



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
CAMPUS ALTO PARAÓPEBA
ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Uso de enzimas em cosméticos que atuam no envelhecimento cutâneo e na renovação celular – uma revisão da literatura

AUTORA: PRISCILA PETROSKI OLHER

ORIENTADORA: ISABEL CRISTINA BRAGA RODRIGUES

**Ouro Branco – MG
Dezembro/2015**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI
CAMPUS ALTO PARAÓPEBA
ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Uso de enzimas em cosméticos que atuam no envelhecimento cutâneo e na renovação celular – uma revisão da literatura

Priscila Petroski Olher

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
em cumprimento às exigências do Curso de
Bacharelado em Engenharia de Bioprocessos
da Universidade Federal de São João del-Rei.

**Ouro Branco - MG
Dezembro/2015**

*Ao meu amado pai Anselmo Olher,
que descansa nos braços de Deus,
dedico este trabalho.
Sem seu amor e apoio
nada disso seria possível.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** que com sua misericórdia me concedeu o dom da vida, que me sustenta a cada dia e me segura pela mão perante as dificuldades.

Ao meu amado **Pai Anselmo**, pelo seu amor incondicional que esteve ao meu lado todos dos dias de sua vida, você é meu exemplo enquanto eu viver.

À minha mãe **Márcia**, pelo companheirismo por ser minha melhor amiga, você é minha guerreira, obrigada por todos os esforços que fez por mim durante minha graduação e pelas orações.

Às minhas queridas irmãs, **Ana e Júlia**, pela força e pelo cuidado com a mamãe enquanto estive longe, agradeço pela maturidade de vocês e pelo carinho.

Ao **Vinicius**, meu namorado, que está ao meu lado em todos os momentos, nos felizes e nos tristes, seu amor e incentivo é fundamental para mim.

À minha avó **Lazinha**, que chorou minha ausência todos os dias da minha graduação, seu amor é muito importante para mim.

Aos meus **familiares**, **vó Yvone**, **Tia Selma**, **Tia Rita**, e demais tias, tios e primos vocês são meu orgulho, obrigada por acreditarem em mim.

Ao **Prof. Rogério Picoli**, pelo apoio, amizade e por ter me aconselhado no momento que mais precisei na graduação, serei grata o resto de minha vida.

Aos **amigos** não mencionados e **professores da UFSJ**, que me incentivaram e fizeram desse momento único e especial.

À minha orientadora **Isabel Cristina Braga Rodrigues**, por me aceitar orientar, pelos conselhos e grande ajuda para realização deste trabalho, minha formação acadêmica não seria a mesma sem a sua pessoa.

RESUMO

Produtos cosméticos são preparações, normalmente, de uso externo nas diversas partes do corpo humano e que têm o objetivo de higienizar, perfumar, modificar a aparência e até mesmo proteger a região na qual são aplicados, principalmente a pele. O mercado cosmético está em constante crescimento em todo o mundo e principalmente no Brasil. Por ser um mercado bastante lucrativo, diversas pesquisas são desenvolvidas para gerar produtos cada vez mais eficientes e com *marketing* favorável à comercialização. Neste contexto e com os avanços da biotecnologia, surge a enzimocosmética que é a área da cosmetologia na qual as enzimas são utilizadas com a finalidade de facilitar ou dificultar as reações bioquímicas da pele, de forma a reparar ou proteger este órgão, por meio da destruição ou remoção de algumas de suas estruturas. O presente trabalho, por meio da revisão da literatura, explora novas tendências no uso de enzimas aplicadas em produtos cosméticos e reforça o seu emprego para retardar/prevenir o envelhecimento cutâneo e promover a renovação celular.

Palavras-chave: Cosméticos, enzimas, enzimocosmética, envelhecimento cutâneo, renovação celular.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS.....	10
3. REVISÃO DA LITERATURA	11
3.1. BREVE HISTÓRICO DO USO DE ENZIMAS EM COSMÉTICOS	11
3.2. CONCEITOS EM COSMETOLOGIA	13
3.3. ESTRUTURA DA PELE	16
3.4. PERMEABILIDADE DA PELE	19
3.5. ENZIMAS UTILIZADAS EM COSMÉTICOS.....	21
3.6. O PROCESSO DE ENVELHECIMENTO CUTÂNEO	22
3.7. USO DE ENZIMAS APLICADAS EM PRODUTOS COSMÉTICOS DESTINADOS AO ENVELHECIMENTO CUTÂNEO	25
3.8. ENZIMAS QUE ATUAM NA RENOVAÇÃO CELULAR.....	30
3.9. INCORPORAÇÃO DE ENZIMAS EM FORMULAÇÕES COSMÉTICAS	33
3.10. VEÍCULOS	34
4. CONCLUSÕES	38
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1. INTRODUÇÃO

O mercado de cosméticos é um setor dinâmico que está em acelerado crescimento devido à grande quantidade de produtos lançados pelas pequenas, médias e grandes empresas aliadas ao interesse e à necessidade da população por uma pele bem cuidada, jovem e bonita. Isto resulta em uma busca contínua no desenvolvimento de produtos inovadores que requer conhecimento específico, bem como os pesquisadores estarem em constante atualização quanto às novas matérias primas, processos de produção, legislação vigente, dentre outros (CUSTODIO, 2014).

No entanto, este acelerado crescimento de mercado faz com que existam poucas evidências que comprovem os efeitos anunciados. Além disso, a interpenetração entre diferentes conceitos, como os termos cosmecêuticos e cosméticos, e a definição das áreas que constituem a natureza destes produtos, dificulta a sua aceitação e classificação junto aos órgãos regulatórios (CORREIA, 2012).

O envelhecimento da pele é a marca mais pronunciada e de maior preocupação estética durante o processo cronológico de envelhecimento, e se destaca no meio científico atual como sendo um dos campos mais explorados da área médica mundial (UITTO, 2008). Assim, a temática do envelhecimento tem destaque no setor da cosmetologia com grande procura por ativos cosméticos como os antioxidantes, renovadores celulares e inibidores de metaloproteinases, que são as classes mais utilizadas neste tipo de formulação (PARRINHA, 2014).

O envelhecimento da pele é mediado por uma combinação dos efeitos do tempo, relacionados com fatores genéticos (envelhecimento intrínseco) e por fatores externos (envelhecimento extrínseco). Estes agem independentemente e simultaneamente a partir de fatores clínicos e biologicamente distintos que afetam a estrutura da pele (UITTO, 2008).

Os avanços recentes advindos da tecnologia enzimática propiciaram, para a indústria de insumos cosméticos, uma alternativa atrativa, devido às vantagens no

uso de enzimas tais como elevada eficiência catalítica, seletividade, maior rendimento, obtenção de produtos biodegradáveis, menor consumo de energia e redução da quantidade de resíduos (BON *et al.*, 2008).

Em relação às questões ambientais, tem-se a preocupação com a preservação de fontes naturais de matérias-primas, com a biodegradabilidade das embalagens, com o tratamento de efluentes industriais, entre outros temas de grande relevância (HEEMANN, 2010).

Atualmente, tem-se observado um grande número de produtos ditos como cosmecêuticos, ou seja, que caracterizam ação cosmética e terapêutica. Estes produtos são comercializados sem receita médica e em grande escala. Além disso, o modo de penetração de um produto cosmético não difere de um medicamento. Dessa forma, torna-se necessária pesquisa médica e farmacológica para acompanhar o trajeto do componente com suas ações na pele e seus desdobramentos desde a entrada da camada córnea até a profundidade a qual o ativo consegue chegar (STEINER, 1995).

2. OBJETIVOS

Executar levantamento bibliográfico sobre as enzimas utilizadas na indústria cosmética, incorporadas em produtos que atuam no combate ao envelhecimento cutâneo e promovem a renovação celular. Adicionalmente, serão abordados os diferentes veículos aplicados nestas formulações cosméticas.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. *Breve Histórico do uso de Enzimas em Cosméticos*

A palavra cosmético deriva do grego *kosmetikós*, que significa habilidade em adornar, ou organizar, enfeitar (OUMEISH, 2001). A história dos cosméticos acompanhou, através dos tempos, a própria história do homem e esteve sempre ligada à sua evolução científica e cultural (HEEMANN, 2010).

Existem evidências arqueológicas do uso de cosméticos para embelezamento e higiene pessoal desde 4.000 anos antes de Cristo. A prática da cosmetologia tem seus primeiros registros pelos egípcios, que para proteger sua pele das altas temperaturas e secura do clima desértico da região, recorriam à gordura animal e vegetal, cera de abelhas, mel e leite para o preparo de cremes para a pele. Além disso, existem registros afirmando que a rainha Cleópatra frequentemente se banhava com leite para manter a pele e os cabelos hidratados (GALEMBECK e CSORDAS, 2011).

Durante a Idade Média, o rigor religioso do cristianismo reprimiu o culto a higiene e à exaltação da beleza, e o uso de cosméticos desapareceu completamente e só foi retomado com o renascentismo, no século XV, em que a beleza é ressaltada pelas pinturas como Mona Lisa, de Leonardo Da Vinci, que retrata uma mulher de tez suave e delicada (LEONARDI e MATHEUS, 2008).

A Idade Contemporânea, no século XIX, foi uma época promissora na cosmetologia pois os cosméticos começaram a ser feitos em casa, utilizando leite, água de rosas, creme de pepino e as famílias tinham suas receitas preferidas. Com isto, no início do século XX, os cosméticos saíram das cozinhas e passaram a ser produzidos industrialmente (LEONARDI e MATHEUS, 2008).

Desde então, a cosmetologia tem se desenvolvido de forma crescente, dado o interesse das empresas no lançamento de novos produtos, bem como o avanço nas pesquisas científicas, nas formulações cosméticas e o melhor conhecimento

da fisiologia cutânea (BON *et al.*, 2008). Segundo o Guia da Profissão Farmacêutica do CRF-PR (2010), nos anos 90, houve uma melhora no tempo entre a aplicação e o resultado prometido na bula de alguns cosméticos, tempo que diminuiu de 30 dias para menos de 24 horas, resultando em cosméticos com várias funções, como os batons com proteção solar e hidratantes que têm função antienvelhecimento.

