



Laura Victória Vieira Ferreira

NANOTECNOLOGIA NA FORMULAÇÃO DE COSMÉTICOS

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Luís Miguel Santos Loura e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Laura Victória Vieira Ferreira

NANOTECNOLOGIA NA FORMULAÇÃO DE COSMÉTICOS

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pelo Professor Doutor Luís Miguel Santos Loura e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Laura Victória Vieira Ferreira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011144356, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo desta Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de estágio curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os direitos de autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 16 de setembro de 2016.



FFUC FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Agradecimentos

Ao Professor Luís Loura, pela grande dedicação e disponibilidade prestada.

A todos os meus entes queridos, por toda a compreensão e ajuda que me deram a fim de
atingir os meus objetivos.

A Coimbra e à FFUC, por me proporcionarem dos melhores anos e momentos da minha
vida.

*“It had long since come to my attention that people of accomplishment rarely sat back and let
things happen to them. They went out and happened to things.”*

Leonardo Da Vinci

Resumo

A nanotecnologia tem conduzido a um elevado crescimento da indústria, e em particular, da indústria cosmética, sendo uma das tecnologias mais revolucionárias do século XXI. A sua aplicação e inovação cresce exponencialmente em inúmeras áreas, mas ainda existem algumas preocupações em relação à sua utilização e potenciais riscos de saúde pública, o que levou a que as autoridades competentes colocassem certas condições para harmonizar e controlar a introdução de nanocosméticos no mercado. Algumas destas preocupações prendem-se ao tipo de nanomaterial utilizado, a sua estabilidade, absorção cutânea, via de exposição, e à sua formulação nos produtos cosméticos. Tendo em conta estes aspectos, é vital que a produção de nanocosméticos contenha uma série de avaliações que assegurem a sua qualidade, segurança e eficácia, à semelhança dos medicamentos.

Palavras-chave: Nanopartícula, cosméticos, transporte, pele, propriedades, formulação, segurança.

Abstract

Nanotechnology has led to a large growth of the industry, in particular, the cosmetic industry, being one of the most revolutionary technologies of the 21st century. Its application and innovation has grown exponentially in many areas, but still some concerns exist about its use and potentials risks to public health, which led the competent authorities to put certain conditions to harmonize and control the introduction of nanocosmetics in the market. Some concerns hold to the type of nanomaterials used, their stability, cutaneous absorption, route of exposure, and how they are formulated in cosmetics products. Taking into account these aspects, it is fundamental that production of nanocosmetics contains several analysis that ensure their quality, safety and efficacy, similarly to drugs.

Keywords: Nanoparticle, cosmetics, transport, skin, properties, formulation, safety.

Abreviaturas e Acrónimos

A/O – Água em óleo

BET – Isotérmica de adsorção Brunauer-Emmett-Teller

CAS – Serviço de Resumos Químicos (*Chemical Abstracts Service*)

CMR – Carcinogénicos, mutagénicos ou reprotóxicos (*Carcinogenic, mutagenic or reprotoxic*)

EINECS – Inventário Europeu das Substâncias Químicas Existentes (*European Inventory of Existing Chemical Substances*)

EST – Teste de células estaminais embrionárias (*Embryonal Stem cell Test*)

GC – Cromatografia gasosa (*Gas Chromatography*)

HPLC – Cromatografia líquida de alta pressão (*High Pressure Liquid Chromatography*)

NC – Nanocosméticos

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada

NLC – Transportador lipídico nanoestruturado (*Nanostructured Lipid Carriers*)

O/A – Óleo em água

OMC – Octil metoxicinamato

PEG – Polietilenoglicol

PLA – Ácido poli-láctico (*Poly-L-lactide*)

REACH – Registo, Avaliação, Autorização e Restrição de Químicos (*Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals*)

ROS – Espécies de oxigénio reativas (*Reactive Oxygen Species*)

SCCS – Comité Científico da Segurança do Consumidor (*Scientific Committee on Consumer Safety*)

SLN – Nanopartícula sólida lipídica (*Solid Lipid Nanoparticle*)

TER – Resistência elétrica transcutânea (*Transcutaneous Electrical Resistance*)

TEWL – Perda de água transepidermal (*Transepidermal Water Loss*)

UV – Ultravioleta

UVA – Ultravioleta A

VSSA – Área específica por unidade de volume (*Volume-specific surface area*)

3T3 NRPT – Teste da fototoxicidade na captação de vermelho neutro por fibroblastos 3T3 (*3T3 fibroblasts neutral red uptake phototoxicity test*)

ÍNDICE

1. Introdução	1
2. Definição de nanopartículas.....	2
3. Características gerais das nanopartículas	2
4. As nanopartículas para a formulação de cosméticos.....	3
5. Tipos de nanopartículas usadas em cosméticos	3
5.1. Nanopartículas não metálicas	4
5.1.1. Lipossomas	4
5.1.1.1. Aplicações dos lipossomas em cosméticos	4
5.1.2. Nanoemulsões	5
5.1.2.1. Aplicações das nanoemulsões em cosméticos.....	5
5.1.3. Nanocápsulas	6
5.1.3.1. Aplicações das nanocápsulas em cosméticos.....	6
5.1.4. <i>Solid Lipid Nanoparticles (SLN's)</i>	7
5.1.4.1. Aplicações das SLN's em cosméticos.....	8
5.1.5. Dendrímeros.....	8
5.1.5.1. Aplicações dos dendrímeros em cosméticos.....	9
5.1.6. Niossomas.....	9
5.1.6.1. Aplicações dos niossomas em cosméticos.....	9
5.2. Nanopartículas de metal	10
5.2.1. Nanopartículas de prata.....	10
5.2.1.1. Aplicações das nanopartículas de prata em cosméticos	11
5.3. Nanopartículas de carbono.....	11
5.3.1. Fullerenos (<i>Buckyballs</i>).....	11
5.3.1.1. Aplicações dos fullerenos em cosméticos.....	11
6. Vantagens e desvantagens no uso de nanopartículas em cosméticos	12
7. Caracterização das nanopartículas para avaliação da segurança do uso em cosméticos.....	12
7.1. Parâmetros físico-químicos.....	12
7.2. Modelos matemáticos	15
7.3. Técnicas <i>in vitro</i>	15
7.4. Visualização em microscópio	17
8. Panorama regulamentar dos NC.....	17
9. Considerações finais.....	19
10. Referências Bibliográficas	20

1. Introdução

Segundo a Comissão Europeia um cosmético é “qualquer substância ou preparação que será posta em contato com várias partes externas do corpo humano (epiderme, cabelos, unhas, lábios e órgãos genitais externos) ou com os dentes e a mucosa da cavidade oral com o único objetivo, ou principalmente de limpar, perfumar, alterar a sua aparência e/ou corrigir o odor corporal e/ou proteger ou manter em boas condições.”[1].

O campo da cosmética assenta no pressuposto de que as partículas de menor tamanho são mais facilmente absorvidas na pele, e reparam os danos com maior eficácia [2]. A nanotecnologia contempla o conhecimento e o uso de materiais que reajam ou trabalham à nano-escala, contribuindo para o desenvolvimento de estruturas, dispositivos ou sistemas com propriedades e funções inovadoras [3].

A indústria cosmética foi das primeiras a implementar o uso da nanotecnologia no desenvolvimento de produtos. No entanto, a nanotecnologia também tem dominado os campos da medicina, devido à capacidade de atravessar barreiras, à acumulação localizada em tumores, e ao aumento de solubilidade dos fármacos [4]. A maior parte destas aplicações acontecem por administração tópica, tornando a pele um alvo de grande estudo para a cosmética e a medicina.

