UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Influência dos componentes da formulação cosmética nas
propriedades biofísicas e estruturais da pele**

Marina Mendes Fossa Shirata

Ribeirão Preto

2016

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Influência dos componentes da formulação cosmética nas
propriedades biofísicas e estruturais da pele**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e
Cosméticos

Orientada: Marina Medes Fossa Shirata

Orientadora: Prof^a Dr^a Patrícia Maria Berardo
Gonçalves Maia Campos

**Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de
Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas em 15/04/2016. A versão original
encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão
Preto/USP.**

Ribeirão Preto

2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Fossa, Marina Mendes Shirata

Influência dos componentes da formulação cosmética nas propriedades biofísicas e estruturais da pele. Ribeirão Preto, 2016. 143 p.; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Maia Campos, Patrícia Maria Berardo Gonçalves

1. Formulações cosméticas. 2. Eficácia Clínica.
3. Oligossacarídeos da alfafa

FOLHA DE APROVAÇÃO

Marina Mendes Fossa Shirata

Influência dos componentes da formulação cosmética nas propriedades biofísicas e estruturais da pele

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas para obtenção do Título de
Mestre em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e
Cosméticos

Orientador(a): Patrícia Maria Berardo
Gonçalves Maia Campos

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

À Deus pela oportunidade de realizar este trabalho, me dando sabedoria e força para fazer tudo da melhor forma possível.

Aos meus pais Antônio Marcos e Cacilda por todo apoio financeiro e emocional que me proporcionaram alcançar todas as minhas conquistas.

Ao meu marido Yuri pelo apoio e carinho em todos os momentos e por estar ao meu lado em todas as minhas decisões.

Às minhas irmãs Carolina, Laís e Kacielle por me apoiarem e me aconselharem sempre.

Aos meus familiares e amigos por toda a torcida e apoio.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer muito a minha orientadora **Patrícia Maia Campos** pela oportunidade que me deu de fazer parte do time NEATEC e por trilhar junto comigo nessa jornada, onde muitas vezes me pegou pela mão e me ensinou boa parte do que eu sei hoje.

À equipe **Núcleo de Estudos Avançados em Tecnologia de Cosméticos** (NEATEC) por toda ajuda e apoio em todos os momentos e um agradecimento especial às companheiras **Daiane, Taís, Carla, Wanessa, Stefânia, Francine, Livia, Lidiane e Maísa** por me ajudarem de forma tão direta e tão imprescindível.

À todas as **voluntárias** que gentilmente aceitaram participar dos estudos clínicos.

À **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto** pela oportunidade de realização do mestrado.

Aos **professores** da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, pela contribuição com o conhecimento que adquiri ao longo desses 2 anos.

A todos que colaboraram de forma direta e indireta para a conclusão deste trabalho.

“ Ao homem que lhe agrada, Deus dá sabedoria, conhecimento e felicidade. ”

Eclesiastes 2:26, Bíblia Sagrada.

RESUMO

FOSSA, M. M. S., **Influência dos componentes da formulação cosmética nas propriedades biofísicas e estruturais da pele**. 2016. 143f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

A indústria cosmética tem se dedicado a desenvolver produtos com apelo antienvelhecimento no intuito de prevenir, retardar e amenizar rugas, englobando assim diversos benefícios para pele em um único produto. Dessa forma, é de fundamental importância avaliar a influência da associação de diferentes ativos cosméticos em uma mesma formulação no que se refere à eficácia da mesma. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver formulações cosméticas contendo oligossacarídeos de alfafa, polissacarídeos de mandioca e filtros solares, bem como a analisar a influência desses componentes no sensorial, textura e eficácia clínica de tais formulações após uma única aplicação (efeitos imediatos) e com o uso prolongado (efeitos em longo prazo). Para tal, formulações cosméticas, contendo ou não filtros solares e ativos objeto de estudo, isolados ou em associação, foram desenvolvidas e submetidas a estudo de estabilidade. As formulações estáveis foram analisadas quanto à textura, espalhabilidade e sensorial. Foram avaliados os efeitos imediatos das formulações com relação a hidratação, função barreira e microrrelevo da pele. Ademais, foi realizada a eficácia clínica das formulações após 45 dias de aplicação na hidratação, função barreira, controle da oleosidade, propriedades mecânicas e microrrelevo da pele. Além disso, foi avaliada a quantidade e largura de poros, padrão de coloração de manchas na pele, ecogeneidade e espessura da derme. De acordo com os resultados as formulações desenvolvidas foram estáveis e a formulação que contendo filtros e ativos obteve melhores resultados em relação a textura, espalhabilidade e sensorial. No estudo de eficácia clínica, a formulação multifuncional contendo filtros solares e os ativos mostrou efeitos mais pronunciados na melhora da hidratação, microrrelevo e viscoelasticidade da pele. Com relação à influência dos componentes da formulação, a presença de filtros solares na formulação interferiu negativamente nos efeitos imediatos na hidratação e função barreira da pele e positivamente nos parâmetros relacionados ao microrrelevo cutâneo. Os oligossacarídeos de alfafa e polissacarídeos de mandioca mostraram influência positiva e sinergismo na melhora das propriedades mecânicas da pele. Em síntese, a formulação contendo a associação de ativos e filtros solares mostrou eficácia na melhora imediata e em longo prazo das condições gerais da pele envelhecida, além de possuir características sensoriais que atenderam às expectativas das voluntárias, mostrando a importância. Por fim, este estudo mostrou a importância do conhecimento dos componentes das formulações cosméticas e da combinação de substâncias ativas e filtros solares para a elaboração de protocolos de Pesquisa & Desenvolvimento para a obtenção de cosméticos multifuncionais eficazes.

Palavras chave: Formulações cosméticas, eficácia clínica, oligossacarídeos de alfafa, polissacarídeos de mandioca, filtros solares.

ABSTRACT

FOSSA, M. M. S., **Influence of cosmetic formulation ingredients in the structural and biophysical properties of skin**. 2016. 143f.Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

The cosmetic industry has been dedicated to develop products with anti-aging appeal in order to prevent, delay and soften wrinkles, combining many benefits for the skin in a single product. Thus, it is crucial to evaluate the influence of the association of different cosmetic actives in the same formulation as regards the effectiveness thereof. In this context, the present study aimed to develop cosmetic formulations containing oligosaccharides alfalfa, polysaccharides cassava and sunscreens, as well as to analyze the influence of these components in the sensory, texture and clinical efficacy of such formulations after a single application (immediate effect) and prolonged use (long-term effects). The cosmetic formulations, with or without sunscreens and active ingredients studied, alone or in combination, were developed and undergone to stability studies. The stable formulations were analyzed regarding texture, spreadability and sensory. The immediate effects of the formulations were evaluated in relation to moisture, barrier function and skin microrelief. Furthermore, the clinical efficacy of the formulations were performed after 45 days of application and were observed the hydration, barrier function, control of sebum, mechanical properties and the skin microrelief. In addition, the number and width of pores staining pattern of spots, echogenicity and thickness of the dermis was evaluated. According to the results the developed formulations were stable and the formulation containing filters and actives showed better results in relation to texture, spreadability and sensory. In the study of clinical efficacy, multifunctional formulation containing sunscreens and actives showed more pronounced effects in improving hydration, micro relief and skin viscoelasticity. Regarding the influence of the formulation components, the presence of sunscreens in the formulation had a negative influence on the immediate effects on the skin hydration and barrier function and positive influence in the parameters related to the skin microrelief. The oligosaccharides and polysaccharides alfalfa cassava showed positive influence and synergism in improving the mechanical properties of the skin. In summary, the correlation of the techniques used were essential to the establishment of a stable multi-functional formulation, with sensory characteristics that met to the expectations of the volunteers and with proven clinical efficacy improving immediate and long-term effects of the general conditions of aging skin. Finally, this study showed the importance of knowledge of cosmetic formulations components for directing the Research & Development of effective multifunctional cosmetics.

