



## Belides™

*Despigmentante natural*

*Atua antes, durante e após a formação da melanina na pele*

**INCI Name:** Bellis Perennis (Daisy) Flower Extract.

**CAS:** 84776-11-4

**pH de estabilidade:** 4,5 a 6,5

**USO HUMANO**

Uso tópico

Há uma grande demanda por produtos cosméticos clareadores da pele com efeitos significativos, imediatos e duradouros. Entretanto, a consciência de saúde cresceu consideravelmente e a demanda por um clareamento natural e não prejudicial da pele está se expandindo. Em outras partes do mundo, mais e mais ativos de clareamento da pele são utilizados, inclusive incorporados em produtos antienvhecimento, a fim de evitar manchas da idade ou para amenizar as já existentes. Em nosso mundo competitivo moderno, uma pele uniforme e jovem está se tornando cada vez mais importante, portanto, atualmente, a maioria dos cremes para o cuidado diário da pele inclui ingredientes clareadores.

Belides™ é um ativo despigmentante obtido das flores da margarida. Apresenta um mecanismo único de ação que permite clareamento significativo da pele de uma maneira suave e eficiente. Belides™ neutraliza manchas da idade e equilibra a hiperpigmentação.

Belides™ influencia as vias bioquímicas envolvidas na síntese de melanina: inibição da tirosinase, controle transcricional da expressão da tirosinase, redução dos mediadores pró melanogênicos endotelina e  $\alpha$ -MSH (hormônio estimulante da melanina – *melanine-stimulating hormone*), bem como redução da transferência de melanossomos para queratinócitos.

Belides™ é estabilizado por um sistema de preservação natural e não contém nenhum conservante sintético.

### Propriedades

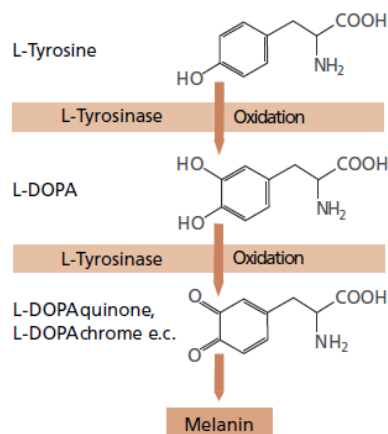
- Despigmentante natural tópico
- Atua antes, durante e após a formação de melanina na pele

### Mecanismo de ação

Belides™ é obtido a partir de flores da flor da margarida (*Bellis perennis*) e contém, entre outros ingredientes, saponinas, polifenóis e polissacarídeos.

Belides™ interfere em diferentes estágios da melanogênese, isto é, antes, durante e após a formação da melanina. Quando a pele é exposta à luz UV, a expressão de vários mediadores é estimulada. Entre estes mediadores estão a endotelina (ET-1) e a estimulação da melanina hormônio e neuropeptídeo  $\alpha$ -MSH, que são liberados, por exemplo, por queratinócitos. Os mediadores ligam-se a receptores especiais dos melanócitos e induzem a síntese da tirosina nas células. A tirosinase oxida o aminoácido elementar tirosina em melanina (Fig.1). A síntese da melanina ocorre nos melanossomos e começa a partir da tirosina, que é transportada pelo fluxo sanguíneo. Uma sequência de processos de oxidação que envolve a tirosina controlada pela tirosinase resulta na formação da DOPA, subsequentemente em uma substância intermediária (dopaquinona) e, finalmente, a melanina. Em seguida, os melanossomos preenchidos com melanina são transferidos pelos dendritos dos melanócitos para os queratinócitos, que absorvem os melanossomos e obtêm sua cor.

Antes do início da melanogênese, o Belides™ inibe a expressão da ET-1 nos queratinócitos e bloqueia o receptor de MC-1 (receptor de melanocortina-1) nos melanócitos, o ponto de ancoragem para  $\alpha$ -MSH. Além disso, Belides™ diminui a síntese de tirosinase e reduz a sua atividade durante a formação de melanina, reduzindo assim a produção de melanina nos melanossomos. Depois de os melanossomos maduros terem sido transferidos para os queratinócitos via dendritos e após a conclusão da síntese de melanina, Belides™ reduz a captação de melanossomos pelos queratinócitos que foram estimulados pela luz UV. Este princípio único de ação oferecido por Belides™ poderia ter sido demonstrado *in vitro*, e o efeito de clareamento rápido da pele também pôde ser observado *in vivo*.