A pele é um órgão com processos fisiológicos complexos, sendo que é nesta que surgem os primeiros sinais visíveis do envelhecimento. Este processo é bastante influenciado por fatores como a exposição solar, genéticos, stress e o meio ambiente. Consequentemente, os cuidados da pele têm ganho importância em termos científicos, uma vez que cada vez mais são necessários conhecimentos sobre a anatomofisiologia da pele, para o desenvolvimento de métodos que mantenham ou melhorem a saúde e aparência da pele. Os novos produtos cosméticos contemplam mecanismos de ação contra os processos de envelhecimento, através de substâncias ativas incorporadas em nanopartículas transportadoras [5].

Nesta monografia serão abordadas as nanopartículas de maior impacto na área da cosmética, as suas propriedades, características, e a perspetiva regulamentar para os cosméticos com nanopartículas (nanocosméticos), de modo a avaliar a sua segurança e eficácia.

2. Definição de nanopartículas

Uma nanopartícula pode ser identificada como qualquer partícula, individual, cujo tamanho esteja dentro de um intervalo entre 1 a 100 nm (Figura 1). No entanto, esse intervalo não é obrigatório e pode ser alargado. Adicionalmente, a União Europeia considera que uma nanopartícula também deve ser “uma partícula insolúvel ou biopersistente e fabricada de forma voluntária, com uma ou mais estruturas externas, ou com uma dimensão interna”, e portanto, pode ser um sistema de transporte de substâncias ativas, de modo a melhorar por exemplo, a penetração na pele das mesmas [6]. A nanopartícula possui formas diversas, desde esférica até dendrítica, sendo que esta forma dependerá da aplicação a qual for destinada [7].

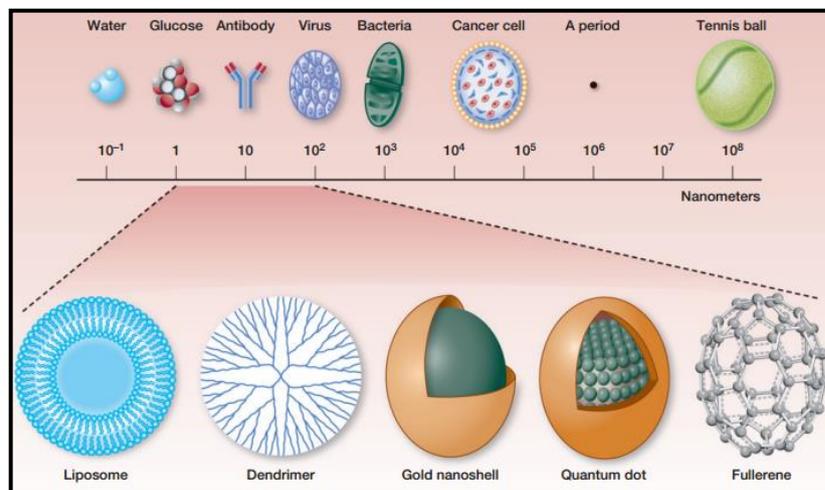


Figura 1. – Exemplificação da dimensão das nanopartículas (Adaptado de [8]).

3. Características gerais das nanopartículas

As nanopartículas podem ser produzidas com diferentes materiais, sejam polímeros, lípidos, metais, entre outros. Para além disto, também podem ser fabricadas com uma grande variedade de formas, de maneira a criar partículas que funcionem como princípios ativos, ou que os encerrem no seu interior [9]. Assim sendo, as nanopartículas são caracterizadas por uma grande razão volume-superfície, um grande número de partículas por unidade de peso, e por possuírem efeitos quânticos, ou seja, as nanopartículas possuem propriedades dependentes do seu tamanho [10].

Uma nanopartícula de óxido de titânio pode ilustrar o que acontece na nano-escala. O óxido de titânio a olho nu é branco, mas as nanopartículas deste são transparentes. Isto acontece porque o movimento dos eletrões dos átomos de titânio está limitado, e portanto,

as nanopartículas de titânio reagem à luz de maneira diferente às partículas de titânio de escala normal. Esta propriedade é bastante vantajosa na nova geração de protetores solares que contêm nanopartículas de óxido de titânio como filtro UV, dado que não deixam a pele esbranquiçada [11]. Tendo isto em conta, são muitas as propriedades que as nanopartículas podem adquirir, e assim, podem ter inúmeras aplicações nos cosméticos.

4. As nanopartículas para a formulação de cosméticos

Para proceder ao uso de nanomateriais na formulação de cosméticos é fundamental que estes tragam benefícios em relação ao material na sua forma convencional, seja na estabilidade, aplicação ou na performance do produto. Algumas das funcionalidades que eles podem vir a melhorar são a penetração e/ou estabilidade de algumas substâncias ativas, como ácidos gordos insaturados, vitaminas ou antioxidantes, incorporados nas nanopartículas, aumentar a eficácia de alguns filtros UV na pele, libertação sustentada das substâncias ativas para efeito mais prolongado [12], e fazer o produto mais esteticamente apelativo aos consumidores [5].

Para além de ser necessário adquirir alguns conhecimentos sobre as propriedades físico-químicas das substâncias ativas, de modo a escolher qual será a melhor nanopartícula para o seu transporte, também é essencial conhecer a anatomofisiologia da pele, pois fatores como a hidratação cutânea, a TEWL, as rugas e outras imperfeições, podem influenciar a eficácia e permeabilidade das nanopartículas [10]. Por exemplo, as SLN são nanopartículas que dependendo do seu tamanho, podem formar um filme à superfície da pele que tem um efeito oclusivo (barreira protetora que diminui a TEWL). Este efeito melhora a hidratação da pele e assim, influencia a absorção percutânea das substâncias ativas [13].

5. Tipos de nanopartículas usadas em cosméticos

Muitas nanopartículas têm sido desenvolvidas com o intuito de preencher as lacunas que as formulações convencionais de cosméticos possuem, seja na modulação da barreira da pele, seja na produção de novos sistemas para o transporte das substâncias ativas de interesse [14]. Cada uma delas possui propriedades que as diferenciam consoante as funções que vão desempenhar ou otimizar.

5.1. Nanopartículas não metálicas

5.1.1. Lipossomas

A indústria cosmética tem utilizado largamente os lipossomas, com o objetivo de aumentar o transporte dos ingredientes cosméticos na pele [15]. São pequenas vesículas, esféricas, com um diâmetro entre 50 a 150 nm, que contêm uma ou mais membranas semelhantes a bicamadas fosfolipídicas, e no seu interior possuem um núcleo aquoso. Geralmente, o principal componente das membranas dos lipossomas é a fosfatidilcolina [14]. Para estabilizar o sistema também pode ser incorporado o colesterol, tornando-o mais rígido (adequado apenas para transporte local cutâneo), ou então pode ser integrado um surfactante na membrana, como o colato de sódio, proporcionando flexibilidade e ultradeformibilidade aos lipossomas (chamados neste caso de transferossomas, tendo a capacidade de penetrar mais profundamente na pele) [16].

5.1.1.1. Aplicações dos lipossomas em cosméticos

Os lipossomas são encontrados em muitas formulações cosméticas de maneira a transportar substâncias ativas até à epiderme. Para além disto, podem ser incorporados nos cosméticos com o intuito de elevar a quantidade de lípidos no estrato córneo, e hidratar a pele [14].

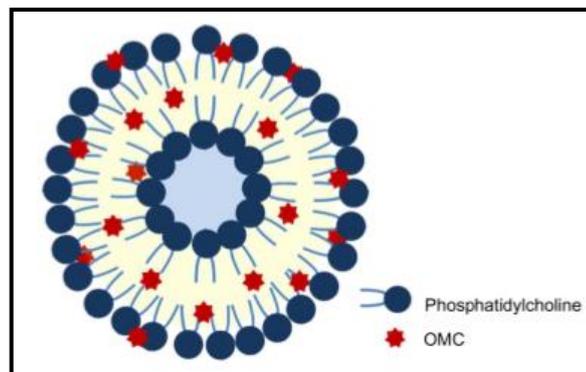


Figura 2. – Estrutura esquemática do lipossoma contendo OMC (Adaptado de [17]).

