aumentando a eficácia clínica. [3,20]

Materiais lipofílicos como vitaminas, incorporados na matriz líquida cristalina, são protegidos da termo e foto-degradação. Emulsões contendo cristais líquidos têm demonstrado apresentar uma taxa de libertação muito mais lenta do que aqueles sem esta componente de estabilização, devida à estrutura multicamada do material líquido cristalino em redor das partículas. [3]

1.5. Aquassomas

Os aquassomas são sistemas transportadores nanoparticulares, mas em vez de constituírem simples nanopartículas, são estruturas compostas por três camadas que compreendem um núcleo nanocristalino sólido coberto por um filme oligomérico no qual as moléculas de composto ativo são adsorvidas com ou sem modificação. [3]

Estas estruturas apresentam-se ligadas por ligações não covalentes e iónicas. O núcleo sólido proporciona estabilidade estrutural, enquanto a cobertura composta por carboidratos confere proteção contra a perda de água e estabiliza as moléculas de composto ativo. Alternativamente os aquassomas são também denominados “corpos de água”, e a sua riqueza em água bem como propriedades como a proteção e preservação da estabilidade estrutural de moléculas biológicas frágeis, integridade conformacional,

bem como a elevada superfície de exposição tornam este sistema transportador um transportador de sucesso para moléculas bioativas tais como péptidos, proteínas, hormonas, antigénios e genes para locais específicos. [22]

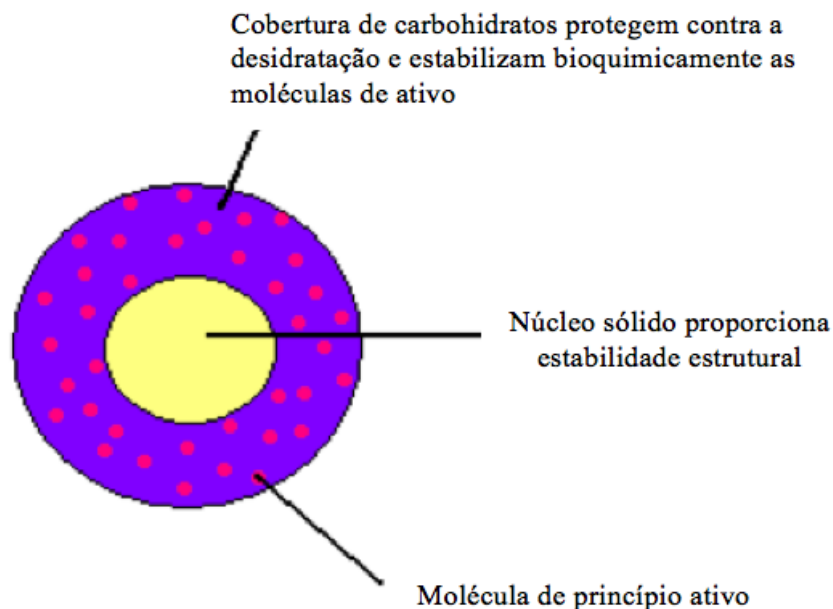


Fig. 2.6. Imagem representativa da estrutura trilamelar do aquassoma [22]

De um modo geral estes complexos sistemas de entrega particulados são combinações de polímeros simples, complexas misturas lipídicas ou materiais de cerâmica com um diâmetro na escala dos 30 – 500 nm. Uma vez que as partículas de princípio ativo se encontram dispersas em meio aquoso, estas exibem propriedades físicas de colóides. Assim, os aquassomas realizam a entrega do seu conteúdo através de um processo de libertação controlado e lento. [22]

Os três tipos de materiais utilizados na produção do núcleo dos aquassomas são óxido de estanho, nanocristais de carbono (diamantes) e fosfato de cálcio dihidratado. O núcleo cristalino de nanocerâmica é coberto por uma camada oligomérica ou de piridoxal-5-fosfato. Oligómeros/ carboidratos são a substância de escolha uma vez que preenchem o objetivo dos aquassomas. Os grupos hidroxilo dos oligómeros interagem com os grupos polares das proteínas, libertando-se moléculas de água através do

fenômeno de desidratação das proteínas. Sintetizando, estes dissacarídeos são ricos em grupos hidroxilo e ajudam na substituição da água ao redor dos resíduos polares das proteínas, mantendo a integridade das mesmas após a perda das moléculas de água. [22]

2. Nanotransportadores Tipo Reservatório

Os nanotransportadores do tipo reservatório caracterizam-se por ser compostos por um núcleo, no qual as moléculas de ativo se encontram suspensas, núcleo esse encerrado por uma cobertura. [8]

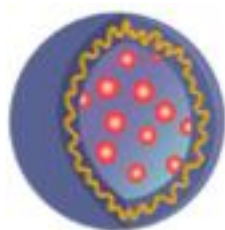


Fig. 2.7. Imagem representativa da morfologia dos nanotransportadores tipo reservatório [8]

2.1. Sistemas transportadores nanométricos vesiculares lipídicos

2.1.1. Lipossomas

Os lipossomas são o mais conhecido dos sistemas transportadores utilizados em cosmética, constituindo-se por vesículas esféricas cujo diâmetro varia entre 25 e 5000 nm.

Estes sistemas transportadores são compostos por uma bicamada fosfolipídica concêntrica em redor de um núcleo aquoso. A dupla camada que constitui os lipossomas apresenta a capacidade de fusão com outras bicamadas tais como a membrana celular, o que promove a libertação do conteúdo presente no núcleo aquoso destes sistemas transportadores, tornando-os desta forma úteis para aplicações em diversos âmbitos, mas entre elas, aplicações na entrega de ativos cosméticos a nível tópico. [3,8,10]

Os lipossomas podem ser unilamelares ou multilamelares dependendo do método de preparação utilizado. Estes são feitos de uma bicamada fosfolipídica com as suas cabeças hidrofílicas expostas para o interior e exterior da vesícula, enquanto as cadeias hidrofóbicas se encontram dentro da bicamada formada. Assim, os lipossomas transportam agentes ativos hidrofílicos no núcleo da vesícula enquanto os agentes ativos hidrofóbicos são incorporados dentro da própria bicamada. [23]

Outras vesículas que não os lipossomas, mas cuja estrutura é semelhante, estão atualmente a ser utilizadas com o objetivo de aumentar a penetração de substâncias através da pele, tais como niossomas, ultrassomas, fotossomas, transferossomas, etossomas e aquassomas. [10]

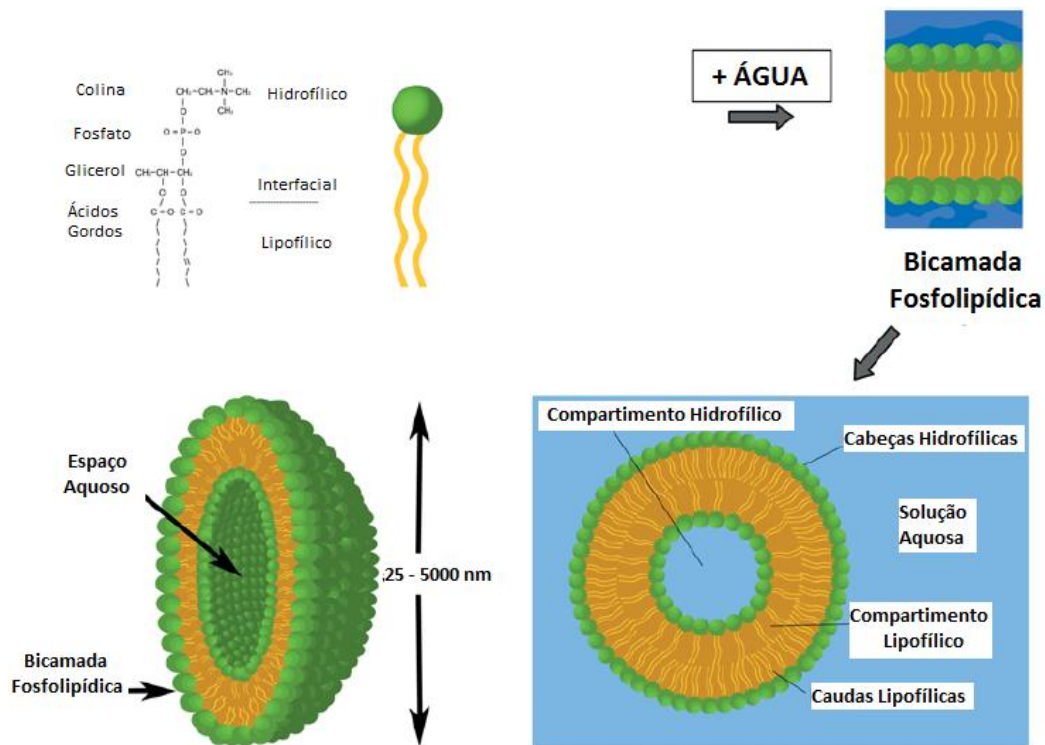


Fig. 2.8. No canto superior esquerdo apresenta-se a estrutura da molécula de fosfatidilcolina. Na presença de água as bicamadas fosfolipídicas formam-se, o que cria vesículas contendo um núcleo aquoso. Substâncias lipossolúveis podem ser armazenadas na camada exterior lipídica (anel amarelo), enquanto as substâncias solúveis em água são armazenadas na fase aquosa interior (compartimento azul central). [24]

2.1.2. Transferossomas

Assumidas como um tipo especial de lipossomas, os transferossomas são partículas vesiculares especialmente desenhadas, compostas por fosfolípidos, com 10-25% de surfatante e 3-10% de etanol. Estes aumentam significativamente a fotoestabilidade e a deposição na pele de α -tocoferol. [3]

São sistemas transportadores ultra-deformáveis (10^5 vezes mais deformáveis do que os lipossomas não modificados). Atuam através da passagem pelos poros no estrato córneo da pele e não por difusão passiva das substâncias ativas. Estes sistemas exigem um gradiente de hidratação para estimular a penetração na pele e funcionam melhor sob condições in vivo. [8] É uma vesícula artificial desenhada para funcionar como uma vesícula celular ou uma célula envolvida na exocitose e ainda adequada para uma entrega controlada de ativos ao alvo terapêutico. Os transferossomas são altamente adaptáveis e capazes de responder ao stress oxidativo da pele.

A sua estrutura altamente deformável possuindo uma bicamada lipídica rodeando um núcleo aquoso permite a estas estruturas atravessar as várias barreiras eficientemente e atuar como transportador de princípios ativos. [25]

2.1.3. Etossomas

Etossomas são, por outro lado, sistemas transportadores nanométricos modificados compostos maioritariamente por fosfolípidos, apresentando concentrações relativamente elevadas de etanol. A sua composição é entre 20-50% de etanol e água, facto que permite aos agentes ativos transportados alcançar as mais profundas camadas da pele. [3,8]

Os etossomas parecem apresentar uma eficácia aumentada atribuída à ação do etanol na bicamada de fosfolípidos do veículo, o que o torna altamente deformável, e é devido à disrupção dos lípidos do estrato córneo que é permitida a passagem dos etossomas para camadas da pele mais profundas. O etanol é conhecido como sendo um eficiente potenciador da permeação e é frequentemente adicionado aos sistemas vesiculares de forma a obterem-se nanovesículas elásticas. Este pode interagir com a região polar das

moléculas lipídicas, o que resulta na redução do ponto de fusão dos lípidos da camada do estrato córneo, aumentando assim a fluibilidade dos lípidos e a permeabilidade das membranas. A elevada flexibilidade das membranas vesiculares com a adição de etanol permite às vesículas elásticas atravessar os poros, que são bastante mais pequenos do que os seus diâmetros. [26]

Tratam-se portanto de suaves e maleáveis vesículas nanotransportadoras concebidas para potenciar a entrega de ativos. A taxa de libertação *in vitro* do ácido azelaico foi mais rápida com sistemas etossomais do que com sistemas lipossomais não modificados. Os sistemas etossomais são bastante mais eficientes na entrega de substâncias na pele tanto em termos de quantidade como em termos de profundidade, do que os lipossomas convencionais. [26]

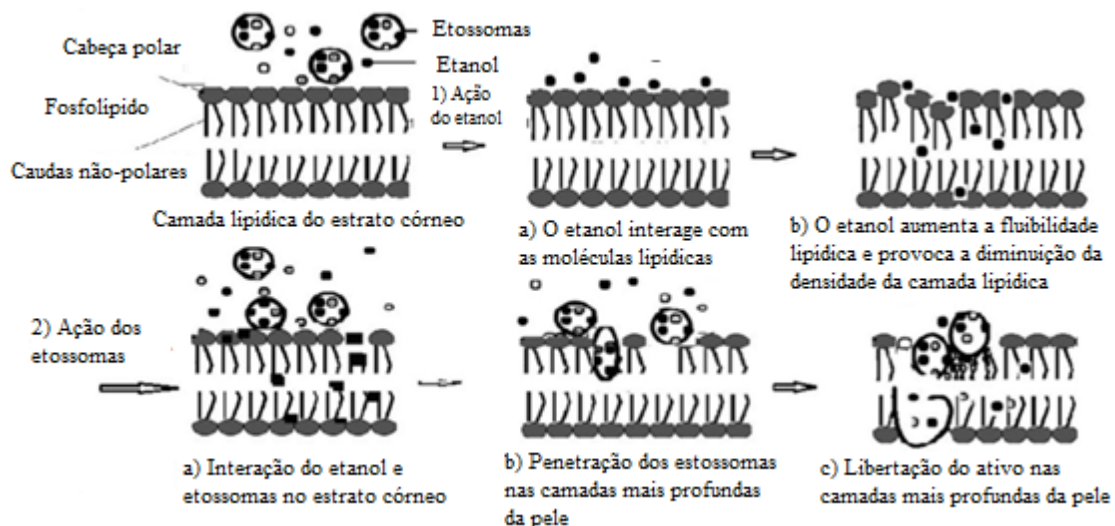


Fig. 2.9. Mecanismo de penetração no transporte e entrega de ativos mediada por etossomas [Adaptado de 26]

2.1.4. Niossomas

Os niossomas são estruturas lamelares resultantes da mistura dos surfatantes não iónicos da classe do éter poliglicerol alquílico ou dialquílico e colesterol, com subsequente hidratação em meio aquoso.

