MARINE JUVENIUM

AS VERDADEIRAS THALASPHERAS DE VITAMINA C

BIOVITAL

LITERATURA CIENTÍFICA

INCI Name (CAS): *Water (7732-18-5), Butylene Glycol (107-88-0), Magnesium Ascorbyl Phosphate (114040-31-2), propylene glycol (57-55-6), Xanthan Gum (11138-66-2), Polysorbate 20, Atelocollagen (9007-34-5), Sodium Chondroithin Sulfate (-), Ethylparaben (120-47-8), Methylparaben (99-76-3), Propylparaben (94-13-3).*

Introdução
Especializada na concepção, desenvolvimento e fabricação de ativos e vetores, com base em materiais biológicos, a BASF Beauty Care Solutions pode propor, hoje, uma gama muito ampla de opções para a otimização de ativos cosméticos.

Independentemente dos recursos e particularidades inerentes a cada tipo de vetor descritos detalhadamente nas páginas a seguir, o princípio básico do encapsulamento de origem vegetal permanece o mesmo do encapsulamento colagênico.

De fato, consiste em envolver ativos cosméticos em uma matriz de polissacarídeos reticulados, de modo a protegê-los de incompatibilidades ou agressão externa (oxidação, ingredientes de formulação...) e, de acordo com o tamanho desses reservatórios, para ajudar esse ativo a agir com mais eficiência por um longo período de tempo na pele.

A vetorização é o meio mais eficaz de prolongar a integridade estrutural dos ingredientes ativos nos cosméticos. Mais e mais profissionais estão começando a entender essa realidade. No entanto, quando confrontado com a ampla gama de vetores cosméticos disponíveis, é importante selecionar um vetor que atenda aos padrões de qualidade extremamente rigorosos.

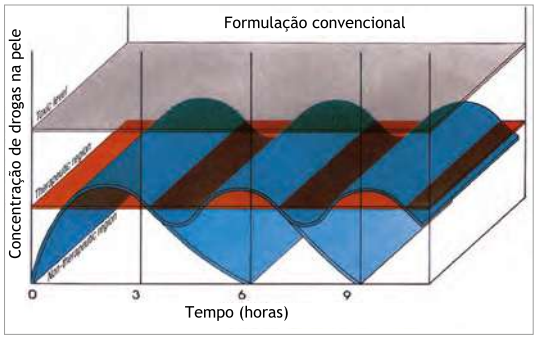
Nesse campo, a qualidade pode ser resumida em cinco objetivos:
- A separação perfeita do ingrediente do restante da formulação,
- A biocompatibilidade total do vetor e seus subprodutos,
- A biodegradabilidade da matéria-prima usada para encapsular os ingredientes ativos,
- A estabilidade dos compostos ativos encapsulados,
- Um agradável efeito cosmético.

O polímero usado para o processo de microencapsulação é mais frequentemente um polímero sintético para aplicações farmacêuticas (policianoacrilato, poliestireno ...) e, nesse caso, a dessorção física é a principal explicação para o efeito DDS observado com esse tipo de vetores.

A originalidade da BASF Beauty Care Solutions era selecionar polímeros no setor de biopolímeros naturais, de modo a basear o efeito DDS na biodegradabilidade do polímero usado para realizar o encapsulamento.

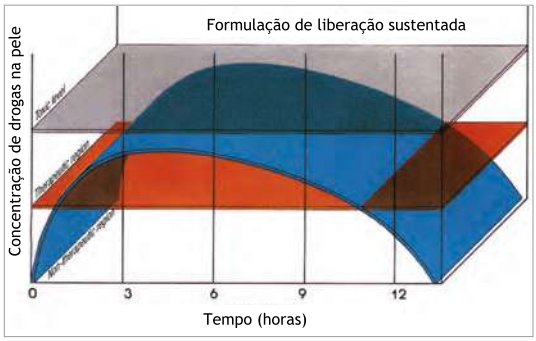
Esses biopolímeros são extraídos e intensivamente purificados: são proteicos (colágeno marinho, por exemplo) e polissacarídicos (glicosaminoglicanos marinhos, por exemplo).

Biovetores
Qual é o conceito do sistema de administração de medicamentos?
Quando uma substância ativa deve ser utilizada na pele com um objetivo "terapêutico", a primeira maneira de obter um efeito contínuo é: repetir doses, para ter séries de curtos períodos ativos.



Exemplo: uma formulação convencional com uma vida útil de cerca de 6 horas tem apenas 2 horas de efeito terapêutico (acima do limite da região terapêutica, no diagrama, entre a primeira e a terceira hora). Consequentemente, para obter uma atividade relativamente constante, a dosagem deve ser repetida pelo menos a cada três horas.

Um segundo método consiste na escolha de um biovetor capaz de conferir uma atividade mais duradoura ao composto terapêutico. A qualidade do medicamento é importante, mas o biovetor usado para liberar a substância ativa será determinante no sucesso do tratamento.



Exemplo: o mesmo produto, normalmente ativo por seis horas, fica ativo por cerca de 13 horas e o período terapêutico atinge nove horas (versus duas horas usando uma formulação convencional).

O "BIO-DDS", um conceito da BASF Beauty Care Solutions
BIO-DDS = sistema de administração de medicamentos bioquimicamente controlado

Com base em mais de treze patentes internacionais, nossos laboratórios desenvolveram uma experiência em encapsulamento, melhorando a eficiência em compostos ativos, por:

- protegendo-o do ambiente até sua aplicação na pele (partição que o isola de outros ingredientes ativos da preparação),
- melhorando sua estabilização na epiderme e liberando-o progressivamente no corpo.

Quando essas microesferas ou microcápsulas são pequenas o suficiente (diâmetro abaixo de 100 µm), elas não podem se abrir durante a aplicação, e outro mecanismo deve explicar a abertura de sua estrutura e a liberação de compostos ativos encapsulantes.

Estrutura da vitamina C-PMg encapsulada no Marine Juvenium para um efeito Bio-DDS:
Nesse caso, cerca de 20 a 80 mícrons de microesferas retêm a vitamina C-PMg. As microesferas contêm quase 20% de vitamina C-PMg, embrulhadas em uma fina matriz natural e resistente.

Essa matriz será quebrada sob hidrólise enzimática, liberando lentamente o conteúdo das esferas, com um efeito duradouro diretamente gerenciado pela pele.

Conceito "Sistema de Entrega de Biodrogas"
Composto de colágeno marinho e glicosaminoglicanos marinhos, o Marine Juvenium desenvolvido pela BASF Beauty Care Solutions é lentamente biodegradável por ação conjugada da pele e de proteases microbianas.

Essa biodegradação só pode ocorrer na superfície da pele, após a aplicação da formulação.

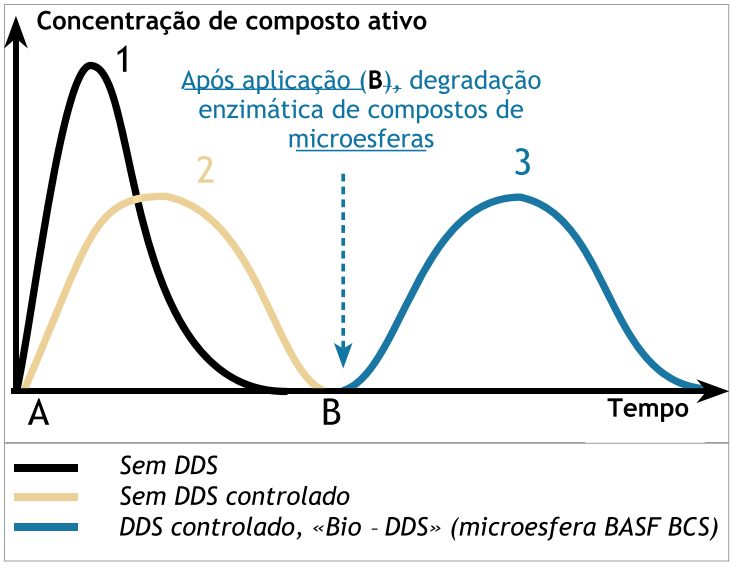
O efeito imediato é uma degradação programada da estrutura da microesfera e também uma liberação programada do composto ativo encapsulado:

Nasce o conceito Bio-DDS.

O conceito Bio-DDS: Exclusividade da BASF Beauty Care Solutions para cosmetologia.
As medições padrão do Sistema de Entrega de Medicamentos geralmente são realizadas in vitro e são baseadas em medições de difusão, realizadas com dispositivos de difusão (células Franz).

Com esse equipamento, é possível mostrar, de maneira muito estética, a diferença entre o composto ativo livre (curva 1) e os compostos ativos encapsulados/retidos (curva 2). Um efeito de liberação sustentada é a diferença entre as duas curvas.

A desvantagem dessa técnica é a pouca descrição do que realmente ocorre nas observações in vivo. De fato, esse DDS é baseado apenas em observações de difusão e essa difusão não pode ser controlada. Essa difusão ocorrerá com o tempo, onde quer que o composto ativo encapsulado esteja: ainda na formulação e não esteja aplicado na pele. Por exemplo, se B representa o tempo de aplicação da pele, nenhum efeito DDS é observado nas formulações 1 ou 2.



Pelo contrário, a formulação 3 (curva 3) necessita, após aplicação na pele, de uma degradação enzimática das microesferas, para liberar todos os compostos ativos encapsulados.

Esse efeito DDS, bioquimicamente controlado por hidrólise enzimática, deu origem ao conceito "BIO-DDS" da BASF Beauty Care Solutions...

Materiais e Métodos
A celeridade e a intensidade da penetração percutânea foram comparadas, para uma solução contendo somente vitamina C-PMg (forma livre), a outra contendo vitamina C-PMg encapsulada (Marine Juvenium), e o objetivo era determinar as alterações farmacocinéticas para diferentes formas de vitamina C-PMg.

Foram realizadas preparações contendo quantidades equivalentes de vitamina CPMg, com vitamina C livre ou encapsulada. Todos os parâmetros destas diferentes soluções foram mantidos idênticos, especialmente o pH (estabilizado em um valor de 5,0). Uma terceira preparação contendo soro fisiológico foi usada como controle negativo. As células de difusão foram preparadas para cada preparação, utilizando uma biópsia de pele ventral de rato sem pelos. A temperatura das células foi estabilizada a 32°C (temperatura cutânea média), por 16 horas. O soro fisiológico foi utilizado para as câmaras doadora e receptora (figura oposta).