Tomando como exemplo os protetores solares, os lipossomas são utilizados para veicular filtros UV, transportando-os com mais eficácia na superfície da pele. Filtros UVB como o Octil metoxicinamato (OMC) são incorporados nos lipossomas para aumentar a segurança e eficácia destes na formulação, e aumentar a retenção no estrato córneo (Figura 2). Um estudo testou um protetor solar contendo lipossomas/OMC marcados com Tecnécio⁹⁹, em comparação com outro de OMC livre, e os resultados apontaram para uma

maior segurança em testes de histocompatibilidade, menor toxicidade e maior deposição de OMC no estrato córneo na formulação com os lipossomas/OMC [17].

5.1.2. Nanoemulsões

As nanoemulsões são nanodispersões estáveis com gotículas de diâmetro entre os 10 e os 500 nm. Estes sistemas são constituídos por duas fases imiscíveis: fase oleosa, fase aquosa, e um ou mais agentes tensoativos. Dependendo do tipo de tensoativo utilizado e da proporção das duas fases, podem ser emulsões O/A ou A/O [14]. Estas possuem vantagens sobre as emulsões convencionais, tais como gotículas mais pequenas que se distribuem melhor na pele, maior superfície de contato, propriedades mais aperfeiçoadas no transporte e libertação de substâncias ativas, melhor efeito oclusivo, maior estabilidade, e esteticamente são mais apelativas na pele [18].

5.1.2.1. Aplicações das nanoemulsões em cosméticos

O uso de nanoemulsões na formulação de cosméticos tem uma mais-valia atendendo ao tamanho reduzido de gotículas, dado que pode potenciar a biodisponibilidade das substâncias ativas que dispersem tanto na fase hidrofílica, como na fase lipofílica [19].

Atualmente os champôs não são formulados apenas com a função de limpeza do cabelo, também é importante que eles o hidratem e suavizem. Primeiramente foi difícil estabelecer uma fórmula que conseguisse limpar e suavizar o cabelo ao mesmo tempo, uma vez que o óleo de silicone, principal componente dos amaciadores, é arrastado com as partículas eliminadas na limpeza.

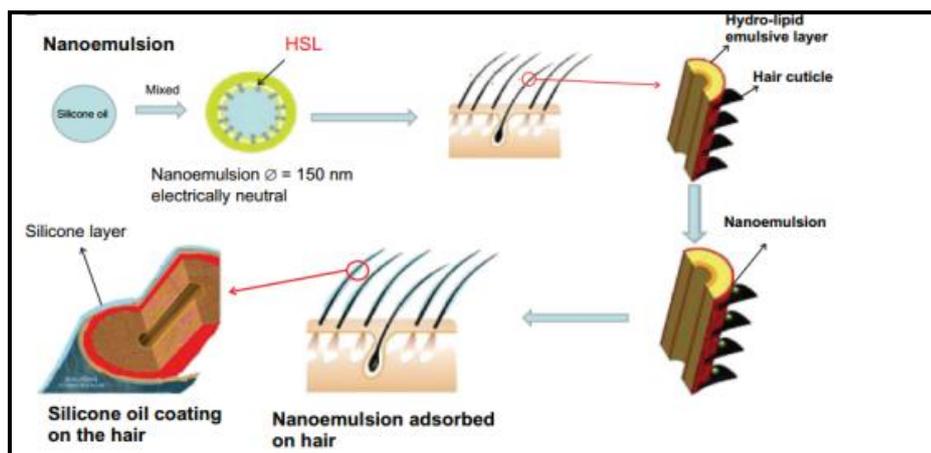


Figura 3. – Esquema ilustrativo do processo de absorção da nanoemulsão na camada hidrolipídica emulsiva do cabelo (Adaptado de [20]).

Um estudo procedeu à preparação de nanoemulsões, onde se iria testar se os agentes tensioativos facilitam a deposição do óleo de silicone na superfície do cabelo. A nanoemulsão foi obtida misturando Span 80, Tween 80 e n-butanol, formando uma fase emulsificadora. De seguida foi adicionado o óleo de dimetil silicone como fase lipofílica, e no fim, foi adicionada água sob contínua agitação. Após se testar a estabilidade da nanoemulsão, procedeu-se a aplicação do champô, com a nanoemulsão incorporada, no cabelo, apresentado o processo na Figura 3. Como a nanoemulsão possui dois surfactantes (Span 80 e Tween 80), com capacidade de criar um balanço hidrofílico-lipofílico semelhante ao encontrado na camada hidrolipídica emulsiva do cabelo, a absorção do óleo de silicone é potenciada [20].

5.1.3. Nanocápsulas

Nanocápsulas são nanopartículas poliméricas, coloidais, com um núcleo líquido de natureza lipídica, rodeado por uma camada polimérica externa, e uma camada de surfactante na interface. Podem ter um tamanho entre 10 e 1000 nm [14]. São vários os polímeros utilizados na produção de nanocápsulas, como é por exemplo, o PLA. Este tem sido de grande interesse para a investigação, por ser biodegradável e biocompatível [21].

5.1.3.1. Aplicações das nanocápsulas em cosméticos

As nanocápsulas têm sido incorporados nos cosméticos para evitar odores desagradáveis, proteção de substâncias ativas sensíveis, e evitar possíveis incompatibilidades entre os ingredientes da formulação [14].

Um estudo foi conduzido com o objetivo de pôr a prova a estabilidade e eficácia das nanocápsulas em formulações de desodorizantes, com foco no transporte e libertação sustentada de perfumes. Estas fragâncias têm pouca solubilidade, e também as moléculas aromáticas são instáveis, tornando o seu uso limitado. Assim, a encapsulação destas pode tornar a formulação mais eficaz [21].

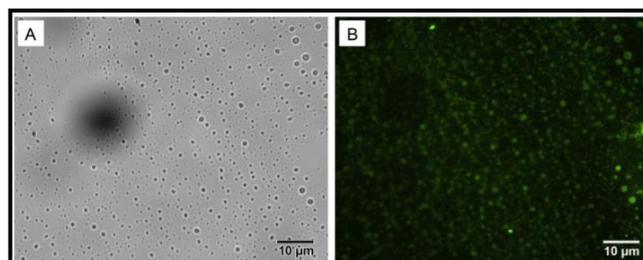


Figura 4. – Nanocápsulas de PLA no microscópio ótico (A); e no microscópio de fluorescência, contendo fluoresceína (Adaptado de [21]).

Duas formulações de nanocápsulas foram produzidas no estudo. Uma continha clorobenzeno, composto aromático altamente hidrofóbico (estruturalmente semelhante a outros compostos usados em perfumes) utilizado na indústria para perfumar desodorizantes da casa de banho, e outros produtos de limpeza; e as outras continham fluoresceína, um corante facilmente detetável (Figura 4). Vários dos ensaios garantiram a preservação biológica da pele, e analisaram o perfil de libertação das substâncias contidas nas nanocápsulas. Os resultados mostraram que as que continham fluoresceína tiveram uma rápida libertação em 6 horas, e uma fase mais lenta até às 24 horas. No caso das que tinham clorobenzeno (composto aromático mais hidrofóbico), obteve-se um perfil mais constante e sustentado, prolongando a libertação da fragância até as 48 horas. Isto significa que há uma potencial aplicação das nanocápsulas na indústria dos perfumes, onde se utilizam compostos estruturalmente semelhantes ao clorobenzeno [21].