Os alfa-hidroxiácidos, utilizados desde 1974, em cremes para renovar a pele, começam a ser substituídos por enzimas, mais eficazes e menos agressivas. Assim, modernas tecnologias foram incorporadas em matérias-primas, embalagens, equipamentos industriais entre outros. Devido aos conhecimentos atuais e por toda a conotação científica alcançada pelos produtos cosméticos a nível mundial, e em cumprimento à legislação específica para o setor, a fabricação destes produtos, atualmente, baseia-se no binômio “eficácia e segurança”, pois além de cumprir suas finalidades, esses produtos devem ser seguros no seu uso sem causar efeitos indesejáveis (HEEMANN, 2010; GALEMBECK e CSORDAS, 2011).

Com o avanço da biotecnologia, foi necessário assimilar informações sobre microemulsões, lipossomas, ativos produzidos por biotecnologia, novos conceitos sobre hidratação por mimetismo cutâneo, fotoproteção, estimulação da produção de colágeno, nanotecnologia e cosméticos orgânicos e ainda os testes de eficácia de sistemas conservantes, testes de estabilidade, testes de segurança e eficácia de produtos cosméticos (HEEMANN, 2010).

Portanto, os grandes avanços na tecnologia das formulações, com o desenvolvimento de novos veículos, os avanços recentes relacionados à purificação e caracterização de novas enzimas, e a expressão heteróloga em espécies microbianas, apresentam um panorama promissor para o futuro no uso de enzimas aplicadas em produtos cosméticos (BON *et al.*, 2008).

3.2. Conceitos em Cosmetologia

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 211, de 14 de Julho de 2005, define os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes como sendo “preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado”.

A definição de cosmético ainda diverge entre muitos países e constantemente diversos neologismos são criados e que não são oficialmente registrados para as classificações dos produtos cosméticos, como é o caso dos termos Cosmecêuticos, Nutricêuticos, Enzimocosméticos (ANUNCIATO, 2011).

O termo Cosmecêutico foi criado por Kligman em 1984 no *National Scientific Meeting of the Society of Cosmetic Chemists* que consiste em produtos aplicados topicamente que não são meramente cosméticos (que enfeitam ou camuflam a pele), pois são capazes de alterar o *status* da pele, porém, não são considerados medicamentos (KLIGMAN, 2005). Ou seja, resulta da junção dos termos cosmético e farmacêutico (cosme + cêutico), contudo o produto final é primariamente um cosmético, sendo necessário conhecer o mecanismo de ação e comprovar sua eficácia para ser considerado um medicamento (RIBEIRO, 2010).

Além disso, a concentração do ativo pode definir seu uso cosmético ou medicamentoso. Já, para finalidade de registro pela legislação brasileira, a ANVISA não reconhece o termo cosmecêutico, assim os produtos tópicos se enquadram em cosméticos que se dividem em grau de risco 1 e grau de risco 2 ou medicamentos que só são regulamentados mediante aprovação prévia (SANTOS, 2008).

As RDC 343/05 e 211/05 classificam os produtos cosméticos, de higiene e perfumaria no Brasil de acordo com o grau de risco que representam para a saúde humana, sendo que de acordo com a ANVISA a classificação de um produto como grau de risco 1 ou grau de risco 2 é realizada considerando-se não só a categoria do produto, como também a sua finalidade, público alvo e formulação (RIBEIRO, 2010; ANVISA, 2012).

Os produtos de grau de risco 1 são aqueles de risco mínimo em que o procedimento para cadastramento é todo *online* e a empresa é responsável pelas informações fornecidas. Exemplos destes produtos são os sabonetes, hidratantes, xampus sem indicação de uso específico e condicionadores (ANVISA, 2012). Já os produtos de grau de risco 2 são aqueles que exigem comprovação de segurança e eficácia, com indicações específicas quanto ao modo e restrições de uso e só podem ser comercializados após o registro junto da apresentação dos resultados das avaliações de segurança exigidas. Tem-se como exemplos os sabonetes antissépticos, xampus anticaspa, dentifrícios anticárie (LEONARDI e MATHEUS, 2008; ANVISA, 2012).

Os consumidores estão cada vez mais preocupados com a segurança dos produtos que fazem uso e interessados em saber se o que estão comprando realmente cumprem o que prometem, assim a ANVISA tem exigido cada vez mais que se demonstre que os cosméticos disponíveis comercialmente sejam seguros e eficazes (RIBEIRO, 2010). Entretanto, de acordo com STEINER (1995) ainda é necessário que os órgãos competentes do Brasil se aparelhem para agilizar a especificação e a regulamentação em relação a diferenciação de um produto denominado cosmético para um cosmecêutico, evitando os neologismos, visto que um cosmecêutico não é um simples creme, podendo prejudicar o usuário caso seu uso seja inadequado para uma situação específica.

Segundo Anunciato (2011), diversas matérias-primas são utilizadas em cosmecêuticos tais como proteínas, vitaminas e outros ingredientes de origem botânica e têm sido motivo de estudo a fim de avaliar os efeitos antirrugas, antienvhecimento, anticelulite ou clareadores da pele. A Tabela 3.1 traz exemplos destas matérias primas e sua ação cosmética proposta.

Tabela 3.1: Matérias-primas utilizadas em cosmecêuticos e sua ação proposta (DUREJA, 2005).

Matérias-primas	Ação cosmética proposta
Vitaminas	Antioxidante
Alfa-hidroácidos	Esfoliação e melhora da circulação
Coenzima Q-10 (ubiquinona)	Antioxidante celular
Picnogenol	Efeito anti-aging
Papaína	Renovação celular

Nos Estados Unidos o termo “*Over the Counter*” (OTC), cujo significado é “sobre o balcão” é aceito pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para designar os produtos cosméticos que também são considerados medicamentosos e que podem afetar a estrutura ou função da pele humana ou mesmo os que tratam e previnem doenças. Os OTC’s podem ser comercializados sem receita médica e incluem alguns produtos considerados cosméticos no Brasil e na Europa (RIBEIRO, 2010; NASCIMENTO *et al.*, 2004).

O uso de enzimas em cosméticos tem sido registrado há muitos anos, sendo que a partir da década de 1960 houve um aumento nas pesquisas quanto a maior estabilidade, maior eficácia e segurança de uso. Estes estudos crescentes corroboram para as amplas aplicações de enzimas no mercado de cosméticos (HOWARD, 1962).

Assim, denominou-se o estudo de enzimas na área cosmética de enzimocosmética. Sendo as enzimas proteolíticas as mais utilizadas e pesquisadas nesta área, devido à sua ação estar relacionada com a renovação celular, exercendo atividade queratinolítica, promovendo a remoção das células mortas presentes na epiderme e atuando na restauração da mesma (LODS *et al.*, 2000).

3.3. Estrutura da Pele

Conhecer a estrutura da pele, a constituição do veículo e o mecanismo de ação do cosmético utilizado são fatores essenciais no desenvolvimento de formulações cosméticas de forma segura e eficaz (MERCURIO e CAMPOS, 2009).

A pele é o maior órgão do corpo humano e corresponde a cerca de 10 a 15% do peso total corporal, e sua extensão corresponde a uma área de dois metros quadrados (MATOS, 2014). É constituída por duas camadas principais que se superpõem a epiderme e a derme (KIERSENBAUM, 2002). Abaixo da derme, tem-se uma camada subcutânea, formada por tecido adiposo, denominada hipoderme (ERHART, 1976).

Este importante órgão possui um revestimento complexo e heterogêneo que protege a superfície externa do corpo contra lesões mecânicas e químicas, além de possuir diversas funções como o controle da temperatura, absorção da radiação ultravioleta (UV), síntese de vitamina D e barreira contra organismos patogênicos. A pele também funciona como uma barreira à evaporação excessiva de água, que levaria à desidratação devido à transpiração, sendo a epiderme a camada mais importante para essa função (RIBEIRO, 2010; MATOS, 2014).

A camada mais externa da pele é um epitélio queratinizado estratificado pavimentoso, formado principalmente de queratinócitos, as células epiteliais especializadas, responsáveis pela renovação e barreira da epiderme. Desta, podem ser distinguidas quatro camadas (i) o estrato basal que possui espessura variável e contém no citoplasma de suas células uma escleroproteína, denominada queratina, que é rica em ligações dissulfeto (S-S); (ii) o estrato espinhoso, localizado acima da camada basal, formado por células poliédricas que se encontram coesas pelos desmossomos; (iii) o estrato granuloso, situado entre a camada córnea e a camada espinhosa, esta camada é responsável pela formação da bicamada lipídica presente entre as fileiras de células corneificadas que formam a camada córnea e (iv) o estrato córneo que é a última camada da epiderme (RIBEIRO, 2010; MONTANARI, 2013). Estas quatro camadas presentes na epiderme são mostradas na Figura 3.1

A camada córnea possui aproximadamente de 15 a 20 μm de espessura e é o resultado final de diferenciação celular dos queratinócitos, que são chamados de corneócitos quando presentes na camada córnea, pois se transformam em células anucleadas, achatadas e mortas. Esta última camada é composta por várias camadas de corneócitos, cercados por camadas lipídicas que preenchem o espaço intercelular onde se organizam em bicamadas. Devido a esta organização, ocorre a regulação do fluxo hídrico, impedindo a evaporação irregular de água, papel este que é fundamental para proporcionar melhor ambiente para as enzimas que formam os lipídeos intercelulares da camada córnea (RIBEIRO, 2010; MOUAD *et al.*, 2014).

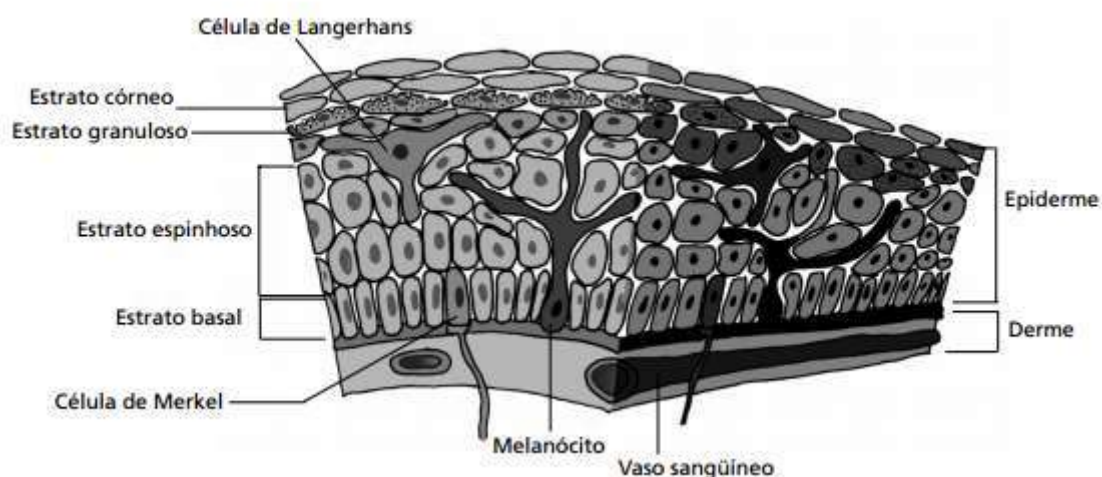


Figura 3.1: Desenho esquemático de um corte de pele fina mostrando a epiderme com a presença dos queratinócitos; as quatro camadas que a compõe (estrato basal, espinhoso, granuloso e córneo) e as células de Merkel, Langerhans e os melanócitos. Abaixo da epiderme encontra-se a derme (CEDERJ, 2015).