Após a renovação fisiológica do soro, o experimento começou com o preenchimento de câmaras doadoras com preparações. A medição da quantidade de composto ativo que passou completamente pela biópsia permite avaliar a aptidão do produto para penetrar nas camadas profundas da pele. O estudo é realizado a cada medida (0, 2, 5, 9, 24, 32 e 48 horas) ("DIFUSÃO") (figura 1). Após o estudo de difusão, o composto ativo é descartado, a biópsia é lavada e a solução tampão é renovada. A quantidade de vitamina C-PMg liberada no buffer em 24 horas sublinha a capacidade da pele de reter temporariamente esse composto ativo. ("ARMAZENAMENTO") (figura 2).

As amostras foram então analisadas sob luz UV a 299 nm. Os valores de densidade óptica foram modificados de acordo com os valores obtidos pelo controle negativo. As curvas de calibração foram realizadas para soluções de vitamina C-PMg em pH 5,0 e Marine Juvenium em pH 5,0, essas curvas permitindo determinar quantidades de vitamina C-PMg recuperada em cada amostra. Os resultados são relatados nos gráficos a seguir. Para cada preparação estudada, os valores são médias dos resultados obtidos.

Aumento do efeito reservatório do composto ativo da pele

Objetivo
Um estudo utilizando uma célula de difusão (célula de Franz) foi realizado para avaliar a capacidade da tecnologia de encapsulamento de reduzir a taxa de penetração da vitamina C-PMg ou Marine Juvenium.

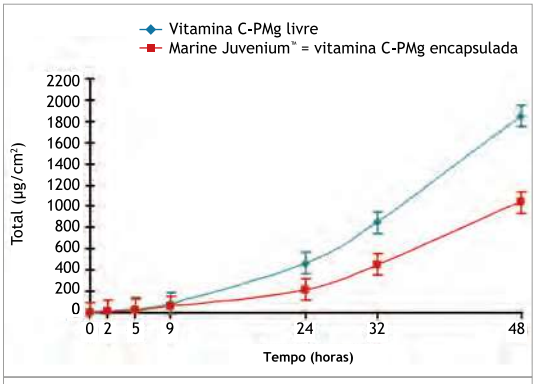


Figura 1: Penetração da vitamina C-PMg

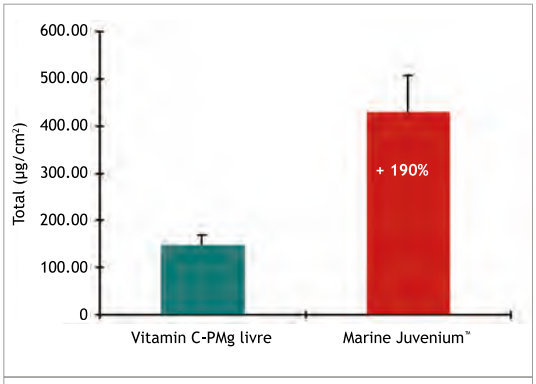


Figura 2: Armazenamento de vitamina C-PNg livre e encapsulada

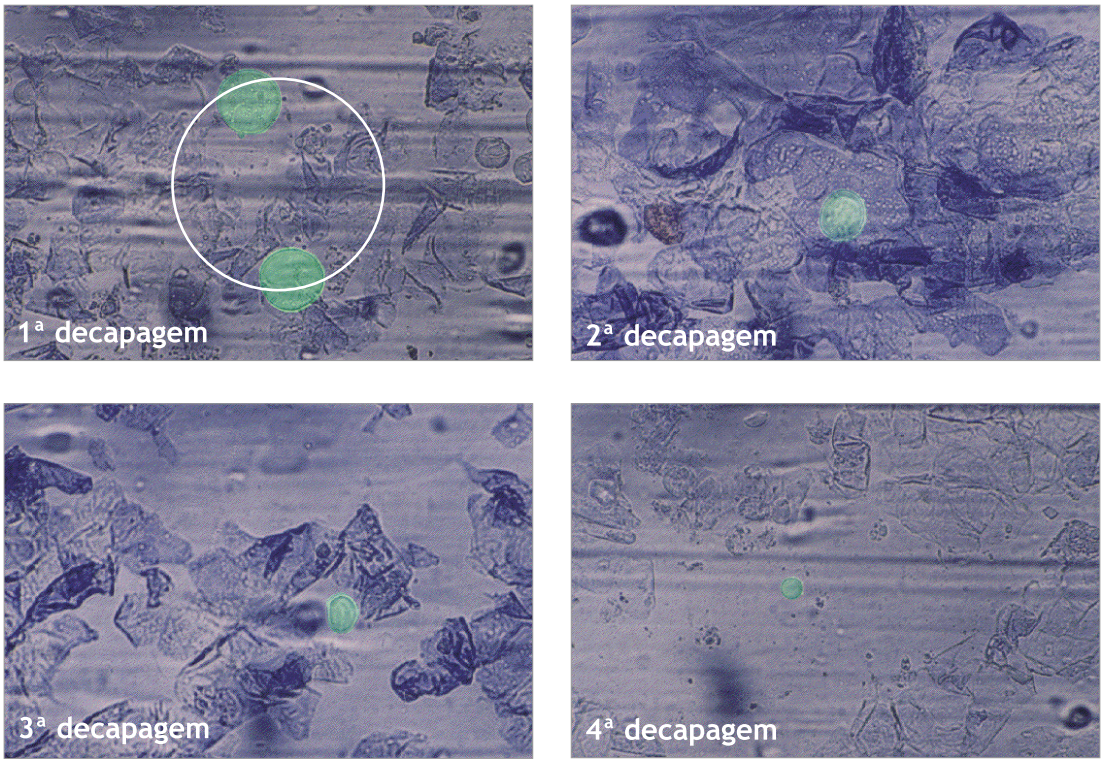
Quando a vitamina C-PMg é aplicada no mesmo pH (5,0) e na mesma quantidade, a penetração total após 48 horas de contato diminui em cerca de 45% com o Marine Juvenium.

Conclusão
Quando a vitamina C-PMg é encapsulada, com o Marine Juvenium™, a capacidade de armazenamento das camadas superiores da pele aumenta em cerca de 190% do que se usada em forma livre. O encapsulamento permite retardar a penetração da vitamina C-PMg, e o efeito de armazenamento na pele é amplamente melhorado, o que permite prever um melhor uso da vitamina C-PMg pelos tecidos cutâneos.

Comportamento *in vivo*
Penetração nas camadas superiores da epiderme

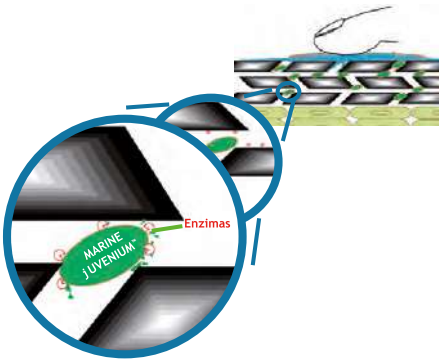
O exame de decapagem por microscopia óptica mostra como as microesferas aplicadas na superfície da pele se comportarão e permite avaliar se elas mantêm sua integridade nas primeiras camadas do *Stratum corneum*. O experimento é realizado com microesferas de tamanho de 25 µm dispersas em um gel de carbômero a uma concentração de 10%. Microesferas não danificadas podem ser observadas mesmo na sexta remoção.

Esta observação mostra que o revestimento proteico marinho permite que as microesferas mantenham sua integridade e suas propriedades durante toda a penetração nas camadas superiores da pele.



Liberação enzimática de compostos ativos: Princípio

As esferas de vitamina C-PMg penetram nas diferentes camadas da pele, elas estabilizam no Stratum corneum. A natureza colagênica das esferas de vitamina C-PMg garante que esses vetores se liguem perfeitamente à superfície da proteína da camada insensível da pele. Além disso, esses biovetores são pequenos o suficiente para permitir sua integração nas diferentes camadas do Stratum corneum. A contagem bacteriana por metro quadrado foi investigada em vários estudos e, embora variações significativas possam ser observadas dependendo da parte do corpo estudada e do sexo do sujeito, as contagens são sempre altas. Um estudo de R. MARPLES (1) relata contagens médias de 710 a 3-900-000 bactérias por cm2 em diferentes partes do corpo, incluindo a testa e o nariz. Em outro estudo, S.GIOGILLI e colaboradores (2) relataram uma contagem média em antebraços de 14.000 a 87-000 bactérias por cm2, dependendo do tipo de pele. Esta flora bacteriana enzimaticamente rica está em constante atividade, combatendo lipídios da pele que são renovados por *In vivo*, uma importante flora bacteriana está presente na pele humana.



Materiais e Métodos

As microesferas de colágeno marinho (1 g) são incubadas a 37°C com várias soluções enzimáticas (1 ml) a pH entre 5,0 e 7,0 de acordo com o pH ideal de cada enzima enzimática avaliada. A observação é realizada várias vezes a cada 24 horas com um microscópio óptico armado com uma câmera. A evolução do hidrólise enzimático é definida pelos seguintes sinais:

- = Sem hidrólise
+ = Início da hidrólise
++ = Hidrólise avançada
+++ = Hidrólise total

Liberação enzimática de compostos ativos: demonstração

Hidrólise enzimática

Em geral, as enzimas da pele são secretadas pelos queratinócitos, em particular durante o processo de descamação, também são proporcionadas pela considerável flora microbiana na superfície da epiderme (3), ou são secretadas em camadas mais profundas da derme por fibroblastos. Como exemplo, podemos mencionar as duas enzimas mais frequentemente encontradas no Stratum corneum:

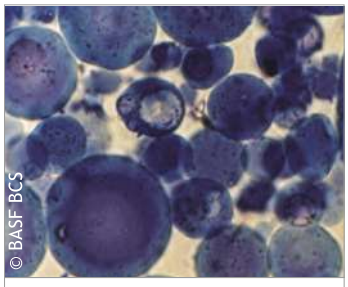
1. Enzima Tríptica do Stratum Corneum (SCTE), serina protease característica de descamação (4),
2. Enzima Quimotrópica do Stratum Corneum (SCCE), outra serina protease característica de descamação (5).

Objetivo

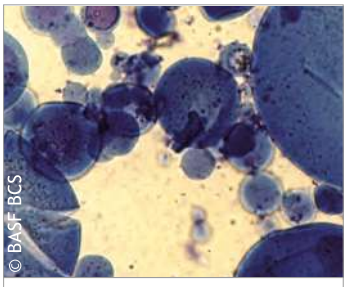
O objetivo do estudo é demonstrar que inúmeras atividades enzimáticas são suscetíveis de degradar a membrana de nossas microesferas marinhas; de fato, as proteínas constitutivas de nossas esferas e cápsulas são sensíveis à atividade protéica de várias enzimas, cutâneas e bacterianas, garantindo uma biodegradabilidade, qualquer que seja o tipo de pele.