5.1.4. *Solid Lipid Nanoparticles (SLN's)*

As SLN's surgiram como uma versão melhorada dos nanossistemas anteriormente referidos, uma vez que possuem um núcleo uniforme, sólido e lipofílico (Figura 5), que reduz a capacidade de movimentação das moléculas das substâncias ativas incorporadas, e assim, permitem controlar ou limitar o escoamento destas durante o armazenamento [22]. O diâmetro destas nanopartículas geralmente está entre os 40 e os 1000 nm. Os lípidos mais utilizados para a construção do núcleo são acilgliceróis, ácidos gordos, esteróides e ceras. Para melhorar a estabilidade da dispersão, os núcleos lipídicos são submersos em soluções com agentes tensoativos que organizam uma camada à volta destas [14].

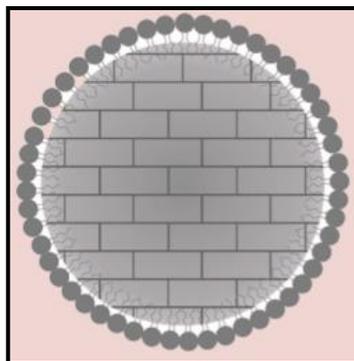


Figura 5. – Estrutura esquemática das SLN (Adaptado de [22]).

Apesar do bom desempenho das SLN's, existem algumas desvantagens no seu uso, como limitações na libertação das substâncias ativas, e insuficiente capacidade de carga das substâncias ativas, devido à limitada solubilidade das mesmas no núcleo lipídico. De maneira

a resolver estes aspectos, surgiu uma segunda geração de SLN's, chamados de NLC's, que se diferenciam dos seus precursores na adição de lípidos líquidos para formar um núcleo lipídico líquido/sólido. Esta alteração permitiu que a matriz do NLC apresentasse defeitos estruturais, não permitindo a formação de cristais lipídicos perfeitos, e facilitando a libertação das substâncias ativas. O rearranjo deixa espaços que aumentam a capacidade de carga da nanopartícula [13].

5.1.4.1. Aplicações das SLN's em cosméticos

As SLN's são utilizadas largamente e em inúmeras aplicações, devido ao bom desempenho na manutenção das substâncias ativas na superfície da pele, ou em camadas mais profundas. Como organizam facilmente um filme regular e coeso na pele, as SLN's provocam um efeito oclusivo que leva a uma boa hidratação da pele [12].

Um estudo formulou SLN's contendo retinol (álcool da vitamina A), e SLN's contendo palmitato de retinol (éster da vitamina A), sendo incorporadas num hidrogel e num creme O/A, para testar a influencia na penetração das substâncias ativas, comparando com formulações convencionais. Os resultados obtidos foram positivos para as fórmulas com SLN's, onde o seu uso alterou o perfil de libertação do retinol e do palmitato de retinol e melhorou as propriedades do estrato córneo [23].

5.1.5. Dendrímeros

Os dendrímeros são estruturas poliméricas, bem definidas, com aparência semelhante a uma árvore (Figura 6), e de dimensões entre 2 e 20 nm [3, 12, 24]. São simétricos à volta do núcleo, frequentemente com 3-4 gerações de alta densidade nos grupos terminais da periferia, e tanto no núcleo como nas ramificações são depositadas partículas. Para além disto, possuem a capacidade de conter substâncias tanto hidrofílicas como lipofílicas.

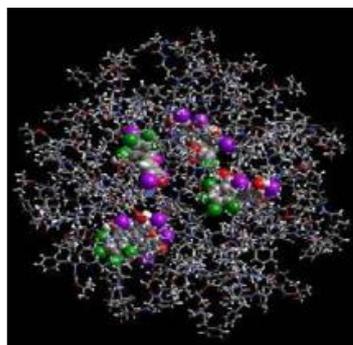


Figura 6. – Esquema ilustrativo de um dendrímero (Adaptado de [25]).

5.1.5.1. Aplicações dos dendrímeros em cosméticos

Como possuem uma estrutura compacta, um bom controlo estrutural e alta solubilidade tanto em meio aquoso como em meio apolar, os dendrímeros são ótimos nanossistemas transportadores utilizados em produtos como géis para o cabelo, champôs, protectores solares e cosméticos anti-acne [25]. Tomando um caso em particular, foi criado um dendrímero de carbosiloxano que pode providenciar grande resistência à água e ao sebo cutâneo, propriedades adesivas, e um aspeto brilhante [26].

5.1.6. Niossomas

Os niossomas são lipossomas formados por surfactantes não iónicos, de núcleo aquoso, biodegradáveis, e que possuem maior estabilidade que os lipossomas. Têm dimensões entre os 100 nm e os 2000 nm [3, 12, 24].

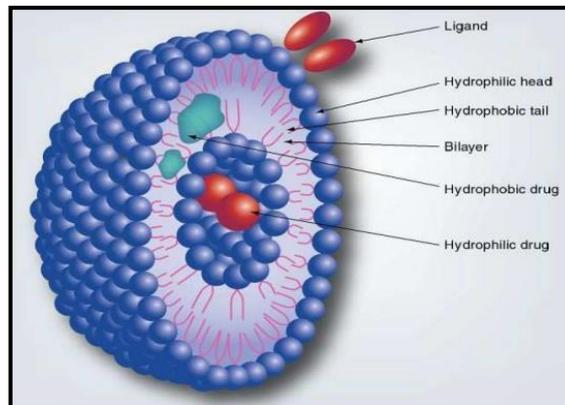


Figura 7. – Estrutura do niossoma (Adaptado de [27]).

Os surfactantes são constituídos por duas porções: um ou mais componentes lipofílicos, e uma cabeça hidrofílica (Figura 7), com uma ligação éster ou amida entre as duas regiões. À semelhança dos lipossomas, os niossomas podem formar estruturas multilamelares; porém são mais estáveis, o seu custo de produção é menor, e apresentam maior rendimento [14, 24].

5.1.6.1. Aplicações dos niossomas em cosméticos

Nos cosméticos os niossomas têm sido utilizados nas mesmas aplicações que os lipossomas, uma vez que reduzem as possibilidades de irritação da pele, melhoram a absorção e penetração cutânea, e elevam a deposição das substâncias que incorpora, na região de aplicação [28].

Em recentes investigações, foi produzido um niossoma elástico através do uso de etanol e surfactantes não-iônicos como o Tween 61 e o Span 60. O etanol é um potenciador eficiente da permeação e é colocado nos niossomas para interagir com a porção polar dos lípidos do estrato córneo, reduzindo o ponto de fusão destes e portanto, aumentando a fluidez dos lípidos da pele e a permeabilidade das membranas celulares. Assim, possibilitou um transporte mais rápido e eficaz das substâncias através dos poros cutâneos, pois apesar destes serem de menor diâmetro, a nanopartícula conseguiu deformar-se e atravessá-los [29].

Um outro estudo foi desenvolvido para avaliar a atividade dos niossomas elásticos em comparação com os regulares, em formulações tópicas de anti-envelhecimento. Estes foram carregados com ácido gálico, que tem demonstrado ser um forte antioxidante em emulsões e/ou sistemas lipídicos. Os resultados apontaram para uma estabilidade ligeiramente maior em armazenamento para os niossomas não elásticos, enquanto que os elásticos obtiveram melhores resultados em termos de absorção transdérmica [28].

5.2. Nanopartículas de metal

5.2.1. Nanopartículas de prata

Estas nanopartículas metálicas, possuem propriedades bastante singulares, as quais lhes têm proporcionado imensas aplicações na indústria. As nanopartículas de prata possuem uma ação antimicrobiana conhecida há centenas de anos. A prata no seu estado metálico não é reativa, mas no contato com a humidade da pele, ou os fluídos de uma ferida, ela fica ionizada. A prata ionizada é bastante reativa e pode ligar às bactérias e provocar alterações na parede da célula bacteriana que podem levar à morte da bactéria (Figura 8). Para além disto, as nanopartículas de prata também podem ligar ao DNA ou RNA bacteriano e desnaturá-lo, impedindo assim a replicação da bactéria [30].