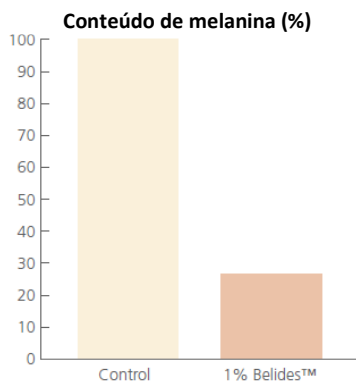
**Figura 1:** Biossíntese da melanina.

### Estudos de eficácia *in vitro*

#### Influência na biossíntese de melanina

Dependendo do tipo de pele, os melanócitos produzem certa quantidade de melanina. A síntese da melanina é estimulada e claramente intensificada pela luz UV.

A influência de Belides™ na formação de melanócitos pela melanina foi determinada. Belides™ reduziu significativamente a biossíntese de melanina em melanócitos humanos não estimulados. Os valores foram relacionados ao número de células e aos seus controles apropriados (fig. 2).

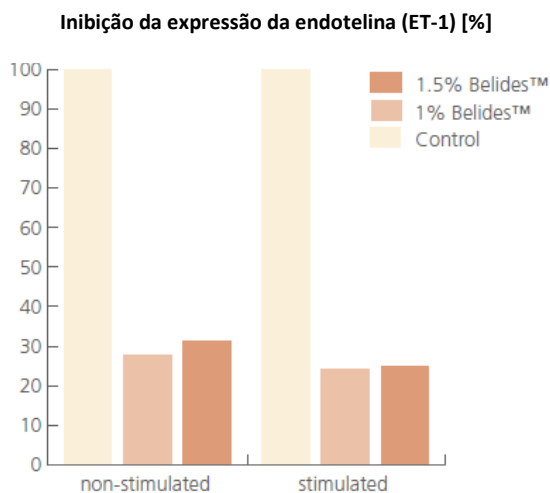


**Figura 2:** Redução da biossíntese de melanina.

#### Influência na expressão de ET-1

A influência na inibição da expressão de ET-1 (endotelina) nos queratinócitos com e sem estimulação foi determinada. Queratinócitos humanos foram estimulados com 40ng/ml de Interleucina-1.

A luz solar desencadeia uma cascata na pele humana que induz a liberação aumentada de mediadores promelanogênicos (ET-1,  $\alpha$ -MSH). A interleucina-1 (IL-1) está envolvida nessa cascata. Portanto, a IL-1 foi usada para estimular a reação natural da pele após a exposição à luz UV. Belides™ reduziu significativamente a expressão de ET-1 em queratinócitos humanos, independentemente de serem ou não estimulados com IL-1 (Fig. 3). Os valores estavam relacionados aos seus controles apropriados.



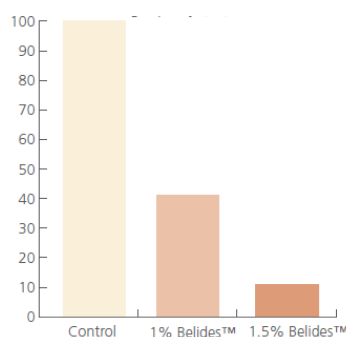
**Figura 3:** Inibição da expressão da ET-1.

#### **Influência na capacidade de ligação de $\alpha$ -MSH em MC-1R**

A capacidade de ligação de  $\alpha$ -MSH no receptor MC-1 de melanócitos foi determinada.

Belides™ ligou-se ao MC-1R, portanto a interação com  $\alpha$ -MSH foi diminuída. Os valores estavam relacionados aos seus controles apropriados.