Resultados - Conclusão

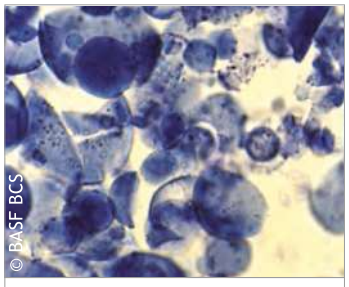
Controle visual da degradação das microesferas de colágeno marinho encapsulando um composto ativo hidrossolúvel na presença de enzimas.



Início do experimento



T = 1 hora



T = 3 horas

Enzima testada	*(Origem)*	Microesfera à base de colágeno marinho	Atividade enzimática presente naturalmente na epiderme
Catepsina D	*(Bovine spleen)*	+++	SIM
Catespina B	*(Bovine spleen)*	+	SIM
Tripsina	*(Bovine pancras)*	+++	SIM
Quimotripsina	*(Bovine pancras)*	+++	SIM
Endoproteinase	*(Staphyl. aureus)*	+	SIM
Nenhuma protease específica	*(Streptomyces griseus)*	+++	SIM
Protease de termolisina	*(Bacil. thermoproteolyticus)*	+++	SIM

Numerosas atividades enzimáticas são suscetíveis a degradar a membrana das microesferas de colágeno marinho, o que permite uma liberação duradoura de compostos ativos.

Materiais e Métodos

No presente experimento, a pele dorsal de ratos (machos WISTAR) foi tratada com uma emulsão de água em óleo, usando óleo de vaselina viscoso como fase oleosa e qualquer uma das seguintes soluções como fase aquosa:

- Mistura de colágeno/glicosaminoglicano contendo ácido paraaminobenzóico radioativo (PABA)
- Microesferas de colágeno contendo PABA (tamanho médio: 50 µm)

Após a aplicação dos produtos testados em uma superfície constante, a liberação do PABA foi monitorada através da medição da radioatividade encontrada nos urinóis coletados diariamente de cada animal. Para cada uma das duas soluções acima, dois ratos foram tratados com 0,3 g de emulsão, mostrando radioatividade específica próxima a 3 106 cpm/g para a solução de colágeno/glicosaminoglicana e para as microesferas de colágeno.

Testes de objetivação: liberação *in vivo* de uma substância encapsulada

Os resultados mais convincentes dos testes de objetivação obtidos com os biovetores são inegavelmente aqueles relacionados à modificação in vivo da distribuição de compostos ativos, no que diz respeito ao espaço e ao tempo. Essa modificação pode estar relacionada ao tamanho dos biovetores, permitindo que sejam transportados especificamente para certas partes do corpo (sistema reticuloendotelial, tecido hepático), mas também pode estar relacionada ao papel de reservatórios reais que poderiam ser realmente desempenhados por biovetores.

No último caso, a liberação sustentada do composto ativo pode aumentar a biodisponibilidade do composto ativo, aumentar a assimilação e permitir uma excreção mais progressiva dos produtos metabolizados.

O estudo comparativo descrito nos permitiu avaliar a presença e a intensidade do efeito BIO-DDS obtido com as microesferas de colágeno da BASF Beauty Care Solutions. Este método pode ser adaptado ao BASF Beauty Care Solutions Vectorized 7-DHC.

Resultados

Após a aplicação do composto radioativo, encapsulado ou não, a radioatividade foi medida todos os dias nas urinas de ratos. A Figura 3 mostra as curvas obtidas plotando as mudanças na radioatividade em tempo real.

Os valores mostrados neste gráfico representam a radioatividade medida nas urinas com referência à radioatividade total encontrada nas urinas e na pele. Essa radioatividade total foi avaliada após 17 dias de medições e após o sacrifício dos animais.

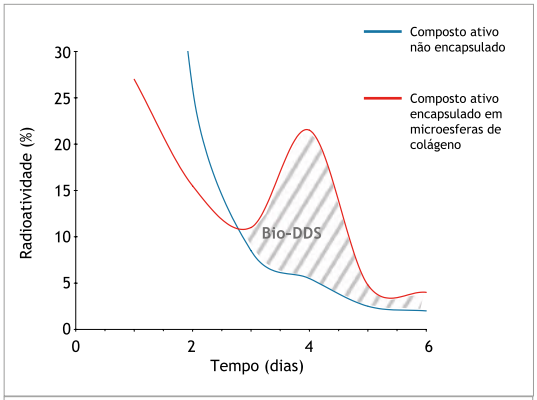


Figura 3: Composto ativo encontrado na urina vs tempo
(% da radioatividade total recuperada na pele e na urina)

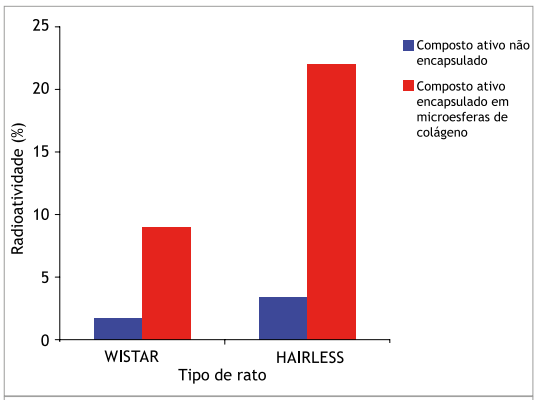


Figura 4: Radioatividade encontrada na pele de ratos após 17 dias
(% da radioatividade total recuperada na pele e na urina)

A Figura 3 mostra o efeito de liberação sustentada das microesferas de colágeno na liberação do PABA. A alta taxa de relocação observada com a solução de colágeno/glicosaminoglicano durante os primeiros dias do experimento é diminuída nas microesferas de colágeno. O PABA é excretado muito mais lentamente quando encapsulado em microesferas de colágeno.

17 dias após o tratamento, os ratos foram abatidos, os adesivos de pele testados foram hidrolisados e a sua radioatividade testada. Nossos resultados são mostrados na Figura 4. Eles mostram que a radioatividade nos tecidos da pele é baixa (perto de 4%) quando o PABA não está encapsulado e muito maior (quase 10%) quando são utilizadas microesferas de colágeno.

Essa diferença acentuada foi bastante confirmada em outro experimento, em que ratos machos sem pelos foram usados para o mesmo tipo de experimento.

Conclusões

- A taxa de excreção da radioatividade encontrada nas urinas estava diretamente relacionada à taxa de absorção cutânea; qualquer atraso na excreção pode, portanto, ser considerado como um efeito da capacidade de liberação sustentada das esferas que contêm o elemento radioativo. Este efeito de liberação retardada ou Bio-DDS observado in vivo no rato é bem marcado usando microesferas de colágeno de 50 µm de tamanho.
- A radioatividade medida nos tecidos da pele após a aplicação de um elemento radioativo, encapsulado ou não, é uma medida da biodisponibilidade desse elemento, isto é, sua capacidade de ser usada no sistema metabólico da pele. Após a aplicação de uma dose excessiva de PABA, a excreção é muito rápida, porque os tecidos da pele podem aceitar apenas uma pequena fração do elemento aplicado. Ao usar microesferas de colágeno, a liberação progressiva de PABA é observada e, portanto, maiores quantidades de PABA podem ser metabolizadas pelos tecidos da pele.

Portanto, quando o tamanho das esferas é pequeno o suficiente para impedir sua ruptura quando aplicado (diâmetro menor que 100 µm), as microesferas de colágeno tornam possível melhorar a biodisponibilidade de compostos cosméticos e atingir o objetivo do efeito Bio-DDS.

Vitamina C

Ácido l-ascórbico é uma vitamina - um elemento vital nas dietas - porque não é sintetizada naturalmente pelo corpo humano. Geralmente é chamado de vitamina C e tem sido amplamente utilizado para combater o escorbuto.

O escorbuto é causado por uma dieta carente de legumes frescos. Os principais sintomas desta doença são a degeneração do tecido conjuntivo devido à falta de síntese de colágeno.

Na pele, isso leva à cicatrização defeituosa da ferida e em outros locais a fraturas ósseas e hemorragia espontânea.

Uma deficiência menos grave de vitamina C induz modificações na estrutura dos tecidos conjuntivos e pode diminuir a resistência do corpo humano a algumas infecções.

A vitamina C é um fator no metabolismo do ácido fólico e na biossíntese de colágeno e flucocorticosteróides. É amplamente utilizado na medicina para combater infecções e alergias.

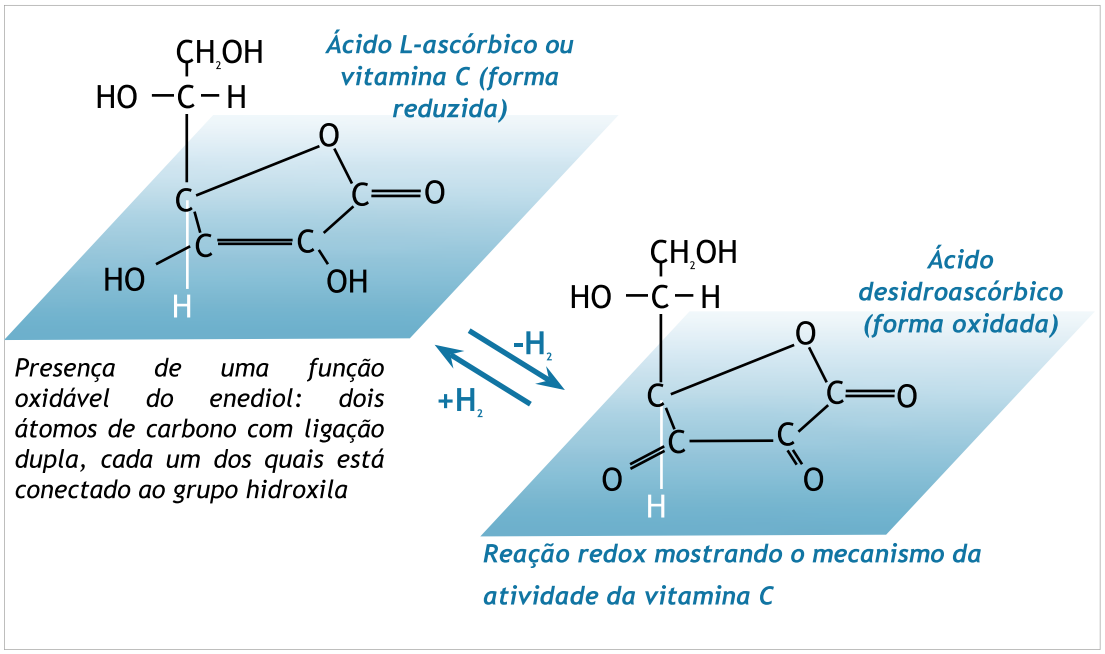
A vitamina C é solúvel em água. Na sua forma reduzida, em combinação com seu derivado oxidado - ácido desidroascórbico - é um reagente nas reações redox.