Segundo Mouad *et al.*, (2014) a camada córnea é comumente descrita como uma “parede” em que os corneócitos representam os tijolos e a camada lipídica se assemelha ao cimento, como mostra a Figura 3.2.

Nas camadas da epiderme já descritas acima se encontram 4 tipos celulares (i) queratinócitos como já citado anteriormente; (ii) melanócitos, os quais sintetizam e secretam o pigmento melanina; (iii) células de Merkel, localizadas entre os queratinócitos basais, são mais presentes em peles espessas como a ponta dos dedos, responsáveis pela sensibilidade tátil e (iv) células de Langerhans, mais

frequentes no estrato espinhoso e tem como função proteger a pele de antígenos, visto que estas células captam e apresentam aos linfócitos presentes na derme (CEDERJ, 2015). Estas células também são mostradas na Figura 3.1.

As células do epitélio estão em constante renovação devido à sua maior atividade mitótica, constituindo um sistema dinâmico (MONTANARI, 2013). Visto que, de acordo Leonardi e Matheus (2008), há um deslocamento constante e repetido de células, que da camada basal atingem gradualmente a superfície da epiderme. Nesta superfície, as células já mortas são desprendidas da pele. Essa diferenciação ocorre em torno de duas semanas para pessoas jovens e em torno de 37 dias para pessoas com mais de 50 anos (LEONARDI e MATHEUS, 2008).

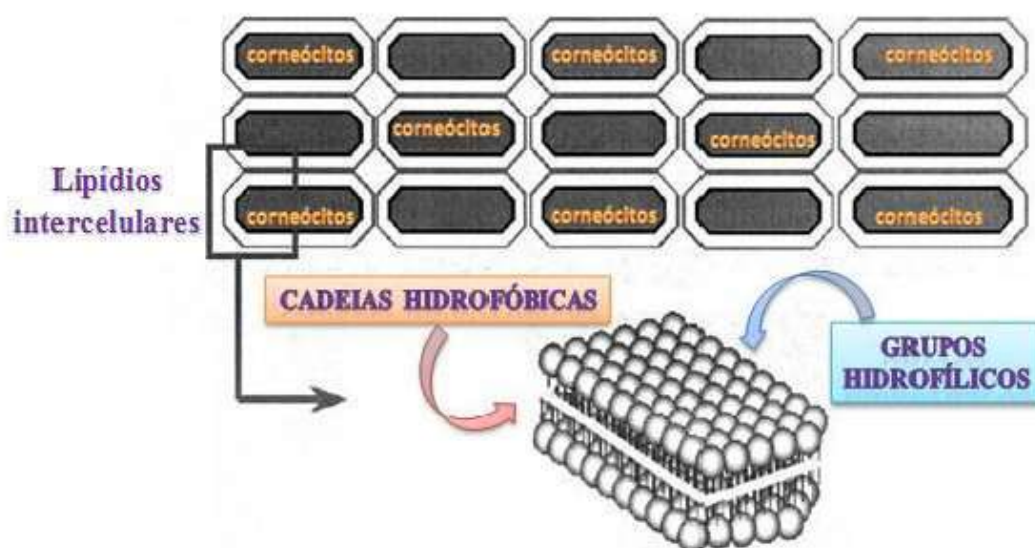


Figura 3.2: Modelo Tijolo-Cimento da camada córnea (MOUAD *et al.*, 2014).

A derme por sua vez é um tecido resistente e elástico responsável pela nutrição da epiderme, devido ao fato de ser muito vascularizada e de conter as raízes dos pelos, as glândulas, as terminações nervosas e alguns tipos de células como os fibroblastos (LEONARDI e MATHEUS, 2008). Há ainda, uma estrutura de fibras protéicas, composta pelo colágeno (principal constituinte) e a elastina, ambos associados a uma matriz extracelular. O colágeno é sintetizado pelos fibroblastos, através de um precursor chamado de pró-colágeno, que por ação enzimática resulta em unidades de tropocolágeno, estes, por sua vez, polimerizam para formar as fibras de colágeno (CHURCH *et al.*, 1971).

O colágeno perfaz 80% da massa seca da pele, sendo a proteína mais abundante no organismo, já a elastina perfaz 0,6 - 2,1% da massa seca da pele e exerce função complementar às fibras de colágeno, estas fibras elásticas permitem uma deformação extensa da pele que consegue retornar ao estado original, quando a força aplicada for suspensa (LEONARDI e MATHEUS, 2008; RIBEIRO, 2010).

Além disso, o colágeno possui um tempo de vida na derme de cerca de 60 dias, sendo degradado pela enzima collagenase, já a elastina tem uma vida de 180 dias e é degradada pela elastase. As enzimas que degradam o colágeno e a elastina são produzidas em excesso quando a pele é exposta à luz solar, promovendo o envelhecimento precoce (MATOS, 2014).

Logo abaixo da derme, encontra-se a hipoderme, formada por tecido adiposo e que une a derme aos órgãos profundos, este tecido possui uma espessura que varia de acordo com a sua localização e possui diversas funções, sendo as principais armazenar energia e promover isolamento térmico (CEDERJ, 2015).

Tendo em vista as diversas camadas da pele e as diferentes funções das mesmas, uma revisão sobre a permeabilidade destas camadas, frente a diferentes formulações cosméticas, mostra-se importante.

3.4. Permeabilidade da Pele

Permear é o ato de transpassar, atravessar, passar através de algo (BEYSSAC e BREGNI, 2000). O estrato córneo constitui a barreira primária quanto a permeação cutânea e o controle da transpiração (JAGER *et al.*, 2006).

Diversos fatores influenciam na permeação cutânea de um ativo, como a concentração, o veículo utilizado, a solubilidade relativa do composto no veículo, bem como a permeabilidade da barreira apresentada pelo estrato córneo (MORGAN *et al.*, 2003).

Além disso, segundo Brain *et al.* (2007), para uma absorção cutânea eficiente é preciso que o ativo tenha principalmente baixo peso molecular e uma solubilidade adequada em meios hidrofílico e hidrofóbico. Entretanto, a quantidade do ativo que penetra na pele depende quase exclusivamente da forma farmacêutica utilizada. Em razão disso, deve-se ter um rigoroso critério na etapa de desenvolvimento das formulações, pois somente depois desta etapa será possível avaliar seu efeito de permeação cutânea e, conseqüentemente, a eficiência da formulação (SILVA, 2008).

Normalmente, as enzimas não possuem as características necessárias para penetrar na pele de forma eficaz, por isso tem-se a busca de enzimas de baixo peso molecular e maior caráter lipofílico (SIMÕES, 2001).

Como dito anteriormente, a aplicação de enzimas na indústria de cosméticos é denominada enzimocosmética, a qual ainda é classificada em dois tipos, a enzimocosmética direta e a indireta.

O uso de enzimas em cosméticos se mostra eficaz no combate aos radicais livres, na promoção do *peeling* biológico sem causar irritação na pele, na limpeza profunda, bem como para facilitar a penetração de substâncias ativas, sendo todas estas funções enquadradas na chamada enzimocosmética direta (SIM *et al.*, 2003). De acordo com Bon *et al.* (2008), são exemplos de enzimas que agem de forma direta na pele (i) as proteases para *peeling*, estrias e depiladores progressivos; (ii) proteases em produtos para a limpeza de dentaduras; (iii) proteases e lipases na limpeza profunda da pele, em produtos auxiliares no tratamento da acne e da caspa; (iv) lipases, proteases e amilases utilizadas na redução da oleosidade e da seborreia capilar entre outras.

Por sua vez, a enzimocosmética indireta faz uso de ativos que irão atuar nas enzimas da pele de forma a estimular as atividades benéficas ou inibir as malélicas (FOX, 2005). Segundo Bon *et al.* (2008), na enzimocosmética indireta são utilizados (i) coenzimas e co-fatores como cobre, zinco e vitaminas; (ii) inibidores das metaloproteases, as quais agem na degradação de macromoléculas como o colágeno e elastina da matriz extracelular; (iii) as

peroxidases e oxidases que atuam como conservantes de formulações cosméticas, dentre outros.

3.5. Enzimas utilizadas em Cosméticos

Diversos produtos presentes no mercado de cosméticos contêm em sua formulação enzimas incorporadas, tais como tinturas, depilatórios, alisantes de cabelo, sais de banho, dentifrícios, desodorantes, cosméticos utilizados no tratamento de caspa e enzimas que agem na renovação celular da pele (MILAGRES *et al.*, 2007).

A indústria cosmética emprega inúmeros ingredientes advindos da biotecnologia, no caso das enzimas são utilizadas as proteases, catalases e lipases, dentre outras classes que são obtidas de várias fontes vegetais, animais e microbianas (SILVA e MONTEIRO, 2009). Exemplos destas enzimas e suas aplicações são mostrados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2: Enzimas de aplicadas na indústria cosmética e suas aplicações (Adaptado de SILVA E MONTEIRO, 2009).