Key words: Cosmetic formulations, clinical efficacy, alfalfa oligosaccharides, cassava polysaccharides, UV filters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Camadas e estrutura da pele.	6
Figura 2. Sonda para determinação da hidratação cutânea (Cornemometer [®]).	17
Figura 3. Sonda para determinação de TEWL (Tewameter [®]).	19
Figura 4. Sonda para determinação do sebo cutâneo (Sebumeter [®]).	20
Figura 5. Curva de deformação da pele obtida pelo equipamento Cutometer SEM 575.	22
Figura 6. Sonda para determinação das propriedades mecânicas da pele por sucção (Cutometer [®]).	23
Figura 7. Imagem do equipamento Visioscan [®] 98.	24
Figura 8. Imagem digitalizada da pele obtida por uma câmera de vídeo - Visioscan [®] VC 98.	25
Figura 9. Sistema digital de imagens fotográficas para a avaliação da pele facial e imagem real e de luz de LED obtida com o equipamento (VisioFaceQuick [®]).	26
Figura 10. Equipamento DermalScan C [®] , (Cortex, Hadsund, Dinamarca) e imagem das diferentes camadas da pele.	27
Figura 11. Valores de pH analisados nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 da formulação F1.	51
Figura 12. Valores de pH analisados nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 da formulação F2.	50
Figura 13. Valores de pH analisados nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 da formulação F3.	51
Figura 14. Viscosidade aparente mínima de F1, F2, F3, no decorrer do tempo (0, 7, 14, 21 e 28 dias), nas temperaturas 25°C (A), 4°C (B), 37°C (C) e 45°C (D).	51
Figura 15. Índice de consistência de F1, F2, F3, no decorrer do tempo (0, 7, 14, 21 e 28 dias), nas temperaturas 25°C (A), 4°C (B), 37°C (C) e 45°C (D).	54
Figura 16. Formulação F1 nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 25°C (A) e 4°C (B)	55
Figura 17. Formulação F1 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 dias, armazenadas a 37°C (A) e 45°C (B).	55
Figura 18. Formulação F2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 25°C (A) e 4°C (B).	56
Figura 19. Formulação F2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 37°C (A) e 45°C (B).	56

Figura 20. Formulação F3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 25°C (A) e 4°C (B).	56
Figura 21. Formulação F3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 37°C (A) e 45°C (B).	57
Figura 22. Índice de fluxo das formulações F1, F2, F3, no decorrer do tempo (0, 7, 14, 21 e 28 dias), nas temperaturas 25°C (A), 4°C (B), 37°C (C) e 45°C (D).	58
Figura 23. Valores de Consistência (A) e Firmeza (B), das 3 formulações em estudo: Veículo (F1), Veículo acrescido de ativos fotoprotetores (F2) e formulação completa contendo os ativos (F3).	59
Figura 24. Valores de Coesividade (A) e Índice de Viscosidade (B), das 3 formulações em estudo: Veículo (F1), Veículo acrescido de ativos fotoprotetores (F2) e formulação completa contendo os ativos (F3).	59
Figura 25. Teste de Espalhabilidade com a avaliação do parâmetro "WorkofShear" comparando F1 (formulação veículo), F2 (F1+ filtros solares) e F3 (F2+ substâncias ativas).	59
Figura 26. Avaliação das formulações quanto aos quesitos "espalhabilidade" (A) e "sensação ao toque" (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.	60
Figura 27. Avaliação das formulações quanto aos quesitos "suavidade" (A) e "absorção imediata" (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.	60
Figura 28. Avaliação das formulações após 5 minutos quanto aos quesitos "hidratação" (A) e "oleosidade" (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.	61
Figura 29. Avaliação das formulações após 5 minutos quanto aos quesitos "brilho" (A) e "maciez" (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.	61
Figura 30. Avaliação das formulações após 5 minutos quanto aos quesitos "absorção" (A) e "resíduo branco" (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.	61
Figura 31. Análise Sensorial comparativa entre FA (formulação comercial) FC (formulação de estudo). Foram avaliados parâmetros imediatamente após a aplicação das formulações como: Oleosa/gordurosa, pegajosa, suave, facilmente absorvida, fácil de espalhar.	62
Figura 32. Análise Sensorial comparativa entre FA (formulação comercial) FC (formulação de estudo). Foram avaliados parâmetros após 5 minutos da aplicação da formulação como: Resíduo oleoso, pele hidratada, pele macia,	62

resíduo esbranquiçado e intenção de compra.

Figura 33. Perda transepidérmica de água (Tewameter®) antes (T0) e após 2 h (T2) da aplicação das formulações FA (formulação comercial) e FC (formulação de estudo), comparativamente a uma região controle. 63

Figura 34. Conteúdo aquoso do estrato córneo antes e 2 horas após aplicação das formulações FA (formulação comercial) e FC (formulação de estudo), comparativamente a uma região controle. 64

Figura 35. Rugosidade da pele a partir do parâmetro Ser (porção de pontos pretos que representam o grau de rugosidade da pele) antes e após 2 horas da aplicação das formulações FA (formulação comercial) e FC (formulação de estudo), comparativamente a uma região controle. 65

Figura 36. Perda transepidérmica de água (Tewameter®) antes e após a aplicação das formulações: F1A (substâncias ativas) (sem filtros) e F3 (filtros e substâncias ativas). 65

Figura 37. Conteúdo aquoso do estrato córneo antes e após 30min da aplicação das formulações F1+A (sem filtro) e F3 (com filtro). 66

Figura 38. Parâmetro Sesc (suavidade da pele) antes e após 30 minutos da aplicação das formulações F1A (sem filtros solares) e F3 (contendo filtros solares). 67

Figura 39. Parâmetro CR-1 (profundidade máxima da rugosidade da pele) antes e após 30 minutos da aplicação das formulações F1A (sem filtros solares) e F3 (contendo filtros solares). 67

Figura 40. Parâmetros Ser (rugosidade da pele) (A) e Sew (número e largura das rugas) (B) antes e após 30 minutos da aplicação das formulações F1A (sem filtros solares) e F3 (contendo filtros solares). 67

Figura 41. Perda transepidérmica de água (Tewameter®) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. 68

Figura 42. Conteúdo aquoso do estrato córneo antes e após 30min da aplicação das formulações C (controle), F1(sem filtro), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (com filtro, comparativamente a uma região controle). 68

Figura 43. Parâmetro Ser (rugosidade da pele) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2+I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. 70

Figura 44. Parâmetro CR-1 (profundidade máxima da rugosidade da pele) antes 70

e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2+I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle.

Figura 45. Parâmetro Sesc (descamação da pele) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. 71

Figura 46. Parâmetro Sesm (maciez da pele) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2+I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. 71

Figura 47. Parâmetro Sew (número e largura das rugas) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2+I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. 71

Figura 48. Perda transepidérmica de água antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 72

Figura 49. Conteúdo aquoso do estrato córneo antes e após 45 dias da utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 73

Figura 50. Conteúdo de sebo na pele antes e após 45 dias da utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 73

Figura 51. Rugosidade da pele (Ser) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 74

Figura 52. Número e largura das rugas (Sew) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 74

Figura 53. Descamação da pele (Sesc) (A), profundidade máxima da rugosidade da pele (CR-1) (B) e maciez da pele (Sesm) (C) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 75

Figura 54. Elasticidade bruta da pele (R2- Ua: retração total/Uf: distensão final) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 75

Figura 55. Elasticidade líquida (R5- Uv: distensão retardada/Ue: distensão 76

imediate) (A) e elasticidade biológica (R7- Ur: retração imediata/Uf: distensão final) da pele (B) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

Figura 56. Imagens da pele das voluntárias demonstrando a análise de manchas na pele e contagem de poros respectivamente. 77

Figura 57. ΔE : diferença total de cor (A) e ΔL : diferença de cor em mais claro e mais escuro (B) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 77

Figura 58. Número de poros finos (A) e poros largos (B) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 77

Figura 59. Área de poros finos (A) e poros largos (B) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 78

Figura 60. Imagens do ultrassom Dermascan[®] para a avaliação da espessura e ecogeneidade de voluntárias antes e após 45 dias da utilização das formulações F1 (A e B), F2 (C e D) e F3 (E e F). 78

Figura 61. Relação de ecogenicidade (número de pixels hiperecóticos / número total de pixels) das regiões de face dos grupos antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 79