Estruturalmente, os niossomas são similares aos lipossomas, no sentido em que são também constituídos por uma bicamada. No entanto, no caso dos niossomas esta é constituída por agentes surfatantes não-iónicos em vez de fosfolípidos. [23]

2.1.5. Ultrassomas

Ultrassomas consistem em lipossomas especializados que encapsulam uma enzima endonuclease extraída de *Micrococcus luteus*. Esta enzima reconhece o dano causado pela exposição solar na pele e inicia a remoção do ADN danificado. Os ultrassomas protegem também o sistema imunitário através da reparação dos danos UV no ADN e reduzindo a expressão de TNF, IL-1, IL-2 e IL-8.

Estudos recentes demonstraram que os ultrassomas estimulam também a produção de melanina pelos melanócitos no bronzado após exposição a raios UV. *In vitro* foi observada uma resposta dependente da dose. [3]

2.1.6. Fotossomas

Os fotossomas são sistemas transportadores que contêm a enzima fotoliase encapsulada numa estrutura de lipossoma. Os fotossomas são incorporados em produtos cosméticos de cuidado solar de modo a conferir proteção à pele exposta à radiação UV, através da enzima fotoreativante que é extraída de uma planta marinha, *Anacystis nidulans*. Esta enzima pode ser ativada pela luz e trabalhar durante o dia de modo a suportar o processo de reparação de ADN na pele. Quando combinado com os ultrassomas, os fotossomas constituem o sistema de reparação de ADN 'inteligente'. [3]

2.1.7. Nanótopos

São sistemas de entrega que resultam de recentes avanços em lipossomas. Enquanto os lipossomas são vesículas compostas por uma bicamada de fosfolípidos e núcleo aquoso,

os nanótopos são compostos por uma monocamada de fosfolípidos estabilizada por um surfatante e possuem um núcleo hidrofóbico. Estes nanótopos são então sistemas ultra pequenos com uma membrana unilamelar cujo diâmetro ronda os 20-40 nm. [3,8]

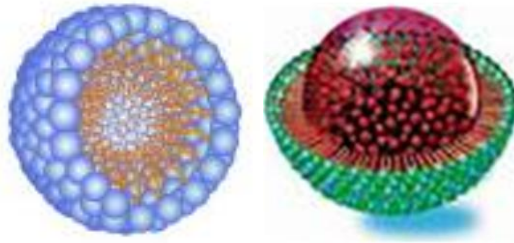


Fig. 2.9. Imagem representativa da estrutura de um nanótopo [8]

2.2. Nanocápsulas

As nanocápsulas tratam-se de sistemas nanoparticulados que, tal como as nanoesferas, apresentam um tamanho entre 1 e 999 nm. Formam um nanotransportador tipo reservatório, distintamente do sistema tipo matriz apresentado pelas nanoesferas, no entanto a composição de ambos os sistemas é idêntica. Esta composição pode incluir os mesmos polímeros naturais ou sintéticos, sendo a única diferença frente às nanoesferas, o facto de apresentarem um núcleo no qual os compostos ativos são suspensos, ficando estes encapsulados pela camada de polímero que rodeia o núcleo. [3,8]

3. Nanoemulsões

As nanoemulsões consistem em dispersões O/A muito finas, tendo as partículas um diâmetro menor do que 999 nm. As nanoemulsões encontram-se num estado metastável e são sistemas muito frágeis por natureza. O termo emulsão significa apenas mistura de dois líquidos imiscíveis, onde um dos líquidos se encontra suspenso no outro. Assim, estas emulsões são facilmente produzidas através da mistura de uma fase oleosa imiscível em água com uma fase aquosa. Na nanoemulsão, um líquido dispersa nanopartículas. Nanoemulsões, ao contrário de emulsões normais são tão finas que podem ser pulverizadas. Companhias que as comercializam afirmam que as nanoemulsões podem transportar compostos benéficos profundamente na pele e em elevadas concentrações. [3,27]

III. CARATERIZAÇÃO DO ENVELHECIMENTO DA PELE

O envelhecimento é ‘uma realidade biológica, que apresenta a sua dinâmica própria, e está além do controlo humano’. [28] O envelhecimento da pele é definido como a deterioração progressiva das funções fisiológicas deste órgão, eventualmente conduzindo à senescência e morte celular. É um fenómeno contínuo, complexo, dependente do tempo e multifatorial que se traduz na redução do tamanho e número de células, bem como na redução da taxa de ocorrência de muitas das funções orgânicas, tanto a nível celular como a nível molecular. [9,28]

Os sinais de envelhecimento cutâneo incluem finas linhas de expressão, rugas, alterações de pigmentação da pele, assim como uma debilidade visível da mesma através do aspeto mais fino apresentado, que ocorre em consequência da atrofia epidérmica e dérmica. [9]

A aplicação regular de formulações contendo ativos antienvhecimento tem demonstrado benefícios na prevenção e correção dos sinais de envelhecimento cutâneo. [9]

1. Tipos de envelhecimento da pele

À medida que a pessoa envelhece, a pele atravessa processos de mudança progressivos e distintos. Alguns deles são intrínsecos ou cronológicos, e portanto influenciados pela genética de cada indivíduo, enquanto outros são extrínsecos ou prematuros, e são influenciados pelo ambiente e estilo de vida. [6]

1.1. Envelhecimento intrínseco

Também referido como envelhecimento cronológico, o processo de envelhecimento intrínseco da pele inicia-se no nascimento, é geneticamente determinado e é evidente especialmente em áreas do corpo que estão normalmente mais protegidas da exposição

solar. Uma vez que o quadro genético de cada indivíduo é diferente, as mudanças intrínsecas ocorrem a diferentes velocidades e aparecem em momentos distintos da vida. [6]

O envelhecimento das próprias células, o encurtamento dos telómeros, mutações no ADN mitocondrial, stress oxidativo, mutações genéticas, o decréscimo de várias hormonas e a perda de efetividade do sistema imunitário constituem os principais aspetos responsáveis pelo envelhecimento intrínseco. [29]

Os sinais deste tipo de envelhecimento traduzem-se no aparecimentos de ténues rugas, redução da espessura e aumento da transparência da pele, perda de tecido adiposo subjacente conduzindo a bochechas com a forma cavada, afastamento dos ossos e da pele devido à perda de massa óssea o que resulta na flacidez da mesma, e incapacidade de transpiração adequada e suficiente para refrescar a pele. [9]

1.2. Envelhecimento Extrínseco

O envelhecimento extrínseco trata-se do envelhecimento com origem exógena, como por exemplo, através de agressões climáticas, stress, maus hábitos de vida, consumo de tabaco e álcool, fadiga, exposição à poluição, consumo de medicamentos e nutrição deficiente. Estes fatores são responsáveis pelo envelhecimento prematuro da pele. [9]

O factor exógeno mais relevante no envelhecimento da pele é a exposição à radiação solar UV, sendo o responsável por 80% do envelhecimento da mesma. [6,29]

As mudanças na pele relacionadas maioritariamente com o dano produzido pela exposição solar são a secura, rugosidade, pigmentação irregular aumentada de coloração amarelada ou castanha, rugas mais pronunciadas, assim como outras modificações patológicas tais como telectangiases (pequenos vasos sanguíneos visíveis à superfície da pele) e queratoses (crescimentos celulares anormais). (fig. 3.1) [29]



Fig. 3.1. Modificações patológicas decorrentes do envelhecimento extrínseco. (a) telectangiase (b) queratose actínica. [29]

2. Alterações estruturais resultantes do envelhecimento da pele

2.1. Mudanças na Epiderme

Ao nível da epiderme verifica-se uma diminuição da sua espessura, um aumento da camada córnea, uma diminuição da coesão celular, diminuição da reserva de água, achatamento da membrana dermo-epidérmica, a diminuição do número de melanócitos bem como a diminuição do número de células de Langerhans.

Assim, ao nível da aparência da pele torna-se evidente o aparecimento de rugas, constata-se a presença de uma textura irregular, a diminuição da reserva da água culmina em secura da pele e a diminuição do número de melanócitos traduz-se no aparecimento de manchas pigmentares. [9]

2.2. Mudanças na Derme

Enquanto a maioria das alterações morfológicas ocorrem ao nível da epiderme, as alterações bioquímicas têm lugar na derme.

A atrofia da derme é manifestada através de mudanças no tecido conectivo dérmico. Com o avanço de idade, a derme perde espessura devido à redução da quantidade e organização desse tecido.

Verifica-se a atrofia da derme (diminuição da sua espessura), diminuição do número e atividade dos fibroblastos, ocorrem alterações do colagénio, das fibras de elastina, bem

como da microcirculação. Estas alterações traduzem-se em flacidez, perda de elasticidade e aparência de pele baça/pálida. [6,9]

2.2.1. Colagénio

A degradação do colagénio é considerado um dos maiores contributos no envelhecimento da derme, conduzindo a algumas das maiores mudanças que causam a aparência de pele envelhecida. Em contraste com a densa e compacta rede de feixes de colagénio na pele jovem, na pele envelhecida estes feixes tornam-se granulados dispersos em feixes e fibras separados. [6,9]

2.2.2. Elastina

O fenómeno de elastose, constituído pela acumulação de elastina amorfa, verifica-se em larga escala na pele fotoenvelhecida. Com a idade, a redução da produção de colagénio e elastina em conjunto com a degradação da restante estrutura dérmica conduzem a uma perda de coesão que se traduz pela perda de firmeza e elasticidade da pele. [9]

2.2.3. Glicosaminoglicanos

Os glicosaminoglicanos na pele são constituídos essencialmente por ácido hialurónico e sulfato de condroitina e são responsáveis por conferir a aparência exterior da pele. Uma pele fotoenvelhecida é caracterizada por reduzidos níveis de ácido hialurónico e elevados níveis de proteoglicanos de sulfato de condroitina. [9]

2.2.4. Melanócitos

Com a idade ocorre uma redução na formação de melanócitos bem como na presença de melanócitos enzimaticamente ativos. A pele de pessoas mais velhas apresenta-se mais

suscetível ao desenvolvimento de cancros induzidos pela radiação UV, uma vez que a quantidade de melanina é reduzida e é esta a responsável pela absorção das radiações UV carcinogénicas. [6,9]

2.2.5. Vasculatura

A pele envelhecida apresenta um fluxo sanguíneo reduzido devido ao decréscimo do número de vasos sanguíneos. Essa redução do fluxo sanguíneo está diretamente relacionada com um aporte em nutrientes deficiente e termorregulação inibida [6,9]

2.2.6. Tecido Subcutâneo

Tecido adiposo subcutâneo diminui consideravelmente, especialmente na face, região dorsal das mãos e canelas. Essa mudança na distribuição do tecido adiposo influencia também a capacidade de termorregulação, bem como promove um amortecimento reduzido. [6,9]

Tabela 3.1. Resumo das alterações significativas decorrentes do envelhecimento da pele [Adaptado de 6]

Estrutura da pele	Mudança decorrente da idade	Consequência clínica
Epiderme	Redução do conteúdo lipídico e fatores de hidratação natural presentes no estrato córneo	Função barreira reduzida
	Decréscimo de melanócitos enzimaticamente ativos (8-20% por década)	Suscetibilidade à radiação solar aumentada
	Decréscimo do número de células de Langerhans	Resposta imunitária reduzida
	Decréscimo da capacidade para epitelização	Cicatrização de lesões deficiente
	Flacidez das junções derme-epiderme	Movimentação aumentada das camadas da pele conduzindo à formação de rugas
Derme	Redução da espessura apresentada	Proteção reduzida
	Decréscimo na síntese de colagénio Elasticidade reduzida Decréscimo do número de vasos sanguíneos	Formação de rugas Dificuldade de cicatrização
	Mudança estrutural das glândulas sudoríparas e redução do número de glândulas sudoríparas funcionais	Termorregulação debilitada
Hipoderme	Mudança na distribuição do tecido adiposo subcutâneo	Amortecimento reduzido, termorregulação debilitada e risco aumentado de hipotermia
Apêndices	Perda dos pigmentos normais do cabelo Perda de espessura do cabelo Unhas irregulares	Sinais exteriores de envelhecimento

3. Principais fatores causadores de envelhecimento da pele

3.1. Danos causados pela exposição solar

O envelhecimento da pele causado pela exposição solar pode ocorrer antes do envelhecimento intrínseco. A exposição solar desencadeia formação de rugas, aparecimento de lesões tais como queratoses actínicas e seborreicas, cancro de pele e alterações de pigmentação. [9]

3.2. Radicais Livres e Oxidação

O dano celular causado pelos radicais livres parece constituir o maior contributo para o envelhecimento da pele. [9,29]