Enzima	E.C.	Fonte	Aplicação
Proteases	E.C.3.4..	Várias fontes	<i>Peeling</i> , estrias, depiladores progressivos, controle de oleosidade e seborreia
Superóxido dismutase	E.C.1.15.1.1	Eritrócito bovino	Antienvelhecimento cutâneo
Catalase	E.C.1.11.1.6	<i>Penicillium amagasakiense</i>	Anti-sinais, combate a radicais livres
Glicoamilase	E.C.3.2.1.3	<i>Aspergillus orysae</i>	Renovação ou prevenção da placa dentária
Glicose oxidase	E.C.1.1.3.4	<i>Aspergillus niger</i>	Enxaguantes bucais
Lipase	E.C.3.1.1.3	<i>Aspergillus niger</i>	Limpeza profunda da pele, tratamento de acne e caspa
Lactase	E.C.3.2.1.23	<i>Aspergillus orysae</i>	Tinturas de cabelos
Uricases	E.C.1.7.3.3	<i>Arthrobacter protophormiae</i>	Tinturas de cabelos
Hialuronidase	E.C.3.2.1.35	Testículo bovino	Auxiliar no tratamento de celulite
Fosfatase alcalina	E.C.3.1.3.1	Intestino de bezerro	Estímulo à proliferação dos fibroblastos

Tirosinase	E.C.1.10.3.1	<i>Lentinula boryana</i>	Bronzeamento
------------	--------------	--------------------------	--------------

Desde a década de 90, o uso de enzimas na indústria de cosméticos é crescente (ROCHA, 1997), o emprego das proteases tem significativo destaque, dentre as quais a papaína e a bromelina estão entre as mais utilizadas (BROOKS,1999; LOPES, 1999).

3.6. O processo de Envelhecimento Cutâneo

O envelhecimento cutâneo é um processo biológico complexo e contínuo, que varia de indivíduo para indivíduo, caracterizado tanto por alterações celulares quanto moleculares resultando na senescência e morte celular programada (apoptose) (BAGATIN,2009).

É dividido em dois tipos principais, extrínseco e intrínseco. O envelhecimento extrínseco é caracterizado pelos fatores externos que prejudicam o bom funcionamento da pele, sendo o principal fator a radiação ultravioleta (fotoenvelhecimento). Já o envelhecimento intrínseco resulta do declínio “geneticamente programado” das funções vitais do organismo humano (GILCHREST e KRITMANN, 2006).

As alterações provocadas pelo fotoenvelhecimento são mais pronunciadas, quando comparadas ao envelhecimento intrínseco, motivo pelo qual as áreas mais expostas à radiação solar apresentam aspectos de envelhecimento mais intensificados (GILCHREST e KRITMANN, 2006).

A faixa do UV, com comprimentos de onda de 100 a 400 nm, constitui parte do espectro eletromagnético emitido pelo sol. Por sua vez, o espectro UV se subdivide em (i) UVA (320-400 nm) que atinge as camadas mais profundas da derme e é o principal responsável pelo fotoenvelhecimento; (ii) UVB (290-320 nm) que afeta os queratinócitos, podendo alterar as fibras de colágeno e elastina na derme, sendo mais absorvida pela epiderme e (iii) UVC (200-280 nm) que é altamente energética e mutagênica podendo danificar o DNA, felizmente essa

radiação é em sua maior parte absorvida pela camada de ozônio (NICHOLS e KATIYAR, 2010).

A extensão dos efeitos resultantes pela radiação UV solar sobre a pele é determinada pela dose e duração da exposição. Portanto, embora a radiação UVB atinja a epiderme e a derme superior, a UVA é a radiação mais penetrante, visto que alcança a derme em sua camada mais profunda (SALIOU *et al.*, 1999), como mostra a Figura 3.3.

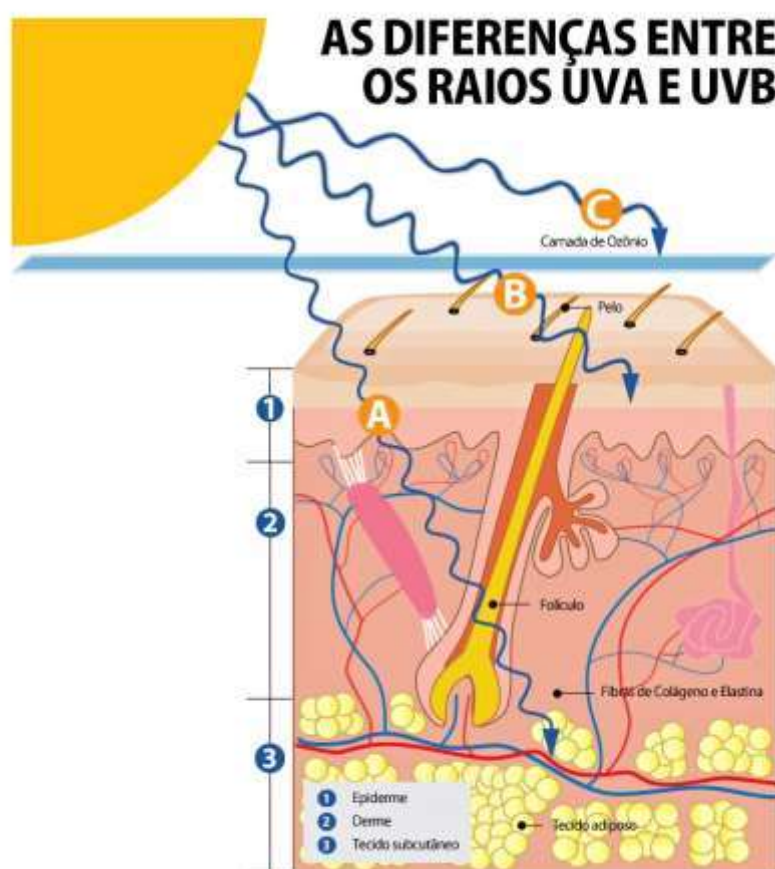


Figura 3.3: Penetração das radiações UVA e UVB através da pele (LESPEAUX, 2015).

Ainda associado ao fotoenvelhecimento, tem-se uma série de alterações histológicas e funcionais da pele que são observadas, como a diminuição da expectativa de vida celular, resposta diminuída aos fatores de crescimento, interrupção na síntese da matriz extracelular e elevação da atividade proteolítica (GILCHREST e KRITMANN, 2006). O enrugamento da epiderme ocorre devido a esta degradação dos componentes da matriz extracelular e à membrana basal danificada (BON *et al.*, 2008).

Entretanto, há relatos que tanto no processo intrínseco quanto extrínseco, os mecanismos biológicos, bioquímicos, e moleculares coincidem e levam à perda da firmeza da pele e de suas propriedades mecânicas, há diminuição da elasticidade da pele, os fibroblastos e os queratinócitos se reproduzem mais lentamente e a síntese de colágeno se torna mais lenta levando à aparência irregular (HIRATA *et al.*, 2004).

É importante ressaltar que o processo de envelhecimento é um dos fenômenos biológicos mais complexos que se conhece. Tem-se relatadas múltiplas teorias para explicar suas causas, sendo árduo definir precisamente a natureza bioquímica dos processos envolvidos. Dentre as hipóteses modernas mais inequívocas, associadas ao envelhecimento, estão ligadas à gênese e atuação dos radicais livres (GARCIA, 1996; RIEGER, 2007).

De acordo com a teoria dos radicais livres, o processo do envelhecimento é causado por danos no DNA devido às oxidações químicas e enzimáticas causadas por estes radicais e resultam na perda das funções biológicas das proteínas, tais como o colágeno e proteoglicanas. Concomitantemente, há alterações na estrutura da membrana celular e aumento da flacidez da pele. Além disso, oxidações químicas e enzimáticas envolvendo a formação de radicais livres aceleram o fenômeno do envelhecimento por danos ao DNA e por atuarem na desidrogenação, hidroxilação e na glicação protéica (JAY *et al.*, 1998).

Assim, o conhecimento quanto aos mecanismos moleculares associados ao fotoenvelhecimento e aos demais fatores extrínsecos é primordial para otimizar os mecanismos de defesa da pele, com o objetivo de proteger e reparar o material genético e assim fazer uso de novos produtos obtidos por processos biotecnológicos (DERMAGE, 2010). A seguir, neste trabalho será dado o foco nas aplicações de enzimas em produtos destinados à prevenção e/ou tratamento do envelhecimento celular.

3.7. Uso de enzimas aplicadas em produtos cosméticos destinados ao envelhecimento cutâneo

Os inibidores das metaloproteinases têm se mostrado como um interessante componente em formulações cosméticas para proteger a pele, visto que podem reduzir a atividade enzimática excessiva que degrada as fibras de colágeno, colapsa a trama da matriz extracelular e produz os sinais visíveis de envelhecimento, como enrugamento e perda de elasticidade (THIHODEAU, 2001).

As metaloproteinases de matriz (MMP) são as enzimas responsáveis pela degradação das macromoléculas que formam a matriz extracelular (MEC), como as fibras de colágeno e elastina da pele. A matriz extracelular é produzida pelos queratinócitos da epiderme e pelos fibroblastos e permite, por sua vez, que nutrientes, metabólitos e fatores de crescimento se difundam entre as células, além de estabelecer a integridade tridimensional da pele (THIHODEAU, 2001).

Várias enzimas do tipo protease com funções distintas são liberadas na epiderme e são reguladas pelos níveis hormonais do organismo. Cada protease possui uma função na pele como manter as células unidas ou descamar células, como exemplo tem-se as metaloproteinases que degradam a elastina e o colágeno. Para manter o equilíbrio enzimático das metaloproteinases é necessária a presença de inibidores, que são naturalmente controlados na pele (BON *et al.*, 2008). Sabe-se que durante o envelhecimento a perda de tecido é, particularmente, resultado do desequilíbrio entre a ativação e a inibição da atividade proteolítica. Assim, uma elevada produção de metaloproteinases leva a um colapso da matriz extracelular e, conseqüentemente, aos sinais prematuros de envelhecimento (DIEAMANT, 2008).

São conhecidas cerca de vinte MMP e estas possuem características funcionais ou estruturais em comum, porém o substrato é diferente para cada MMP (FULLER *et al.*, 2006). De modo geral, as MMPs são classificadas no grupo da collagenase, gelatinase, dentre outros de acordo com a sua função, como mostra a Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Exemplos de metaloproteinases da matriz (MMP) e seus respectivos substratos conhecidos (Adaptado de THIHODEAU, 2001).