#### **Capacidade de ligação da $\alpha$ -MSH (%)**



**Figura 4:** Redução da capacidade de ligação  $\alpha$ -MSH

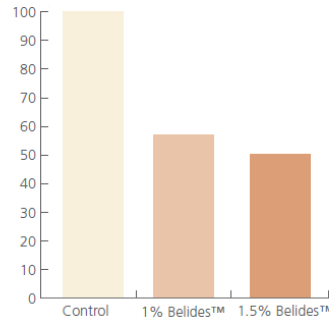
#### **Influência na expressão da tirosinase**

A tirosinase é uma enzima essencial para a síntese bioquímica da melanina. O processo de síntese da tirosinase inclui os ribossomos, o retículo endoplasmático e o complexo de Golgi, dos quais são liberados como microvesículas.

Após o cultivo de melanócitos na presença do ativo, o sobrenadante incluindo Belides™ foi removido antes de as células serem lisadas de forma a libertar a tirosinase produzida. A quantificação da tirosinase foi feita medindo sua atividade (Fig. 5).



#### Expressão da tirosinase (%)

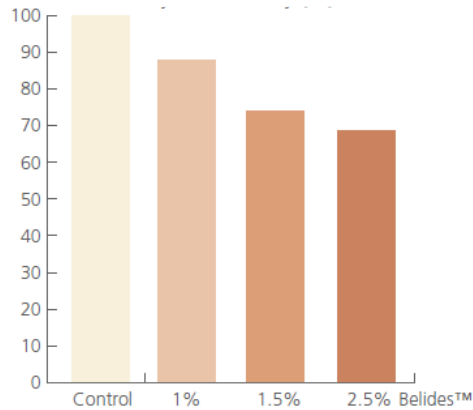


**Figura 5:** influência da expressão da tirosinase. Belides™ diminuiu claramente a síntese de tirosinase.

#### Influência na atividade enzimática da tirosinase

A L-tirosina foi incubada com tirosinase e a L-DOPA e a formação de cromo foi medida. Belides™ reduziu significativamente a atividade enzimática (Fig. 6).

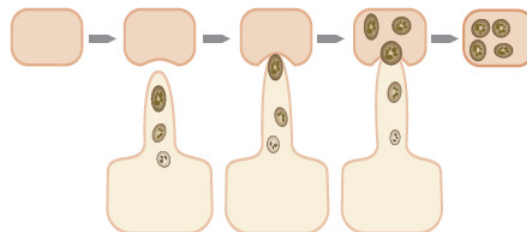
#### Redução da atividade da tirosinase (%)



**Figura 6:** Redução da atividade da tirosinase.

#### Endocitose

Depois de ser estimulado pela luz UV, um queratinócito é capaz de absorver melanossomas. Os dendritos dos melanócitos se ligam aos queratinócitos. Os melanossomas maduros migram através dos dendritos para as células da pele; Esse processo é chamado de endocitose. Depois que o queratinócito absorve os melanossomas, o bronzeamento da pele torna-se visível (Fig. 7). A redução da endocitose leva ao clareamento do tom da pele.



**Figura 7:** Absorção de melanossomas estimulada por UV em queratinócitos.

### Influência em transferência de melanosoma

Os melanosomos produzidos a partir dos melanócitos são transferidos para os queratinócitos circunvizinhos através dos dendritos dos melanócitos por um processo chamado endocitose. Um melanócito é capaz de fornecer 36 queratinócitos dessa maneira.

Para estudar a influência do Belides™ na transferência de melanosomos, foi utilizado o modelo de esferas FluoSphere® (Molecular Probes). Para simulação da captação de melanosomo, as células foram estimuladas com luz UV para induzir a endocitose. Belides™ reduziu significativamente a absorção de FluoSphere®, em comparação com culturas de controle (100% de absorção) (Fig. 8).

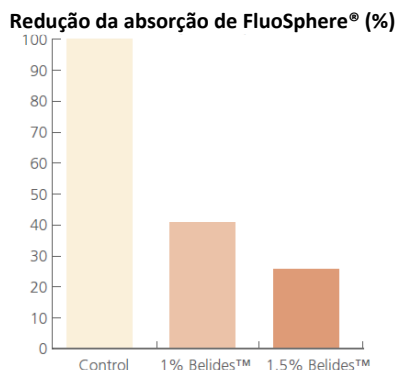


Figura 8: Captação de FluoSphere® por queratinócitos.