O oxigénio é um átomo altamente reativo, capaz de se tornar em potenciais moléculas causadoras de danos celulares, os chamados 'radicais livres'. Estes tratam-se de moléculas carregadas eletricamente que capturam eletrões de outras substâncias com o objetivo de se neutralizarem a eles próprios. [9]

O stress oxidativo é causado pela incapacidade de contrabalançar a produção de radicais livres com a atividade de sistemas biológicos que prontamente neutralizam os intermediários reativos ou facilmente reparem os danos decorrentes. [9]

Sendo o órgão com maior grau de exposição a fontes externas de oxidação, a pele tem uma complexa rede de antioxidantes endógenos e assimilados para lhe conferirem proteção. No entanto, esses mecanismos nem sempre são suficientes para prevenir ou reparar o dano provocado por espécies reativas de oxigénio (ERO). Estas são moléculas pequenas, altamente reativas, naturalmente geradas em pequenas quantidades durante reações metabólicas do organismo, e capazes de reagir com complexos celulares como proteínas e ADN. Exemplos de comuns ERO são o anião superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxilo ($\bullet OH$), oxigénio singlete (1O_2) e ácido nítrico ($\bullet NO$). As ERO atacam a estrutura das membranas celulares, criando pigmentos como as lipofuscinas, que perturbam a síntese de ADN e ARN, inibem a síntese proteica e destroem enzimas celulares. [9]

As ERO provêm primariamente do metabolismo celular, no entanto constituem também um fator importante do fotoenvelhecimento. [29]

Estas ERO induzem a transcrição do fator c-jun via MAPK (família de proteínas cinases ativadoras de mitogénese), que por sua vez induz a transcrição do fator AP-1, levando à expressão das metaloproteínases (MMPs) da matriz (MMP1, MMP3, MMP9) e inibe a síntese de colagénio. (Fig. 3.2) [29,30] As MMPs são um grupo de enzimas que apresentam funções fulcrais nos processos de remodelação e reparação da pele após

agressão, apresentando a possibilidade de degradar vários componentes da matriz extracelular, principalmente colagénio, elastina, fibronectina e proteoglicanos. [6]

Numa situação de normal funcionamento deste processo, apenas em situações de lesões da pele são geradas maiores concentrações de MMPs, no entanto, com a idade e a atuação das ERO sobre estas vias começam a ser produzidos constantemente maiores concentrações destas enzimas, gerando uma atrofia generalizada da pele. [30]

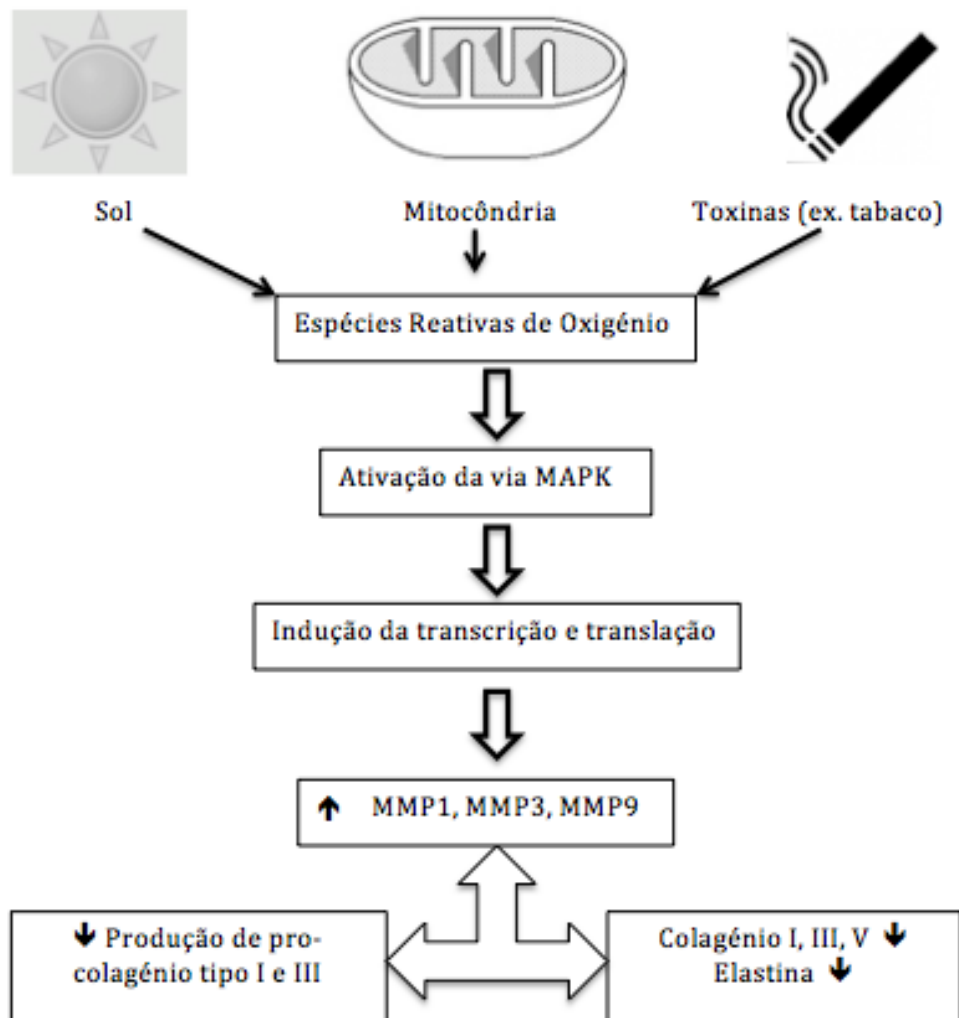


Fig. 3.2. Papel das MMPs no envelhecimento cutâneo. Radiação UV, atividade mitocondrial e efeitos tóxicos podem originar a produção de ERO, que por sua vez induzem a produção de MMPs. [Adaptado de 30]

3.3. Hábitos Tabágicos

Fumadores crónicos apresentam tons de pele pálidos entre o amarelado e o cinzento. O fumo do tabaco caracteriza-se por promover a libertação de compostos oxidantes, compostos esses que ao serem libertados reduzem a produção de novas fibras de colagénio e elastina, e influenciam o fluxo sanguíneo, fazendo com que a epiderme não consiga rececionar adequadamente a quantidade de nutrientes necessários para permanecer saudável. [9]

3.4. Hormonas

O envelhecimento intrínseco da pele é altamente influenciado por mudanças hormonais. [29]

A produção de hormonas sexuais nas gónadas, pituitária e glândulas adrenais apresentam um grande decréscimo logo na casa dos vinte anos. A produção de estrogénio e progesterona decai na altura correspondente à menopausa. O défice de estrogénios e androgénios são diretamente responsáveis por secura, atrofia da epiderme, diminuição da formação de colagénio e perda de elasticidade da pele. [29]

As mudanças mais dramáticas nas mulheres ocorrem nos anos que rondam a menopausa, quando a queda de produção de estrogénios se verifica causando uma perda considerável de colagénio. [9]

3.5. Sistema imunitário

Sinais de envelhecimento da pele surgem também em consequência do decréscimo da capacidade de resposta imunitária que se verifica. Ocorre uma redução do número de células apresentadoras de antigénio, tais como as células de Langerhans. [6]

Este fato contribui para a possibilidade de aparecimento de neoplasmas benignos e malignos, embora os malignos estejam mais associados com a exposição solar. [6]

3.6. Estilo de Vida

O estilo de vida de uma pessoa pode também contribuir para o envelhecimento da pele. Fatores tais como a falta de sono, consumo de álcool, stress, tipo de exercício físico praticado, tipo de regime alimentar e padrão de consumo de água podem conduzir à apresentação de maiores ou menores sinais de envelhecimento da pele. [9]

IV. PRINCIPAIS ATIVOS UTILIZADOS EM FORMULAÇÕES NANOCOSMÉTICAS ANTIENVELHECIMENTO

As formulações nanocosméticas antienvhecimento são essencialmente bases cosmecêuticas de hidratação da pele, com o objetivo de fazer o consumidor parecer mais novo através da redução visível de rugas, linhas de expressão, manchas, mudanças de pigmentação, descolorações e outras condições relacionadas com o ambiente, especialmente o sol. Como tal, nestas formulações são incluídos maioritariamente princípios ativos pertencentes às categorias descritas de seguida. [3]

1. Antioxidantes

Antioxidantes são substâncias que conferem proteção às membranas celulares através da proteção contra a geração de stress oxidativo nos tecidos, sendo que se caracterizam pela capacidade de neutralizar moléculas de oxigénio tóxicas e radicais livres. [9]

Essas espécies reativas de oxigénio (ERO) estão continuamente a ser produzidas durante o metabolismo celular, bem como outros radicais livres. Para combater os seus efeitos nefastos a pele encontra-se equipada com sistemas antioxidantes com a função de manter o equilíbrio entre a quantidade de pró-oxidantes e antioxidantes. [31]

Os antioxidantes combatem ativamente os ataques de radicais livres que condicionam a elasticidade da pele e são encontrados naturalmente no organismo humano ou nas plantas, podendo ser ingeridos ou aplicados a nível tópico. [9]

Combinações de vários antioxidantes podem apresentar efeitos sinérgicos, conduzindo a formulações com uma eficácia comprovada muito mais elevada. Cada antioxidante detém propriedades específicas e distintas dos outros antioxidantes. [9,32]

1.1.1. Retinoides

Os retinoides tópicos incluem o retinol, derivados deste e retinaldeído.

A vitamina A trata-se de um antioxidante natural existente na pele. Esta e os seus derivados, além de atuarem como antioxidantes, ativam genes e proteínas específicas. A atividade biológica da vitamina A é conferida pela forma do ácido trans-retinóico ou tretinoína, que ajuda na proliferação de células a nível epidermal, queratinização e peeling. Modifica também a síntese de queratina, a proliferação de fibroblastos e o metabolismo do colesterol.

Os ésteres da vitamina A apresentam também propriedades protetoras contra os efeitos da radiação UV. A vitamina A aumenta o fluxo sanguíneo, estimula a pele e protege das radiações UV, promovendo assim a elasticidade cutânea. [4,9,31]

1.1.2. Vitamina E

A vitamina E (tocoferol) trata-se de um antioxidante lipossolúvel que se encontra na pele bem como em vários alimentos tais como vegetais, sementes e carne. A sua natureza lipofílica torna-o um ativo atrativo para aplicação e absorção ao nível da pele. Participa nos processos de reparação celular, proteção contra bactérias e apresenta também propriedades hidratantes por promover a formação de uma barreira protetora que impede a evaporação de água das camadas da pele, impedido assim a sua desidratação. Os grupos hidroxilo apresentados por esta molécula são os responsáveis pela sua atividade antioxidante. [9]

A aplicação de vitamina E topicamente antes da exposição a radiação UV mostrou a redução de eritema, edema e imunossupressão recorrente da luz solar e formação de aductos no ADN. [31]

1.1.3. Vitamina C

A vitamina C (ácido ascórbico) é altamente eficaz ao nível da captura de radicais livres, que ocorre em ambas as suas formas. A forma de ácido L-ascórbico é altamente solúvel em água, manifestando uma elevada atividade, enquanto a forma de palmitato L-ascórbico é lipossolúvel e apresenta essencialmente uma elevada estabilidade.

A vitamina C promove a elasticidade da pele através da interferência no âmbito da produção de colagénio, dado que o ascorbato é requerido durante o processo de formação do mesmo. Por um lado estimula a produção de colagénio enquanto que exerce uma atividade inibidora sob a enzima colagenase. A adição de vitamina C a formulações com atividade protetora contra raios UVA e UVB mostrou eficácia aumentada em relação à formulação apenas com os ativos protetores solares. A sua adição a formulações pós-solares demonstrou também efeitos vantajosos, na medida em que se verificou que a vitamina C capturou espécies reativas de oxigénio com sucesso. [9,33,34,35,36]

1.1.4. Coenzima Q10

A coenzima Q10 ou ubiquinona é um composto lipossolúvel encontrado em todas as células humanas como componente da cadeia respiratória, como também no peixe, marisco, espinafres e nozes. Mais de 95% da energia do organismo é originada pela coenzima Q10. Trata-se de um potente antioxidante, ao mesmo tempo que apresenta propriedades hidratantes. Estudos *in vitro* demonstraram que a coenzima Q10 diminui os níveis de expressão da enzima colagenase. [9,33,37]

1.1.5. Ácido α -lipóico

Trata-se do antioxidante mais potente no mercado. É um cofator essencial nos multicomplexos enzimáticos mitocondriais relacionados com a produção de energia. É altamente instável ao contato com a luz ou com o calor, o que torna imprescindível a sua formulação de forma a ser-lhe conferida a maior estabilidade possível. Com o avanço da idade, os níveis de glutathione, a enzima que compensa o stress oxidativo

gerado, vão diminuindo, tornando a pessoa mais suscetível aos efeitos nefastos dos radicais livres bem como de outras toxinas ambientais, pelo que o ácido lipóico se caracteriza pela capacidade de restabelecer os níveis de glutathione para perto dos níveis normais. [9,38]

1.1.6. Licopeno

O licopeno trata-se de um carotenoide antioxidante, com elevada atividade supressora de radicais livres. Estimula também a produção de colagénio. Os seus efeitos preventivos contra o aparecimento de tumores foto-induzidos foram comprovados em modelos animais [9,33,39]