Nº da MMP	Nome do Grupo	Exemplos de substrato
MMP-1	Colagenase 1	Colágenos I e II; gelatina
MMP-2	Gelatinase A	Colágenos I, IV, VII; elastina
MMP-9	Gelatinase B	Colágeno IV; elastina
MMP-12	Metaloestalase	Colágeno IV; elastina; membrana basal

Os inibidores de metaloproteinases inibem a atividade enzimática das MMPs e são produzidos por células de diversos órgãos, incluindo a pele (FISHER *et al.*, 1996). Estes inibidores se ligam às MMPs formando complexos não covalentes reversíveis em uma relação estequiométrica 1:1. Após a formação do complexo a MMP torna-se inativa. Além disso, sabe-se que a produção dos inibidores de metaloproteinases diminui com a idade, isto resulta em uma excessiva degradação das macromoléculas da matriz extracelular (THIHODEAU, 2001). Assim, a diminuição da atividade enzimática, por exemplo, das colagenases poderia proteger a integridade da matriz e, por conseguinte, minimizar o aparecimento dos sinais de envelhecimento (THIHODEAU, 2001).

Por isto, os inibidores de MMPs se mostram como uma estratégia na cosmetologia, podendo ser aplicados em formulações cosméticas no intuito de reforçar a matriz extracelular, de forma a promover o tônus da pele, reduzir o aparecimento de rugas e “pés-de-galinha”, melhorar a firmeza e a elasticidade da pele, reduzir a vermelhidão (rosácea). Como a luz UV é um dos fatores que induz a síntese de MMPs, os inibidores podem ser incorporados a produtos de cuidados com o sol (THIHODEAU, 2001).

A coenzima Q10 (CoQ10) ou ubiquinona também é um exemplo de enzima que tem sido incorporada a produtos cosméticos, sendo este um antioxidante lipossolúvel localizado na membrana mitocondrial interna de quase todas as células vivas e desempenha um papel importante na cadeia transportadora de elétrons para a produção de ATP (PARRINHA, 2014).

As razões pelas quais a CoQ10 é atrativa no mercado dos cosméticos são várias, podendo ser citadas (i) a atividade anti-apoptótica; (ii) a ação de diminuir a matriz das metaloproteinases; (iii) a redução dos efeitos dos radicais livres (antioxidante) e (iv) a inibição da degradação do colágeno (MAKING COSMETICS, 2015). Tais razões contribuem para sua propriedade antienvhecimento, ademais a CoQ10 aumenta a eficiência da utilização do oxigênio (DERMAGE, 2010).

Além disso, a CoQ10 é uma molécula pequena que consegue penetrar facilmente nas células da pele, entretanto é preferencialmente incorporada a lipossomas para favorecer a estabilização do composto e aumentar a eficiência na absorção da pele, é utilizada em uma concentração final de 2 a 6%. Uma das características visíveis em uma formulação que contenha CoQ10 é sua cor alaranjada intensa como mostra a Figura 3.4, assim, pela cor é possível estimar se o produto cosmético, que tende a adquirir esta coloração, contém quantidade significativa de CoQ10 (MAKING COSMETICS, 2015).



Figura 3.4: Coenzima Q10 purificada (MAKING COSMETICS, 2015).

Segundo FULLER *et al.* (2006), tem-se feito o uso de CoQ10 combinado a carotenóides, em produtos cosméticos, para atuar na prevenção dos efeitos do envelhecimento cutâneo provocado pelo sol.

Os carotenoides possuem propriedade antioxidante e eliminam espécies reativas de oxigênio, de forma a neutralizar os radicais livres (DIAS, 2008). Lademann *et al.* (2009) mostraram um método não invasivo para a determinação *in vivo* de

carotenoides na pele humana e observaram que os indivíduos com altos níveis desses constituintes têm menos sulcos e rugas que indivíduos com menores níveis de antioxidantes. Porém, os carotenoides não podem ser produzidos pelo organismo e precisam ser incorporados na dieta, com consumo de frutas e legumes.

Pode-se obter a ubiquinona por síntese química, através da extração de um composto da berinjela, que após tratamento, reage com a hidroquinona para produzir a ubiquinona, ou por extração natural que é muito mais difícil, visto que a ubiquinona ocorre em concentrações muito baixas, sendo difícil a sua purificação (MAKING COSMETICS, 2015).

Um método empregado, atualmente, é obter a CoQ10 por meio da tecnologia do DNA recombinante, utilizando leveduras ou bactérias, que podem sintetizar esta enzima em quantidades mais satisfatórias (MAKING COSMETICS, 2015).

Outro exemplo de produto cosmético contendo enzima é o DG-DNA complex[®] (DERMAGE, 2012), que contém a enzima UV-endonuclease, obtida por processos biotecnológicos. Esta enzima advém de um micro-organismo encontrado nos solos e nos oceanos *Micrococcus lysate* que sintetiza um ativo, chamado de extrato, que contém a enzima. O principal objetivo em utilizar a UV-endonuclease é acelerar a recuperação natural dos danos solares, quando lipossomada esta enzima é liberada na pele para uma maior atividade, posteriormente, os lipossomos serão encontrados nos extratos basais garantindo uma melhora no tempo de reparo do DNA (DERMAGE, 2012).

A função das endonucleases é reconhecer sequências de pares de bases específicas em moléculas de DNA com mutações e neste ponto clivá-las. A radiação UV induz a formação de dímeros de timina, conhecidos como fotoprodutos, um mecanismo fisiológico de defesa é o chamado reparo por excisão de nucleotídeos, que remove esta alteração causada pelos danos solares (STEINER, 2010).

Pode-se observar pela Figura 3.5 que em 1, a porção da fita de DNA lesada é reconhecida, em 2 as enzimas chamadas de nucleases de reparação do DNA retiram esta porção de fita danificada, posteriormente, em 3 a enzima DNA polimerase faz uma cópia da fita intacta se ligando na extremidade da fita de DNA. E, por fim, em 4 a enzima DNA ligase liga as extremidades entre as duas fitas (DERMAGE, 2012).



Figura 3.5: Sistema de Reparo por excisão de nucleotídeos. (1) a porção da fita de DNA é reconhecida; (2) as enzimas chamadas de nucleases de reparação do DNA retiram esta porção de fita danificada; (3) a enzima DNA polimerase faz uma cópia da fita intacta e (4) a enzima DNA ligase liga as extremidades entre as duas fitas (Adaptado de DERMAGE, 2012).

A fotoproteção solar é uma importante medida para prevenir o envelhecimento cutâneo, uma vez que a radiação UV é responsável por cerca de 80 a 90% do

envelhecimento observado na pele (STEINER, 2010). Assim, a aplicação tópica de produtos cosméticos que contenham endonucleases proporciona uma nova perspectiva no conceito de fotoproteção (DERMAGE, 2012).

Ainda com ação no envelhecimento cutâneo, têm-se as enzimas superóxido dismutase e a catalase que atuam como captadores de radicais livres e fornecem proteção às proteínas da pele e ao DNA. A superóxido dismutase é uma enzima encontrada naturalmente no corpo, mas que tem sua produção reduzida com o avançar da idade, níveis mais elevados de antioxidantes podem ser obtidos por suplementação oral ou por agentes aplicados topicamente, estes devem ser absorvidos pela pele e liberados no tecido alvo na forma ativa (BON *et al.*, 2008; STEINER, 2015)

De maneira geral, a prevenção é a melhor atitude em relação ao envelhecimento cutâneo, pois a pele apresenta pouco desgaste endógeno e se mostra muito apta em apresentar alterações em relação aos fatores externos como radiação ultravioleta, fumo e poluentes que intensificam estas alterações (STEINER, 2015).

3.8. Enzimas que atuam na Renovação Celular

Através da enzimocosmética direta, por meio de enzimas específicas, é possível possibilitar a renovação celular da pele. Para isso, é necessário um equilíbrio entre a produção de queratinócitos na camada mais interna da epiderme (camada basal) e o deslocamento destes para que o meio externo, de forma a promover a descamação (BON *et al.*, 2008).

São utilizadas enzimas proteolíticas na renovação celular, os chamados *peelings* enzimáticos ou biológicos de forma a propiciar suavidade à pele devido à diminuição de seu espessamento, e auxiliando na hidratação. As enzimas proteolíticas hidrolisam a queratina e apresentam como vantagem maior segurança e irritabilidade reduzida (NEURATH, 1989; BUONA VITA, 2015).

Um exemplo é o Pumpkin Enzyme® (Figura 3.6) que é obtido através da fermentação do fruto da abóbora com *Lactobacillus lactis*, este micro-organismo

quebra as biomoléculas liberando fitoquímicos e por meio de uma filtração seletiva, é possível isolar as frações proteolíticas (HIGH CHEM, 2015). O Pumpkin Enzyme® possui atividade parecida com o ácido glicólico, porém não causa os efeitos indesejados do mesmo, não apresenta irritação e não é sensibilizante (HIGH CHEM, 2015).

O ácido glicólico é um alfa-hidroxiácido, obtido a partir da cana-de-açúcar, é utilizado como agente de descamação em concentrações de 30 - 70%, removendo as camadas mais superficiais do estrato córneo, possui a função também de clarear, combater a flacidez e as rugas. É considerado um esfoliante agressivo, sendo indicado para peles resistentes. O uso deste ácido na pele pode torná-la sensível à luz solar (STEINER, 2015; SULLA-SALUTE, 2015).



Figura 3.6: Ação do cosmético Pumpkin Enzyme® (HIGH CHEM, 2015)

Segundo Bersanetti *et al.* (2005) a enzima *arazyme*, obtida por biotecnologia a partir de uma aranha coreana (*Nephila clavata*), também tem sido usada como *peeling* enzimático. Esta enzima é uma metaloprotease exocelular que é secretada em meio de cultura por uma bactéria simbiótica (*Aranicola proteolyticus*) da aranha coreana. São diversas as funções desta enzima na pele, como decompor as células mortas acumuladas na superfície de forma a produzir uma descamação gradual e, assim, rejuvenescendo a pele e, consequentemente,

eliminando e suavizando imperfeições. Além destes benefícios, este cosmético atua no fechamento dos poros e no controle da oleosidade, podendo ser usado em qualquer época do ano, visto que pode ser usado em peles sensíveis, por não apresentar riscos na categoria sensibilidade ao sol.

