

New Insights on Anti-Aging Activity of Chitin Nanofibril-Hyaluronan Block Copolymers Entrapping Active Ingredients: *In Vitro* and *In Vivo* Study

Pierfrancesco Morganti¹, Marco Palombo², Giuseppe Fabrizi³, Francesco Guarneri⁴, Fabiano Svolacchia⁵, Antonio Cardillo⁶, Paola Del Ciotto⁶, Francesco Carezzi⁶, Gianluca Morganti⁶

¹ Prof of Skin Pharmacology, Dermatology Depart., 2nd University of Naples, Italy;
Visiting Professor, Dermatology Depart., China Medical University, Shenyang, China;
Head of R&D, Centre of Nanoscience, Mavi Sud, s. r. l, Italy

² Department of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery, CTO Hospital, Rome, Italy

³ Head of the Dermatological Department, University of Parma, Italy

⁴ Dermatological Department, University of Messina, Italy

⁶ R&D, Centre of Nanoscience, Mavi Sud, s. r. l, Italy

Received: May, 2013

Key words: Chitin nanofibril; Hyaluronan; Block copolymer; Skin aging; In-office treatment; Intrinsic aging; Extrinsic aging; Rejuvenation treatment;

Summary

Background: Some observations suggest a similar molecular mechanism for genetic aging and photo-aging: the same proteins mediating cellular division and senescence, appear to mediate DNA damage, after UV irradiation or oxidative stress. Consequently collagen-fibers are disorganized or cross-linked and elastic fibers appear damaged, as well as redox signaling are amplified, and chaperon proteins, assisting the folding of macromolecular structures as HSP47, are no more sufficiently synthesized. Thus, fine lines and wrinkles appear leading to formation of black spots, sagging, and loose skin.

Aims: It was designed to control *in vitro* and *in vivo* the antiaging activity of cosmetic formulations based on the use of Chitin nanofibril-Hyaluronan (CN-HA) block copolymeric nanoparticles, entrapping different active ingredients, to verify their effectiveness and safeness as rejuvenation treatment biologically active, capable to support and increase the in-office procedures of Plastic Surgeons and Dermatologists.

Methods: *In vitro* synthesis of collagen I, III, IV, and HSP47, as well as the release of IL-8 and Metalloproteinase-1, were controlled in fibroblast cultures by immunocytochemical methods, while the anti-collagenase activity and the relative cytotoxicity were verified by colorimetric methods, on cultures of both keratinocytes and fibroblasts.

In vivo. Skin hydration and TEWL were controlled by the 3C-system, while the whitening activity was measured by the Chromameter C 300.

Results and Conclusions: According to our previous published studies, the obtained positive results confirm on one hand the capacity the block-copolymers CN-HA have to easily entrap and modulate the efficacy of different active ingredients, increasing their delivery and effectiveness at level of the skin layers. On the other hand they seem to support the possibility for designing and formulating innovative anti-aging cosmetics, useful to optimize the in-office rejuvenation treatments of Plastic Surgeons and Dermatologists.

Riassunto

Introduzione: Diversi studi pongono in evidenza come meccanismi molecolari analoghi siano alla base sia dell'invecchiamento genetico che del foto-invecchiamento: le stesse proteine-segnale che mediano la divisione cellulare e la senescenza, sembrano mediare anche i danni al DNA, provocati dallo stress ossidativo e dagli UV. Come conseguenza le fibre di collagene appaiono disorganizzate o irrigidite da legami crociati, mentre le fibre elastiche risultano danneggiate, le reazioni di ossido riduzione si moltiplicano e le cosiddette shock proteine che regolano l'avvolgimento delle macromolecole, come la proteina HSP47, non vengono più sintetizzate con regolarità. Così appaiono rughe sottili e profonde, iperpigmentazioni; la cute si rilassa ed invecchia precocemente.

Scopi: Con questo studio si è voluta controllare l'attività anti invecchiamento di formulazioni cosmetiche basate sull'uso di block copolimeri CN-HA (Chitina nanofibrille - Acido ialuronico) che inglobavano diversi ingredienti attivi, per verificarne l'efficacia e la sicurezza nell'uso. Quale trattamento di ringiovanimento biologicamente corretto, queste formulazioni sono state ideate per essere utilizzate come supporto efficace in grado di migliorare e prolungare nel tempo le diverse procedure invasive e non invasive utilizzate negli studi di Chirurghi plastici e Dermatologi.

Metodi: *In vitro*. Su culture di fibroblasti è stata controllata la capacità di sintesi del collagene I, III, IV, oltre che dell'HSP47, utilizzando metodiche citochimiche, mentre il rilascio della citochina IL-8 e della metalloproteina-1, oltre che il controllo della eventuale citotossicità dei diversi ingredienti utilizzati, sono stati verificati mediante metodi colorimetrici.

In vivo. Mediante uno studio preliminare sono state controllate in doppio cieco l'idratazione cutanea e la TEWL, utilizzando il 3C-System, mentre le iperpigmentazioni sono state valutate con il Chromameter 300.

Risultati: In accordo con le nostre precedenti esperienze, questo studio ha confermato *in vitro* la capacità dei copolimeri CN-HA nell'inglobare facilmente i diversi principi attivi utilizzati, modulandone l'efficacia e incrementandone la penetrazione attraverso gli strati cutanei. D'altra parte è stato anche posto in evidenza *in vivo* come queste particolari nanoparticelle possano essere utilizzate per formulare prodotti anti invecchiamento innovativi, utili per esaltare e prolungare nel tempo i risultati ottenuti con le diverse metodiche di ringiovanimento adottate negli studi specializzati di Chirurghi Plastici e Dermatologi.