1.1.7. Resveratrol

O antioxidante resveratrol trata-se de um composto polifenólico que pode ser encontrado nas uvas, nozes, frutos e vinho tinto, entre outros. Estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que, quando aplicado topicamente, o resveratrol confere proteção contra os danos provocados pelas radiações UVB, inibindo o stress oxidativo decorrente dessas mesmas radiações. [33]

1.1.8. Niacinamida

A niacinamida ou nicotinamida trata-se da amida biologicamente ativa da vitamina B₃. Além da sua atividade antioxidante exibe ainda propriedades anti-inflamatórias, despigmentantes e imunomoduladoras. [9,33]

A niacinamida apresenta estabilidade na presença de oxigénio, ácidos e temperaturas elevadas, sendo que apresenta a vantagem do seu custo de formulação ser bastante baixo. [31]

1.1.9. Silimarina

A silimarina é um flavolinhanho polifenólico derivado das sementes da planta *Silybum marianu*. O seu componente maioritário, a silibinina, é considerado um potente antioxidante. Possui atividade antioxidante, anti-inflamatória e imunomoduladora. Estudos *in vivo* demonstraram efeitos fotoprotetores decorrentes da aplicação de silibinina antes ou imediatamente após a exposição à radiação UV. [9,33,40]

1.1.10. Extrato de Coffea Arabica

O extrato de *C. Arábica* trata-se de um antioxidante extraído do fruto da planta do café da espécie *C. Arábica* e caracteriza-se por conter polifenóis e ser um antioxidante mais potente que o chá verde e vitaminas [9,33,4]

1.1.11. Extrato de semente de uva

O extrato da semente da uva extraído de *Vitis vinífera* é altamente rico em proantocianidinas, compostos esses que pertencem à família dos flavonoides, tornando este extrato um antioxidante mais potente do que as vitaminas C e E. [9,42]

1.1.12. Extrato de romã

O extrato de romã pode ser obtido a partir de várias partes do fruto *Punica granatum*, tal como a partir do sumo, semente ou casca, sendo os compostos fenólicos presentes os responsáveis pelo seu elevado poder antioxidante. A aplicação tópica do extrato de romã demonstrou *in vivo* apresentar a capacidade de restaurar as enzimas catalase, peroxidase e superóxido dismutase. (9,33, 41)

2. Hidroxiácidos (HAs)

Os hidroxiácidos são ácidos carboxílicos orgânicos classificados em alfa hidroxiácidos (AHAs) e beta hidroxiácidos (BHAs) de acordo com a sua estrutura molecular. São encontrados no mercado em formulações cosméticas e são comumente o segundo cosmeceútico mais disponível. [3,31]

Os AHAs são derivados de fontes naturais e são frequentemente referenciados como ácidos de fruta. Os diferentes AHAs incluem o ácido glicólico, ácido láctico, ácido cítrico, ácido málico e ácido tartárico. O ácido lactobiónico é um AHA que recentemente tem demonstrado as suas potencialidades perante os restantes. [31]

Os AHAs melhoram a textura da pele e têm mostrado reduzir os sinais do envelhecimento, uma vez que quando aplicados topicamente em baixas concentrações diminuem a coesão dos corneócitos, reduzindo a espessura do estrato córneo. O mecanismo de ação não é ainda completamente conhecido. Uma hipótese sugere que os AHAs reduzem a concentração do ião cálcio na epiderme. Esta redução dos níveis do ião cálcio leva à promoção do crescimento celular e à lenta diferenciação celular, dando assim origem a uma aparência mais jovem da pele. [3,43,44]

Verifica-se a diminuição e quebra das ligações entre os corneócitos e os queratinócitos. Assim, obtém-se um efeito 'peeling' obtendo-se a aparência de uma pele mais fina e suave, com aspeto mais jovem. Ocorre uma diminuição das rugas e manchas castanhas e assim, uma redução de danos causados pela exposição solar.

BHAs são compostos aromáticos. O ácido salicílico constitui o BHA de referência, que é usado em alguns cremes antienvhecimento e tratamentos acneicos. Outros BHA incluem o ácido 2-hidroxi-5-lipohidróxido benzoico e o ácido trópico. [3,319]

Estudos mostram que os AHAs aumentam a sensibilidade da pele à radiação UV, pelo que a aplicação de proteção solar deve estar imprescindivelmente associada. [31]

3. Agentes despigmentantes

A hiperpigmentação é o resultado de um aumento de melanina na epiderme, derme, ou ambas. Esta alteração pigmentar pode ser subdividida em dois processos patofisiológicos distintos, a melanocitose (aumento do número de melanócitos) e a melanose (aumento da quantidade de melanina). Os agentes despigmentantes resultam melhor quando a melanose ou a melanocitose se apresenta restrita à epiderme. [31]

São agentes responsáveis pelo aclaramento da pele e oferecem camuflagem corretiva quando contidos nas formulações. A sua adição a formulações cosméticas tem-se tornado cada vez mais popular. Os despigmentantes comuns incluem: hidroquinona, ácido ascórbico (vitamina C), ácido kójico, e soja ativa. [3,45]

A hidroquinona e o ácido ascórbico caracterizam-se por inibir a ação da tirosinase, enzima que gera como produto a melanina. A hidroquinona é fotossensível e pode provocar hipopigmentação. O ácido kójico, produto metabólico fúngico, inibe a síntese de melanina por um complexo conjunto de mecanismos distintos, tendo a vantagem de não ser fotossensível. A soja ativa inibe seletivamente a transferência de melanina para a superfície celular (estrato córneo). [31]

4. Esfoliantes

Os esfoliantes promovem a regeneração da pele através da remoção de células aderentes no estrato córneo. Ácido salicílico (AS), ácido láctico e ácido glicólico são alguns esfoliantes encontrados nas preparações antienvhecimento. O uso repetitivo de AS e AHAs tornam a derme e a epiderme mais suscetível à penetração pelos raios UV. No entanto, os consumidores devem estar conscientes da necessidade de uso de proteção solar adequada em simultâneo. [2,5]

5. Hidratantes

Os compostos ativos com função hidratante constituem um componente vital neste tipo de formulações. [9]

A secura e desidratação da pele são grandes inimigas da boa aparência da mesma. Por um lado, a secura é causada pelo déficit em componentes oleosos, por outro a desidratação é originada pela falta de água nas diversas camadas da pele, que ocorre quando a perda pelo EC é mais rápida do que a receção de água vinda das camadas inferiores.

De modo a combater a secura e desidratação, são incluídos nas formulações antienvhecimento agentes oclusivos, humectantes e emolientes.

Os agentes oclusivos caracterizam-se por formar uma camada que impede a evaporação de água pela pele e a mantém no EC. Exemplos destes tipos de hidratantes são a lanolina e vaselina.

Os agentes humectantes exercem função hidratante através da capacidade de captar água das camadas mais profundas da pele e mantê-la nos corneócitos à superfície da pele. Como exemplo temos o ácido glicólico e o pantenol.

Os agentes emolientes, como o propilenoglicol e o óleo de gérmen de trigo, são responsáveis por fornecer ácidos gordos insaturados à pele.

Muitos dos ativos hidratantes apresentam mais do que uma função. O pantenol além das suas capacidades humectantes fornece ainda ácidos gordos insaturados à pele, sendo portanto emoliente.

6. Protetores solares

Os agentes ativos protetores solares são muitas vezes incluídos nas formulações antienvhecimento, dado que o sol constitui o mais importante agente ambiental que mais contribui para o dano celular. Estes tratam-se de agentes bloqueadores dos raios UVA e UVB. [3]

Nanopartículas minerais são bastante utilizadas como agentes protetores solares em nanoformulações antienvelhecimento. O dióxido de titânio e o óxido de zinco são eficientes filtros UV que, devido ao seu tamanho neste tipo de formulações, não promovem o efeito branco na pele em que são colocados. [10,46]

7. Ácido Hialurónico

O ácido hialurónico, também conhecido por hialuronano, é um dos componentes maioritários da pele, que está envolvido nos processos de reparação tecidual. É um componente importante na manutenção da firmeza e estrutura da pele. [3]

Contribui com as suas propriedades tensoras para um efeito 'lifting'. A queratina, o quitosano e o colagénio são também exemplos de ativos que promovem um efeito lifting quando usados em formulações antienvelhecimento.

V. EXEMPLOS DE FORMULAÇÕES NANOCOSMÉTICAS ANTIENVELHECIMENTO COMERCIALIZADAS E FORMULAÇÕES EM INVESTIGAÇÃO

1. Formulações comercializadas atualmente

1.1. Formulações contendo Nanopartículas Lipídicas Sólidas (SLN) e Transportadores Lipídicos Nanoestruturados (NLC)

No início dos anos 90, na sequência de trabalhos de Müller e Lucks na Alemanha e de Gasco em Itália, foram criadas as SLN, a primeira geração de nanopartículas lipídicas. A segunda geração, constituída pelos NLC foi desenvolvida um pouco mais tarde, no início do milénio. [47]

O creme Nanobase[®] patenteado por Yamanouchi tratou-se do primeiro produto baseado em SLN a ser introduzido no mercado, na Polónia, no ano de 1992. Este creme caracteriza-se pela apresentação de propriedades especiais, tais como boas propriedades de aplicação, adesividade e hidratação da pele. Os ingredientes ativos encontram-se dissolvidos na fase aquosa do mesmo [48]

Os dois primeiros produtos cosméticos baseados na tecnologia NLC foram introduzidos no mercado pela empresa do Dr. Rimpler GmbH, na Alemanha. As formulações Q10 NanoRepair[®] creme e Q10 NanoRepair[®] sérum foram introduzidas no mercado no ano de 2005, revelando o sucesso das nanopartículas lipídicas no campo do antienvhecimento. Posteriormente, em 2006, a empresa Chemisches Laboratorium de Dr. Kurt Richter GmbH, atingiu o mercado cosmético igualmente com formulações concentradas de NLC (NanoLipidQ10 CLR[®] e NanoLipid Restore CLR[®]) [48,49]

Mais recentemente, a empresa sul coreana Amore Pacific[®] lançou novos produtos cosméticos da linha premium IOPE (SuperVital[®] creme, creme de olhos e sérum). Em França, a marca de cosméticos Isabelle Lancray[®] também lançou quatro produtos da linha “Surmer[®]”, contendo óleo de kukui das ilhas do Havai, que se caracteriza por conter atividade antienvhecimento na medida em que é rico em vitaminas A, C e E. Este óleo tem sido usado na pele sensível dos bebés e crianças, devido às suas

propriedades melhoradas nos cuidados da pele. [50]

As características positivas demonstradas pela utilização de nanopartículas lipídicas levaram à introdução contínua de um elevado número de formulações cosméticas neste âmbito. A tabela 5.1 proporciona uma visão geral das formulações cosméticas contendo nanopartículas lipídicas atualmente disponíveis no mercado. [19]

Tabela 5.1. Formulações atualmente disponíveis baseadas em SLN e NLC [Adaptado de 13,19]

Designação do Produto	Laboratório Produtor	Data de introdução no mercado	Principais princípios ativos
Creme Cutanova Nano Repair Q10	Dr. Rimpler	10/2005	Coenzima Q10, Extrato de Gengibre, Extrato de Hibiscus
Sérum Intensivo NanoRepair Q10		10/2005	Coenzima Q10, Extrato de Mafane
Creme Cutanova NanoVital Q10		06/2006	Coenzima Q10, TiO ₂ , Ácido ursólico, Ácido oleanólico, Extrato de semente de girassol
Creme Ligeiro com Nano-proteção SURMER	Isabelle Lancray	11/2006	Leite de côco, Monoi Tiare Tahiti®, Indigo
Creme Rico Nano-Restruturante			
Elixir Nano-Revitalizante SURMER			
Máscara Nano-Hidratante SURMER			
NanoLipid Restore CLR	Dr. Kurt Richter (CLR)	04/2006	Ácidos gordos insaturados provenientes do óleo de semente de groselha negra
NanoLipid Q10 CLR		07/2006	Coenzima Q10, Óleo de semente de groselha negra
NanoLipid Basic CLR		07/2006	Triglicéridos do ácido caprílico e cáprico
NanoLipid Repair CLR		02/2006	Óleo de semente de groselha negra e óleo de manuka
IOPE SuperVital Creme Sérum Contorno de olhos Emulsão hidratante	Amore Pacific	09/2006	Coenzima Q10, Ácidos gordos insaturados
Sérum NLC Deep Effect Eye	Beate Johnen	12/2006	Coenzima Q10, Oligosacáridos
Creme NLC Deep Effect Repair			Coenzima Q10, TiO ₂ , Oligosacáridos
Crème NLC Deep Effect Reconstruction			Coenzima Q10, Acetil Hexapéptido-3, Colagénio de plantas micronizado, oligosacáridos
Olivenoil Anti Falten Pflegekonzentrat	Dr. Theiss	02/2008	Pantenol, acácia do Senegal, Acetato Tocoferil
Olivenoil Augenpflegebalsam			Proteínas hidrolisadas do leite, Acetato tocoferil, Cafeína

Investigações centradas no creme Q10 NanoRepair[®], demonstraram que a formulação contendo NLC promove um grau de hidratação aumentado em comparação com uma formulação convencional O/A com a mesma composição. O gráfico 5.1 mostra o aumento da hidratação da pele promovida após aplicação continuada de ambos os cremes ao longo de 42 dias numa amostra de 30 mulheres. [19]