Outro produto disponível no mercado de cosméticos é o Renew Zyme® que atua na regeneração e renovação cutânea, os ativos são extraídos da Romã. O produto é obtido por meio da maceração do fruto com proteínas chaperonas intactas. Essas chaperonas têm a função de aumentar a validade no produto. Essa tecnologia mantém a estabilidade do ativo, permitindo que a enzima permaneça funcionalmente ativa por um período maior que a enzima purificada. As chaperonas previnem a agregação de proteínas recém-sintetizadas, antes que elas estejam em sua forma ativa, sem que isto altere a forma final de enovelamento (NATU FARMA, 2015).

Uma das principais vantagens deste produto é que as proteases são desativadas quando a água evapora, deste modo não causa irritabilidade à pele. Além disso, atua como antioxidante, estimula a síntese do colágeno, previne danos causados pela radiação UV e promove a renovação celular de forma suave, quando comparado ao ácido glicólico (NATU FARMA, 2015)

São diversas as funções deste produto na pele como decompor as células mortas acumuladas na superfície, de forma a produzir uma descamação gradual e assim rejuvenescendo a pele, eliminando e suavizando imperfeições. Além destes benefícios, este cosmético atua no fechamento dos poros e no controle da oleosidade, podendo ser usado em qualquer época do ano, visto que pode ser usado em peles sensíveis por não apresentar riscos na categoria sensibilidade ao sol (BERSANETTI *et al.*, 2005).

Alguns outros exemplos de enzimas proteolíticas que tem seu uso na renovação celular são a tripsina, papaína, fuccina e bromelina (BON *et al.*, 2008).

O uso da bromelina na cosmetologia se dá principalmente como agente de limpeza, renovação celular, *anti-aging*, *peeling* biológico e clareamento da pele

(LOURENÇO, 2013). Para obtenção desta enzima, usa-se preferencialmente resíduos industriais, pois os produtos principais do abacaxi têm alto valor agregado e a bromelina tem como vantagem permanecer no fruto mesmo após seu amadurecimento (BALLS *et al.*, 1941). Lourenço (2013), avaliou a estabilidade da bromelina comercial e pode concluir que as emulsões e as dispersões apresentam maior estabilidade desde que o produto seja armazenado ao abrigo da luz e em baixa temperatura, resultando também em maior vida útil. Todavia, os géis levaram a maior perda do conteúdo protéico e atividade enzimática. Em todos os casos, a temperatura e a luminosidade foram parâmetros importantes na avaliação da estabilidade da enzima.

A empresa Adcos, referência no mercado brasileiro de dermocosméticos, existente desde 1982, comercializa a Máscara Herbal com Enzimas, sendo este um esfoliante enzimático à base de bromelina, cujos benefícios são renovar a pele através do *peeling* enzimático de forma a não descamar, melhorar textura e o viço, sendo ideal para peles sensíveis (ADCOS, 2015). A bromelina atuará especificamente na quebra da queratinização celular, aumentando a permeabilidade cutânea (SEMBLANT, 2015).

3.9. Incorporação de enzimas em formulações cosméticas

A formulação de produtos cosméticos é uma tarefa complexa, sendo que para cada produto cosmético é necessário apresentar as propriedades específicas simultaneamente ajustadas às aplicações desejadas (GALEMBECK e CSORDAS, 2011).

Assim, a incorporação de enzimas em cosméticos também não é de fácil realização, porém é passível de ser executado desde que respeitado alguns requisitos, tais como (BON *et al.*, 2008):

- i. O uso das enzimas não deve desencadear reações alérgicas.
- ii. Deve-se atentar para a atividade da enzima, esta não deve ser alterada pelos demais ingredientes da formulação, como os tensoativos aniônicos que podem causar inibição.

- iii. A estabilidade da enzima deve ser compatível com as condições de armazenamento, para que esta não venha a ser alterada
- iv. O pH do meio é um importante fator que deve respeitar a maior estabilidade da enzima e o pH fisiológico da pele (4,5 a 6,5).
- v. Avaliar se há incompatibilidade entre a enzima e os ingredientes do cosmético, caso haja pode-se incorporar a enzima na formulação no momento do uso.
- vi. Deve-se manter a estabilidade física, química e microbiológica durante todo o prazo de validade, visto que muitas enzimas estão sujeitas a oxidação, para isto deve-se utilizar antioxidantes na preparação cosmética.
- vii. Deve haver compatibilidade entre a enzima e o veículo/excipientes da formulação.

Portanto, o sucesso no desenvolvimento de um novo cosmético depende da escolha correta das matérias-primas que o compõem, bem como seu processamento através de operações industriais adequadas, de forma a garantir máxima eficiência e segurança para o usuário (GALEMBECK e CSORDAS, 2011).

3.10. Veículos

Diversos ativos naturais, como as enzimas, são compostos instáveis que podem sofrer alterações, ocasionando a diminuição ou perda da atividade (PARRINHA, 2014). A utilização de cosméticos com melhor potencial de ação em cremes antienvelhecimento, protetores solares e hidratantes se dá devido ao desenvolvimento de tecnologias avançadas a fim de produzir ativos encapsulados e de liberação lenta e que se apresentem estáveis por mais tempo nas formulações (STEINER, 1995).

Assim, novos veículos têm surgido nos quais as enzimas encontram-se protegidas das incompatibilidades advindas da formulação cosmética (BON *et al.*, 2008). A indústria cosmética tem buscado cada vez mais investir na utilização de sistemas nanoestruturados com diversas aplicações (PARRINHA, 2014).

A Nanotecnologia é a uma ciência que permite desenvolver produtos pela manipulação de átomos e moléculas na forma de partículas da ordem de micrômetros, na cosmetologia sua principal contribuição foi o desenvolvimento da veiculação de ingredientes ativos, como as enzimas, por lipossomos, nanopartículas, ciclodextrinas e nanocápsulas (SOUZA, 2011).

Os lipossomas são pequenas vesículas esféricas compostas por uma bicamada de fosfolipídios envolvendo um centro aquoso, os quais podem carrear, portanto substâncias lipofílicas e hidrofílicas. São amplamente empregados em cosméticos, visto que seu estudo remonta a mais tempo quando comparado a outros veículos, porém deve-se considerar que altas doses de fosfolipídios, aplicados topicamente em um período longo, resultam em irritabilidade na pele normal e seca. Um dos principais empecilhos de sua utilização se deve ao fato de apresentar problemas quanto à sua estabilidade físico-química podendo se agregar durante a estocagem do produto. A vantagem é que lipossomas são atóxicos, biodegradáveis e podem ser preparados em larga escala (CANUTO e MORAES, 2011).

Em meados da década de 70, iniciaram-se os estudos das nanocápsulas como carreadores de fármacos, estas são formadas por um invólucro polimérico, disposto ao redor de um núcleo oleoso. O fármaco pode estar dissolvido neste núcleo ou adsorvido na parede polimétrica, tal fato dependerá das propriedades físico-químicas e da composição das nanocápsulas e do fármaco (COUVREUR *et al.*, 2002). Há material técnico-científico abundante no que diz respeito a estas estruturas como carreadores de fármacos os quais demonstram sua eficácia. Entretanto poucos trabalhos a respeito destas vesículas, com finalidade no carregamento de cosméticos, têm sido divulgados, ainda que alguns trabalhos apresentem resultados animadores quanto ao seu uso (GUTERRES *et al.*, 2005).

Considerando as vantagens e todos os veículos disponíveis atualmente para aplicação cosmética, as nanopartículas têm-se revelado as mais promissoras. As nanopartículas possuem dimensões entre 0,1 e 1000 nm e são estruturas lipídicas sólidas, estabilizadas por um ou mais tensoativos. É um veículo que se adéqua a substâncias lipofílicas, podendo ser formuladas em sistemas de base aquosa. As

nanopartículas lipídicas têm sido usadas como veículos de produtos cosméticos com ação protetora, antienvhecimento, anti-acne, perfumes, fragrâncias e repelentes (SILVA, 2013). Uma das vantagens é que estes sistemas são bem tolerados pelo organismo, dado que possuem na sua composição lípidos que se assemelham aos fisiológicos, estes lipídeos promovem a hidratação da pele. Dentre exemplos de ativos, incorporados em nanopartículas, encontra-se a coenzima Q10, em que se obteve liberação controlada nas camadas mais profundas da pele utilizando este tipo de veículo. Como desvantagem, tem-se a instabilidade física durante o período de armazenamento, ou mesmo durante a aplicação do produto (PARRINHA, 2014).

Há ainda uma segunda geração de nanopartículas, os vetores lipídicos nanoestruturados (*Nanostructured Lipid Carriers*, NLC), estes diferem pela composição da matriz lipídica, que no caso do NLC é constituída por uma mistura de um lipídeo sólido com um lipídeo líquido. Estes vetores possuem maior estabilidade ao longo do tempo e acomodam maior quantidade de substância ativa em seu interior, são demonstrados na Figura 3.7 (MULLER e SOUTO, 2008).

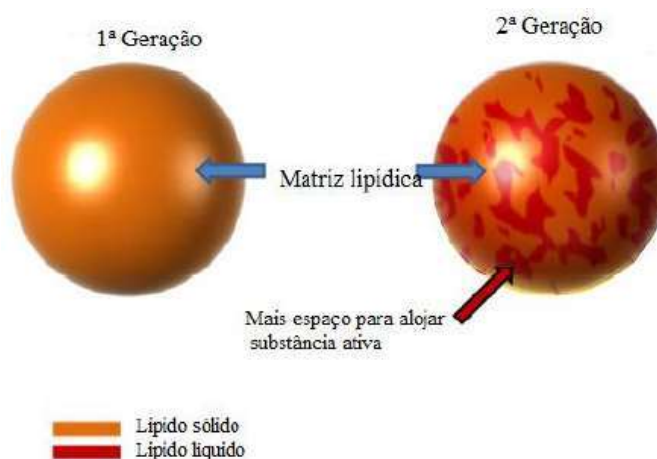


Figura 3.7: Estrutura dos vetores lipídicos nanoestruturados (NLC) (Adaptado de Muller *et al.*, 2011)

Um estudo foi realizado utilizando a coenzima Q-10 com o intuito de comparar o perfil de liberação da enzima quando incorporada em um NLC e uma nanoemulsão, para o primeiro veículo o estudo relatou que houve inicialmente

uma liberação rápida e depois lenta e controlada, enquanto que na nanoemulsão o perfil de liberação foi constante (TEERANACHAIDEEKUL, 2007). Ainda em comparação com a nanoemulsão, por meio de outro estudo, comprovou-se que a coenzima Q-10 tem maior penetração na pele quando veiculada em uma nanopartícula ou um NLC (DINGLE, 1998; PARDEIKE e MULLER, 2007).