Figura 8. – Ilustração de uma bactéria a ser destruída por nanopartículas de prata (Adaptado de [31]).

5.2.1.1. Aplicações das nanopartículas de prata em cosméticos

As nanopartículas de prata representam uma mais-valia para os cosméticos, devido às suas propriedades antibacterianas e antifúngicas. Produtos como desodorizantes, máscaras e cremes anti-envelhecimento têm utilizado nas suas formulações estas nanopartículas [12,24, 32].

Um desodorizante fresco e nano-antibacteriano foi desenvolvido utilizando nanopartículas de prata, que acabam por conjugar custos de produção relativamente baixos com fortes propriedades antibacterianas, sem toxicidade e sem efeitos adversos [33].

5.3. Nanopartículas de carbono

5.3.1. Fulerenos (*Buckyballs*)

Os fulerenos são constituídos por uma série de anéis de átomos de carbono, que lhes confere uma forma tridimensional esférica (Figura 9), semelhantes a uma bola de futebol (chamados por isso de *Buckyballs*) [32]. São nanopartículas extremamente hidrofóbicas, o que limita o seu uso em soluções aquosas. No entanto, com a ajuda de surfactantes, ou alterações à superfície, a sua solubilidade em meio aquoso aumenta, possibilitando a sua aplicações em formulações cosméticas [12].

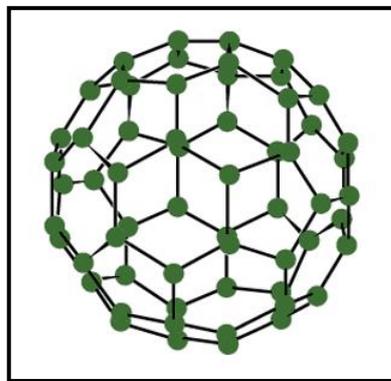


Figura 9. – Estrutura de um fulereno C₆₀ (Adaptado de [34]).

5.3.1.1. Aplicações dos fulerenos em cosméticos

Com um grande poder antioxidante e propriedades contra radicais livres de oxigénio, os fulerenos têm sido alvo de investigação para aplicações em cremes anti-envelhecimento [24]. Outra investigação referiu uma possível atividade inibitória da melanogénese por parte dos fulerenos, tornando-os de grande interesse como substâncias ativas, para a formulação de produtos branqueadores da pele [34,35].

6. Vantagens e desvantagens no uso de nanopartículas em cosméticos

Os principais usos da nanotecnologia na formulação de cosméticos são como filtros UV e como veículos no transporte de substâncias ativas, devido às reduzidas dimensões e à maior área de contato com a zona de aplicação [36].

Adicionalmente, existem outras vantagens, como:

- Possibilitam uma libertação controlada das substâncias ativas, prolongando os efeitos, como por exemplo, em perfumes;
- Sendo estruturas multifuncionais, simplificam o fabrico de produtos cosméticos, evitando incompatibilidades entre ingredientes, como por exemplo, em cremes anti-envelhecimento, uma vez que possuem fórmulas usualmente mais complexas;
- Preservação de substâncias ativas sensíveis, como vitaminas e antioxidantes.

No entanto, o uso de nanopartículas pode trazer riscos e desvantagens, como:

- O tamanho reduzido das nanopartículas aumenta a reatividade química das mesmas, elevando o número de ROS que podem induzir citotoxicidade na pele;
- Ainda pelo facto das partículas serem de pequenas dimensões, podem ser inaladas e depositadas nos pulmões, o que pode mais tarde evoluir para problemas de saúde como fibrose pulmonar, ou até carcinogénese [3].

7. Caracterização das nanopartículas para avaliação da segurança do uso em cosméticos

No que toca à caracterização das nanopartículas, é fundamental identificar as propriedades que podem ser relevantes na determinação do seu comportamento, e das interações com os sistemas biológicos, de modo a comprovar a segurança das mesmas [37].

7.1. Parâmetros físico-químicos

Para uma avaliação físico-química das nanopartículas, é necessário que anexado a um dossier de segurança, os fabricantes de produtos nanocosméticos apresentem informações sobre a caracterização físico-química dos nanomateriais utilizados e na formulação final, uma avaliação de exposição específica, e indicações de potenciais riscos de segurança do produto. Porém, se as informações apresentadas não corresponderem à mesma nanopartícula, ou se referem a uma forma diferente da mesma, têm de ser providenciadas justificações que

assegurem que as semelhanças são suficientes para considerar as informações apresentadas. Também é importante que estes parâmetros físico-químicos sejam avaliados em várias fases da produção do cosmético: inicialmente as nanopartículas como matéria-prima, após serem adicionadas à formulação final, e durante os estudos toxicológicos [37].

Entretanto têm-se conduzido investigações para conseguir desenvolver novos métodos que determinem possíveis ligações entre as propriedades físico-químicas das nanopartículas e efeitos negativos para a saúde. Neste sentido, comités de peritos multidisciplinares e a indústria cosmética, estabeleceram uma lista (Tabela I) resumida dos parâmetros mais importantes a avaliar nas nanopartículas [38].

Tabela I. – Parâmetros mais importantes na avaliação de nanopartículas (Adaptado de [38]).

Parâmetro	Breve descrição
Identidade química	Fórmula estrutural, estruturas moleculares, em conjunto com nomes químicos e comuns, e números CAS e EINECS.
Composição química	Completa e detalhada.
Tamanho	Tamanho primário e secundário da nanopartícula, distribuições (numérica e mássica) por tamanho de partícula. Especificações do produto por lote e variações nos lotes devem ser indicadas. Parâmetro bastante importante.
Morfologia	Forma física, fase ou forma cristalina. Enunciar se está em partículas individuais, ou em agregados/aglomerados. Indicar forma da formulação.
Caraterísticas da superfície	Carga à superfície (Potencial zeta), tensão interfacial, regiões reativas, modificações químicas ou bioquímicas que possam alterar a reatividade da superfície.
Solubilidade	Solubilidade e taxas de dissolução das nanopartículas em solventes relevantes, coeficientes de partição entre fases, higroscopicidade.
Área de superfície	Isotérmica de adsorção Brunauer-Emmett-Teller (BET) ou área específica por unidade de volume (VSSA).
Atividade Catalítica	Reatividade química dos nanomateriais do núcleo e das camadas externas. Informações sobre actividade catalítica e formação de radicais.
Concentração	Concentrações numéricas e mássicas por unidade de volume em dispersões, e por unidade de massa em pós.
Densidade e densidades dos poros	Densidade e porosidade de materiais granulares.
Potencial redox	Estados de oxidação, e informações sobre as condições onde foi medido o potencial redox (para materiais inorgânicos).
Viscosidade	Viscosidade em dispersões líquidas.
Estabilidade	Informações sobre estabilidade/dissociação das nanopartículas, em meios e formulações relevantes.
Outros parâmetros	pH, formação de pós, absorção UV, reflexão da luz.

7.2. Modelos matemáticos

Muitos estudos dedicam-se ao desenvolvimento de modelos matemáticos que consigam calcular e prever a penetração das nanopartículas na pele. Estes podem ir desde simples modelos, até algoritmos empíricos e equações complexas, dos quais alguns requerem conhecimentos e estimativas sobre parâmetros experimentais inacessíveis. Apesar de potencialmente constituírem uma ferramenta útil no desenvolvimento de nanopartículas, a extrapolação dos dados que possam ser adquiridos nestes modelos não pode prever com confiança o que pode acontecer quando os nanossistemas entrem em contato com a pele [39, 40].