Figura 62. Espessura da derme antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). 79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais parâmetros topográficos da superfície cutânea, obtidos através do método SELS.	25
Tabela 2. Lista de matérias primas de cada formulação desenvolvida com suas respectivas concentrações.	36
Tabela 3. Viscosidade aparente mínima das formulações F1, F2 e F3 armazenadas em diferentes temperaturas durante 28 dias.	52
Tabela 4. Índice de consistência das formulações F1, F2 e F3 armazenadas em diferentes temperaturas durante 28 dias.	53
Tabela 5. Índice de fluxo das formulações F1, F2 e F3 armazenadas em diferentes temperaturas durante 28 dias.	57

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS.....	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1 Pele	6
2.2 Envelhecimento Cutâneo	7
2.3 Cosméticos Multifuncionais	9
2.4 Oligossacarídeos de Alfafa (<i>Medicago sativa</i>) e Polissacarídeos da Mandioca (<i>Manihot esculenta</i>)	10
2.5 Fotoprotetores.....	11
2.6 Estudo de Estabilidade	12
2.7 Avaliação de Sensorial e Textura de Formulações Cosméticas	14
2.8 Avaliação da Eficácia Clínica de Formulações Cosméticas	15
2.8.1 Técnicas de Biofísica e Análise de Imagem da Pele	15
2.8.2 Conteúdo Aquoso do Estrato Córneo	16
2.8.3 Perda Transepidérmica de Água (TEWL)	18
2.8.4 Teor Lipídico da Pele	19
2.8.5 Propriedades Mecânicas da Pele	21
2.8.6 Microrrelevo Cutâneo	23
2.8.7 Sistema digital de imagens fotográficas para a avaliação da pele facial.....	26
2.8.8 Ultrassom de 20MHZ.....	27
3. OBJETIVO	29
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1 Matérias primas e solventes.....	32
4.2 Equipamentos e Acessórios	33
4.3 Métodos.....	34
4.3.1 Desenvolvimento das formulações	34
4.3.2 Estudo de Estabilidade.....	37
4.3.3 Análise de Textura e Espalhabilidade	38
5. CASUÍSTICA E MÉTODOS	39
5.1 Aspectos éticos	40

5.2	Avaliação Sensorial.....	40
5.2.1	Avaliação Sensorial comparativa das formulações F1, F2 e F3	40
5.2.2	Avaliação Sensorial Benchmark	40
5.2	Avaliação da Eficácia Clínica	41
5.2.1	População e Amostra/ Seleção dos voluntários	41
5.2.2	Avaliação dos efeitos imediatos – 1ª etapa.....	41
5.2.3	Avaliação dos efeitos imediatos – 2ª etapa.....	42
5.2.4	Avaliação dos efeitos imediatos – 3ª etapa.....	43
5.2.5	Avaliação da eficácia clínica em longo prazo	43
5.3	Técnicas de Biofísica e Análise de Imagem	44
5.3.1	Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL).....	44
5.3.2	Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo	44
5.3.3	Determinação do conteúdo de sebo	44
5.3.4	Determinação do microrrelevo cutâneo	45
5.3.5	Determinação das propriedades viscoelásticas da pele	45
5.3.7	Avaliação da espessura e ecogeneidade da derme	46
5.4	Análise Estatística	46
5.4.1	Estudo de estabilidade e Análise de textura e espalhabilidade	46
5.4.2	Avaliação da Eficácia Clínica	46
6.	RESULTADOS.....	48
6.1	Desenvolvimento das formulações.....	49
6.2	Estudo de Estabilidade	49
6.2.1	Centrifugação.....	50
6.2.2	Determinação do pH	50
6.2.3	Estudo de Estabilidade Física	51
6.3	Análise de Textura e Espalhabilidade	60
6.4.1	Análise sensorial comparando F1, F2 e F3	62
6.4.2	Análise Sensorial Benchmark	64
6.5.1	Avaliação dos Efeitos Imediatos – 1ª etapa.....	65
6.5.2	Avaliação de Efeitos Imediatos – 2ª etapa	67
6.5.3	Avaliação dos Efeitos Imediatos – 3ª etapa.....	70
6.5.4	Avaliação da Eficácia Clínica em Longo Prazo.....	74
7.	DISCUSSÃO	82
8.	CONCLUSÃO	94
9.	REFERÊNCIAS.....	96

<i>APÊNDICES</i>	103
<i>ANEXOS</i>	121

1. INTRODUÇÃO

Com o envelhecimento há uma perda da integridade estrutural na pele que ocorre devido à diminuição da renovação celular, da vascularização, do número de queratinócitos, fibroblastos, das fibras de colágeno e elastina, achatamento da junção dermoepidérmica, bem como uma redução da resposta imunológica, o que leva a alteração de funções tais como a proteção, absorção, termorregulação e percepção sensorial. Além disso, a exposição à fatores externos - umidade do ar, radiação ultravioleta, bem como fatores endógenos - hormônios, possivelmente altera o balanço estrato córneo/camada lipídica (KAMMEYER & LUITEN, 2015; MACHADO et. al., 2010).

Deste modo, a indústria cosmética tem se dedicado a desenvolver produtos com apelos antienvelhecimento com o intuito de prevenir, retardar e amenizar rugas, englobando assim diversos benefícios para pele em um único produto e com isto atendendo as atuais necessidades do consumidor (SILVA, et. al. 2013). No entanto, poucos estudos de eficácia clínica têm sido realizados no sentido de avaliar o verdadeiro benefício da associação de diferentes ativos cosméticos em apenas uma formulação. Apesar dos efeitos sinérgicos que podem ser obtidos com a associação de substâncias ativas, muitas combinações podem causar irritações na pele, entre outros riscos (GASPAR, et. al., 2008).

Sendo assim, é pertinente considerar em investigações científicas se formulações dermocosméticas multifuncionais seriam mais seguras e eficazes em comparação às formulações clássicas e mais simples.

Entre os ativos dermocosméticos utilizados com a finalidade de prevenção do envelhecimento e melhora das condições gerais da pele, podemos mencionar, por exemplo, os oligossacarídeos da alfafa e os polissacarídeos da mandioca. Isto porque os polissacarídeos da mandioca têm como proposta o efeito redutor de rugas imediato, e, o uso contínuo de oligossacarídeos da alfafa tem potencial para atuar na renovação celular da pele em longo prazo (PAUFIQUE, 2013; RODRIGUES, et. al., 2015).

O extrato de Alfafa (*Medicago sativa*) foi proposto para ter efeito semelhante ao Retinol (“retinol like”), pois, tem potencial para estimular a atividade celular que diminui durante o processo de envelhecimento, favorecendo a renovação da epiderme e regulando a diferenciação dos queratinócitos. Além disso, pode proteger e reparar a derme por meio da estimulação da síntese de Colágeno I e reduzir a atividade das metaloproteinases responsáveis pela destruição das fibras de elastina. Consequentemente, a pele é revitalizada, a função barreira da pele é restaurada e as rugas são atenuadas (SILAB, 2011).

Já o açúcar biopolimerizado da mandioca (*Manihot esculenta*) faz parte de uma nova geração de ativos tensores, considerando o potencial deste para a obtenção de efeito tensor imediato. Esse produto foi desenvolvido com características funcionais que lhe conferem maior resistência e coesão, permitindo um efeito tensor significativamente rápido, produzido em apenas 30 minutos e com duração de até 4 horas após a aplicação (WESTER et. al.2011; SILAB, 2006).

Ademais, no desenvolvimento de formulações cosméticas multifuncionais de uso diário é indispensável a utilização de filtros solares em suas composições para a proteção da pele contra os danos causados pela radiação solar. Assim, a escolha dos filtros solares é um passo muito importante para a obtenção de formulações com alto fator de proteção solar (FPS) e sensorial agradável (CLARES, et. al., 2011).

No entanto, para a comprovação dos potenciais efeitos citados acima é necessário a realização de estudos clínicos de eficácia, nas reais condições de uso. Os métodos *in vivo* não invasivos incluem as técnicas de biofísica e análise de imagem da pele, as quais utilizam vários equipamentos com diferentes princípios físicos e/ou físico-químicos que facilitam a interpretação dos resultados de como determinado produto cosmético pode atuar na pele (MERCÚRIO et. al., 2013). Assim é possível avaliar parâmetros relacionados ao conteúdo aquoso do estrato córneo, perda de água transepidérmica, o microrrelevo e propriedades mecânicas (visco-elasticidade e anisotropia) da pele, dentre outros, utilizando os equipamentos como Tewameter[®], Corneometer[®], Cutometer[®], Sebumeter[®], Colorimeter[®], Visioscan[®] (MERCÚRIO et. al., 2013; MAIA CAMPOS et. al., 2012).