No ano de 2005 foi lançado no mercado o primeiro cosmético contendo coenzima Q-10 encapsulada com nanopartículas lipídicas, o NanoRepair Q10® da Dr. Rimpler (Figura 3.8), considerando a baixa solubilidade aquosa da ubiquinona, esta não consegue penetrar nas camadas mais profundas da pele, na qual o carreamento pelas nanopartículas se torna uma alternativa vantajosa. Comprovou-se que devido à maior incorporação da coenzima Q-10 na camada córnea, este composto promoveu maior hidratação na pele e atuou no antienvelhecimento cutâneo, quando comparado às emulsões de uso tradicional em cosméticos (PARDEIKE e MULLER, 2006).



Figura 3.8: Cosmético NanoRepair Q10® da Dr. Rimpler GmbH (Adaptado de M-Beauty, 2013).

Com isto, o desenvolvimento e aprimoramento de novos veículos em cosmetologia constituem uma realidade atual, e apresentam um caminho importante e relevante para o uso de enzimas em produtos cosméticos (BON *et al.*, 2008; SILVA, 2013).

4. CONCLUSÕES

Nesta revisão foi possível apresentar o uso de enzimas aplicadas em cosméticos que venham a atuar no tratamento ou prevenção do envelhecimento cutâneo e, também, promovendo a renovação celular. Demonstrou-se que o entendimento de como as enzimas atuam na pele e de como podem ser veiculadas, garante a efetividade de uma formulação cosmética enzimática e o uso seguro.

Os principais produtos que tratam ou previnem o envelhecimento cutâneo são aqueles que utilizam inibidores de metaloproteases ou aqueles ligados aos processos antioxidantes, como a coenzima Q10, superóxido dismutase e catalase. Podendo ainda serem utilizadas enzimas envolvidas nos mecanismos de reparo do DNA. Para os cosméticos que promovem a renovação celular, as proteases são as enzimas predominantes em todas as formulações.

Observou-se que o uso de enzimas na cosmetologia é empregado nas indústrias do ramo, porém grande parte do conhecimento científico disponível sobre sua aplicação encontra-se no domínio de laboratórios fabricantes de cosméticos, pesquisas as quais não se tem acesso ou acesso limitado devido à proteção das informações sobre formulações. Portanto, esta revisão vem a contribuir com o aumento de informações na utilização de enzimas em formulações cosméticas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADCOS. Máscara Herbal com Enzimas. 2015. Disponível em:<<http://www.adcos.com.br/produtos/mascara-herbal-com-enzimas>>. Acesso em 02 de outubro de 2015.

ANUNCIATO, T. P. Nutricosméticos. 2011. 101f. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

ANVISA. Cosméticos – Informações Gerais. 2012. Disponível em:<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/transparencia/lut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hTQwNfRydDRwN_N2cjA08XVzOPUF-PIGdvl_2CbEdFALBfe1Q!/?urile=wcm%3Apath%3A/anvisa+portal/anvisa/trasporencia/assunto+de+interesse/publicacoes+transparencia/faq+-+perguntas+frequentes/cosmeticos+-+informacoes+gerais>. Acesso em 15 de novembro de 2015.

BAGATIN, E. Mecanismos do envelhecimento cutâneo e o papel dos cosmecêuticos. 2009. Disponível em:<http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id_materia=3997&fase=imprime>. Acesso em 25 de outubro de 2015.

BALLS, A. K., THOMPSON, R. R., KIES, M. W. Bromelain. Properties and Commercial Production. **Ind. Eng. Chem.**, v. 33, n. 7, p. 950-953, 1941.

BERSANETTI, P.A; PARK, H.Y.; BAE, K.S.; SON, K.H.; SHIM, D.H.; HIRATA, I.Y.; JULIANO, M.A.; CARMONA, A.K.; JULIANO, L.Characterization of arazyme an exocellular metalloprotease isolated from *Serratia proteamaculans* culture medium. **Enzyme Microb.Technol**, v. 37, n. 6, p. 574-81, 2005.

BEYSSAC, E. e BREGNI, C. **Evaluation biofarmaceutica de la via cutânea**. 2000. Disponível em:<<http://www.ffyb.uba.br/Farmacotecnica%201/via%20dermica.htm>>. Acesso em 06 de setembro de 2015.

BON, E. P. S.; FERRARA, M. A.; CORVO, M. L. **Enzimas em Biotecnologia: Produção, Aplicações e Mercado**. 1ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2008.

BRAIN, K. R.; GREEN, D. M.; LALKO, J.; API, A. M. In-vitro human skin penetration of the fragrance material geranyl nitrile. **Toxicol In Vitro**, v. 21, n. 1, p. 133-138, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Notificação de produtos. *Resolução RDC 211, de 14 de julho de 2005. Ficam estabelecidas a Definição e a Classificação de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, conforme Anexos I e II desta Resolução.* Disponível em: <
<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/dfa9b6804aee482bb7a1bfa337abae9d/Resolu%C3%A7%C3%A3o+RDC+n%C2%BA+211,+de+14+de+julho+de+2005.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em 02 de setembro de 2015.

BROOKS, G.; SCHOLTZ, D.B; PARISH, D.; BENNETT, S. Envelhecimento e o Futuro das Enzimas em Cosméticos. **Cosmetics & Toiletries**, v. 11, n.5, p.62, 1999.

BUONA VITTA. Enzimocosmética, *peeling* químico e despigmentantes. Disponível em: <
http://www.ciabv.com.br/_upload/artigos_arquivos/145/bab808a8e6f2eacb1ad60cc31fbc268f.pdf>. Acesso em 02 de novembro de 2015.

CANUTO, C.F.R; MORAES, P.I. A importância da Estabilidade em Produtos Cosméticos. 2011. 53 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Farmácia), Universidade Estadual de Goiás, Goiás.

CEDERJ. Sistema Tegumentar. 2015. Disponível em: <
<http://ucbweb2.castelobranco.br/webcaf/arquivos/13087/10968/pele.pdf>>. Acesso em 15 de novembro de 2015.

CHURCH, R. L.; PFEIFFER, S. E.; TANZER, M. L. Collagen biosynthesis and secretion of a high molecular weight collagen precursor (procollagen). **National Academy of Sciences**. v.68, n.11, p.2642, 1971.

CORREIA, P.T.A. Nutracêuticos para aplicação cosmética. 2012. 70 f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto.

COUVREUR, P.; BARRATT, G.; FATTAL, E.; LEGRAND, P.; VAUTHIER, C. Nanocapsule technology: a review. **Critical Review in Therapeutic Drug Carrier Systems**. v. 19, p. 99-134, 2002.

CUSTODIO, A.A.C. Estudos de pré-formulação e desenvolvimento de cosméticos - linha *health and beauty*. 2014. Disponível em: <
<http://hdl.handle.net/11449/124269>>. Acesso em 15 de novembro de 2015.

DERMAGE. Coenzima Q10. 2010. Disponível em: <
<http://www.dermage.com.br/dermage/paginas/Estudo-Coenzima-Q10.pdf>>. Acesso em 02 de novembro de 2015.

DERMAGE. Improve DNA Repair Monografia. 2012. Disponível em: <<http://dermage.com.br/dermage/paginas/Estudo-DNA-Repair-WEB.pdf>>. Acesso em 27 de outubro de 2015.

DIAS, P.S.P.M.A. A Nutrição e a Pele. 2008. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/54741/3/120815_0819TCD19.pdf>. Acesso em 20 de novembro de 2015.

DIEAMANT, G. C. Resposta neuro-imuno-endocrinológica da pele relacionada ao fotoenvelhecimento: avaliação *in vitro* e clínica de um novo composto como alternativa terapêutica em dermatologia. 2008. 318 p. Tese (Doutorado em Farmacologia). Faculdade de Ciências Médicas, Universidade de Campinas, Campinas.

DINGLE, A. Feste Lipid-Nanopartikel als kolloidale Wirkstofftragersysteme zur dermalen Applikation. Institut für Pharmazie. Freie Universität, Berlin, 2008.

DUREJA, H. Cosmeceuticals: An emerging concept. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 37, n. 3, p. 155-159, 2005.

ERHART, E. A. **Elementos de Anatomia Humana**. 5ed. São Paulo: Ateneu. P. 250, 1976.

FISHER, G.J.; WANG, Z.Q.; DATTA, S.C.; TALWAR, H.S.; VARAM, J.; KANY, S.; VORHEES, J.J. Molecular basis of the sun induced premature skin ageing and retinoid antagonis. **Nature**. p. 379, 1996.

FOX, C. A baby care skin protectant. **Cosmetics & Toiletries**. v. 120, n.8.p.34-38, 2005.

FULLER, B.; SMITH, D.;HOWERTON, A;KERN, D. Anti-inflammatory effects of CoQ10 and colorless carotenoids. **Journal Cosmetology Dermatology**. v.5.n.1.p.30-38, 2006.

GALEMBECK F., CSORDAS Y. Cosméticos: a química da beleza. Sala de Leitura. Brasil, 2011. Disponível em: <http://web.ccead.puc-rio.br/condigital/mvsl/Sala%20de%20Leitura/conteudos/SL_cosmeticos.pdf>. Acesso em 06 de setembro de 2015.

GARCIA, C. R. C. Atualização em Princípios-Ativos Antienvhecimento. **Revista de Cosmiatria & Medicina Estética**, v.4, n. 4, p 9-15, 1996

GILCHREST, B.A; KRITMANN, J. Springer-Verlag Berlin Heidelber. 1 ed. p.198, 2006.

GUTERRES, S.S; SANTOS, V.J; SCHMALTZ, C. Nanocápsulas como uma tendência promissora na área cosmética: a imensa potencialidade deste pequeno grande recurso. **Revista Infarma**. v. 16, p. 13-14, 2005.

HEEMANN, A. C. W. Guia da Profissão Farmacêutica Indústria de Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes. 2010. 24 p.

HIGH CHEM. Pumpkin Enzyme. Disponível em: <http://pharmakondf.com.br/Pharmakon/arquivos/INSUMOS_FARMACEUTICOS/P/Pelling de Abobora - Pumpkin Enzyme.pdf>. Acesso em 02 de novembro de 2015.