Quando usada na pele, a vitamina C:

- tem um efeito luminosidade, previne e atenua manchas marrons,
- desenvolve uma atividade anti-radical eliminando radicais livres derivados de oxigênio,
- previne os danos causados pela radiação ultravioleta,
- estimula a síntese de colágeno.

No entanto, em sua forma normal, este composto altamente eficaz não pode ser usado em cosméticos. Isso ocorre porque as moléculas de vitamina C são solúveis em água - o que impede que sejam absorvidas pela pele.

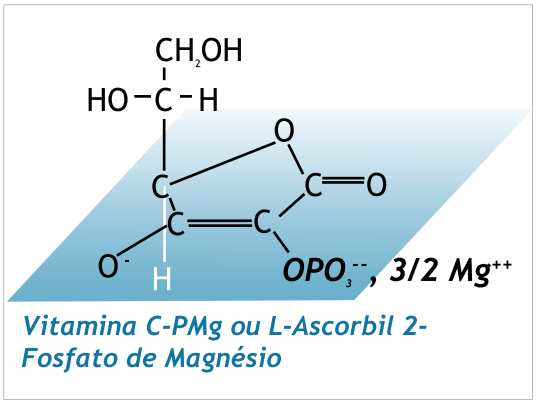
Por ser um poderoso agente redutor, não pode ser utilizado em formulações cosméticas, pois sua rápida oxidação gera derivados e gases inertes e coloridos. Para ampliar o campo de aplicação da vitamina C, uma gama de derivados do ácido L-ascórbico foi sintetizada. O derivado mais adequado para uso em cosméticos é o L-ascorbil 2-fosfato de magnésio.



Vitamina C, nutriente indispensável, é encontrado em vegetais e frutas frescas, particularmente tomates, frutas cítricas, kiwis, salsa.

Vitamina C-PMg: 2-Fosfato de magnésio e L-ascorbilo
Interesse cosmético:

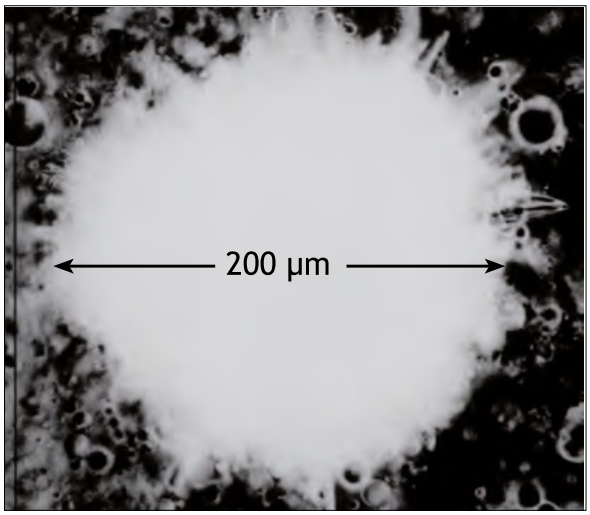
- em comparação com o ácido ascórbico, é uma molécula estabilizada,
- em meio aquoso, sua solubilidade é boa,
- é facilmente absorvido pela pele,
- as fosfatases cutâneas reagem com as moléculas para liberar vitamina C que a pele pode usar.



Ao usar esse derivado, as preparações cosméticas podem aproveitar algumas das atividades biológicas bem conhecidas da vitamina C. No entanto, a molécula de vitamina C-PMg não tem ação redutora e essa propriedade é necessária para classificar algumas das funções biológicas da vitamina C. É, de fato, uma "pró-vitamina-C" que deve ser convertida em uma forma biologicamente ativa.

Conversão de 2-fosfato de magnésio L-ascorbil em ácido L-ascórbico
A pele contém fosfatases ácidas que hidrolisam a vitamina C-PMg, liberando assim o ácido Lascórbico nos tecidos da pele. Foi demonstrado que a aplicação de vitamina CPMg na pele de porquinhos da índia com deficiência de vitamina C cura o escorbuto. No entanto, o uso de vitamina C-PMg em preparações cosméticas é frequentemente problemático, pois perturba um grande número de ingredientes cosméticos.

Na faixa de valores cosméticos de pH, a vitamina C-PMg tem uma tendência a precipitar e formar cristais em forma de estrela extremamente duros, que podem atingir vários mícrons com uma "sensação de pele" que não é compatível com produtos cosméticos. Esse problema é particularmente crítico em aplicações de clareamento, possivelmente exigindo concentrações de até 3%.



Em alta concentração, a vitamina C-PMg precipita e forma cristais em forma de estrela muito duros.

Encapsular vitamina C-PMg é uma extensão particularmente significativa da vitamina C e abre caminho para um campo muito mais amplo de aplicações e inovações em cosméticos.

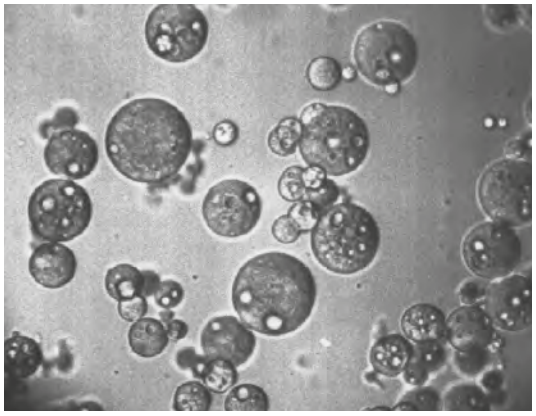
Propriedades
Encapsulamento da vitamina C-PMg nas esferas colagênicas tem grandes benefícios:

Ao preparar formulações:
- A supressão das interações da vitamina C-PMg com outros ingredientes da fórmula facilita a preparação,
- A estabilidade da vitamina C-PMg é aprimorada por:

1. protecção da molécula completa do ambiente (agentes oxidantes em particular),
2. interações com os polímeros biológicos, o que diminui os riscos de hidrólise.

- Fórmulas estáveis com valor de pH adequado para aplicações cosméticas (pH de 5 a 6) e altas concentrações de vitamina C-PMg (de aproximadamente 3%),
- Maior resistência das formulações a fatores de degradação (calor, luz, ar...) afetando a molécula de vitamina C-PMg altamente sensível.

Para atividade:
- Liberação progressiva ao longo do tempo, garantindo uma extensão da vida efetiva do ingrediente ativo e, portanto, otimizando sua atividade: para uma dada concentração, o ingrediente ativo encapsulado tem um efeito maior que um ingrediente ativo livre à medida que sua biodisponibilidade é aumentada.



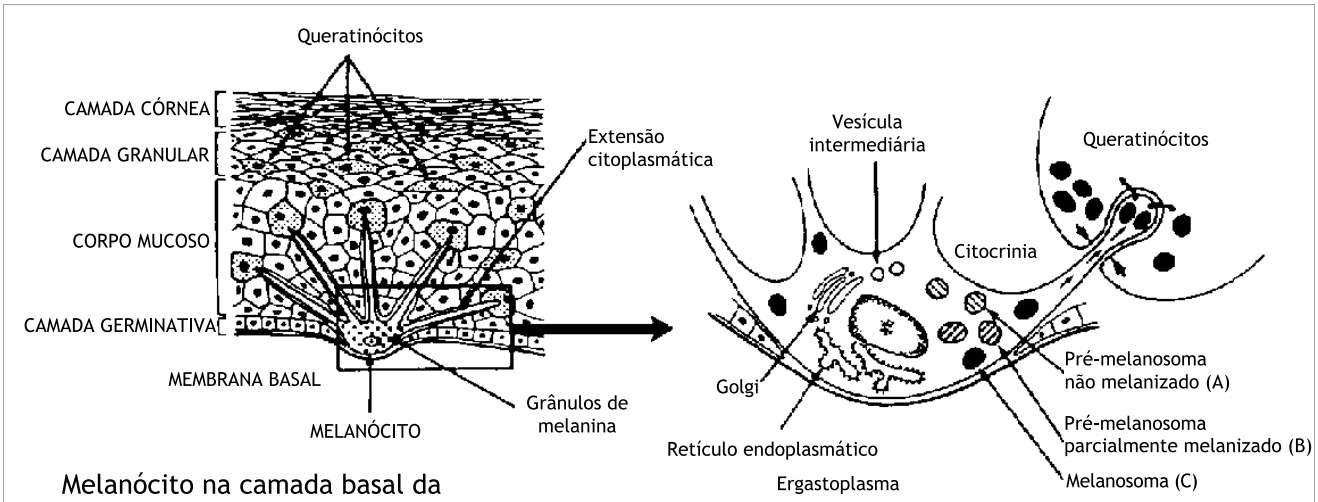
Encapsular a vitamina C-PMg em microesferas biodegradáveis amplia as possibilidades de aplicações cosméticas desse ingrediente ativo altamente eficaz.

Aplicação cosmética
O encapsulamento de vitamina C-PMg em microesferas marinhas (Marine Juvenium™) é um conceito inovador nascido da pesquisa da BASF Beauty Care Solutions. Este novo conceito permite que os tecidos cutâneos se beneficiem do efeito indispensável do ácido ascórbico.

O uso do Marine Juvenium em fórmulas cosméticas é uma maneira particularmente significativa de combater os efeitos do envelhecimento:

- Redução de manchas marrons,
- Atividade anti-radical,
- Proteção solar,
- Prevenção e redução do aparecimento de rugas.