Além disso, imagens microscópicas tiradas de culturas pré-incubadas com Belides™ mostraram que menos esferas FluoSphere® foram acumuladas ao redor dos núcleos das células quando os queratinócitos foram tratados com Belides™ (Fig. 9a / b).

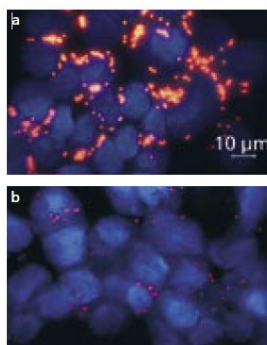


Figura 9: Imagens microscópicas mostrando (a) a incorporação de FluoSphere® (rede de grânulos FluoSphere®, tamanho de 1,0µm) no controle e (b) em queratinócitos tratados com Belides™.

Para visualização da endocitose, as células foram coradas com DAPI (núcleos azuis).

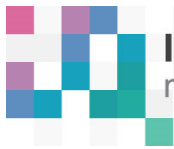
### Ensaio *in vivo*

Os resultados *in vitro* demonstram que o Belides™ atua como um ingrediente funcional em diferentes estágios da melanogênese. Ao influenciar as vias de ação antes, durante e depois da síntese de melanina, o Belides™ efetivamente reduz a pigmentação da pele.

Para demonstrar que Belides™ produz um efeito de clareamento perceptível na pele humana, dois estudos *in vivo* foram realizados.

Inicialmente, um estudo piloto com 5 voluntários das Filipinas (idade: 19-39 anos; 4 mulheres, 1 homem) foi realizado durante um período de 4 semanas. Duas vezes por dia, duas formulações contendo 2% de Belides™ e 2% de  $\alpha$ -Arbutin foram aplicadas no antebraço interno.

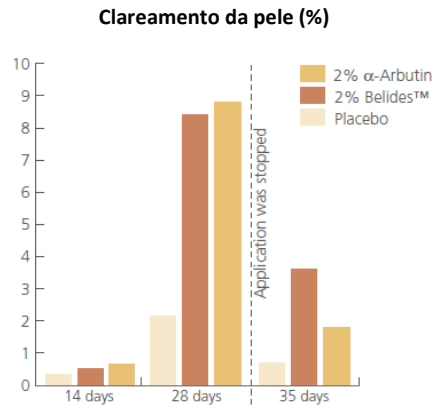
O primeiro estudo foi feito com as mesmas pessoas, mas no inverno sem qualquer estímulo UV. Uma quantidade de 2% de  $\alpha$ -Arbutin foi usada como controle positivo. A coloração da pele foi determinada com um cromômetro após



14 dias e 28 dias. A aplicação foi interrompida após quatro semanas, depois as áreas permaneceram sem tratamento por uma semana. Após este intervalo de uma semana, a cor da pele foi regravada com um cromometro, para determinar quanto tempo durou o efeito.

O efeito de Belides™ durou mais tempo em comparação ao  $\alpha$ -Arbutin.

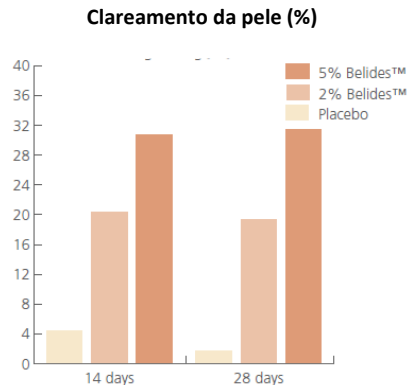
O estudo foi repetido com as mesmas pessoas, mas no verão, com um estímulo UV natural. Mais uma vez, duas vezes por dia, duas formulações contendo 2 e 5% de Belides™ e um placebo foram aplicados. O efeito clareador foi medido com um cromometro e comparado a uma área não tratada (Fig. 10).



**Figura 10:** Efeito clareador na pele sem estímulo UV natural promovido por Belides™.

Após apenas 14 dias de aplicação, um efeito muito significativo pôde ser observado. O clareamento da pele foi significativamente aumentado. Estes resultados mostram que o processo de clareamento é completo após apenas 14 dias e que a aplicação contínua do ativo não irrita a pele.