Além disso, podemos destacar os equipamentos que envolvem tecnologia de vanguarda, que são as técnicas de análise de imagem para a avaliação da pele humana, como o ultrassom de 20 mHz (Dermacan[®], Cortex, Hadsund, Dinamarca) e o sistema de fotografias digitais de alta resolução com luz UV (VisifaceQuick[®], Courage-Khazaka, Köln, Alemanha). Estes permitem ao usuário a visualização das alterações cutâneas, melhorando a frequência de uso dos produtos (JASAITIENE et al., 2011).

Além da comprovação da eficácia clínica, é de suma importância para o bem-estar do consumidor e para a continuidade do tratamento dermocosmético que a formulação tenha sensorial agradável e boa espalhabilidade. Para isso, ensaios de textura e espalhabilidade utilizando o aparelho Texturômetro TA.XT plus são fundamentais para a avaliação da consistência e espalhabilidade das formulações, permitindo assim analisar a influência dos componentes nas propriedades mecânicas das formulações. Ademais, é possível comparar

estes resultados com análises sensoriais, para o desenvolvimento de formulações com sensorial diferenciado (TAI et. al., 2014).

Por fim, considerando que nos últimos anos a indústria cosmética cresceu em um ritmo acelerado, uma vez que as formulações elaboradas a base de umectantes, óleos emolientes, surfactantes e álcoois graxos etoxilados, hoje estão cada vez mais complexas, contendo diversos componentes para a melhora das características gerais da pele, o presente trabalho agrega importante contribuição na pesquisa, desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de cosméticos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Pele

A pele - o maior órgão do corpo - protege todos os outros órgãos do meio ambiente externo. Esta proporciona uma barreira física que ajuda a reduzir a perda de água por meio do estrato córneo impermeável. Além disso, contribui para a imunidade inata, termorregulação através da vasodilatação e vasoconstrição dos dois plexos vasculares cutâneos, superficial e profundo, por meio de um rico suprimento de terminações nervosas que tem importância para a percepção sensorial e para a síntese de vitaminas, como a vitamina D (MUKHERJEE et. al., 2006).

Trata-se de um órgão complexo com múltiplos tipos de células e estruturas e divididas em três camadas: epiderme, derme e tecido subcutâneo (PROKSCH et. al., 2008).

Figura 1: Camadas e estrutura da pele (ltc.nutes.ufrj.br- 16/02/2016)

A epiderme é a camada mais externa da pele. As células principais são os queratinócitos (95% de células). Melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel contribuem com os 5% restantes. A epiderme é dividida em quatro camadas principais, dependendo do estado de diferenciação dos queratinócitos: estratos basal, espinhoso, granuloso e córneo, sendo esta última, a camada mais externa da pele que confere proteção inata e proteção contra a perda transepidérmica de água. (LAI-CHEONG & MCGRATH, 2009).

A derme tem 0,55 mm de espessura, dependendo do local do corpo. Subdivide-se em duas camadas principais: derme papilar, que está em contato com a zona de membrana basal e tem rico suprimento de vasos sanguíneos e terminações nervosas sensoriais; derme reticular, sendo a principal camada da derme que está em contato com o tecido subcutâneo. A mesma é formada por componentes intersticiais (fibras de colágeno, tecido elástico e substância fundamental) e celulares (fibroblastos, mastócitos, células plasmáticas, células dendríticas dérmicas e histiocitárias) (VENUS et. al., 2011; CHEONG & MCGRATH, 2009).

O tecido subcutâneo é a camada mais interna da pele e é composto de lipócitos. Os lipócitos estão dispostos em lóbulos de gordura, que são separados um do outro por septos fibrosos. Feixes de fibras que se originam a partir da derme para o tecido subcutâneo reforçam a ligação entre estes dois compartimentos. Em indivíduos não obesos, cerca de 80% de toda a gordura corporal está localizado dentro do tecido subcutâneo (CHEONG & MCGRATH, 2009).

Do ponto de vista da Cosmetologia, a pele está diretamente ligada à qualidade de vida do ser humano, suas relações interpessoais e, também, sua autoestima (SCOTTI, VELASCO, 2003). Desta forma, é de grande importância o conhecimento da biologia da pele destinada a melhorar de sua aparência e desenvolvimento de tratamentos cosméticos que ajudem a manter sua estrutura.

2.2 Envelhecimento Cutâneo

O envelhecimento da pele segue trajetórias diferentes em diferentes órgãos, tecidos e células com o tempo. Enquanto os sinais de envelhecimento dos órgãos internos são mascarados aos olhos, a pele fornece as primeiras marcas evidentes da passagem do tempo (TAYLOR et. al., 2015).

O envelhecimento da pele é induzido por fatores intrínsecos e extrínsecos, todos resultando na integridade estrutural reduzida e perda de função fisiológica (MUKHERJEE et. al., 2006).

Envelhecimento intrínseco/cronológico é definido pelo decréscimo clínico, histológico e fisiológico que ocorrem na pele protegida do sol, que afetam a taxa de metabolismo epidérmico, depuração de substâncias químicas da derme, espessura dérmica, termorregulação, taxa de reepitelização após o ferimento, proteção mecânica, capacidade de resposta imunológica, percepção sensorial, suor e produção de sebo, capacidade de síntese de

vitamina D e reatividade vascular. Clinicamente, a pele intrinsecamente envelhecida é atrófica, o que pode resultar em perda de elasticidade (MUKHERJEE et. al., 2006).

O estrato córneo permanece relativamente inalterado, mas a epiderme se afina com um achatamento da junção dermo-epidérmica expressando um aumento da fragilidade da pele. Há também uma diminuição considerável na capacidade biossintética de fibroblastos resultando em atraso de cicatrização de feridas (MUKHERJEE et. al., 2006).

Já o envelhecimento extrínseco é causado por fatores ambientais oxidativos, tais como a radiação solar, a fumaça do cigarro e outros fatores de poluição e alimentação. A exposição à radiação UV é o principal fator de envelhecimento extrínseco da pele, também conhecido como fotoenvelhecimento. A degeneração da pele pela radiação UV é um processo cumulativo e a taxa de degeneração depende da frequência, duração e intensidade da exposição ao sol, além da proteção natural pela pigmentação da pele (KAMMEYER & LUITEN, 2015).

A pele fotoenvelhecida é caracterizada por rugas profundas, perda de elasticidade, ressecamento, flacidez, aparência de textura áspera, pigmentação irregular e sua aparência é bastante distinta da pele envelhecida intrinsecamente. A gravidade do fotoenvelhecimento também depende do tipo de pele, sendo mais proeminente em indivíduos de pele clara (tipos de pele I e II) e menos perceptíveis em pessoas com pele tipo III ou superior. Assim, a gravidade do fotoenvelhecimento principalmente depende da dose cumulativa de exposição à radiação UV recebida e no estado da pigmentação da pele. O aspecto envelhecido da pele fotodanificada é especificamente causada por danos na estrutura e componentes do tecido conjuntivo da derme (KAMMEYER & LUITEN, 2015).

Durante fotoenvelhecimento das três principais classes de componentes da matriz extracelular da derme - colágeno, fibras elásticas e glicosaminoglicanos (GAGs; livre e associada à proteína) - são diferencialmente remodelados, levando a mudanças na sua composição molecular relativa, arquitetura e, por conseguinte, sua função (BRADLEY et. al., 2015).

Desta forma, a compreensão dos fatores relacionados ao envelhecimento é peça chave para o desenvolvimento de ativos cosméticos que atuem na proteção e reparação de tais danos, além do desenvolvimento de formulações cosméticas a que sejam incorporados tais ativos.

2.3 Cosméticos Multifuncionais

Segundo Cavalheiro et. al. (2010), a multifuncionalidade dos cosméticos pode ser definida como produtos que, além de sua função básica, possuem uma segunda, terceira ou mais funções. Além disso, segundo RDC nº30 de 1 de julho de 2012, produtos multifuncionais podem ser definidos como qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e os lábios, cujo o benefício contra a radiação UV não é a finalidade principal e sim um benefício adicional do produto.