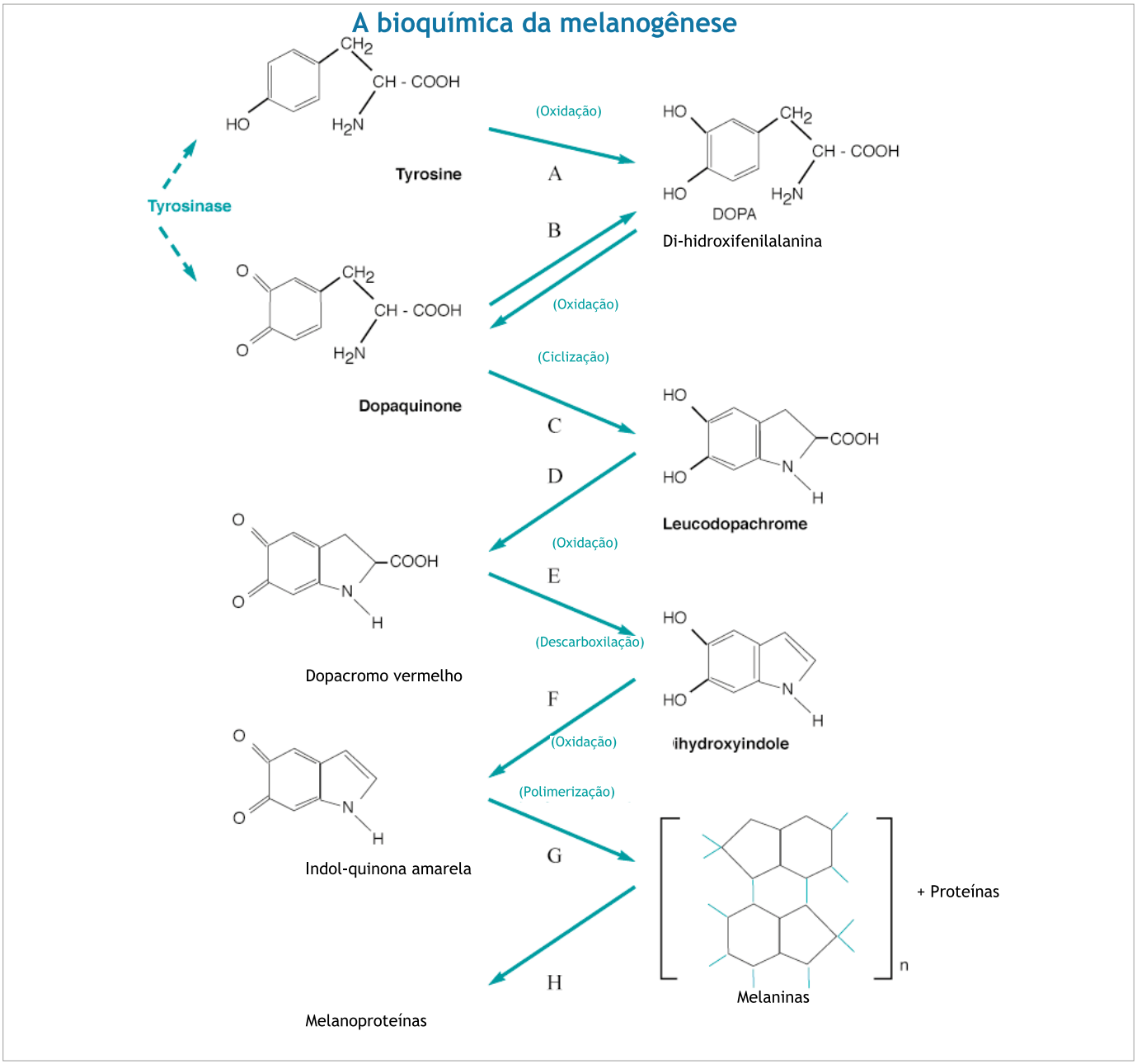
1) Efeito luminosidade
Processo de pigmentação
A pigmentação da pele é produzida pela melanina. O processo que cria a melanina é chamado de melanogênese. Isso ocorre dentro de uma glândula unicelular, ou seja, o melanócito. Esta célula produz melanossomas que contêm todo o equipamento necessário para produzir melanina. Os melanossomas são transportados pelos dendritos dos melanócitos para os queratinócitos da epiderme. A tirosinase desempenha um papel fundamental na melanogênese, pois é o catalisador da primeira fase de oxidação, convertendo a tirosina em DOPA (dihidroxifenilalanina) e depois a DOPA em dopaquinona.



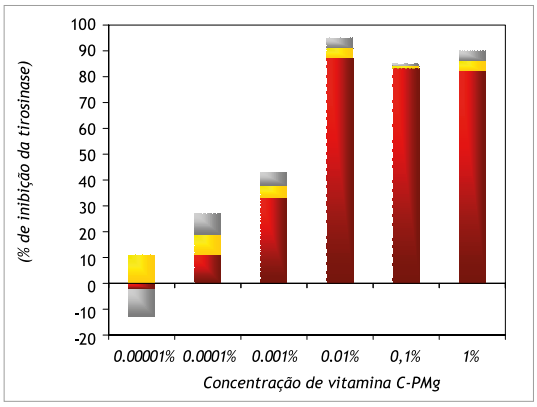
Melanócito na camada basal da epiderme com sua extensão em contato com queratinócitos adjacentes

Diferentes estruturas do melanócito implicadas na formação do melanosoma

Melanócitos e melanossomos (6)
As vesículas intermediárias contendo tirosinase transmitem seu conteúdo para as dilatações do retículo endoplasmático rugoso contendo as proteínas estruturais. Esta fase cria o premelanosoma (A). A melanização das plaquetas internas dos pré-melanosomas começa quando a tirosinase se torna ativa, levando a um premelanosoma parcialmente melanizado (B) e depois ao melanosoma (C). Os melanosomas são transferidos no queratinócito em contato com a extensão do melanócito.

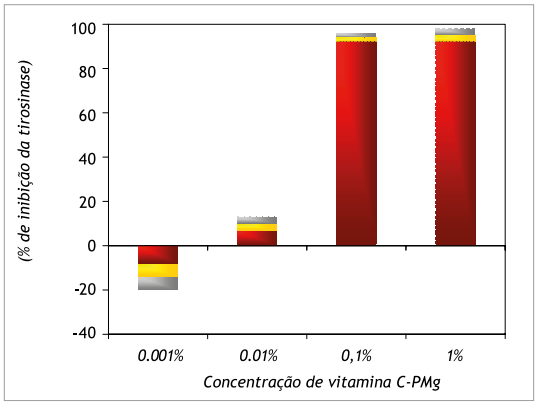


Inibição da atividade da tirosinase purificada



A quantidade de melanina sintetizada in vitro na presença de tirosina, DOPA e tirosinase purificada é medida em função da quantidade de vitamina C-PMg adicionada ao meio reativo. O gráfico ao lado demonstra o efeito inibidor pronunciado da vitamina C-PMg na atividade da tirosinase. Este efeito também ocorre em concentrações mais baixas - 0,001% da vitamina CPMg inibe 33 ± 5% da atividade da tirosinase.

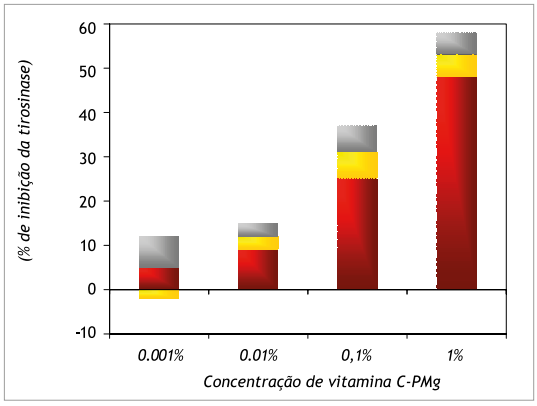
Inibição da atividade da tirosinase em extratos celulares de melanócitos de camundongos



Neste modelo experimental, a atividade da tirosinase também é inibida pela vitamina C-PMg. O fenômeno já observado para concentrações fracas (0,01%) atinge níveis elevados quando a concentração é aumentada: inibição de 92 ± 2% para uma concentração de vitamina C-PMg de 0,1%.

Inibição da atividade da tirosinase em extratos celulares de melanócitos humanos

Quando adicionado a culturas de células de melanócitos de origem humana, a vitamina C-PMg também inibe a atividade da tirosinase. O efeito observado é extremamente significativo porque atinge 48 ± 5% para uma concentração de vitamina C-PMg de 1%.



Em conclusão, os estudos realizados in vitro por Tagawa et al. (7) demonstram:

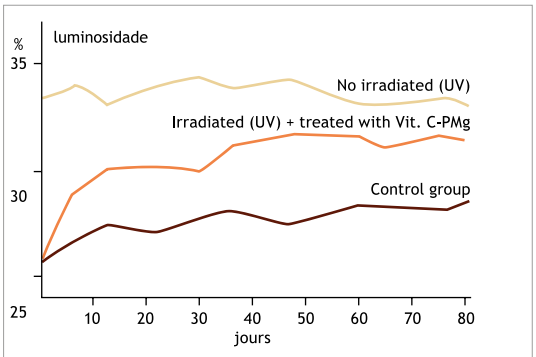
- os efeitos inibitórios da vitamina C-PMg na atividade da tirosinase, independentemente do modelo experimental considerado,
- a necessidade de uma quantidade maior de vitamina C-PMg para inibir a tirosinase presente nos extratos celulares e nas células cultivadas do que apenas na tirosinase purificada, indicando que os componentes celulares e as membranas celulares têm um efeito protetor em relação à tirosinase.

Efeito luminosidade

Muitos estudos in vivo demonstram a eficácia de cosméticos contendo derivados da vitamina C na supressão da pigmentação em casos como sardas, cloasma, manchas de envelhecimento, melanose de Riehl ... Em particular, os trabalhos de Takenouchi et al. (8,9) forneceram os seguintes resultados:

Pigmentação artificial

A aplicação de um produto contendo um derivado de vitamina C (uma vez por dia durante 80 dias) a voluntários submetidos à irradiação com UVA induziu perda gradual de pigmentação. Os resultados são mostrados no gráfico ao lado. Em comparação, a administração oral de 1000 a 2000 mg de ácido ascórbico por dia é menos eficaz na redução da pigmentação do que o tratamento tópico.



A luminosidade da pele é medida usando um fotômetro refletivo e expressa em porcentagem.