7.3. Técnicas *in vitro*

Embora exista uma grande variedade de métodos e tecnologias, para o estudo dos mecanismos moleculares envolvidos na actividade biológica dos compostos, apenas alguns podem ser utilizados com propósitos regulatórios, como é o caso da avaliação de segurança das substâncias. No caso dos cosméticos, só os métodos validados podem ser usados (Figura 10) [39, 40].

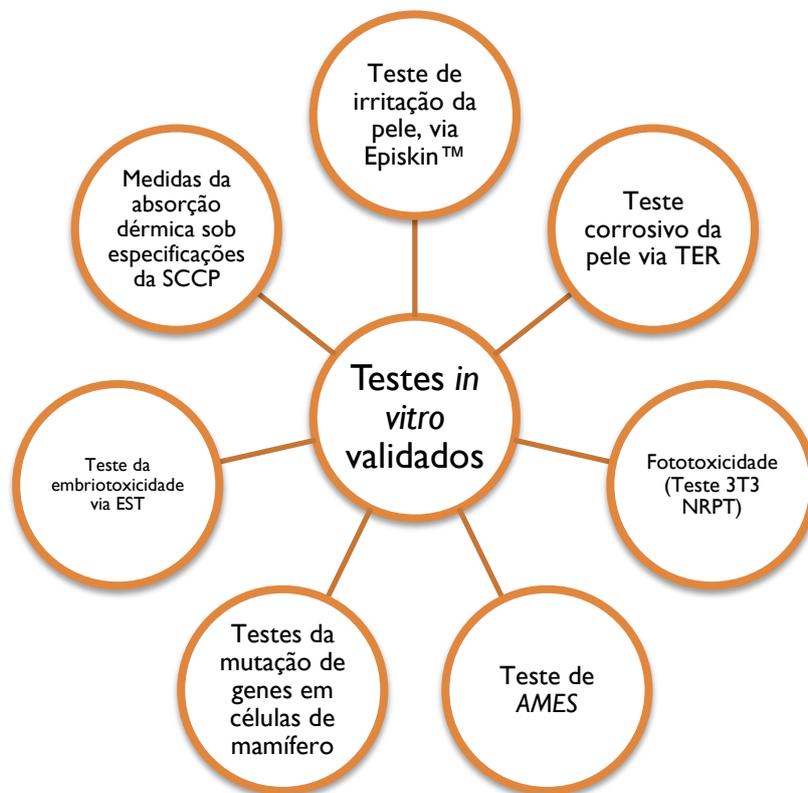


Figura 10. – Esquema ilustrativo dos testes *in vitro* validados para a avaliação de segurança de ingredientes cosméticos (Adaptado de [39, 40]).

- Teste de irritação da pele, via Episkin™

O teste da irritação da pele utiliza um modelo que reconstitui a epiderme humana, e baseia-se no princípio de que as substâncias irritantes podem penetrar o estrato córneo da epiderme e provocar citotoxicidade em camadas mais profundas. A viabilidade celular é avaliada com a conversão do corante vital MTT por uma desidrogenase, num sal azul de formazan, o qual pode ser medido quantitativamente após extração dos tecidos [41].

- Teste corrosivo da pele via TER

O teste corrosivo da pele visa medir o potencial de corrosividade das substâncias, através de alterações eléctricas verificadas na aplicação da Resistência Elétrica Transcutânea (TER) em pele de rato. Se a substância for um surfactante ou um composto orgânico neutro, tem de se fazer uma segunda medição aplicando um corante (Sulforodamina B) que será quantificado metodologias espectrofotométricas [42].

- Teste da fototoxicidade via 3T3 NRPT

O teste da fototoxicidade analisa a citotoxicidade de uma substância, comparando o seu comportamento à exposição de uma dose não citotóxica de luz UVA, e na sua ausência. A citotoxicidade é medida pela inibição da capacidade das células em captar um corante vital (vermelho neutro), um dia após a aplicação da substância em estudo [43].

- Teste de AMES (Índice de mutagenicidade)

Este teste utiliza sequências de aminoácidos de bactérias como *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* para detetar mutações pontuais induzidas nestas estirpes. Assim, é possível detetar mutações que revertem as mutações existentes nas estirpes utilizadas no ensaio, e restauram a capacidade das bactérias sintetizarem um aminoácido essencial. As bactérias que revertem a mutação são detetadas pela sua capacidade de crescerem sem o aminoácido requerido pela estirpe-mãe do ensaio [44].

- Teste da mutação de genes em células de mamífero

Este teste é utilizado para detetar mutações provocadas por substâncias. Normalmente são utilizadas células do linfoma de rato e avalia marcadores de mutação como a timidina cinase [44].

- Teste de embriotoxicidade via EST

O teste avalia o potencial de embriotoxicidade analisando a interferência das substâncias na diferenciação de células estaminais embrionárias de murinos [45].

- Medições da absorção dermal em pele humana ou de porcos

Esta avaliação consiste na aplicação da substância em análise em uma camada de pele colocada numa célula de difusão. A substância deve manter-se em contato com a pele durante o tempo típico de contato do cosmético com a pele, e observa-se a difusão através desta. Será traçado um perfil de absorção, e a amostra de pele ou as amostras de fluido, devem ser analisadas por métodos validados como HPLC e GC [46].

Os testes anteriormente apresentados foram elaborados para avaliações de segurança de ingredientes cosméticos, e não especificamente para as nanopartículas. Ainda não foi determinado se estes métodos são fiáveis para serem igualmente utilizados em nanomateriais [40].

7.4. Visualização em microscópio

Os testes *in vitro* acima descritos pode ser complementados por visualização microscópica da pele após o tratamento. Enquanto que a obtenção de informação de natureza quantitativa poderá não ser possível, a visualização do tecido ao qual se adicionou uma substância ativa a um determinado vetor é frequentemente útil do ponto de vista qualitativo. Assim, podemos recorrer a técnicas como [39,40]:

- Microscopia confocal de varrimento a laser;
- Microscopia eletrónica de transmissão de alta resolução;
- Emissão de raios x induzida por partículas;
- Rádio marcação com o emissor de positrões ⁴⁸V.

8. Panorama regulamentar dos NC

Em contexto europeu, o regulamento REACH define todas as informações que devem ser apresentadas para a caracterização do risco de exposição às substâncias, e também providencia as orientações necessárias para as avaliações de segurança das mesmas. Como as nanopartículas não são um grupo químico homogéneo, as avaliações de segurança são um

desafio e ainda são estudadas caso a caso [47]. Algumas lacunas destas regulamentações foram recentemente examinadas pela SCCS [38,40,48].

O Comité Científico da Segurança do Consumidor (SCCS) analisa e proporciona a sua opinião sobre riscos de saúde e segurança dos produtos não comestíveis do consumidor (neste caso, sobre os cosméticos).

A pedido do parlamento europeu, uma nova regulamentação introduz os procedimentos para avaliações de segurança a todos os produtos que contenham nanopartículas, onde se decidirá se estas não representam um perigo à saúde pública. Alguns dos aspectos em destaque foram [39]:

- A definição de ‘nanopartícula’ como referida no ponto 2;
- Na altura de colocar o produto cosmético no mercado, deverá haver uma pessoa responsável que certifique a validação com segurança, as boas práticas de fabrico, avaliações de segurança, restrições das substâncias listadas em anexos, CMR, vestígios de nanomateriais, ensaios e identificação em animais, alegações, informações ao consumidor, comunicações de efeitos adversos graves e informações sobre as substâncias;
- Antes da pessoa responsável colocar o produto no mercado (pelo menos 6 meses), deve submeter a seguinte informação à Comissão Europeia:
 - ✓ A presença de substâncias na forma de nanopartículas.
 - ✓ A identificação incluindo nome IUPAC e outros descritivos.
 - ✓ As condições de exposição razoavelmente previsíveis.
- Se a Comissão Europeia tiver dúvidas em relação à segurança das nanopartículas deve, com efeito imediato, requerer ao SCCS (Comité Científico da Segurança do Consumidor) opiniões sobre o caso, dando destaque à importância da segurança dos produtos cosméticos, e às condições de exposição razoavelmente previsíveis;
- Todos os ingredientes presentes na forma de nanopartículas devem ser claramente identificados na lista de ingredientes. Os nomes destes devem ser seguidos pela palavra ‘nano’ em parêntesis;
- Sendo importante qualquer impacto no perfil toxicológico do produto, deve sempre ter-se em conta o tamanho das partículas e nanopartículas, impurezas das matérias-primas e as substâncias finais utilizadas na formulação, e respetivas interações.