Nos últimos anos cosméticos multifuncionais vêm ganhando espaço no mercado cosmético por agregar diversos benefícios em um só produto, facilitando assim a utilização de produtos cosméticos e tornando esta utilização mais econômica. Através de produtos multifuncionais que contém FPS, a população tem, cada vez mais, se protegido contra os efeitos da radiação solar na pele (DRAELOS, 2011).

Contudo, é de suma importância analisar os benefícios de tais formulações, não apenas do ponto de vista de estabilidade e aceitação do consumidor, mas de sua segurança e eficácia clínica, uma vez que devido a incorporação de diversos ativos a investigação da interação dos mesmos na eficácia clínica do produto é muito relevante.

Ademais, há uma outra questão pertinente a ser avaliada. Uma vez que formulações multifuncionais antienvhecimento tem em sua composição diversos ativos para reduzir rugas, linhas finas, danos causados pelo sol e outros sinais de envelhecimento que são atraentes para o consumidor, é preciso considerar que muitos dos efeitos benéficos destes produtos são, na verdade, devido aos hidratantes que eles contêm, ingredientes comuns como: glicerina, dimeticone e petrolato (NOLAN & MARMUR, 2012).

Estes ingredientes fundamentais podem melhorar a integridade da barreira da pele, reduzir as linhas finas, e fazer a pele parecer lisa e macia, uma vez que promovem a hidratação, oclusão e proteção da pele (NOLAN & MARMUR, 2012). Assim, a investigação do real benefício de ativos cosméticos contidos em formulações multifuncionais deve ser realizada no intuito de que as formulações tenham o melhor custo/efetividade.

2.4 Oligossacarídeos de Alfafa (*Medicago sativa*) e Polissacarídeos da Mandioca (*Manihot esculenta*)

Vários estudos in vivo mostraram que o retinol e os retinóides aplicados topicamente podem estimular o processo natural de reparação do fotoenvelhecimento. Eles induzem a síntese de colágeno, limitam a fragmentação de fibras elásticas ou diminuem a atividade de metaloproteinases. No entanto, com base na quantidade e na área de aplicação, o retinol e os seus derivados podem apresentar efeitos secundários irritantes em aplicações locais (JOUANDEAUD, 2004).

Assim, começou-se a desenvolver um ingrediente ativo cujo comportamento seria semelhante ao retinol e que poderia, como este último, participar na regulação do metabolismo dérmico e epidérmico sem os efeitos secundários causados pelo retinol e seus derivados (JOUANDEAUD, 2004).

Ativos da planta *Medicago sativa* (alfafa) foram obtidos após a triagem de várias matérias-primas por um processo que envolve vários passos de hidrólise enzimática controlada, levando a uma substância ativa purificada rica em oligossacarídeos de galactomananas. Através de vários estudos pôde-se observar, nos oligossacarídeos de alfafa, diversos mecanismos semelhantes aos encontrados no retinol e seus derivados (JOUANDEAUD, 2004).

O extrato de *Medicago sativa* (MSE) foi investigado tanto em termos de metabolismo epidérmico e dérmico. Assim o retinol, MSE regulamentou o processo de diferenciação no metabolismo epidérmico. Testado a 2% levou a uma estimulação de 29% da síntese de HSP-27, uma proteína marcadora deste processo. Além disso, este ingrediente ativo favoreceu a proteção da matriz extracelular pela estimulação da síntese de colágeno I (+ 296%) e também através da limitação da expressão de metaloproteinases MMP-1 induzidas por radiação UV (92% de inibição da atividade de MMP-1 induzida por UV) (RODRIGUES et. al., 2015). Outro estudo utilizando MSE demonstrou também a ação antioxidante e baixa citotoxicidade quando incorporada em uma formulação cosmética (SILVA, et. al., 2013).

Finalmente, a ação dos oligossacarídeos de alfafa mostrou-se comparável à ação do retinol no que diz respeito ao metabolismo da pele. MSE estimulou a síntese de duas moléculas: citoqueratinas 4 e 19, marcadores específicos da atividade de retinóides (JOUANDEAUD, 2004).

Além de serem acrescentados ingredientes ativos antienvelhecimento que reforçam os tecidos cutâneos para reduzir os sinais da idade, estes produtos de cuidados cosméticos em geral, também integram ingredientes que formam uma malha tridimensional na superfície da pele e proporcionam uma sensação imediata dos efeitos, bem como a suavização instantânea e efeito lifting na superfície da pele. Esta é, portanto, tonificada, distendida e suavizada instantaneamente (PAUFIQUE, 2013).

Assim, determinadas proteínas obtidas a partir de matérias-primas de plantas tem grandes vantagens de utilização, uma vez que são matérias primas naturais e solúveis em água, o que facilita sua incorporação em formulações cosméticas (PAUFIQUE, 2013).

Para tanto, polissacarídeos obtidos da mandioca (*Manihot esculenta*) foram testados no intuito de se desenvolver um ativo cosmético de efeito imediato. Sua estrutura na forma de uma rede tridimensional articulada e pré-organizada de elevado peso molecular se fixa à superfície da pele, formando rapidamente um filme viscoelástico capaz de se espalhar e se adaptar perfeitamente ao microrrelevo da pele para um efeito lifting imediato e suavidade em sua superfície (PAUFIQUE, 2013 e SILAB, 2011).

2.5 Fotoprotetores

Uma variedade de estratégias de marketing levou os consumidores a acreditar e confiar na noção de que cremes protetores solares são destinados a prevenir os danos da pele (por exemplo, queimaduras, câncer de pele) enquanto permitem bronzeamento gradual, sendo que ambos são alcançados quando os protetores solares absorvem radiação solar UVB (290-320 nm) e UVA (320-400 nm) (SERPONE et. al., 2006).

Para evitar queimaduras solares e proteger as pessoas contra os danos da pele grave, os filtros solares devem possuir vários atributos. Eles devem ser fotoestáveis (de preferência 100%) e devem dissipar a energia absorvida de forma eficiente por vias fotofísicas e fotoquímicas que possam excluir a formação de átomos oxigênio, espécies reativas de oxigênio e intermediários reativos prejudiciais. Os mesmos não devem penetrar na pele, e não devem ser transportados para as células humanas, onde podem causar danos prejudiciais ao DNA. Além disso, um protetor solar ideal deve conter mecanismos de estabilização, tais como encapsulamento ou complexação para a eficácia sustentada e interceptação de radicais livres, por exemplo, com uso de antioxidantes, para limitar os danos fotoquímicos (SERPONE et. al., 2006; MORABITO et. al., 2011).

Com poucas exceções, os protetores solares contêm filtros químicos orgânicos (absorvem principalmente a radiação UVB) e filtros físicos (por exemplo, TiO_2 e ZnO). Estes últimos têm sido pronunciados no bloqueio da luz solar UVB / UVA através da reflexão e da dispersão. Sendo assim, uma vez que reflexão e dispersão são fenômenos físicos, o termo “filtros UV físicos” foi inventado. No entanto, esses filtros UV inorgânicos absorvem apenas uma parcela da radiação UV e não sua totalidade (SERPONE et. al., 2006).

A função desejada de filtros de proteção solar inorgânicos é o bloqueio da luz solar ao longo de todo o espectro UVA / UVB (290-400 nm) por meio de absorção, dispersão e reflexão, propriedades que por sua vez são determinadas pelo índice de refração intrínseca, o tamanho das partículas, dispersão da base de emulsão e pela espessura da película. A capacidade de alguns minerais para atuarem como os chamados filtros de proteção solar físicos em loções é determinada por duas características principais: a absorção, propriedade de dispersão do filtro inorgânico e sua aceitabilidade cosmética (SERPONE et. al., 2006; MORABITO et. al., 2011).

Filtros químicos orgânicos são classificados em ambos filtros UVA (benzofenonas, antranilatos e dibenzoilmetano) ou UVB (derivados PABA, salicilatos, cinamatos e derivados de cânfora). Filtros UV orgânicos absorvem a radiação UV e a energia absorvida produz um estado de excitação da molécula, conferindo-lhe maior conteúdo energético. O excesso de energia é dissipado por emissão de comprimentos de onda mais elevados ou relaxamento por processos fotoquímicos, por exemplo, isomerização e liberação de calor. Formulações com proteção solar contendo estes ingredientes ativos e/ou filtros UV inorgânicos são normalmente comercializados como produtos cosméticos na maioria dos países (SERPONE et. al., 2006; RAMOS et. al., 2015).