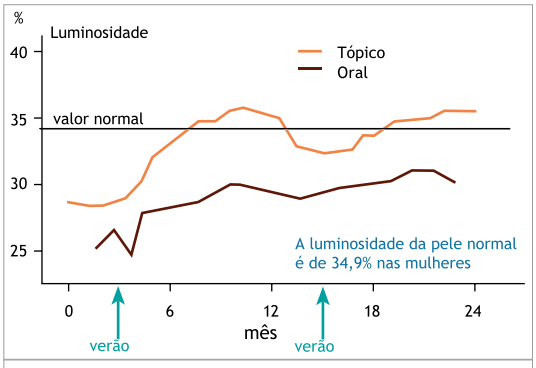
Outros tipos de pigmentação:

Cloasma

A figura abaixo mostra o efeito de redução de pigmentação observado após o tratamento, aplicando uma pomada que contém 3% de fosfato de magnésio ascor-byl (18 pacientes) ou ingestão oral de 1-000 a 2 000 mg de ácido ascórbico (22 pacientes). Este estudo mostra uma melhor eficiência no tratamento tópico do que no tratamento oral.

Melanose de Riehl

O mesmo tipo de estudo foi realizado em pacientes que sofrem de melanosas de Riehl. Os resultados do tratamento com vitamina C (aplicação tópica ou ingestão oral) podem ser comparados com os obtidos nos cloasmas, embora sejam ligeiramente menos eficazes na restauração da coloração normal da pele.



A diferença no brilho de um ponto pigmentado e de uma área adjacente normal é de 5%, isto é, um aumento de 5% na luminosidade corresponde à restauração da coloração normal da pele.

Materiais e Métodos

O efeito da preparação foi quantificado usando um estudo histoquímico da atividade da tirosinase na epiderme caudal após reação com L-DOPA.

Produtos testados

Três preparações foram testadas, contendo:

- 0,3% de vitamina C-PMg livre,
- 0,3% de vitamina C-PMg encapsulada em esféricas colagênicas,
- 3% de vitamina C-PMg livre.

Condições experimentais

A experiência foi realizada em camundongos machos C3H divididos em grupos de 10 animais.As aplicações das preparações e exposições aos raios UV foram aplicadas por 44 dias consecutivos na cauda. Após o período de tratamento, os animais foram sacrificados, a epiderme caudal foi removida e preparada para estudo histoquímico.

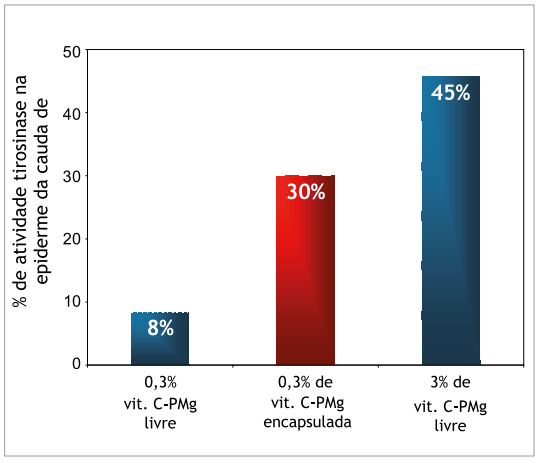
Efeito inibitório da vitamina C-PMg encapsulada na atividade da tirosinase

Objetivo

O método visa à determinação do efeito inibitório de preparações tópicas na epiderme da cauda, consecutivas à exposição à radiação UV, em camundongos pigmentados.

Resultados

O efeito das preparações é expresso como porcentagem de inibição da tirosinase (gráfico abaixo). Para preparações contendo 0,3% de vitamina CPMg, os resultados demonstram um efeito inibitório 4 vezes maior de vitamina C-PMg encapsulada (30%) em comparação com a forma livre (8,3%). As preparações contendo 3% de vitamina C-PMg livre não induzem um nível de inibição proporcional (45,8%). É de notar que a preparação é bastante difícil de formular quanto à formação de emulsão, sua estabilidade e riscos de irritação devido ao pH alcalino necessário.



Conclusão
O encapsulamento de vitamina C-PMg nas esferas da BASF Beauty Care Solutions é acompanhado por uma atividade altamente aumentada. Algumas hipóteses podem explicar esses resultados:

- o ingrediente ativo encapsulado, protegido na fórmula e na pele, mantém seu efeito máximo,
- as esferas constituem um veículo que mantém o ingrediente ativo no local das camadas epidérmicas superficiais, liberando-o continuamente, produzindo um efeito duradouro e finalmente otimizando sua efetividade (consulte a página de teste 6).

2) Eliminador de radicais livres e agente de proteção solar
Atividade anti-radical

Os radicais livres são moléculas ou átomos com um elétron solitário simbolizado por um ponto (exemplo: R •). Eles podem ser de origem endógena, produzidos pelo metabolismo oxidativo ou de origem exógena, gerados pelo ambiente, sol, poluição, luz artificial, fumaça de cigarro etc.

Os radicais livres são geralmente apresentados como tipos químicos altamente reativos, capazes de destruir qualquer estrutura biológica com intensa eficácia.

De fato, esse estereótipo é errôneo, pois existem radicais livres destrutivos instáveis e radicais livres protetores estáveis com o poder de inibir os efeitos do radical instável.

Os radicais livres instáveis são altamente reativos e induzem modificações irreversíveis às moléculas biológicas.

Todas as moléculas biológicas - proteínas, polissacarídeos, lipídios e ácidos nucléicos - são sensíveis à ação dos radicais livres. As modificações causadas nas células-toupeira - como corte, polimerização e peroxidação - levam a perdas funcionais nas células e na matriz extracelular que, por sua vez, levam ao mau funcionamento dos órgãos e do organismo em geral.

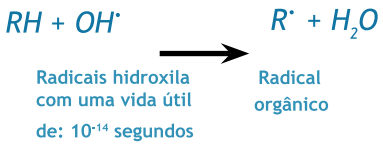
Os radicais livres são fatores importantes no envelhecimento.

Na pele, os radicais livres atacam as fibras de elastina e colágeno, modificando o código genético e as membranas celulares. Eles causam envelhecimento prematuro da pele, induzindo rugas, manchas marrons e até cânceres da pele, acumulando seu efeito com o envelhecimento genético, que eles aceleram.

Por esse motivo, qualquer tentativa de combater os efeitos do envelhecimento deve incluir o uso de ingredientes ativos desenvolvidos para combater os radicais livres.

É por isso que os radicais protetores são tão úteis. Eles são produzidos por moléculas com ligações de ligação dupla combinadas (ou seja, ligações duplas separadas por ligações simples), que formam um território molecular no qual o movimento de elétrons solitários é confinado, permitindo que ele fique preso.

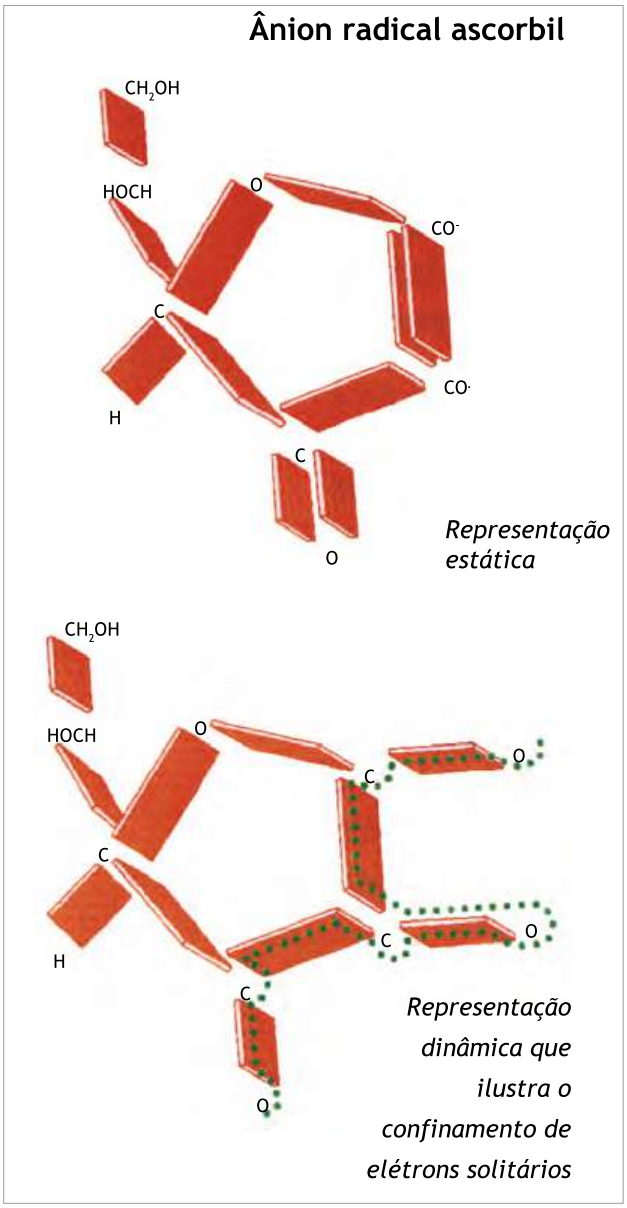
Os radicais livres são altamente reativos: prendem elétrons de outras moléculas para emparelhar com seu elétron solitário. Mais frequentemente, a captura de elétrons é acompanhada pela captura de um átomo de hidrogênio de fora da estrutura orgânica:



Durante esta reação, um novo radical livre é criado. Seu elétron solitário orbita um átomo de carbono. Este radical então reterá um átomo de hidrogênio de outra molécula e criará outro novo radical. Por esse motivo, a aparência de um radical livre geralmente causa uma cadeia de reações radicais.

A vitamina C é um agente de quebra de cadeia radical extremamente eficaz.

O confinamento garante que o radical reaja mais lentamente com as moléculas circundantes: esse tipo de estabilização é chamado estabilização ressonante do elétron solitário. Pode ser extremamente eficaz quando vários carbonos estão envolvidos. É o caso da vitamina C, que se torna o radical ascorbil com uma vida útil de várias horas, quando entra em contato com radicais livres mais reativos e instáveis (Figura ao lado). A reatividade do radical ascorbil é baixa e inofensiva para as estruturas biológicas.



Proteção solar

A implicação dos radicais livres de oxigênio nos danos cutâneos do sol está agora bem documentada. Em resposta à exposição aguda aos raios UV, o sistema de proteção antioxidante nativo da pele quebra sob essa "foto-agressão".

Trabalhos muito sérios sobre o efeito tópico do vitamina C no dano induzido pela radiação ultravioleta foram realizados por Darr et al., na pele de suínos.