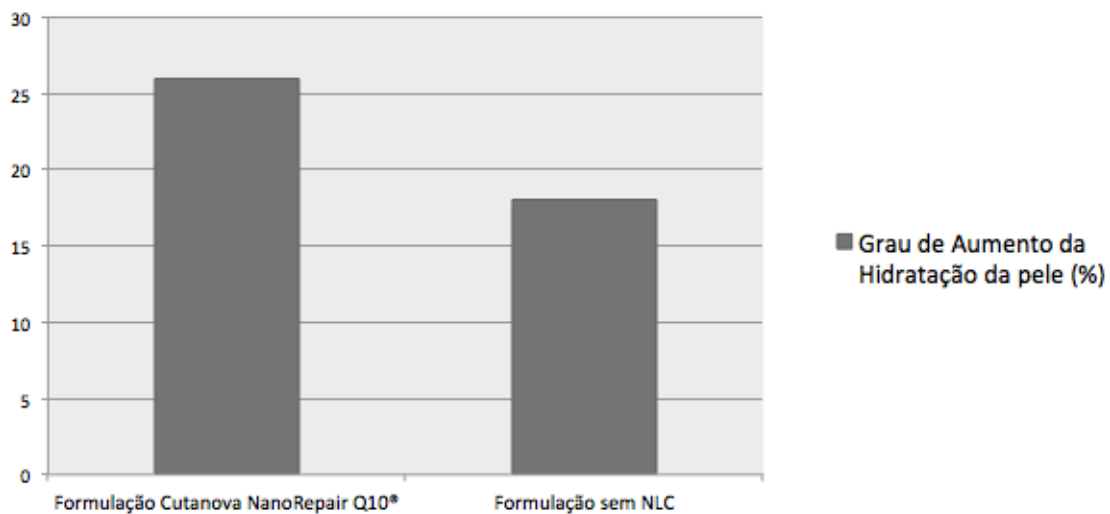


Gráfico 5.1. Aumento do grau de hidratação da pele após aplicação da formulação Cutanova NanoRepair[®] e de uma outra formulação O/A com a mesma composição, mas sem NLC. [Adaptado de 19]

Após a incorporação de Coenzima Q10 numa suspensão de NLC e numa emulsão O/A, a penetração deste ativo na pele mostrou claramente a superioridade destes nanotransportadores (gráfico 5.2). [50,51]

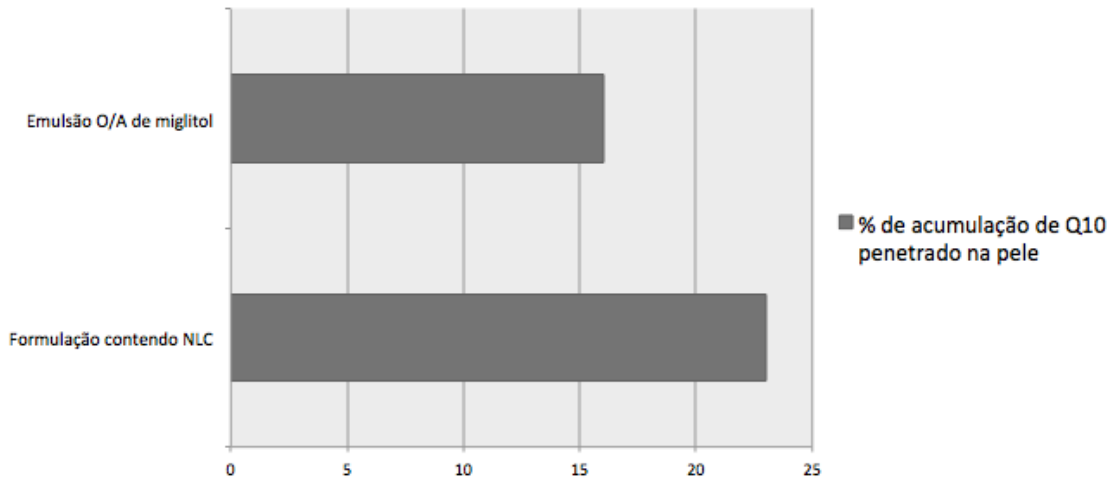


Gráfico 5.2. Penetração de coenzima Q10 na pele depois da incorporação desse ativo em NLC (à semelhança de NanoRepair) e da incorporação de coenzima Q10 numa emulsão de miglitol (ambas as formulações contêm a mesma concentração de Q10) [Adaptado de 51]



Fig. 5.1. Creme Cutanova NanoRepair Q10[®] (Dr. Rimpler, 2005, Alemanha) [3]

A formulação NanoLipid Restore CLR[®] (Chemisches Laboratorium Dr.Kurt Richter, Berlim, Alemanha) incorporando óleo de semente de groselha negra (poderoso antioxidante por conter vitamina C) em NLC. Este nanotransportador tem a capacidade de conferir proteção a este ativo contra a sua oxidação, promovendo dessa forma a estabilidade da formulação final obtida. Tal facto foi comprovado através da realização de testes de stress oxidativo comparando o creme NanoLipid Restore CLR[®] com uma

emulsão de referência contendo Migliol. Foi comprovado que o princípio ativo é melhor estabilizado contra a oxidação na formulação com NLC. (Gráfico 5.3) [9,19]

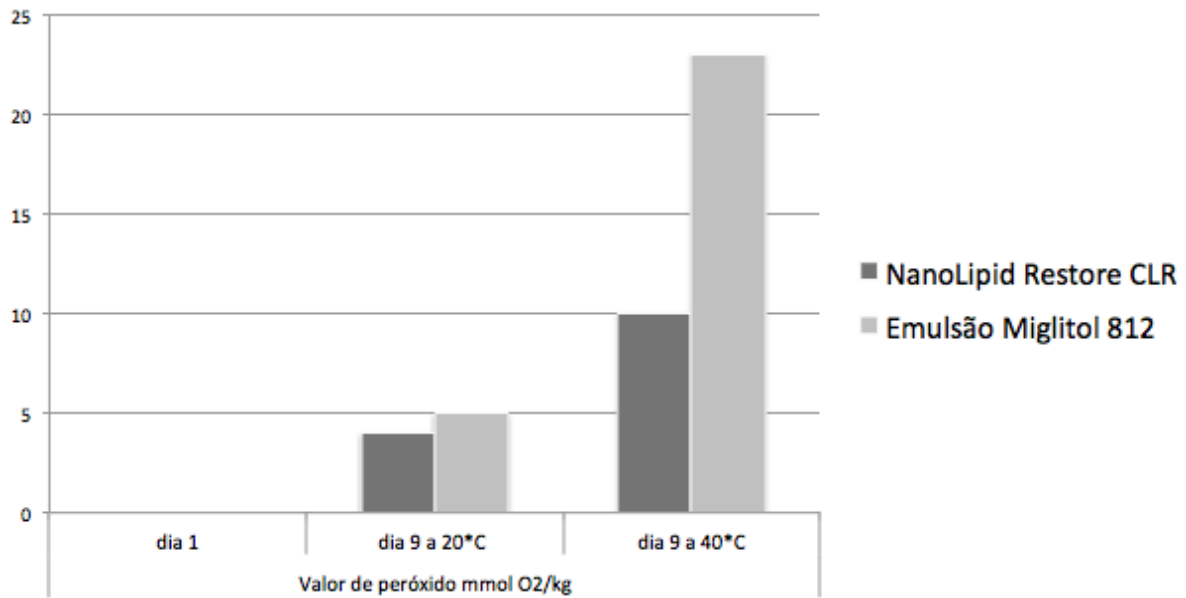


Gráfico 5.3. Valores de peróxido resultantes do teste de stress oxidativo para a formulação NanoLipid Restore CLR[®] e da emulsão de referência ao dia 1 e após 9 dias. O extrato de semente de groselha negra na fórmula que contém NLC apresenta uma maior estabilidade contra a peroxidação. [Adaptado de 19]

1.2. Formulações contendo Nanocápsulas

Laboratórios como L’Oreal Paris e Lancôme disponibilizam diversos produtos oferecendo as vantagens da nova tecnologia sob a forma de nanocápsulas. Verifica-se a existência das mais variadas formas farmacêuticas, tais como creme, gel, gel-creme, loções e até sprays, incorporando ativos como as vitaminas A e E, triceramidas, retinol e beta-caroteno contidos nas nanocápsulas, alguns deles apresentados na Tabela 5.2. [52]

EMPRESA	ATIVOS	FORMAS FARMACÊUTICAS
L'Óreal Paris	Vitamina A e E, retinol, beta-caroteno	Creme, loção
Lancôme	Vitaminas A e E, retinol, beta-caroteno, ceramidas, licopeno	Creme, gel, gel-creme, loção, spray
Vichy	Vitamina A	Creme
Ziaja Cosmetics	Retinol	Creme
Matis	Complexo de despigmentação	Creme

Tabela 5.2. Exemplos de cosméticos contendo nanocápsulas existentes no mercado (Adaptado de 52]

A formulação Soleil Soft-Touch Anti-Wrinkle Sun Cream SPF15[®] patenteada pela Lancôme é um exemplo de formulação anti-envelhecimento contendo nanocápsulas que encapsulam os agentes ativos. [3]



Figura 5.2. Formulação Soleil Soft-Touch Anti-Wrinkle Sun Cream SPF15[®] [3]

Esta formulação caracteriza-se pela incorporação da vitamina E, poderoso anti-oxidante, em nanocápsulas, contendo ainda na formulação pantenol, pelo que aumenta a hidratação da pele pelas propriedades de agente humectante que apresenta. [3,9]

1.3. Formulações contendo Nanoesferas

A formulação antienvhecimento NutriMinC RE[®] trata-se de uma formulação patenteada pela Arbonne, laboratório suíço de produtos cosméticos.

Contém nanoesferas poliméricas que conferem à pele os poderes de proteção conferidos pelos ativos antioxidantes, uma vez que nestas nanoesferas se encontram incorporadas moléculas de Vitamina C. [3]



Figura 5.3. Formulação NutriMinC RE[®] [3]

1.4. Formulações contendo sistemas vesiculares lipídicos

Em 1983 a Dior lança a primeira formulação antienvhecimento contendo lipossomas, denominada Capture[®]. (Fig.5.4,I) Desde então, inúmeras formulações lipossomais entraram no mercado, abarcando várias formas farmacêuticas como sprays, geles, loções emulsões e cremes. [3,8]

O Rovisome ACE Plus[®] introduzido pela Rovi Cosmetics International GmbH é outro exemplo de formulação contendo lipossomas, incorporando estes palmitato de ascorbilo, tocoferol e retinol. No caso da formulação Ageless Facelift[®] patenteada pela i-Wen Naturals os lipossomas incorporam coenzima Q10 e niacinamida. [9]

O primeiro produto antienvhecimento contendo niossomas foi patenteado pela Lancôme, uma companhia pertencente à L'Oreal, com o nome de Niossome Day Time Skin Treatment[®] (Fig. 5.4,II). [3]

O Anti-Age Night Recovery Cream[®] auxilia na hidratação, reparação celular, e ainda aumento da produção natural de colagénio devido à sua composição incluindo ultrassomas (Fig. 5.4, IV), que se caracterizam por encapsular uma endonuclease extraída de *Micrococcus luteus*. Tais enzimas reconhecem o dano celular e iniciam a reparação do ADN. Esta formulação foi introduzida no mercado pelos laboratórios Rodan + Fields. [3,9]

Os laboratórios Lancaster patentearam uma formulação que conjuga fotossomas e ultrassomas. O elixir 365 Cellular[®] conjuga a capacidade de reparação com a capacidade de proteção dos danos no ADN, graças à nanotecnologia que incorpora (Fig. 5.4, III). [3]

Os nanótopos Tinoderme[®] são uma marca registada dos laboratórios Ciba Speciality Chemicals Inc. Os que incorporam ativos antienvhecimento são os Ciba Tinoderm A[®], que encapsulam vitamina A, os Ciba Tinoderm E[®], que correspondem aos nanótopos incorporando o precursor da vitamina E, que por sua vez é transportado aos locais afetados pelos radicais de oxigénio, e ainda os Ciba Tinoderm P[®], que se caracterizam por conter D-pantenol. A formulação Ristra Anti Wrinkle Night Cream[®] trata-se de uma formulação antienvhecimento combinando esses nanótopos. Contém ainda óleo de oliveira para conferir suavidade à formulação (Fig. 5.4,V). [3,9]



Figura 5.4. Formulações atualmente no mercado contendo nanotransportadores nanométricos vesiculares lipídicos. No painel I, Capture[®] de Dior, baseado em lipossomas. No painel II, Niosome Day Time Skin Treatment[®] da Lancôme, cujo nanotransportador que incorpora os ativos antienvelhecimento são os niosomas. No painel III, o elixir 365 Cellular[®] dos laboratórios Lancaster, baseado na conjugação de fotossomas e ultrassomas. No painel IV, Anti-Age Night Recovery Cream[®] patentado por Rodan + Fields, cuja formulação é baseada em ultrassomas. No painel V, Ristra Anti Wrinkle Night Cream[®], dos laboratórios Ciba Speciality Chemicals Inc., contendo nanótopos a encapsular os seus ativos antienvelhecimento. [Adaptado de 3]

1.5. Formulações contendo outros nanomateriais

Genesphere[®] trata-se de uma formulação antirrugas contendo aquassomas. (Fig.5.5) [9,22]



Figura 5.5. Formulação Genesphere® [3]