2.6 Estudo de Estabilidade

Em função das exigências dos órgãos governamentais de saúde, é imprescindível que sejam estabelecidos protocolos, por parte dos grupos de pesquisa e indústrias, de testes específicos, com o objetivo de garantir e controlar a qualidade dos produtos cosméticos.

Para o desenvolvimento de tais produtos contendo ativos dermatológicos, a comprovação da estabilidade é imprescindível para a constatação de sua segurança e eficácia. Uma vez que as formulações têm sido elaboradas com matérias-primas e substâncias ativas passíveis de oxidação, como é o caso dos extratos vegetais e vitaminas, é necessário assegurar

que o teor de substâncias ativas presentes na formulação seja mantido durante todo o seu tempo de prateleira (ANVISA, 2008; GUARATINI et. al., 2006).

Em virtude da dinâmica do mercado de cosméticos, o desenvolvimento de novos produtos deve ser rápido e, conseqüentemente, a previsão da estabilidade é geralmente realizada por condições de armazenagem aceleradas. A variação de temperatura é o principal parâmetro utilizado para induzir alterações físicas nas formulações (ANVISA, 2008; GUARATINI et. al., 2006; MAIA CAMPOS et. al., 2012).

Medidas de comportamento reológico são importantes tanto para avaliar a estabilidade física, mas também são parâmetros que indicam a qualidade do sistema, utilidade e finalidade. Nos estudos de reologia existem os sistemas denominados Newtonianos e os não-Newtonianos. As formulações que possuem partículas assimétricas, como a maioria dos produtos cosméticos e farmacêuticos, apresentam fluxo não newtoniano, que normalmente é representado por 3 tipos de curvas: plástica, pseudoplástica e dilatante (CORRÊA et. al., 2005).

Para as formulações dermocosméticas, o fluxo pseudoplástico é o mais comum. Esses materiais têm sua viscosidade aparente diminuída gradualmente, à medida que aumenta a tensão de cisalhamento e, portanto, sua viscosidade não pode ser expressa por um único valor. A viscosidade aparente pode ser obtida pela tangente em cada ponto da curva, obtida a partir de valores crescentes da tensão de cisalhamento (LEONARDI & MAIA CAMPOS, 2001). Viscosidade é uma expressão de resistência do fluido ao fluxo: quanto maior a viscosidade, maior a resistência (CORRÊA et. al., 2005).

Estudos sobre estas propriedades se tornaram uma ferramenta essencial para a análise de preparações cosméticas, devido à possibilidade de produzir perfis de correção de estabilidade física e estrutural. O estresse térmico pode alterar parâmetros como a viscosidade, solubilidade, coalescência, fusão de ceras ou hidratação de polímeros (LIPPACHER et al., 2004), e conseqüentemente, há possibilidade de prever processos de instabilidade através do estudo do comportamento reológico de formulações cosméticas sob estas condições (GUARATINI et. al., 2006).

2.7 Avaliação de Sensorial e Textura de Formulações Cosméticas

O potencial de venda de produtos cosméticos e cuidados pessoais não depende apenas de sua eficácia, mas também de suas características sensoriais, hedônicas e emocionais (PARENTE et. al., 2011). A análise dos perfis sensoriais de produtos cosméticos é uma ferramenta poderosa para a indústria cosmética, pois fornece informações relevantes para o desenvolvimento de novos produtos, reformulação de produtos existentes e à otimização de processos de fabricação. Assim, a indústria obtém informações precisas sobre como os consumidores percebem as características sensoriais de seus produtos durante o desenvolvimento do mesmo e para a definição de posicionamento do produto, propaganda e estratégias de comunicação (LUKIC et. al., 2011; PARENTE et. al., 2010).

Ao aplicar produtos cosméticos na pele, os consumidores têm uma série de expectativas que estão relacionados com as suas características sensoriais (tais como sua espessura, rigidez, perfume), os efeitos da sua aplicação na pele, eficácia e também experiências hedônicas e emocionais. Os consumidores experimentam diferentes tipos de emoções em suas relações com produtos cosméticos. Estas emoções podem ser provocadas pelas características sensoriais, os potenciais efeitos cosméticos de uso, memórias ou associações relacionadas com os produtos, mas também pelas implicações sociais do uso dos mesmos (KÜLKAMP-GUERREIRO et. al., 2013; PARENTE et. al., 2011).

Existem diferentes tipos de testes utilizados em análise sensorial, tais como discriminativo, afetivo ou descritivo e o objetivo da análise define a escolha do método. Por exemplo, em casos de determinar se existem diferenças entre as amostras, os testes discriminativos são mais adequados. Por outro lado, para determinar a diferença entre as amostras ou a dimensão destas diferenças, testes descritivos, que utilizam escalas e perfis, são mais adequados (KÜLKAMP-GUERREIRO et. al., 2013).

Porém, os estudos de avaliação sensorial são realizados por um número considerável de pesquisadores e levando em consideração o tempo e os custos de análises sensoriais, por um lado, e avaliação subjetiva dos voluntários por outro lado, o potencial da utilização de medições instrumentais que se correlacionem com propriedades sensoriais está sendo um instrumento de investigação. Juntamente com os avanços feitos neste aspecto, as técnicas existentes estão sendo reavaliadas para modelagem e análise sensorial (LUKIC et. al., 2011). Assim, custos com análises sensoriais poderiam ser reduzidos e análises instrumentais que

possam ser correlacionadas com as análises sensoriais trariam resultados mais objetivos para a pesquisa e desenvolvimento de cosméticos.

Análise de textura, uma técnica que é comumente usada no campo de pesquisa de alimentos, avalia as características mecânicas de sistemas de emulsão. Embora alguns autores tenham utilizado a análise de textura em seus trabalhos de caracterização das preparações tópicas, considerando que ele seja um dos métodos clássicos para a avaliação da estabilidade de emulsões, esta técnica pode ser útil em análises sensoriais de formulações cosméticas. Deste modo, as características de rigidez (parâmetros: firmeza e consistência) e adesividade (parâmetros: coesividade e índice de viscosidade) podem ser avaliadas e correlacionados a características avaliadas em análises sensoriais (LUKIC et. al., 2011; TAI et. al., 2014).

2.8 Avaliação da Eficácia Clínica de Formulações Cosméticas

2.8.1 Técnicas de Biofísica e Análise de Imagem da Pele

Além de análises de estabilidade e sensorial de formulações cosméticas, a eficácia clínica de cosméticos tem papel fundamental na pesquisa e desenvolvimento de formulações realmente eficazes.

Na era da medicina baseada em evidências, uma quantificação precisa e padronizada é necessária no âmbito da investigação biomédica. A comunidade científica está testemunhando o desenvolvimento de novas técnicas com maiores propriedades descritivas e de precisão. Diferentes métodos não-invasivos para monitorar as funções da pele foram introduzidos, oferecendo as vantagens da precisão e metodologia não-invasiva - assim, tratam-se de técnicas seguras para a avaliação das propriedades da barreira da pele *in vivo* (DARLENSKY et. al., 2008)

As técnicas de Biofísica da pele têm sido amplamente empregadas na avaliação do efeito de formulações de uso tópico, principalmente por possibilitar a avaliação de produtos em suas reais condições de uso, ou seja, diretamente na pele humana. A comprovação da eficácia destes produtos é de suma importância para o mercado consumidor, que deseja ver concretizado o apelo de venda que o impulsiona para o ato da compra. Desta maneira, novas metodologias de avaliação desta categoria de produto têm sido continuamente desenvolvidas,

com ênfase na comprovação científica dos reais benefícios propostos por estas formulações (GONÇALVES & MAIA CAMPOS, 2009).