9. Considerações finais

A União Europeia tem trabalhado para melhorar as regulamentações dos cosméticos. Existem muitos produtos com substâncias ativas e nanopartículas que deveriam ser mantidos sob uma avaliação mais aprofundada. No entanto, ainda faltam muitos conhecimentos sobre os sistemas biológicos e as propriedades das nanopartículas, que permitam uma melhor previsão dos seus efeitos na saúde e no ambiente. Porém, em outros países, como na China, está a ser dada prioridade ao crescimento da economia e ao progresso na inovação em detrimento da segurança do consumidor e portanto, o número de patentes relacionadas com aplicações nanotecnológicas tem aumentado no mercado chinês. Futuramente, terá de ser encontrado um bom equilíbrio entre as regulamentações que assegurem a qualidade e segurança dos nanocosméticos, e a inovação tecnológica [48].

Hoje em dia a nanotecnologia realmente melhora a segurança, eficácia, estabilidade e a aparência estética dos produtos cosméticos, o que leva a uma resposta positiva por parte dos consumidores. Um dos aspectos a garantir é o bem-estar e a segurança das pessoas e do ambiente [12].

Um passo em frente está a ser dado no caso das nanoemulsões, uma vez que as empresas estão a eliminar das formulações polímeros como o PEG, e tem aumentado o número de consumidores que preferem utilizar cosméticos com ingredientes naturais. Para além disto, relatos dos próprios fabricantes indicam que a sensibilidade da pele ao toque é melhorada, e assim, aumenta a performance do produto [3].

Para além dos aspetos regulatórios, existe uma opinião pública que é importante para o desenvolvimento desta grande área da ciência e da indústria. O aparecimento de relatórios que confirmem a qualidade, a eficácia e a segurança dos cosméticos na perspetiva do consumidor, dará um incentivo à comunidade científica para a investigação de novas nanopartículas e também o aperfeiçoamento das existentes. Esta comunidade científica integra profissionais multidisciplinares, como são os farmacêuticos, que têm dado uma grande contribuição para a inovação cosmética, cada vez mais direcionada para produtos que além de proporcionarem um melhor aspeto ao consumidor, também consigam atuar em aspetos mais complexos, como por exemplo, o tratamento de doenças dermatológicas.

10. Referências Bibliográficas

- (1) EUROPEAN COMMISSION - Glossary and Acronyms related to cosmetics legislation. (2015) [Acedido a 16 de julho de 2016]. Disponível na internet: <http://ec.europa.eu/DocsRoom/documents/13021/attachments/1/translations/>
- (2) SINGH, R., TIWARI, S., TAWANIYA, J. – Review on nanotechnology with several aspects. *Internacional Journal of Research in Computer Engineering and Electronics*. Vol. 2, N° 3 (2013) 1–8.
- (3) NIRVESH, C., SONI, G., PRAJAPATI, S. - Nanotechnology: An Advance Tool for Nano-cosmetics Preparation. *International Journal of Pharma Research & Review*. 4 (2015) 28–40.
- (4) EUROPEAN COMMISSION - COMMISSION RECOMMENDATION of [...] on the definition of the term "nanomaterial". (2010) [Acedido a 27 de agosto de 2016]. Disponível na internet: http://ec.europa.eu/environment/consultations/pdf/recommendation_nano.pdf
- (5) MU, L., SPRANDO, R. – Aplicação de Nanotechnology in Cosmetics. *Pharm Res*. 27 (2010) 1746 –1749.
- (6) DELOUISE, L. – Applications of Nanotechnology in Dermatology. *Journal of Investigative Dermatology*. 132 (2012) 964–975.
- (7) GOLUBOVIC-LIAKOPOULOS, N., SIMON, S., SHAH, B. – nanotechnology used with cosmeceuticals. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*. 30 (2011) 176–180.
- (8) ZAMBONI, WC., TORCHILIN, V., PATRI, AK., HRKACH, J., STERN, S., LEE, R., NEL, A., PANARO, NJ., GRODZINSKI, P. - Best Practices in Cancer Nanotechnology: Perspective from NCI Nanotechnology Alliance. *Clinical Cancer Research*. 18 (2012) 3229–3241.
- (9) PAPAKOSTAS, D., RANCAN, F., STERRY, W., BLUME-PEYTAVI, U., VOGT, A - Nanoparticles in Dermatology. *Arch Dermatol Res*. 303 (2011) 553–550.
- (10) MIHRANYAN, A., FERRAZ, N., STRØMME, M. Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics. *Progress Materials Science*. 57 (2012) 875–910.
- (11) PADAMWAR, MN., POKHARKAR, VB. - Development of vitamin loaded liposomal formulations using factorial design approach: drug deposition and stability. *Int J Pharm*. 320 (2006) 37– 44.

- (12) NARAYANAN, N., DURAI, R., PUJARI, K., DUARAH, S. - NANOTECHNOLOGY-BASED COSMECEUTICALS: A REVIEW. *International Journal of Applied Pharmaceuticals*. Vol. 8 (2016) 8–12.
- (13) PUGLIA, C., BONINA, F. - Lipid nanoparticles as novel delivery systems for cosmetics and dermal pharmaceuticals. *Expert Opin. Drug Deliv.* 9 (4) (2012) 429 –441.
- (14) WU, X., GUY, R. - Applications of nanoparticles in topical drug delivery and in cosmetics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 19 (6) (2009) 371–384.
- (15) KATZ, L., DEWAN, K., BRONAUGH, R. – Nanotechnology in cosmetics. *Food and Chemical Toxicology*. (2015) 1–11.
- (16) ASCENSO, A., RAPOSO, S., BATISTA, C., CARDOSO, P., MENDES, T., PRAÇA, F., BENTLEY, M., SIMÕES. - Development, characterization, and skin delivery studies of related ultradeformable vesicles: transfersomes, ethosomes, and transethosomes. *International Journal of Nanomedicine*. 10 (2015) 5837–5851.
- (17) DE CARVALHO VARJÃO MOTA, A., FREITAS, Z., JÚNIOR, E., ORTIZ, G., SANTOS-OLIVEIRA, R., OZZETTI, R., VERGNANINI, A., RIBEIRO, A., SILVA, R., DOS SANTOS, E. - In vivo and in vitro evaluation of octyl methoxycinnamate liposome. *International Journal of Nanomedicine*. 8 (2013) 4698–4701.
- (18) YUKUYAMA, M., GHISLENI, D., PINTO, T., BOU-CHACRA, N. - Nanoemulsion: process selection and application in cosmetics – a review. *International Journal of Cosmetic Science*, 38 (2016) 13–24.
- (19) GANESAN, P., CHOI, D. - Current application of phytochemical-based nanocosmeceuticals for beauty and skin therapy. *International Journal of Nanomedicine*. 11 (2016) 1987–2007.
- (20) HU, Z., LIAO, M., CHEN, Y., CAI, Y., MENG, L., LIU, Y., LV, N., LIU, Z., YUAN, W. - A novel preparation method for silicone oil nanoemulsions and its application for coating hair with silicone. *International Journal of Nanomedicine*. 7 (2012) 5719–5724.
- (21) HOSSEINKHANI, B., CALLEWAERT, C., VANBEVEREN, N., AND BOON, N. - Novel biocompatible nanocapsules for slow release of fragrances on the human skin, *New Biotechnol.* 32 (2015) 40–46.