No ano de 2005 a companhia Procter and Gamble lança o primeiro produto concebido recorrendo à nanotecnologia, mais especificamente, uma nanoemulsão. A nanoemulsão Marie Louise Vital®, é essencialmente rica em vitamina C. Ainda no campo das nanoemulsões podemos referir a formulação Nano-Lipobelle H-AECL®, cujos principais ativos incorporados são a vitamina A, E e C. Foi concebida pela Mibelle Biochemistry originalmente na Suíça. [3,9]



Figura. 5.6. Nanoemulsão Marie Louise Vital® [3]

A formulação Cosmedix Opti Crystal Age[®] trata-se de um sérum contorno de olhos com cristais líquidos essencialmente contendo ácido alfa-lipóico. Emulsões contendo cristais líquidos têm demonstrado apresentar uma taxa de liberação de ativos muito mais lenta comparativamente às que não contêm este componente que confere estabilidade. É a estrutura em multicamadas de líquido cristalino em redor das partículas que permite uma liberação controlada. [9,53]



Figura 5.7. Formulação Cosmedix Opti Crystal Age[®] [3]

2. Formulações em investigação / Estudos recentes

2.1. Formulações com nanopartículas poliméricas

O uso do quitosano para a encapsulação de componentes ativos tem suscitado interesse durante os últimos anos devido à sua adesividade a mucosas, não toxicidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade. [54]

Harris et al. num estudo recente publicado em 2011 descreve a obtenção de nanopartículas de quitosano encapsulando antioxidantes extraídos da espécie *Ilex paraguariensis* (ILE) para aplicações cosméticas. Provou-se que nanopartículas de quitosano são veículos adequados para a encapsulação de antioxidantes naturais dado

que mantêm a atividade dos polifenóis extraídos de ILE. Comprovada a manutenção da estabilidade deste ativo nesta formulação, fica ainda por comprovar a capacidade de realização de uma liberação controlada para possível posterior aplicação em formulações cosméticas. [54]

Em estudo está também a viabilidade da encapsulação de retinol em nanopartículas de quitosano. No estudo descrito por Kim et al., este princípio ativo foi encapsulado em nanopartículas esféricas cujos tamanhos rondavam os 50-200 nm. Constatou-se que a solubilidade do retinol sofre um aumento com esta encapsulação. Uma vez que o retinol se destaca pelas suas propriedades foto sensíveis devido a ser um ativo extremamente lábil, era fundamental garantir a sua estabilidade, o que foi efetuado com sucesso com este estudo demonstrando a possibilidade de esta formulação vir a ser usada em cosméticos antienvhecimento. [55]

Foi recentemente estudada a encapsulação do ativo retinil acetato em dois tipos de nanopartículas poliméricas, nanopartículas de etilcelulose e de poli-4-metoxicinamoilquitosano (PCPLC). [56]

A estabilidade do retinil acetato foi significativamente aumentada quando encapsulada com PCPLC, enquanto que, com uma encapsulação em nanopartículas de etilcelulose originou maior estabilidade em solução mas em relação a uma fotoestabilidade não se verificou aumento. [56]

2.2. Formulações com sistemas transportadores vesiculares lipídicos (lipossomas, niossomas, etossomas e transferossomas)

A curcumina, polifenol natural, encontrado nos rizomas de *Curcuma longa* exibe atividade antioxidante. Cremes e geles contendo curcumina são populares, no entanto a atividade antienvhecimento pode não ser garantida devido às propriedades barreira da pele intacta. É de forma a contornar estas limitações que surgem estudos recentes com este princípio ativo, no sentido de o incorporar em novos sistemas nanométricos. No

estudo efetuado por Gupta e Dixit, a curcumina foi encapsulada em lipossomas e em niossomas, apresentando vantagens óbvias perante formulações de maior escala. [57]

Tabela 5.3. Efeito das várias formulações nas atividade enzimática da catalase, superóxido dismutase (SOD) e glutathiona reduzida (GSH) em pele de rato exposta a radiação UV (Adaptado de 57]

Grupos Testados	Catalase (U/g de tecido)	SOD (U/g de tecido)	GSH (mg/g de tecido)
Normal	71.53 ± 3.93	87.29 ± 4.98	47.19 ± 2.14
Exposta a UV	32.29 ± 1.93	24.59 ± 1.31	13.62 ± 0.83
Exposta a UV + Gel com curcumina	60.32 ± 2.33	70.39 ± 3.19	34.16 ± 2.09
Exposta a UV + lipossomas com curcumina	65.93 ± 2.41	81.97 ± 3.91	44.87 ± 2.19
Exposta a UV + niossomas com curcumina	69.34 ± 3.73	86.21 ± 4.11	42.89 ± 2.16

Como mostra a tabela 5.3, o nível de catalase e SOD reduziu após exposição solar. A aplicação de formulações contendo lipossomas e niossomas aproximou os valores de atividade enzimática para próximo dos valores normais, o que traduz a existência de um menor grau de stress oxidativo, dado que estas se tratam de enzimas envolvidas no controle das reações de geração controlo dos danos provocados pelos radicais livres.

Este mesmo ativo foi também recentemente alvo de um estudo comparativo de eficácia decorrente da encapsulação em vários sistemas nanométricos lipídicos (lipossomas, etossomas e transferossomas). [58]

As propriedades dos componentes provenientes de *C. longa* em conjunto com as propriedades hidratantes promovidas pelos componentes lipídicos das nanovesículas resultaram num aumento do grau de hidratação da pele bem como num aumento da produção de sebo. A formulação contendo transferossomas apresentou resultados mais efetivos do que as formulações contendo etossomas e lipossomas. [58]

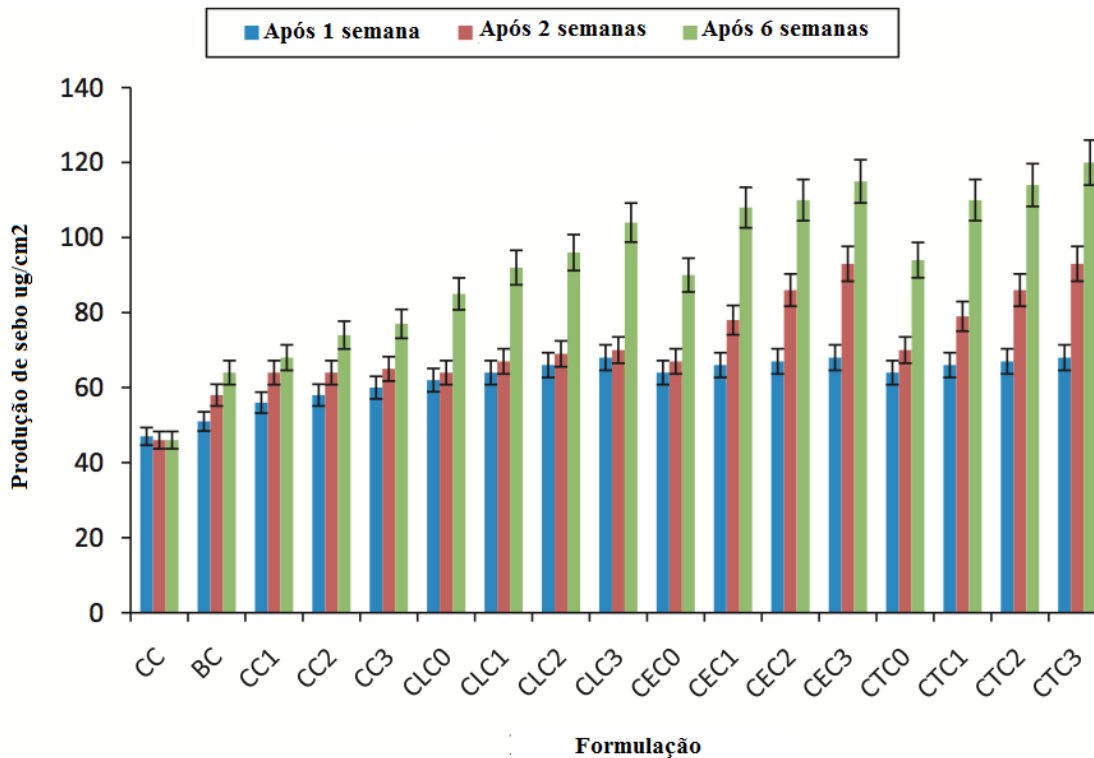


Gráfico 5.4. Efeito das formulações testadas na produção de sebo pela pele. CC, corresponde aos valores base sem aplicação de formulações; BC, corresponde ao creme base; CC₁, CC₂ e CC₃ correspondem aos cremes com 0,5%, 1% e 2% de extrato de *Curcuma longa*; CLC₀, corresponde às formulações com lipossomas vazios; CLC₁, CLC₂, CLC₃, corresponde às formulações com lipossomas encapsulando 0,5%, 1% e 2% de *Curcuma longa*; CEC₀, corresponde à formulação com etossomas vazios; CEC₁, CEC₂, CEC₃, corresponde às formulações encapsulando 0,5%, 1% e 2% de *Curcuma longa*; CTC₀, corresponde à formulação com transferossomas vazios; CTC₁, CTC₂, CTC₃, correspondem à formulação encapsulando 0,5%, 1% e 2% de *Curcuma longa*. [Adaptado de 58]

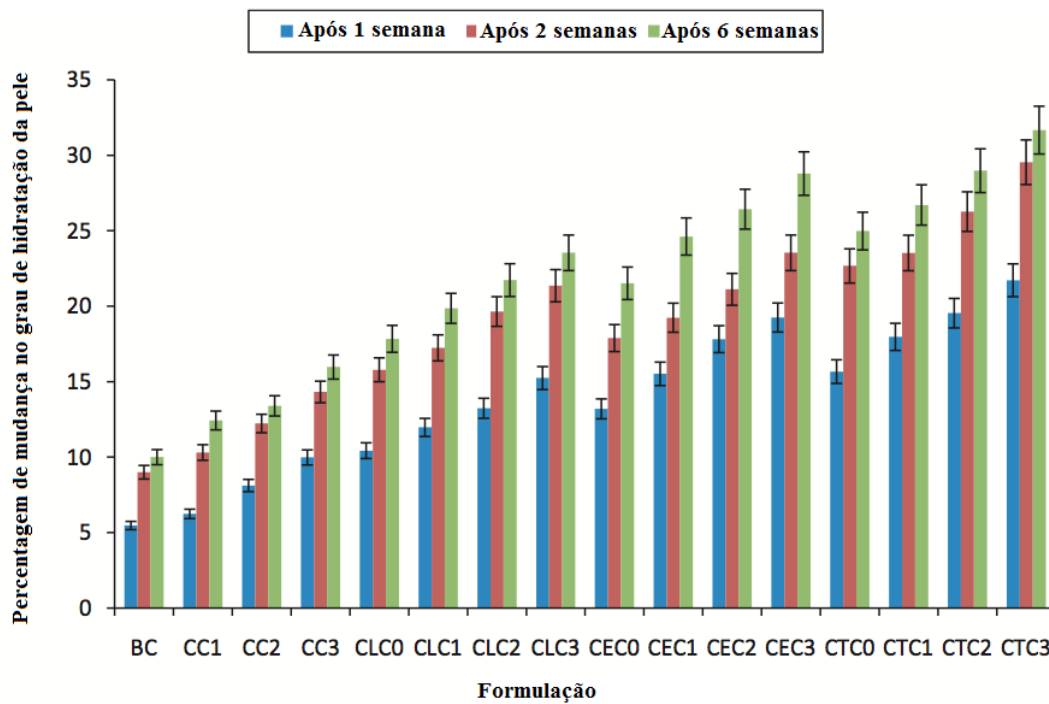


Gráfico 5.5. Percentagem de mudança do grau de hidratação da pele após aplicação das diferentes formulações

Este estudo datado de 2012 deixa então sublinhados os benefícios e a possibilidade do uso de curcumina em formulações lipídicas antienvhecimento.