O potencial de aplicação dessa tecnologia tornou-se imenso, sendo possível abordar aspectos como a análise e caracterização do estado funcional da superfície da pele, a quantificação e caracterização de certas afecções cutâneas e análise dos efeitos terapêuticos ou cosméticos (GONÇALVES & MAIA CAMPOS, 2009). Os métodos de biofísica da pele normalmente medem propriedades selecionadas que dependem do princípio de medição. A hidratação, viscoelasticidade, microrrelevo da pele, função barreira e espessura da pele, são exemplos de parâmetros que podem ser quantificados de forma não invasiva usando estas técnicas (AMBROISINE et al., 2007)

Além disso, vale salientar que a legislação referente aos produtos cosméticos e de higiene corporal, que está em vigor, exige dos responsáveis pelo desenvolvimento de produtos cosméticos, que quando estes forem lançados no mercado, possuam provas dos efeitos propostos para os respectivos produtos (ANVISA, 2008).

2.8.2 Conteúdo Aquoso do Estrato Córneo

A água desempenha papéis importantes na manutenção da condição da pele. No estrato córneo, a água interage com um fator de hidratação natural e queratina para dar elasticidade para o estrato córneo (NAKAGAWA et. al., 2010).

O estado de hidratação do estrato córneo (SC) é um parâmetro importante em diferentes aplicações dermato-cosméticas. Sua determinação é geralmente baseada em medições elétricas na superfície da pele. A maioria dos instrumentos mede tanto a capacitância (utilizada no estudo) ou a condutância das camadas superficiais da pele (CLARYS, et. al., 2012).

As propriedades elétricas da pele dependem do teor em água do estrato córneo na epiderme. O princípio do método está baseado na diferença entre a constante dielétrica da água e outras substâncias através da medição da capacitância do meio dielétrico. Qualquer mudança na constante dielétrica referente à variação na hidratação da superfície da pele conduz a um cálculo de capacitância diferenciado pelo capacitor. O Corneometer contém dois eletrodos com diferentes cargas elétricas que formam um campo eletromagnético que determina a dieletricidade do estrato córneo. A profundidade da medição é baixa (os

primeiros 10-20 μM do estrato córneo), devido à construção da cabeça de medição (CLARYS, et. al., 2012; CONSTANTIN et. al., 2014; KHAN et. al., 2011).

Figura 2. Sonda para determinação da hidratação cutânea (Cornemometer®).

O intervalo de variação dos valores do grau de hidratação da pele está entre 0-130 unidades arbitrárias (UA). Em condições laboratoriais normais ($T = 20-22^{\circ}\text{C}$, umidade de 40-60%), as variações dos valores do grau de hidratação da pele para a área central da frente do antebraço são os seguintes: menos de 30 AU - muito seca, entre 30 e 45 AU - seca, 45 AU - suficientemente hidratado (CLARYS, et. al., 2010; CONSTANTIN et. al., 2014).

As vantagens deste método são: o tempo de medição muito curto (um segundo), elevada reprodutibilidade das medições e ausência de contato galvânico entre a área medida e o aparelho de medição (os resultados obtidos não são influenciados por condutividade iônica ou efeitos de polarização). Além disso, os componentes eletrônicos modernos da sonda permitem a estabilidade da temperatura e excluem a interferência da capacitância da base e as flutuações de fornecimento de energia. Em comparação com outros métodos, as preparações aplicadas na pele exercem uma influência pequena sobre as medições em outros equipamentos, enquanto este é capaz de detectar pequenas mudanças no nível de hidratação (CLARYS, et. al., 2010; CONSTANTIN et. al., 2014).

2.8.3 Perda Transepidermica de Água (TEWL)

Perda transepidermica de água (TEWL) é considerada como um dos parâmetros mais importantes para a função barreira da pele. TEWL é utilizado para avaliar o fluxo de água para fora da pele e, conseqüentemente, utilizado para avaliar a integridade da barreira da pele humana para a perda anormal de água (KOTTNER et. al., 2013; KHAN et. al., 2011).

TEWL é uma medida da densidade de fluxo de difusão da água condensada a partir das camadas mais profundas altamente hidratadas da derme e epiderme para a superfície da pele e é geralmente expressa em $\text{g/m}^2/\text{h}$ (KOTTNER et. al., 2013). A base física para a medição da perda de água transepidermica (TEWL) é a lei de difusão descoberta por A. Fick em 1855 (MAIBACH, 2015). Trata-se da equação matemática:

$$dm/dt = -D \times A \times dp/dx$$

Onde:

A = superfície (m^2)

m = água transportada (g)

T = tempo (h)

D = constante de difusão (= $0,0877 \text{ g/m h mm Hg}$)

P = pressão de vapor da atmosfera (mm Hg)

x = distância da superfície da pele para ponto de medição

Valores de TEWL são afetados pelo estado e função do estrato córneo (SC). Há provas convincentes hoje de que o TEWL aumentado está associado a uma disfunção da barreira, ao passo que o TEWL normal ou diminuído é considerado como um indicador da barreira da pele intacta ou recuperada (KOTTNER et. al., 2013).

Hoje, vários instrumentos de medição de TEWL com diferentes tecnologias estão comercialmente disponíveis e são usados em todo o mundo rotineiramente na prática dermatológica e em pesquisa.

Um desses equipamentos é o Tewameter® (Courage-Khasaka, Alemanha). Um sistema de cilindro aberto que mede taxa de evaporação da água com base em princípios de difusão. O gradiente de densidade de vapor é medido indiretamente através de dois pares de sensores

(temperatura e umidade relativa) dentro de um cilindro oco, e os dados resultantes são analisados por um microprocessador. Os valores das medições são dados em $\text{g/m}^2 \text{ h}$. A versão padrão do instrumento apresenta os seguintes parâmetros experimentais: TEWL (0-90 $\text{g/m}^2 \text{ h}$), umidade relativa (0-100%) e temperatura (0-50°C) ao nível dos sensores. Uma das principais preocupações com o sistema de câmara aberta é que eles necessitam de um ambiente especial em que a turbulência do ar não interfira em suas medições (ELKEEB et. al., 2010).

Figura 3. Sonda para determinação de TEWL (Tewameter®).

2.8.4 Teor Lipídico da Pele

Na pele, as glândulas sebáceas produzem e secretam sebo, que consiste de uma mistura complexa de lipídeos que incluem funções, tais como fotoproteção, ação antimicrobiana, a entrega de antioxidantes solúveis em gordura para a superfície da pele e a atividade pró e anti-inflamatória exercida por lipídios específicos para a homeostase. O sebo excretado também mantém a umidade da superfície da pele por meio da formação de uma película lipídica. (LEE et. al., 2015).

Sebo humano consiste de uma mistura complexa de ácidos graxos, triglicerídeos, ésteres de cera, esqualeno, e ésteres de colesterol. Os triglicerídeos e ácidos graxos representam a maior fração de sebo (57%), enquanto que os ésteres de cera e esqualeno compõem 25% e 15%, respectivamente, e ésteres de colesterol representam os lipídeos restantes encontrados em sebo humano (PEIRANO, 2011).

Embora sebo forneça uma função protetora, muitas mudanças em sua composição podem ser um problema que conduz a um aumento da possibilidade de acne (ZOUBOULIS, 2004). Além disso, a produção diminuída de sebo pode levar a dermatite atópica (CROWTHER, 2016).

Uma variedade de técnicas tem sido utilizadas para medir níveis de sebo sobre a pele, incluindo a classificação visual, extração com solvente, papel absorvente, argila de bentonite, fita ou película absorvente de lipídeos, técnicas fotométricas e absorção gravimétrica (CROWTHER, 2016). Um dispositivo amplamente usado é o Sebumeter® (Courage and Khazaka), que possui uma técnica de medição fotométrica. Com este dispositivo, óleos sobre a superfície da pele são absorvidos sobre uma película polimérica, tornando a película transparente. À medida que mais óleo é absorvido, o filme torna-se mais transparente e esta medição pode ser utilizada para determinar a oleosidade da pele (CROWTHER, 2016; COURAGE-KHASAKA).

Assim, estas análises possibilitam a avaliação da eficácia clínica de cosméticos quanto ao conteúdo lipídico da pele, detectando assim as alterações que possam ocorrer com o uso destes.

Figura 4. Sonda para determinação do sebo cutâneo (Sebumeter®).