Este estudo mostra principalmente que:

- Há uma depleção dramática da vitamina C tecidual consecutiva à irradiação com UVB,
- A vitamina C aplicada topicamente é eficaz na prevenção de danos mediados por UVB e UVA, conforme quantitativamente determinado pela contagem de células de queimaduras solares (estudo histológico) e avaliação do eritema (velocimetria com laser-Doppler). Presume-se que o(s) mecanismo(s) dessa proteção seja devido ao seu status antioxidante.

3) Síntese de matriz extracelular e vitamina C

O tecido conjuntivo é constituído por uma complexa rede de macromoléculas que engloba células, principalmente fibroblastos, e contém glicosaminoglicanos e proteínas (colágeno, elastina, fibronectina). A espessura da derme é determinada pelas fibras de colágeno que compõem a estrutura do tecido conjuntivo, enquanto a elasticidade é determinada pela elastina.

Os glicosaminoglicanos formam uma substância básica altamente hidratada parecendo um gel. Condições patológicas devido à deficiência de ácido ascórbico - como o escorbuto - levam a grandes alterações no tecido conjuntivo. A arquitetura da rede colagênica é particularmente degradada, pois o ácido ascórbico é um fator em dois níveis distintos de biossíntese do colágeno.

Ácido ascórbico, cofator de enzimas

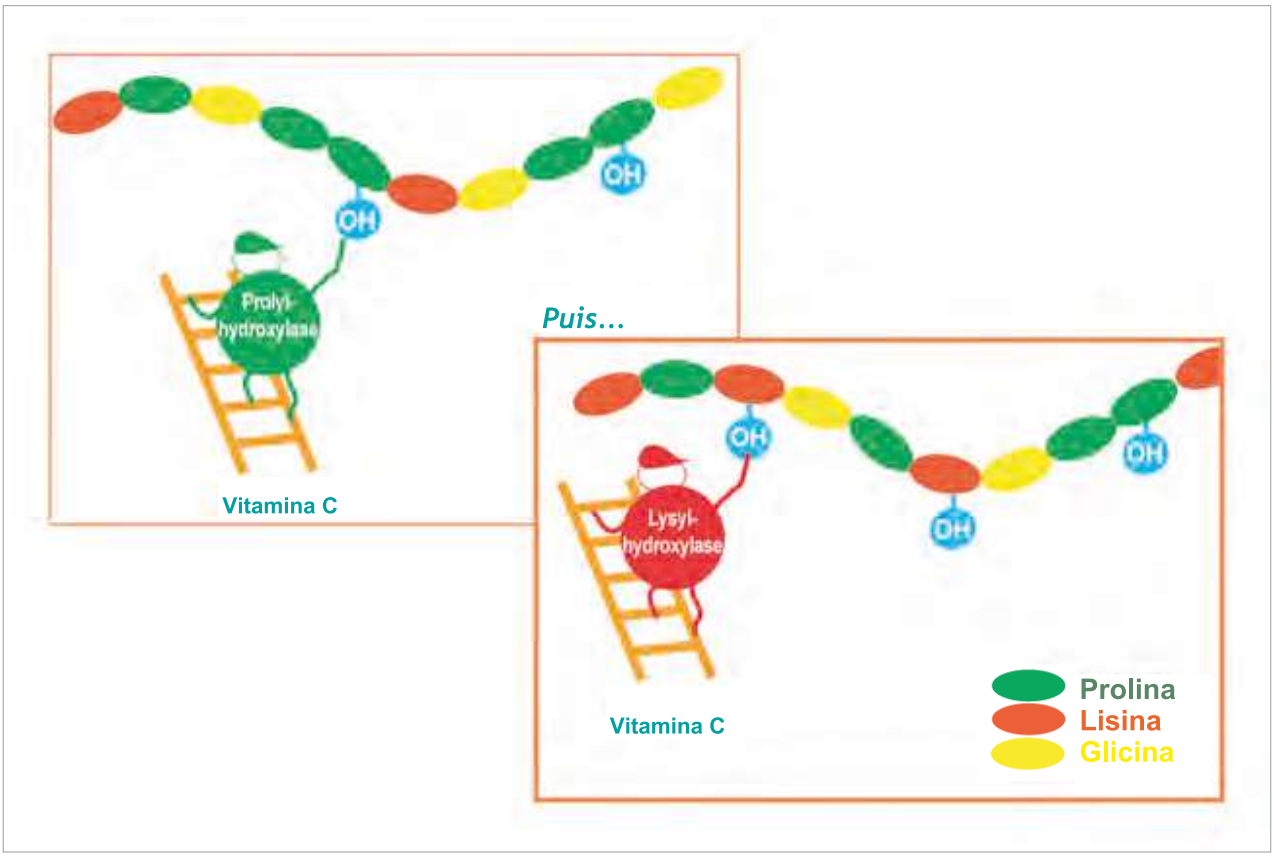
A molécula básica do colágeno é o tropocolágeno. Essa molécula é composta de três cadeias polipeptídicas (cadeias alfa) enroladas em uma hélice tripla. As moléculas de tropocolágeno são excretadas no meio extracelular e combinam-se formando ligações cruzadas intra e intermoleculares para produzir fibrilas, fibras e feixes de fibras.

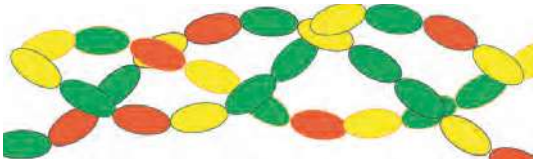
Durante a fase celular da produção de colágeno, alguns aminoácidos sofrem modificações póstranscricionais que são vitais para a formação de colágeno normal e funcional.

Em particular, a prolina (um aminoácido abundante do colágeno) é hidroxilada pela prolil-hidroxilase. Essa conversão é essencial para a estabilidade estrutural da hélice tripla e para a secreção de colágeno no meio extracelular. A lisina é hidroxilada em hidroxilisina, catalisada pela lisil-hidroxilase.

A hidroxilisina formada dessa maneira desempenha um papel na formação das ligações cruzadas que determinam a estabilidade das estruturas moleculares (fibrilas, fibras, feixes de fibras) que compõem o colágeno.

As moléculas de colágeno são sintetizadas pelos fibroblastos da pele.





As cadeias α se combinam para formar uma hélice tripla antes da excreção na matriz extracelular

Foi demonstrado claramente que a vitamina C é um cofator das enzimas prolil e lisil-hidroxilase e que, nessa extensão, é um componente essencial na estrutura e funcionalidade do tecido conjuntivo.

O ácido ascórbico estimula a síntese de colágeno

Oácido escórbico é um cofator enzimático que estimula a síntese de colágeno in vitro. A adição de ácido ascórbico de 30 µm a uma cultura de fibroblastos da pele humana multiplica a taxa na qual o colágeno é sintetizado por um fator de 5, sem efeito negativo na síntese de outras proteínas.

Sem ácido ascórbico, o colágeno representa 9% das proteínas sintetizadas pelas células. Com ácido ascórbico, o teor de colágeno pode exceder 30%. As medidas quantitativas do RNA messenger (RNAm) demonstram:

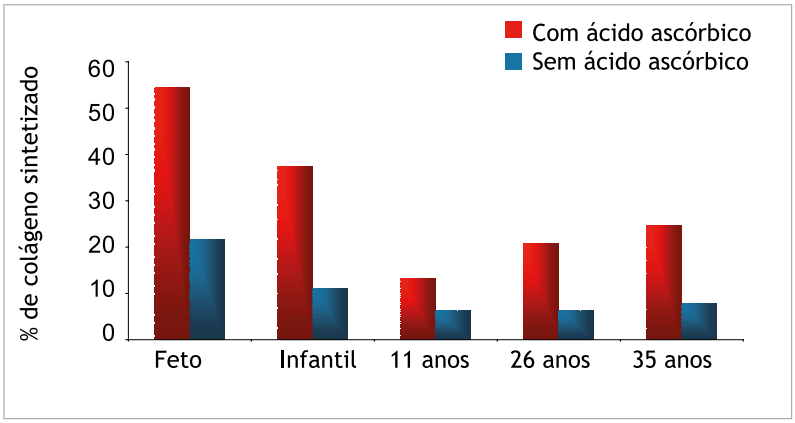
- o aumento do RNAm que codifica o colágeno na presença de ácido ascórbico,
- a ausência de efeito do ácido ascórbico na síntese do RNA que codifica proteínas não colágenas.

Mais pesquisas são necessárias para determinar se o estímulo observado é devido a modificações transcricionais, modificações de tradução ou maior estabilidade do RNAm. O mesmo tipo de medições foi implementado usando 2-fosfato de magnésio ascorbil para prolongar o efeito do ácido ascórbico - que é frágil. Essas investigações deram resultados semelhantes, mas o ascorbil 2-fosfato de magnésio é muito mais estável em solução, por isso atua por um período mais longo do que a vitamina C. Hata e Senoo observaram a estimulação da síntese de colágeno e um aumento na quantidade de glicosaminoglicanos sulfatados, constituintes básicos da matriz extracelular.

O efeito estimulante do ácido ascórbico foi investigado usando um protocolo diferente: os pesquisadores usaram fibroblastos da pele humana de doadores de diferentes idades.

Os resultados apresentados na figura acima mostram que:

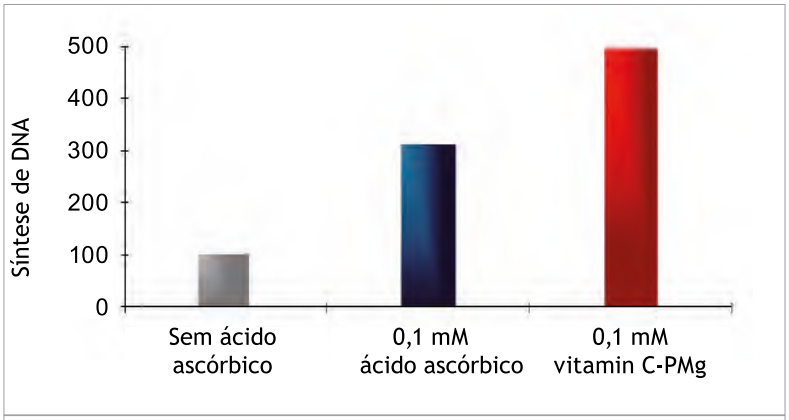
- sem ácido ascórbico, a taxa na qual o colágeno é sintetizado diminui com a idade,
- com ácido ascórbico, todos os fibroblastos são estimulados, independentemente da idade do doador.