O estudo efetuado por Manosroi et al. demonstra o potencial do uso de niossomas na encapsulação de um outro ativo antioxidante, desta vez o ácido gálico proveniente da espécie *Terminalia chebula*, conferindo especial destaque aos niossomas elásticos. [59]

O ácido gálico trata-se de um composto fenólico, caracterizando-se por possuir elevada atividade antioxidante, bem como atividade anticancerígena. Foi demonstrado que a sua atividade fenólica é equiparada à do tocoferol, mas muito superior à da maioria dos antioxidantes solúveis em água, tal como o ácido ascórbico. [59]

Os niossomas elásticos foram recentemente desenvolvidos, sendo que estes apresentam uma maior flexibilidade e deformabilidade tornando facilitada a passagem através dos poros que têm um muito menor diâmetro. [59]

Ambos os niossomas elásticos e não elásticos apresentaram estabilizar o ácido gálico encapsulado. O uso de niossomas elásticos mostrou conseguir a presença de maiores percentagens de ácido gálico através das camadas das amostras de pele de rato. [59]

Tabela 5.4. Percentagem de encapsulação de ácido gálico e índice de deformabilidade dos niossomas elásticos e não elásticos [Adaptado de 59]

	% de encapsulação de ácido gálico	Índice de deformabilidade
Niossomas não elásticos		
Branco	-	2.50 ± 0.78
Com ácido gálico	29.72 ± 1.68	2.04 ± 1.13
Niossomas elásticos		
Branco	-	11.36 ± 1.55
Com ácido gálico	55.18 ± 3.87	10.75 ± 3.47

Tabela 5.5. Percentagem da quantidade de ácido gálico no estrato córneo (EC) e na epiderme viável e derme (EVD) após 12h [Adaptado de 59]

Percentagem da quantidade de ácido gálico (%)		
Formulação	EC	EVD
Niossomas elásticos encapsulando ácido gálico	32.86 ± 9.94	0.35 ± 0.10
Niossomas não elásticos encapsulando ácido gálico	33.51 ± 8.60	0.27 ± 0.02

Percentagem da quantidade de ácido gálico (%) = (Quantidade de ácido gálico encontrada no EC ou EVD em 0.5g de cada formulação) x 100

Ainda no contexto de estudos recentes com niossomas, um outro estudo realizado recentemente por Manosroi et al. comprovou também a potencialidade dos niossomas na encapsulação e veiculação de compostos bioativos extraídos do arroz. Estabilidade foi alcançada com sucesso, assim como foi verificada uma concentração deste ativo 2.4

vezes maior na epiderme viável no caso da veiculação com niossomas em comparação com a aplicação de uma formulação sem qualquer tipo de nanoestruturas. [60]

No âmbito de experiências recentes com lipossomas, Campos et al. descrevem a utilização destas vesículas para efetuar a entrega de ascorbil fosfato de magnésio e ácido α -lipóico. Foi demonstrada a potencialidade para uso em formulações para hidratação, proteção e atividade antienvhecimento, uma vez que se verificou um grau de hidratação aumentado no EC e EV, após quatro semanas de aplicação. [61]

Lipossomas elásticos e lipossomas convencionais foram testados na veiculação de genisteína, no estudo efetuado no ano de 2010 por Kang et al. Este ativo constitui uma das mais conhecidas isoflavonas. Conclui-se com esta experiência uma maior taxa de penetração e acumulação alcançada com lipossomas elásticos do que com os lipossomas convencionais. [62]

2.3. Formulações com nanocristais de apigenina

A apigenina trata-se de um flavonoide, como tal, confere um conjunto de efeitos positivos nas camadas da pele tais como atividade anti-oxidante, anti-alérgica e anti-inflamatória. No entanto, o fator limitante do uso de flavonoides é a sua baixa solubilidade, e é de forma a contornar esta limitação conferida pela baixa solubilidade que surgiu a necessidade da experimentação de nanocristais contendo apigenina. [13]

O estudo descrito por Shaal et al. conclui recentemente que a capacidade antioxidante dos nanocristais de apigenina é quase o dobro da apresentada pela formulação original. Isto torna a formulação interessante para aplicação tópica, abrindo a opção para o uso destes nanocristais de apigenina em cosméticos antienvhecimento, bem como em formulações farmacêuticas destinadas à prevenção do cancro de pele. [13]

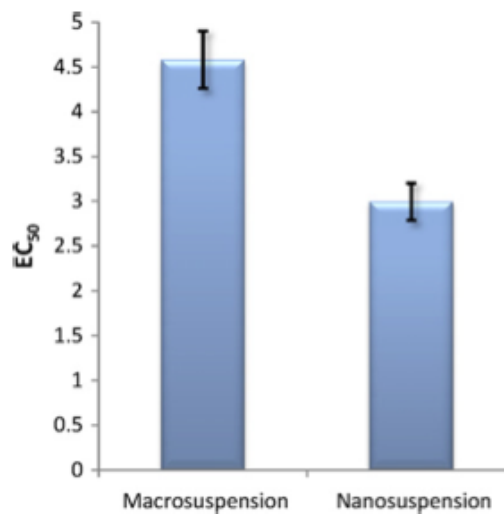


Gráfico 5.6. Comparação dos valores de EC₅₀ de macrosuspensões com nanosuspensões de apigenina [Adaptado de 63]

O valor de EC₅₀ a que se refere o gráfico 5.6 corresponde à concentração necessária de macro ou nanosuspensão para o decréscimo da concentração do radical DPPH em 50%. Quanto mais baixo é o valor de EC₅₀, mais elevada a capacidade antioxidante de um composto. O valor de EC₅₀ para as macro e nanosuspensões de apigenina descritas são de $4,583 \pm 0,164$ e $2,993 \pm 0,098$, respetivamente. Assim verificou-se que a nanosuspensão com nanocristais de apigenina mostrou cerca de duas vezes maior atividade antioxidante do que a macrosuspensão. O tamanho da partícula no contexto da escala nanométrica apresenta portanto vantagens, uma vez que, entre outros fatores, a área de superfície disponível para a reação com DPPH, impedindo ou minimizando a formação do radical livre resultante. [63]

Este trabalho experimental comprova assim que nanocristais de apigenina constituem um potencial sistema a apostar para futuras formulações antienvhecimento.

2.4. Formulações com nanolipossomas revestidos com quitosano

Um inovador sistema nanotransportador foi desenvolvido e testado recentemente. Trata-se de um lipossoma na escala nanométrica revestido com quitosano, lipossoma esse desenvolvido a partir de fosfatidilcolina e colesterol. O estudo em questão é descrito por Liu e Park, e indica que os tamanhos dos lipossomas produzidos rondavam os 82 nm. A incorporação de ativos lábeis em lipossomas cobertos por quitosano tem a vantagem de apresentar uma proteção acrescida contra a degradação química. [64]

Liu e Park descrevem a incorporação de vitamina E neste inovador sistema transportador, atingindo um tamanho final após incorporação de cerca de 144 nm. [64]

A vitamina E (α -tocoferol) é um composto lipofílico maioritariamente localizado nas biomembranas. O grupo hidroxílico fenólico da vitamina E é doador de átomos de hidrogénio, atuando como estabilizador de membranas e captador de radicais livres. No entanto a vitamina E é sensível à luz e oxigénio e, por isso, deve ser cuidadosamente protegida da luz solar, calor e contacto prolongado com o ar. [64]

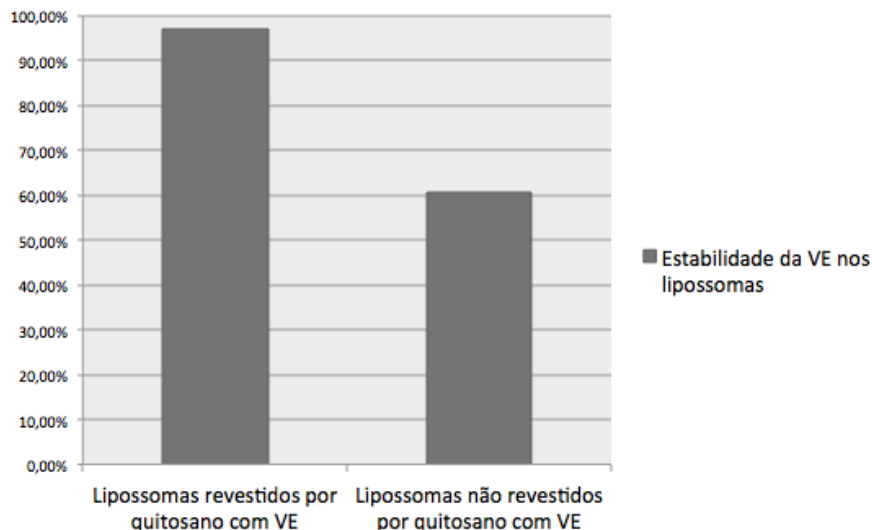


Gráfico 5.7. Estabilidade da vitamina E (VE) nos lipossomas revestidos por quitosano e lipossomas não revestidos (64)

Este trabalho suscita assim a potencialidade do uso deste sistema nanotransportador na encapsulação de ativos em formulações antienvhecimento.

2.5. Formulações com nanopartículas de zinco revestidas por poliuretano

ZhenYu et al. descrevem o desenvolvimento de nano-concentrados de óxido de zinco aos quais lhes foi aplicado um revestimento de poliuretano de forma a potenciar a sua resistência à corrosão bem como exacerbar as suas vantagens antienvhecimento. [65]

Com este estudo conclui-se que se trata de uma estratégia eficaz para potenciar a atividade deste ativo. Conclui-se ainda que uma pequena mudança na quantidade de ativo encapsulada no revestimento de poliuretano reflete-se na estabilidade atingida. No caso de nanopartículas de zinco 1% a resistência à corrosão é claramente evidente, enquanto um aumento na quantidade de ativo para 5% resulta num efeito negativo na performance do revestimento devido à catálise pela luz e tendência para formação de agregados. [65]

2.6. Formulações com SLN

Em 2011 é publicado um estudo que testa a estabilidade e potencialidades da incorporação da coenzima Q10 em SLN, assim como compara a eficácia de resultados no âmbito do efeito antienvhecimento conseguido por formulações baseadas em SLN com as formulações de maior escala também contendo coenzima Q10. Farboud et al. elegem as SLN com tamanhos entre os 50-100 nm como sendo mais eficazes, após testes com 25 voluntárias entre os 20 e 30 anos. [66]

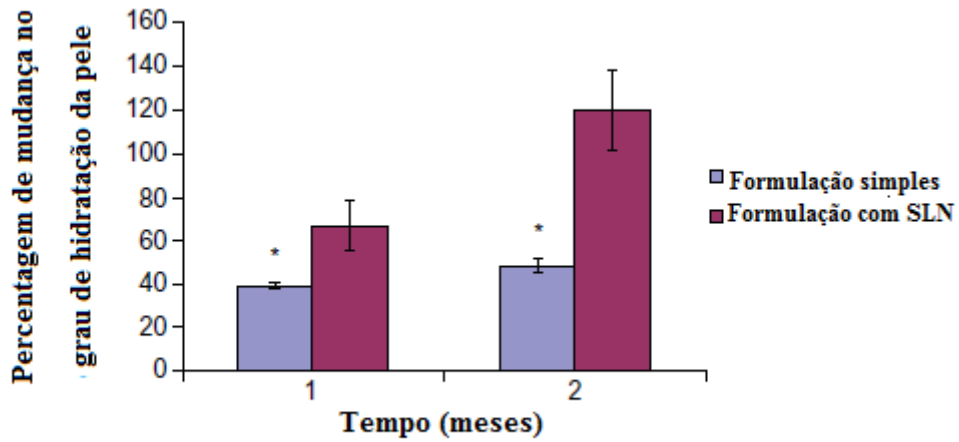


Gráfico 5.8. Percentagem de aumento no grau de hidratação da pele para formulações simples e formulações contendo SLN, ambas com coenzima Q10, após 1 e 2 meses de aplicação. [Adaptado de 66]

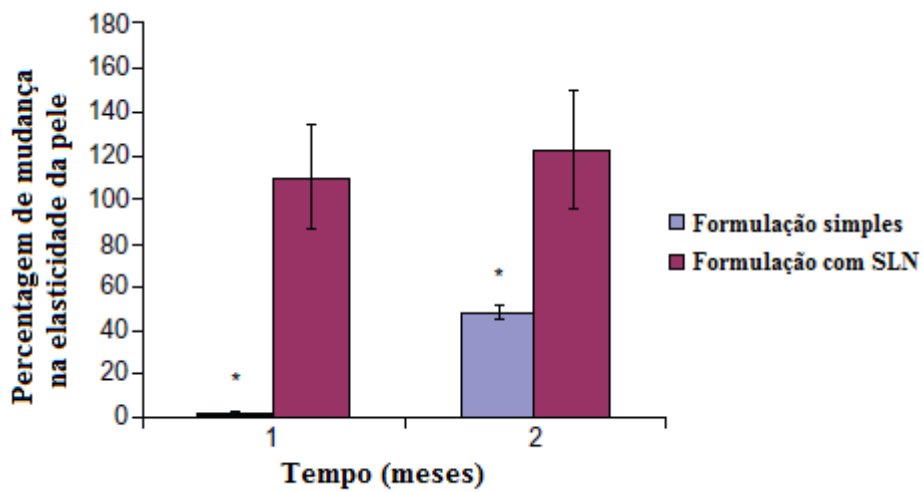


Gráfico 5.9. Percentagem de aumento na elasticidade da pele para formulações simples e formulações contendo SLN, ambas contendo coenzima Q10, após 1 e 2 meses de aplicação. [Adaptado de 66]

CONCLUSÃO

O uso de sistemas transportadores nanométricos tem aumentado de dia para dia e atravessado as mais variadas áreas da ciência. Tem também cativado as atenções por parte das maiores indústrias cosméticas de todo o mundo, uma vez que os nanomateriais apresentam propriedades que constituem vantagens perante sistemas de maior escala. O tamanho exibido pelos nanosistemas permite uma especial interação com as estruturas da pele possibilitando o alcance de camadas em maior profundidade bem como a realização de uma entrega controlada dos ativos encapsulados.

Com este trabalho constata-se a dificuldade de permeação de nanomateriais através da pele intacta, sendo que excelentes oportunidades são criadas quando esta barreira está comprometida. A pele envelhecida constitui assim um alvo com potencialidades para formulações com este tipo de sistemas. Conclui-se ainda que estruturas como os folículos pilosos, ductos écrinos ou mesmo rugas são estruturas críticas para a aumento da eficácia da entrega destas formulações.

Nos últimos anos tem ocorrido um enorme progresso neste campo, e uma grande variedade de ativos antienvhecimento têm sido alvo, e continuam a ser, de estudos de estabilidade e potencial de toxicidade para o organismo. Nanopartículas lipídicas, nanoesferas e nanocápsulas metálicas ou poliméricas, nanocristais, lipossomas e derivados dos lipossomas, entre outros, são alguns dos sistemas cuja formulação no âmbito da dermocosmética antienvhecimento tem sofrido grandes avanços.