HIRATA, L. L.; SATO, M.E.O.; SANTOS, C. A. M. Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo. **Acta Farmacêutica Bonaerense**. v.23, p.418-24 , 2004.

HOWARD, K.L. The use of enzymes in cosmetics. **Journal Society of Cosmetics Chemists**, v.13, n. 1, p. 59-63, 1962.

JAGER, M.; GROENINK, W.; SPEK, J.; JANMAAT C.; GOORIS, G.; PONEC M.; BOUWSTRA, J. Preparation and characterization of a stratum corneum substitute for in vitro percutaneous penetration studies. **Biochimica et Biophysica Acta**, p. 1758, 2006.

JAY, V.J.Y.; BERTHON, P.; HAGEGE, M.P.; POUGET, B.; LEJEUNE & H. POURRAT. New active ingredient for aging prevention. **Cosmetics & Toiletries**, v.113, p.71-77, 1998.

KIERSZENBAUM, A. L. **Histology and Biology: An Introduction to Pathology**. United States of America: Mosby, 2002. 619 p.

KLIGMAN, A. The future of cosmeceuticals: an interview with Albert Kligman. **Dermatology Surgely**, v.31, n. 7, p. 890-891, 2005.

LADEMANN, J.; CASPERS, P.J.; VAN DER POL, A.; RICHTER, H.; PATZELT, A.; ZASTROW, L.; DARVIN, M.; STERRY, W.; FLUHR, J.W. In vivo Raman spectroscopy detects increased epidermal antioxidative potential with topically applied carotenoids. **Laser Physics Letters**. v. 1, n. 6, p. 79, 2009.

LEONARDI, G. R., MATHEUS, L. G. M. **Penetração Cutânea: Cosmetologia Aplicada**. 2ed. São Paulo: Santa Isabel, 2008.

LESPEAUX. As diferenças entre os raios UVA, UVB e seus efeitos na pele. Julho 2015. Disponível em: <<http://lespeaux.com.br/blog/as-diferencas-entre-os-raios-uva-e-uvb-e-seus-efeitos-na-pele/>>. Acesso em 20 de novembro de 2015.

LODS, L. M.; DRES, C.; JOHNSON, C.; SCHOLZ, D.B.; BROOKS, G. J. The future of enzymes in cosmetics. **Internacional Journal of Cosmetic Science**. v. 22, n. 2, p. 85-94, 2000.

LOPES, P.S. Influência da papaína e do óleo de pequi na penetração percutânea do diclofenaco de sódio.1999. 149f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade de São Paulo, São Paulo.

LOURENÇO, B.C. Estudo da Estabilidade da Bromelina Comercial em Formulações Cosméticas. 2013. 66 p. Dissertação (Mestrado em Biociências e Tecnologia de Produtos Bioativos). Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

MAKING COSMETICS. Coenzyme Q10 in Cosmetics. 2015. Disponível em<<http://www.makingcosmetics.com/articles/34-coenzyme-q10-in-cosmetics.pdf>>. Acesso em 20 de outubro de 2015.

MATOS, S. P. **Cosmetologia Aplicada**. 1ed. São Paulo: Editora Erica, 2014. 148p.

M-BEAUTY. Dr. Rimpler. 2013. Disponível em: <<http://www.m-beauty24.de/Dr-Rimpler-INTENSIVE-Serum-Nanorepair-Q10-20ml/en>>. Acesso em 20 de novembro 2015.

MERCURIO, G.D; CAMPOS, M.G.B.M.P. Farmacologia e a Pele. Disponível em: <http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?id_materia=4149&fase=imprime>. Acesso em 15 de novembro de 2015.

MILAGRES, F.M.A; FERNANDES, M; MUSSATO, I.S. Enzimas Poderosa Ferramenta na Indústria. **Revista Ciência Hoje**.v.41. n.242. p.33, 2007.

MONTANARI, T. Histologia: texto, atlas e roteiro de aulas práticas. 2ed. Porto Alegre: Tatiana Montanari, 2013. 203 p.

MORGAN, C. J.; RENWICK, A. G.; FRIEDMANN, P. S. The role of stratum corneum and dermal microvascular perfusion in penetration and tissue levels of water-soluble drugs investigated by microdialysis. **British Journal of Dermatology**, v. 148, p. 434-443, 2003.

MOUAD, A.M; PORTO, A.L.M. Uma abordagem química sobre a pele e a biocatálise no desenvolvimento de moléculas antioxidantes de aplicação cosmética. **Revista Virtual de Química**. São Carlos. v. 6, n.6.p.19, 2014.

MULLER, R. H. E SOUTO, E.B. Challenging cosmetics: Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructures carriers (NLC). IN Wiechers J. & Kozlowski A. (Eds.) Science and Applications of Skin Delivery Systems. Chicago, USA, Allured Publishing, Carol Stream, 2008.

MULLER, R. H.; SHEGOKAR, R.; KECK, C. M. 20 years of lipid nanoparticles (SLN and NLC): present state of development and industrial applications. **Current Drug Discovery Technologies**. v. 8, p. 207-227, 2011.

NASCIMENTO, L. P.; RAFFIN, R. P.; GUTIERREZ, S. S. Aspectos atuais sobre a segurança no uso de produtos antiperspirantes contendo derivados de alumínio. **Revista Infarma**. Brasília, v.16, n 7-8, 2004.

NATU FARMA. Renew Zyme Peeling Enzimático de Romã. Disponível em: http://natufarma.com.br/site/index_arquivos/Page599.htm>. Acesso em 02 de novembro de 2015.

NEURATH, H. Proteolytic enzymes a practical approach. Oxford University Press, Oxford. p.259, 1989.

NICHOLS, J.A. E KATYAR, S.K. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. **Archives Dermatology Research**. v. 302, n. 2, p. 71-83, 2010.

OUMEISH, Y.O. The cultural and philosophical concepts of cosmetics in beauty and art through the medical history of mankind. **Clinics in Dermatology**. v. 19, n.4. p. 375–386, 2001.

PARDEIKE, J.; MULLER, R. H. In vivo skin hydration properties of a coenzyme Q10 containing cream with nanostructured lipid carriers (NLC). Abstract in the Annual Meeting of the American Association of Pharmaceutical scientist (AAPS). San Antonio, USA, 2006.

PARDEIKE, J.; MULLER, R. H. Physical stability of Nanostructured Lipid Carriers (NLC) in an o/w Urea Cream. Proceeding of the Annual Meeting of the Controlled Release Society (CRS). Long Beach, USA, 2007.

PARRINHA, G.R.A. Novas Tendências em Cosmética Anti-Envelhecimento. 2014. 53 p. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas). Escola em Ciências e Tecnologia da Saúde, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, Lisboa.

RIBEIRO, C. J. **Cosmetologia Aplicada a Dermoestética**. 2ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010. 427p.

RIEGER, M.M. Fotoenvelhecimento e Recuperação da Pele. **Cosmetics & Toiletries**. v.19,n.1 p. 48-51, 2007.

ROCHA, F.P. Cosmética e Biotecnologia. **Cosmetics & Toiletries**. v.9, n.4.p.22-28, 1997.

SALIOU, C.; KITAZAWA M.; MCLAUGHLIN, L. Antioxidants modulate acute solar ultraviolet radiation-induced NF- kappa-B activation in a human keratinocyte cell line. **Free Radical Biology & Medicine**. v. 26, p. 174–83, 1999.

SANTOS, H. Toxicologia: A garantia de cosméticos seguros. **Cosmetics & Toiletries**. v.20, n.2, p.20-24, 2008.

SEMBLANT. Pele de Porcelana. Disponível em: <http://redesemblant.com.br/pele-de-porcelana/>>. Acesso em 02 de novembro de 2015.

SILVA, N. R.; MONTEIRO N. V. Aplicações Industriais da Biotecnologia Enzimática. **Revista Processos Químicos/SENAI**, v. 3, n. 5, 2009.

SILVA, J. A. Desenvolvimento, caracterização e estudo de permeação cutânea de diclofenaco de dietilamônio em sistemas tópicos nanoemulsionados. 2008. 180 f. Tese (Dourado em Ciências Farmacêuticas). Departamento Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

SILVA, P.P.D. Nanopartículas lipídicas: aplicações cosméticas. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto.

SIM, Y. C., NAM, Y. S., SHIN, E., KIM, S., CHANG, I. S., RHEE, J. S. Proteolytic enzyme conjugated to SC-glucan as transdermal drug penetration enhancer. **Pharmazie**. v.58, n. 4, p. 252-256, 2003.

SIMÕES, S.I. Veículos transdérmica de fármacos III.Promotores de transporte transdérmico de fármacos. **Revista Brasileira de Clínica e Terapêutica**. v.27, n.6,p.257-274, 2001.

SOUZA, A.F. Nanotecnologia cosmética e Cosméticos orgânicos. 2011. 11 p. Universidade do Oeste de Santa Catarina, Videira.

STEINER, D. A Cosmecêutica e a Dermatologia. **Cosmetics & Toiletries**, v.7, n. 6, p. 28, 1995.

STEINER, D. Além da Proteção Solar. **Cosmetics & Toiletries**, v. 22, n. 6, p. 32, 2010.

STEINDER, D. Tratamentos para o envelhecimento. 2015. Disponível em: <http://www.denisesteiner.com.br/artigo_mes/tratamentos_evelhecimento.htm>. Acesso em 20 de novembro de 2015.

SULLA-SALUTE. O ácido glicólico para acne, prós e contras. 2015. Disponível em: <<http://sulla-salute.com/saude/cuidados-com-a-pele/>>. Acesso em 02 de novembro de 2015.

TEERANACHAIDEEKUL, V. Cetyl palmitate-based NLC for topical delivery of coenzyme Q10- development, physiocochemical characterization and in vitro release studies. **European Journal Pharmaceuthics and Biopharmaceutics**. v. 67, p. 141-148, 2007.

THIHODEAU, A. Inibidores de Metaloproteinase. **Cosmetics & Toiletries**. v.13, n.3, p.38-47, 2001.

UITTO, J. The role of elastin and collagen in cutaneous aging: intrinsic aging versus photoexposure. **Drugs Dermatology**. v. 7, p. 12-16, 2008.

VIEIRA, A.; MEDEIRO, L.; PALÁCIO, S. Factores de Crescimento: Uma nova abordagem cosmecêutica para o cuidado antienvelhecimento. 2011.