O ácido ascórbico estimula a proliferação de fibroblastos

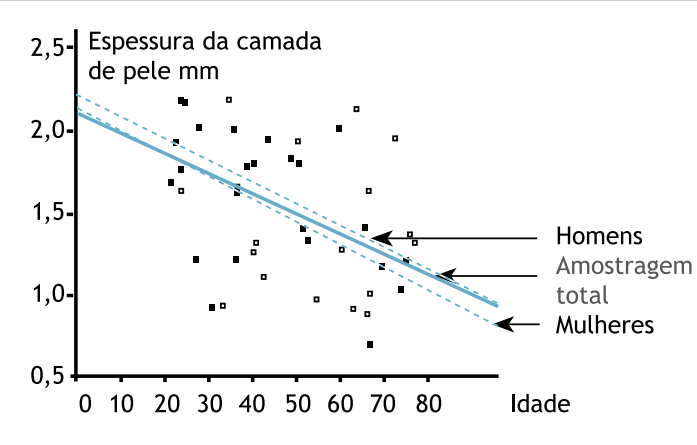
O ácido ascórbico tem várias atividades essenciais nos tecidos conjuntivos, como a pele. Além dos efeitos acima, ele tem uma ação estimulante sobre a proliferação de fibroblastos in vitro.

Este efeito é amplamente descrito na literatura. Estudos recentes demonstram que derivados como a vitamina C-PMg têm um efeito semelhante (gráfico oposto). Vale a pena notar que o efeito do ácido ascórbico é temporário devido à grande instabilidade da molécula solubilizada. Pelo contrário, o efeito da vitamina C-PMg é muito mais durável.



Efeito do ácido ascórbico e vitamina C-PMg na proliferação de fibroblastos da pele humana em cultura

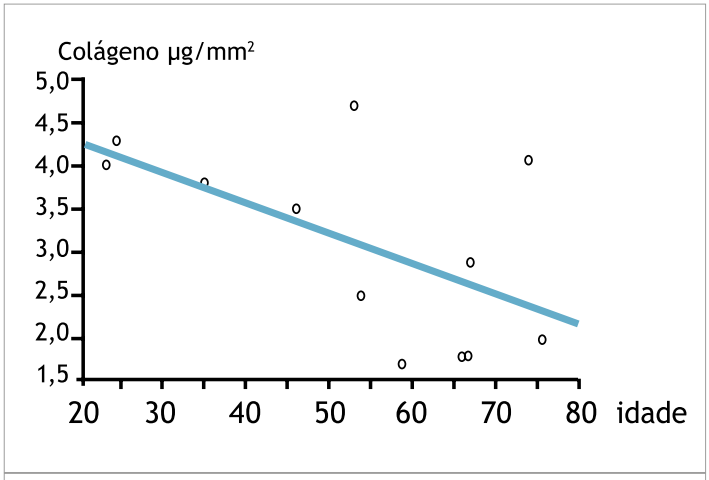
Colágeno e envelhecimento



Obtido de BRANCHET et al.[11], 1990

Um dos sintomas do envelhecimento é a atrofia progressiva do tecido conjuntivo cutâneo. Esse processo leva ao aparecimento e multiplicação de rugas devido a uma diminuição na capacidade dos fibroblastos de proliferar e sintetizar componentes da matriz. Estudos recentes demonstraram que a diminuição da espessura da pele em humanos é de aproximadamente 6% a cada 10 anos, apesar das consideráveis variações individuais que provavelmente são genéticas (Figura oposta).

Principalmente, esse fenômeno corresponde a uma redução drástica de 65% na quantidade de colágeno entre as idades de 20 e 80 anos (figura oposta). Consequentemente, a estimulação da atividade celular biossintética é um fator chave no combate aos efeitos do envelhecimento. A vitamina C-PMg encapsulada, que estimula a síntese de colágeno, é uma arma vital nessa luta. Além disso, este tratamento compensa a deficiência fisiológica do ácido ascórbico, que é outro sintoma do envelhecimento.



Obtido de BRANCHET et al.[12], 1991

Propriedades físico-químicas
Aparência: líquido X aporoso
Cor: branco a amarelo
pH: 6.2 / 8
Tamanho de partícula: 20 a 80
Viscosidade (cP): 400 / 800
Teor resíduo seco (%): 2.4 / 6.9
Cinzas (%): 0.5 / 1.1
Vitamina C (%): 0.86 / 1.56

Concentração usual
3,0%

Conclusão
Há muito tempo, as vitaminas fazem parte de produtos cosméticos. Esses elementos vitais são bem conhecidos e a analogia com a indústria de alimentos é comumente usada. As vitaminas nutrem, tonificam e vitalizam a pele e todo o corpo.

Uma vez ingredientes secundários, hoje as vitaminas são descobertas como principais ativos com propriedades fundamentais contra o envelhecimento cutâneo. No entanto, a atividade farmacológica das vitaminas não é dissociável ou a composição do veículo. A biodisponibilidade da pele é o elemento chave para a eficácia clínica.

A BASF Beauty Care Solutions, especialista líder em vetorização, agora dá uma nova dimensão às vitaminas com diferentes técnicas de microencapsulação. Graças à sua experiência em tecnologias de encapsulamento, a BASF Beauty Care Solutions desenvolveu um sistema específico de entrega de medicamentos biológicos baseado em compostos naturais totalmente biocompatíveis e biodegradáveis.

Com base nessas tecnologias de encapsulamento, a vitamina C-PMg é protegida de qualquer composto reativo, na formulação e também em aplicações cosméticas. Sua biodisponibilidade é aumentada e sua atividade na pele é otimizada, em alta concentração.

Bibliografia

(1) Marples R. Sex, constancy and skin bacteria. Arch Dermato Res 1982 ; 272 : 317-320.

(2) Giogillis S & coll. A close look into mediterranean cosmetics. 19th National SICC Congress, Italy, 1992.

(3) Teyssou R, Koeck JL, Buisson Y. La flore cutanée. Rev Fr Labo 1997 ; 291 : 49-55.

(4) Suzuki Y, Nomura J, Koyama J, Horil I. The role of proteases in stratum corneum: involvement in stratum corneum desquamation. Arch Dermatol Res 1994 ; 286 : 249-253.

(5) Forestier JP. Protéases du stratum corneum - 1ère partie : description. Concepts et Chroniques en Cosmétologie 1995 ; 1-15.

(6) Jimbow K, Quevedo WC Jr, Fitzpatrick TB, Szabo G. Some aspects of melanin biology : 1950-1975. J Invest Derm 1976 ; 67 (1) : 72-89.

(7) Tagawa M, Murata T, Onuma T, Kameyama K, Sakai C, Kondo S, Yonemoto K, Quigley J, Dorsky A, Bucks D, Blanock K. Inhibitory effects of magnesium ascorbyl phosphate on melanogenesis. IFSCC Congress, Vol.2, 896-907 (1992).

(8) Takenouchi K, Aso K, Kawase K, Ichikawa H. 19th General Meeting, Vitamin Society of Japan, Kurume (1967).

(9) Takashima H, Nomura H, Imai Y, Mima H. Ascorbic acid esters and skin pigmentation. American Perfumer and Cosmetics 1971 ; 86 : 29-36.

(10) Hata RI, Senoo H. L-Ascorbic acid 2-phosphate stimulates collagen accumulation, cell proliferation, and formation of a three-dimensional tissue like substance by skin fibroblasts. J Cell Physiol 1989 ; 138 (1) : 8-16.

(11) Branchet MC, Boisnic S, Frances C, Robert AM.. Skin thickness changes in normal aging skin. Gerontology 1990 ; 36 (1) : 28-35.

(12) Branchet MC, Boisnic S, Frances C, Lesty C, Robert AM. Morphometric analysis of dermal collagen fibers in normal human skin as a function of age. Arch Gerontol Geriatr 1991 ; 13 (1) : 1-14. Barnes MJ. Function of ascorbic acid in collagen metabolism. Ann N Y Acad Sci 1975 ; 258 : 264-277. Duggan M, Wilmott J, Znaiden A. Tyrosinase... the enzyme behind the tan. Cosmetics and Toiletries 1987 ; 102 : 97-101.

Freiberger H, Grove D, Sivarajah A, Pinnell SR. Procollagen I synthesis in human skin fibroblasts : effects on culture conditions on biosynthesis. J Invest Dermatol 1980 ; 75 (5) : 425-430.

Hata RI, Sunada H, Arai K, Sato T, Ninomiya Y, Nagai Y, Senoo H. Regulation of collagen metabolism and cell growth by epidermal growth factor and ascorbate in cultured human skin fibroblasts. Eur J Biochem 1988 ; 173 (2) : 261-267.

Imai Y, Usui T, Matsuzaki T, Yokotani H, Mima H, Aramaki Y. The antiscorbutic activity of L-ascorbic acid phosphate given orally and percutaneously in guinea pigs. Jpn J Pharm 1967 ; 17 (2) : 317.

Kurata S, Hata R. Epidermal growth factor inhibits transcription of type I collagen genes and production of type I collagen in cultured human skin fibroblasts in the presence and absence of L- ascorbic acid 2- phosphate, a long-acting vitamin C derivative. J Biol Chem 1991 ; 266 (15) : 9997-10003.

Mercier P. Les mélanocytes sortent de l'ombre. Biofutur 1992 ; 114 : 32-35.

Miura Y. Histochemical studies on enzyme activities in the skin. Jpn J Dermatol 1964 ; 74 : 559.

Phillips CL, Tajima S, Pinnell SR. Ascorbic acid and transforming growth factor-ß1 increase collagen biosynthesis via different mechanisms: coordinate regulation of proa1(I) and proa1(III) collagens. Arch Biochem Biophys 1992 ; 295 (2) : 397-403.

Tajima S, Pinnel SR. Regulation of collagen synthesis by ascorbic acid. Ascorbic acid increases type I procollagen mRNA. Biochem.Biophys Res Commun 1982 ; 106 (2) : 632-637.

Huc A, Levy M, Buffevant C, Andry M. Process of biodegradable microcapsules having walls composed of crosslinked atelo-collagen and polyholoside. (France: FR 2 642 329), (Europe: EP 0 381 543), (Australia: 633 866), (Canada: 2 009 065), (USA: US 5 395 620, US 5 622 656), (Japan: JP 2 534 921), (Korea: 163 171).

Devictor P, Allard R, Perrier E, Huc A. Unpigmented fish skin, particularly from flat fish, as a novel industrial source of collagen, extraction method, collagen and biomaterial thereby obtained. (France: FR 2 678 624), (Europe: EP 0 592 586), (Canada: pending), (USA: US 5 420 248), (Japan: JP 2 722 014).