Com uma sociedade crescentemente preocupada com a aparência, aumenta a procura de cosméticos antienvhecimento efetivos. É neste sentido que surgem inúmeros estudos de encapsulação de ativos como antioxidantes, hidroxiácidos, agentes despigmentantes, protetores solares e agentes hidratantes nestes sistemas inovadores.

Atualmente encontram-se comercializadas inúmeras formulações antienvhecimento baseadas nestes novos e inovadores nanosistemas, comprovando-se a sua eficácia aumentada comparativamente a formulações simples através de estudos comparativos. Os laboratórios de cosmética de referência continuam a executar estudos com outros ativos nestes tipos de sistemas. Alguns deles constituem claramente opções futuras para

a formulação antienvhecimento, enquanto outros deixam em aberto a necessidade de continuidade da investigação no sentido de confirmar as potencialidades suscitadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. K. Basavaraj, Nanotechnology in Medicine and Relevance to Dermatology: Present Concepts, *Indian Journal of Dermatology*, 57 (2012) 169-174
2. Y. Chaudhari, Nanoparticles – A Paradigm for Topical Drug Delivery, *Chronicles of Young Scientists*, 3 (2012) 82-85
3. B. Sharma, A. Sharma, Future Prospects of Nanotechnology in Development of Anti-Ageing Formulations, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (2012) 57-66
4. T. Prow, J. Grice, L. Lin, et al., Nanoparticles and Microparticles for Skin Drug Delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews* 63 (2011) 470–491
5. B. Barry, Novel Mechanisms and Devices to Enable Successful Transdermal Drug, Delivery, *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 14 (2001) 101–114
6. D. Voegeli, Understanding Main Principles of Skin Care in Older Adults, *Nursing Standart*, 27 (2012) 59-68
7. M. Lane, Nanoparticles and the Skin – Applications and Limitations, *Journal of Microencapsulation*, 28 (2011) 709-716
8. A. Mihranyan, N. Ferraz, M. Strømme, Current Status and Future Prospects of Nanotechnology in Cosmetics, *Progress in Materials Science*, 57 (2012) 875–910
9. S. Salavkar, R. Tamaneekar, R. Athawale, Antioxidants in Skin Ageing – Future of Dermatology, *International Journal of Green Pharmacy*, 5 (2011) 161-168
10. S. Raj, S. Jose, S. Sumod, et al., Nanotechnology in Cosmetics: Opportunities and Challenges, *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 4 (2012) 186-193
11. N. Staggers, T. McCasky, N. Brazelton, et al., Nanotechnology: The coming revolution and its implications for consumers, clinicians, and informatics, *Nursing Outlook*, 56(5) (2008) 268-274
12. M. Baril, G. Franco; R. Viana, et al., Nanotecnologia Aplicada Aos Cosméticos, *Visão Acadêmica*, 13 (2012) 45-54
13. M. Bangale, S. Mitkare, S. Gattani, et al., Recent Nanotechnological Aspects in Cosmetics and Dermatological Preparations, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (2012) 88-97
14. O. Jepps, Y. Dancik, Y. Anissimov, et al., Modeling the Human Skin Barrier - Towards a Better Understanding of Dermal Absorption, *Advanced Drug Delivery Reviews* 51 (2012) 3-17
15. B. Baroli, Penetration of Nanoparticles and Nanomaterials in the skin: Fiction or

reality?, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99 (2010) 21-50

16. A. Nasir, *Nanotechnology and Dermatology: Part II – Risks of Nanotechnology*, *Clinics in Dermatology*, 28 (2010) 581-588

17. J. Lademann, H. Richter, A. Teichmann, et al., *Nanoparticles - An Efficient Carrier for Drug Delivery into the Hair Follicles*, *European Journal Pharm. Biopharm.* 66 (2007) 159–164

18. C. Graf, M. Meinke, Q. Gao, et al., *Qualitative Detection of Single Submicron and Nanoparticles in Human Skin by Scanning Transmission X-ray Microscopy*, *J. Biomed.* 14 (2009) 2-15

19. J. Pardeike, A. Hommoss, R. Muller, *Lipid Nanoparticles (SLN,NLC) in Cosmetic and Pharmaceutical Dermal Products*, 366 (2009) 170-184

20. T. Hegmann; H. Qi; V. Marx, *Nanoparticles in Liquid Crystals: Synthesis, Self-Assembly, Defect Formation and Potential Applications*, *Journal of Inorganic and Organometallic and Material*, 17 (2007) 110-131

21. C. Stevenson; D.Bennet; *Pharmaceutical Liquid Crystals: The Relevance of Partially Ordered Systems*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 94 (2005) 1861-1880

22. P. Vengala, D. Shwetha, A.Sana, et al., *Aquasomes: A Novel Drug Carrier System*, *International Research Journal of Pharmacy*, 3 (2012) 123-127

23. M. Malhotra, N. Jain, *Niosomes as Drug Carriers*, *Indian Drugs*, 31 (1994) 81-86

24. J. Leeuw, H. Vijlder, P. Bjerring, et al., *Liposomes in Dermatology Today*, *Journal Compilation European Academy of Dermatology and Venereology*, 23 (2009) 505-516

25. R. Rajan, S. Jose, V. Mukund, et al., *Transferosomes – A Vesicular Transdermal Delivery System for Enhanced Drug Permeation*, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology Research*, 2 (2011) 138–143

26. P. Verma; K. Pathak, *Therapeutic and Cosmeceutical Potential of Ethosomes: An overview*, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 1 (2010) 274-282

27. C. Lovelyn, A. Attama, *Current State of Nanoemulsions in Drug Delivery*, *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 2 (2011) 626-639

28. P. Durai, D. Thappa, R. Kumari, et al., *Aging in Elderly: Chronological Versus Photoaging*, *Indian Journal of Dermatology*, 57 (2012) 343-352

29. E. Kohi et al., *Skin ageig*, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 25 (2011) 873-884

30. M. Sárdy, *Role of Matriz Metalloproteinases in Skin Ageing*, *Informa Healthcare*, 50 (2009) 132-138

31. J. Preetha, K. Karthika, Cosmeceuticals – An Evolution, International Journal of ChemTech Research, 1 (2009) 1217-1223
32. C. Rona, F. Vailati, E. Berardesca, The Cosmetic Treatment of Wrinkles, Journal of Cosmetic Dermatology, 3 (2004) 26-34
33. B. Allemann, L. Baumann, Antioxidants used in skin care formulations, Skin Therapy Letter, 7 (2008) 5-9
34. JC Geesin, D. Darr, R. Kaufman, Ascorbic Acid Specifically Increases Type I and Type III Procollagen Messenger RNA Levels in Human Skin Fibroblast, Journal of Investigation Dermatology, 90 (1988) 420-424
35. D. Darr, S. Dunston, H. Faust, Effectiveness of Antioxidants (vitamin C and E) with and without Sunscreens as Topical Photoprotectants, Acta Derm Venereol, 76 (1996) 264-268
36. D. Cabelli, B. Bielski, Kinetics and Mechanism for the Oxidation of Ascorbic Acid/Ascorbate by HO₂/O₂ Radicals: A Pulse Radiolysis and Stopped Flow Photolysis Study, Journal of Physic and Chemistry, 87 (1983) 18-25
37. U. Hoppe, J. Bergemann, W. Diembeck, Coenzyme Q10, a Cutaneous Antioxidant and Energizer, Biofactors, 9 (1999) 371-378 (1999)
38. K. Kofuji, M. Nakamura, Y. Murata, et al., Stabilization of α-lipoic acid by complex formation with chitosan, Food Chemistry, 109 (2008) 167–17
39. Z. Fazekas, D. Gao, R. Saladi, Protective Effects of Lycopene Against Ultraviolet B–induced Photodamage, Nutr Cancer, 47 (2003) 181-187
40. S. Dhanalakshmi, G. Mallikarjuna, R. Singh, Silibinin Prevents Ultraviolet Radiation-Caused Skin Damages in SKH-1 Hairless Mice Via a Decrease in Thymine Dimmer Positive Cells and an Up-Regulation of p53-p21/Cip 1 in Epidermis, Carcinogenesis, 25 (2004) 1459-1465
41. S. Mantena, S. Katiyar, Grape Seed Proanthocyanidins Inhibit UV-Radiation-Induced Oxidative Stress and Activation of MAPK and NF-κappaB Signaling in Human Epidermal Keratinocytes, Free Radic Biol Med 40 (2006) 1603-1614
42. K. Chidambar, G. Jayaprakasha, R. Singh, Studies on Antioxidant Activity of Pomegranate (Punica granatum) Peel Extract Using in Vivo Models, J Agric Food Chem, 50 (2000) 4791-4795
43. X. Wang, A Theory for the Mechanism of Action of the Alpha Hydroxy Acids Applied to the Skin, Med Hypotheses, 53(1999) 380-382
44. C. Rebecca et al., α-Hidroxy Acid-Based Cosmetic Procedures, Journal of Clinical Dermatology, 2 (2000) 81-88
45. S. Badreshia-Bansal, Z. Draelos, Insight Into Skin Lightening Cosmeceuticals for Women of Color, Journal of Drugs Dermatology, 6 (2007) 32-39

46. P. Morganti, Use and Potencial of Nanotechnology in Cosmetic Dermatology, *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 3 (2010) 5-13
47. H. Müller, W. Mehnert; B. Souto, Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC) for Dermal Delivery, *Percutaneous Absorption*, (2005) 719-738.
48. B. Souto, C. Keck, H. Müller, Technology of Lipid Nanoparticles (SLN, NLC) as Nanocarriers for Skin Applications: Properties, Production & Cosmetic Formulations. Nova Science Publishers, 3 (2010) 1-23.
49. B. Souto, H. Müller, Cosmetic features and Applications of Lipid Nanoparticles (SLN, NLC). *International Journal of Cosmetic Science*, 30 (2008) 157-165.
50. B. Souto, H. Müller, Challenging Cosmetics – Solid Lipid Nanoparticles (SLN) and Nanostructured Lipid Carriers (NLC). *Skin Delivery Systems*, 13 (2005) 230-250.
51. H. Müller, A. Hommos, J. Pardeike, et al., Lipid Nanoparticles (NLC) as Novel Carrier for Cosmetics—Special Features & State of Commercialisation. *SÖFW-J*, (2007) 40–46
52. C. Schmaltz, J. Santos, S. Guterres, Nanocápsulas Como uma Tendência Promissora na Área Cosmética: A Imensa Potencialidade deste Pequeno Grande Recurso, *Infarma*, 16 (2005) 80-85
53. C. Keck, H. Muller, Drug Nanocrystals of Poorly Soluble Drugs Produced by High Pressure Homogenization, *European Journal of Pharmacy and Biopharmacy*, 62, (2006) 3-16
54. R. Harris et al., Chitosan Nanoparticles and Microspheres for the encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*, *Carbohydrate Polymers*, 84 (2011) 803-806
55. D. Kim et al., Retinol-Encapsulated Low Molecular Water-Soluble Chitosan Nanoparticles, *International Journal of Pharmaceutics* 319 (2006) 130-138
56. S. Arayachukeat et al., Retinyl Acetate-Loaded Nanoparticles: Dermal Penetration and Release of the Retinyl Acetate, *International Journal of Pharmaceutics*, 404 (2011) 281–288
57. N. Gupta, V. Dixit, Development and Evaluation of Vesicular System for Curcumin Delivery, *Arch Dermatology Research*, 303 (2011) 89-101
58. C. Kaur, S. Saraf, Vesicular Herbal Formulations Improving Skin Properties, *Journal of Cosmetic Dermatology*, 10 (2011) 260-265
59. A. Manosroi et al., Transdermal Absorption Enhancement of Gel Containing Elastic Niosomes Loaded With Gallic Acid From *Terminalia chebula* galls, *Pharmaceutical Biology*, 49 (2011) 553-562
60. A. Manosroi et al., Transdermal Absorption Enhancement of Rice Bran Bioactive Compounds Entrapped in Niosomes, *AAPS PharmSciTech*, 13 (2012) 323-334

61. P. Campos et al., Efficacy of Cosmetic Formulations Containing Dispersion of Liposome with Magnesium Ascorbyl Phosphate, Alpha-Lipoic Acid and Kinetin, *Photochemistry and Photobiology*, 88 (2012) 748-752
62. K. Kang et al., Influence of Liposome Type and Skin Model on Skin Permeation and Accumulation Properties of Genistein, *Journal of Dispersion Science and Technology*, 31 (2010) 1061-1066
63. L. Al Shaal et al., Production and Characterization of Antioxidant Apigenin Nanocrystals as a Novel UV Skin Protective Formulation, *International Journal of Pharmaceutics* 420 (2011) 133– 140
64. N. Liu; H. Park, Chitosan –Coated Nanoliposome as Vitamin E Carrier, *Journal of Microencapsulation*, 26 (2009) 235–242
65. Z. Wang , C. Liu, E. Han, et al. ,Effect of ZnO Nanoparticles on Anti-Aging Properties of Polyurethane Coating. *Chinese Sci Bull*, 54 (2009) 3464—3472
66. E. Farboud, S. Nasrollahi, Z. Tabbakhi, Novel Formulation and Evaluation of a Q10-Loaded Solid Lipid Nanoparticle Cream: In Vitro and In Vivo Studies, *International Journal of Nanomedicine*, 6 (2011) 611-617