- (22) MORALES, J., VALDÉS, K., MORALES, J., OYARZUN-AMPUERO, F. - Lipid nanoparticles for the topical delivery of retinoids and derivatives. *Nanomedicine (Lond.)* 10 (2015) 253–269.
- (23) JENNING, J., GYSLER, A., ÈFER-KORTING, M., GOHLA, S. - Vitamin A loaded solid lipid nanoparticles for topical use: occlusive properties and drug targeting to the upper skin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 49 (2000) 211–218.
- (24) ARIF, T., NISA, N., AMIN, SS., SHOIB, S., MUSHTAQ, R. - Therapeutic and Diagnostic Applications of Nanotechnology in Dermatology and Cosmetics. Vol 5 (2015) 134.
- (25) KAUR, M. - DENDRIMERS: SYNTHESIS, ITS DOSAGE FORMS AND ADVANTAGE OVER LINEAR POLYMERS. *Mintage journal of Pharmaceutical & Medical Science*. Vol 3. (2014) 15–19.
- (26) PATENTE 20120263662A. - Copolymer having carbosiloxane dendrimer structure, and composition and cosmetic containing the same. (2012).
- (27) CHANDU, V., ARUNACHALAM, A., JEGANATH, S., YAMINI, K., THARANGINI, K., CHAITANYA, G. - Niosomes: A Novel Drug Delivery System. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*. (2012) 2277–2782.
- (28) MANOSROI, A., JANTRAWUT, P., AKAZAWA, H., AKIHISA, T., MANOSROI, W., MANOSROI, J. - Transdermal absorption enhancement of gel containing elastic niosomes loaded with gallic acid from Terminalia chebula galls. *Pharmaceutical Biology*. 49 (2011) 553 – 562.
- (29) MANOSROI, A., JANTRAWUT, P., MANOSROI, J. - Anti-inflammatory activity of gel containing novel elastic niosomes entrapped with diclofenac diethylammonium. *International Journal of Pharmaceutics*. 360 (2008) 156–163.
- (30) RAI, M., YADAV, A., GADE, A. - Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 27 (2009) 76–83.
- (31) KON, K. – Destruction of a bacterium by silver nanoparticles. [Acedido a 27 de agosto de 2016]. Disponível na internet: <http://www.shutterstock.com/pic-343969862/>
- (32) LOHANI, A., VERMA, A., JOSHI, H., YADAV, N., KARKI, N. - Nanotechnology-Based Cosmeceuticals. *ISRN Dermatology*. (2014)

(33) PATENTE CNI04224593 A. - Cool-type nanometer antibacterial deodorant and preparation method thereof. 2014. [Acedido a 27 de agosto de 2016]. Disponível na internet: <http://www.google.com/patents/CNI04224593A?cl=en>

(34) LENS, M. – Recent Progress in Applications of Fullerenes in Cosmetics. Recent Patents on Biotechnology. Vol 3. (2011) 118–123.

(35) PATENTE WO2006011633 A1. - Skin melanin-controlling agent. 2006. [Acedido a 27 de agosto de 2016]. Disponível na internet: <http://www.google.com.na/patents/WO2006011633A1?cl=en>

(36) SOUTTER, B. - Nanotechnology in Cosmetics. 2012. [Acedido a 27 de agosto de 2016]. Disponível na internet: <http://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=3100>

(37) ANSELL, J., BRONAUGH, R., CARTER, L., CHAUDHRY, Q., LAFRANCONI, M., NISHIMURA, T., SCHELLAUF, T., SWEI, H., TOOLEY, I. - Report of the ICCR Joint Ad Hoc Working Group on Nanotechnology in Cosmetic Products: Criteria and Methods of Detection. (2010).

(38) EUROPEAN COMMISSION - GUIDANCE ON THE SAFETY ASSESSMENT OF NANOMATERIALS IN COSMETICS. [Acedido a 27 de agosto de 2016]. Disponível na internet: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_s_005.pdf

(39) SILPA, R., SHOMA, J., SUMOD, S., SABITHA, M. - Nanotechnology in cosmetics – opportunities and challenges. Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences. Vol 4. (2012) 186–193.

(40) EUROPEAN COMMISSION - PRELIMINARY OPINION ON SAFETY OF NANOMATERIALS IN COSMETIC PRODUCTS. [Acedido a 27 de agosto de 2016]. Disponível na internet: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_099.pdf

(41) ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT - OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS. [Acedido a 13 de setembro de 2016]. Disponível na internet: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/49020682.pdf>

(42) EUROPEAN COMMISSION – RAT SKIN TRANSCUTANEOUS ELECTRICAL RESISTANCE (TER) TEST, DB-ALM PROTOCOL N° 155. [Acedido a 13 de setembro de

2016]. Disponível na internet: <https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/validation-regulatory-acceptance/skin-corrosion-docs/115.pdf>

(43) EUROPEAN COMMISSION – 3T3 NEUTRAL RED UPTAKE (NRU) PHOTOTOXICITY ASSAY, DB-ALM PROTOCOL N° 78. [Acedido a 13 de setembro de 2016]. Disponível na internet: https://ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu/public_view_doc2.cfm?id=736F27E9E9F7A9D869FB48087878D2497180BB0BC12CB10496CDA74B54630A05A3291B895581F634

(44) MAURICI, D., AARDEMA, M., CORVI, R., KLEBER, M., KRUL, C., LAURENT, C., LOPRIENO, N., PASANEN, M., PFUHLER, S., PHILLIPS, B., SABBIONI, E., SANNER, T., VANPARYS P. - Genotoxicity/Mutagenicity. [Acedido a 13 de setembro de 2016]. Disponível na internet: [http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/doc/antest/\(5\)_chapter_3/7_genotox-mutagen_en.pdf](http://ec.europa.eu/consumers/sectors/cosmetics/files/doc/antest/(5)_chapter_3/7_genotox-mutagen_en.pdf)

(45) EUROPEAN COMMISSION – EMBRYONIC STEM CELL TEST (EST), DB-ALM PROTOCOL N° 113. [Acedido a 13 de setembro de 2016]. Disponível na internet: https://ecvam-dbalm.jrc.ec.europa.eu/public_view_doc2.cfm?id=DC5ABDF7AC30F1B7DF7EF27E87D68AAC7180BB0BC12CB10496CDA74B54630A05A3291B895581F634

(46) SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER PRODUCTS. - BASIC CRITERIA FOR THE IN VITRO ASSESSMENT OF DERMAL ABSORPTION OF COSMETIC INGREDIENTS. [Acedido a 13 de setembro de 2016]. Disponível na internet: http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_s_03.pdf

(47) SINGH, P., NANDA, A. - Nanotechnology in cosmetics: a boon or bane?. Toxicological & Environmental Chemistry. 94 (2012) 1467–1479.

(48) WACKER, M., PROYKOVA, A., SANTOS, G. – Dealing with nanosafety around the world – Regulation vs innovation. International Journal of Pharmaceutics. 509 (2016) 95–106.

IMAGEM DA CAPA (Adaptada de):

MUHAMMAD, K. - Nano-Cosmetics: Harmonizing Science And Beauty. (2014). [Acedido a 13 de setembro de 2016]. Disponível na internet: <http://www.bidnesstc.com/business/nanocosmetics-harmonizing-science-and-beauty/>