Pode-se observar que a atividade de clareamento de Belides™ em peles mais claras no inverno foi mais fraca. Isso mostra que Belides™ é mais ativo quanto mais escura a pele. Isto levou à conclusão de que após a aplicação de um produto cosmético contendo Belides™, não resultarão círculos mais claros em torno de áreas mais escuras (por exemplo, manchas de idade).



**Figura 11:** Efeito clareador na pele com estimula natural de raios UV.

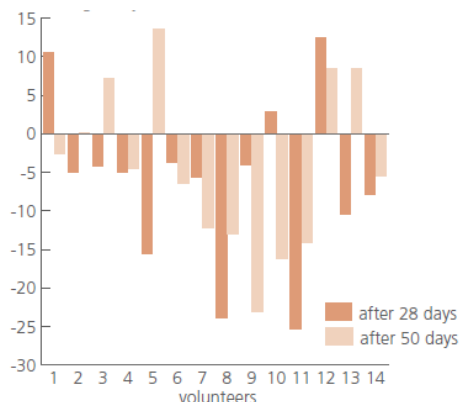
#### Influência em manchas senis

Manchas de idade ocorrem principalmente em seres humanos de pele clara com idade superior a 40 anos. Elas são causadas por um excesso de produção de melanina e uma diminuição adicional na decomposição de melanossomos. Além disso, eles nunca desaparecem.

A formação e o escurecimento das manchas da idade são promovidos pela irradiação UV.

Em um estudo com 20 voluntários (entre 50 e 60 anos de idade), 5% Belides™ em creme O/A foi aplicado duas vezes ao dia nas costas das mãos. A cor inicial das manchas de idade existentes foi determinada com um cromometro. Após 28 e 50 dias a cor da pele foi novamente registrada. Os valores para 28 e 50 dias mostrados no

gráfico estão relacionados aos valores iniciais.



**Figura 12:** Redução da intensidade de manchas senis após 28 e 50 dias.

O estudo mostra que Belides™ tem um efeito significativo na redução da coloração marrom das manchas da idade. Deve-se notar, no entanto, que o impacto do Belides™ varia consideravelmente, o que se deve ao fato de que durante o período de aplicação os voluntários deliberadamente não protegeram suas mãos contra os raios UV.

#### Concentração usual

Belides™ é indicado nas concentrações de 2,0% a 5,0%.  
pH de estabilidade: 4,5 – 6,5.

#### Indicações e aplicações

Pode ser utilizado em cremes, géis e loções com ação despigmentante, como único ativo ou mesmo associado a outros produtos, dependendo do resultado desejado; formulações de manutenção, para uso após qualquer outro tipo de tratamento clareador;

#### Contraindicações e informações de segurança

Informações não encontradas nas literaturas consultadas.

#### Reações adversas

Informações não encontradas nas literaturas consultadas.

#### Interações medicamentosas

Informações não encontradas nas literaturas consultadas.

#### Recomendações farmacotécnicas

Belides™ é um líquido translúcido de coloração marrom com odor característico. Por se tratar de um produto natural, pode ocorrer a formação de um pequeno depósito ao longo do tempo, o que não afeta a sua bioatividade. É compatível em água em qualquer proporção, mas é incompatível com álcool. É compatível na forma de géis. Belides™ deve ser adicionado à formulação durante o processo de resfriamento, em temperaturas de até no máximo 40°C. O valor de pH das formulações contendo Belides™ deve ser ajustado na faixa entre 4,5 e 6,5.

### **Referências bibliográficas**

Informativo Técnico CLR - Chemisches Laboratorium.

Imokawa G, Miyagishi M, Yada Y. Endothelin-1 as new melanogen: coordinated expression. Of its gene and the tyrosinase gene in UVB-exposed human epidermis. J Invest. Dermatol. 1995; 105: 32-37.

Peyrefitte G: Verlag Simep, Masson, Biologie de la peau. 1997.

Seiberg M, Paine C, Sharlow E, Costanzo M, Andrade-Gordon P. Inhibition of melanosome transfer in Skin lightening. J Invest. Dermatol. 2000; 115: 162-167.

Umbach W. Kosmetik: Entwicklung, Herstellung und Anwendung kosmetischer Mittel. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1995.

*Última atualização: 26/04/2018.*