2.8.5 Propriedades Mecânicas da Pele

A pele humana pode ser esticada até várias vezes o seu tamanho original e ainda mantém suas propriedades fenotípicas originais. Tal expansão impressionante é possível porque a pele é uma estrutura mecânica altamente especializada, respondendo através de uma rede de cascatas interligadas de reações químicas, com a participação de membranas extracelulares, citoplasmáticas e nucleares. No entanto, se os estímulos externos, tais como estresse mecânico, atingirem valores suficientemente altos, podem causar deformação irreversível e danos para a pele, o que resulta numa perda das suas propriedades mecânicas (PAWLACZYK et. al., 2013).

A elasticidade da pele normalmente diminui à medida que a pele envelhece. Vários fatores intrínsecos e extrínsecos, por exemplo, expressões de genes, estilo de vida, e exposição à luz solar, contribuem para o envelhecimento da pele. Nesta situação, a densidade de volume da rede de fibras elásticas difere entre os indivíduos e mudança com a idade. A proteína elastina também contribui para mudanças estruturais e composicionais consistentes com a elastose solar e o envelhecimento. (WOO et. al., 2014).

Deformação marca a pele em resposta a forças aplicadas e é definida como perfeitamente elástica se a pele volta ao seu estado inicial após a cessação da força. Se, depois, excedendo o limite de elasticidade, a cessação da força externa não permite que a pele volte à sua forma inicial, a denominada deformação residual ocorre (PAWLACZYK et. al., 2013).

Além disso, a pele e tecido subcutâneo fornecem uma cobertura protetora do corpo, capaz de esticar e contrair. Teoricamente, estes processos podem ocorrer em qualquer direção e são mutuamente inclusivos. Na prática, a pele apresenta propriedades anisotrópicas e a sua capacidade de esticar e contrair varia em diferentes direções. Anisotropia aumenta com a idade. Tensões da pele dependem da posição mútua das fibras submetidas a forças externas, ao passo que as propriedades mecânicas da pele são dependentes do vetor de força aplicada (PAWLACZYK et. al., 2013).

Muitos métodos não invasivos baseados em princípios diferentes existem para avaliar a elasticidade da pele - torquímetro dérmico (Diastron, Andover, Reino Unido), Dermaflex (Cortex Technology, Hadsund, Dinamarca), e Reviscometer (CK Electronics, Koln,

Alemanha), com base em um método de emissão de ondas de choque acústico (WOO et. al., 2014).

A técnica mais comum de avaliação elasticidade da pele é o Cutometer® (Courage-Khasaka, Alemanha), um instrumento não invasivo para avaliar a elasticidade da pele humana através da obtenção de valores quantitativos utilizando um método de sucção. A pressão negativa é criada no dispositivo e a pele é arrastada para a abertura da sonda e após um tempo definido é novamente libertada. Dentro da sonda, a profundidade de penetração é determinada por um sistema de medição óptico sem contato (COURAGE-KHASAKA).

Este sistema de medição óptico é constituído por uma fonte e um receptor de luz, bem como dois prismas voltados um para o outro, que projetam a luz do transmissor para receptor. A intensidade da luz varia de acordo com a profundidade de penetração da pele. A resistência da pele à pressão negativa (firmeza) e a sua capacidade para voltar a sua posição original (elasticidade) são mostrados através de (profundidade de penetração em mm / hora) curvas em tempo real, durante a medição (COURAGE-KHASAKA).

Figura 5. Curva de deformação da pele obtida pelo equipamento Cutometer SEM 575 (Dobrev, 2000). Legenda: Ue: distensão imediata, Uv: distensão retardada, Ua: retração total, Ur: retração imediata, Uf: distensão final, R: deformação residual no fim do ciclo de medida.

Este princípio de medição permite a obtenção de informações sobre as propriedades elásticas e mecânicas da superfície da pele e permite quantificar objetivamente o

envelhecimento da pele (COURAGE-KHASAKA; WOO et. al., 2014). Os parâmetros avaliados são:

R0 = (Uf) Distensibilidade da pele.

R1 = (R) Deformação residual da pele.

R2= (Ua/Uf) Elasticidade bruta da pele, incluindo deformação viscosa.

R3. Última amplitude máxima.

R4. Última amplitude mínima.

R5= (Ur/Eu) Elasticidade líquida da pele, sem considerar a deformação viscosa.

R6= (Uv/Eu) Viscoelasticidade da pele.

R7= (Ur/Uf) Elasticidade biológica: habilidade da pele em retornar à sua posição inicial, após uma deformação.

R8. Área acima da curva, dada por UF e pelo tempo de sucção.

Figura 6. Sonda para determinação das propriedades mecânicas da pele por sucção (Cutometer®).

2.8.6 Microrrelevo Cutâneo

A percepção humana é baseada na visualização de superfícies. Uma vez que nós não podemos olhar para dentro, nós definimos os objetos através de suas interfaces. Isto,

obviamente, vale para a pele humana. A interface visível aos nossos olhos é o estrato córneo, a camada externa e morta da epiderme (FERREIRA et. al., 2010).

A microestrutura da superfície da pele, determinada pela epiderme, assemelha-se a um padrão com uma estrutura tipo rede. Esta estrutura é composta de formas poligonais, na maioria das vezes triângulos ou quadrilátero. As arestas das formas triangulares ou de quadriláteros definem a localização de sulcos ou micro linhas, e as superfícies curvas cercadas por sulcos definem os sulcos. Juntamente com a idade progressiva e o efeito cumulativo de raios ultravioleta, a pele torna-se áspera, com rugas mais profundas e alterações na estrutura da superfície cutânea do tipo de rede fazem com que esta mude ou desapareça (ZOU et. al., 2009).

O microrrelevo da pele foi estudado utilizando vários métodos, dispositivos e várias técnicas não invasivas de bioengenharia da pele têm sido desenvolvidas para a avaliação da topografia da superfície da pele de acordo com diferentes princípios (FERREIRA et. al., 2010).

Um destes equipamentos é o Visioscan VC98 (Courage-Khazaka, Köln, Alemanha), que consiste em um chip b/w sensor especial de vídeo com uma resolução alta, uma objetiva e uma fonte de luz UVA. O equipamento permite a avaliação quali e quantitativa da superfície da pele nas condições fisiológicas, utilizando um processo de digitalização de imagem obtida por um chip sensor de vídeo apresenta a imagem da pele em 256 níveis diferentes de cinza, quantificando os pontos escuros, que correspondem à rugosidade e pontos claros correspondentes aos platôs do microrrelevo cutâneo (FERREIRA et. al., 2010; KHAN et. al., 2011).

Figura 7. Imagem do equipamento Visioscan® 98.

São avaliados os parâmetros relacionados à superfície da pele: rugosidade (Ser) - porção de pontos escuros que representam a aspereza da pele; Sew - número e largura das rugas, sendo que quanto maior número de rugas maior é este valor; Sesm refere-se à forma e largura das rugas, sendo que quanto maior o valor dessa variável melhor a textura e maciez da pele. Avalia-se ainda o parâmetro Rt (rugosidade), relacionado à profundidade das rugas (LÉVÊQUE, 2000; COURAGE-KHASAKA).

Figura 8. Imagem digitalizada da pele obtida por uma câmera de vídeo - Visioscan® VC 98.

Tabela 1. Principais parâmetros topográficos da superfície cutânea, obtidos através do método SELS (LÉVÊQUE, 2000).

<i>Superfície</i>		Representa a extensão da zona da pele ondulada – topografia real – em comparação com a mesma superfície, tornada lisa por estiramento.
<i>Volume</i>		Representa a quantidade de líquido necessária para preencher a área até a altura média de todos os picos da ondulação da superfície cutânea.
<i>Energia</i>		É um indicador da homogeneidade da imagem, calculado através do número de repetições de combinações de cores de pixels vizinhos.
<i>Parâmetros SELS</i>	SEsc (descamação)	É um indicador do nível de secura do EC, obtido através da quantidade de pixels claros.
	SEr (aspereza)	É obtida através da quantidade de pixels escuros.
	SEw (rugosidade)	É calculada através da quantidade de rugas horizontais e verticais e é proporcional ao número e largura das rugas.
	Sesm (suavidade)	É calculada através da média da largura e da profundidade das rugas e é proporcional à largura e à forma das rugas.
<i>Parâmetros do micro-relevo</i>	R1 (amplitude)	É a distância entre o pico superior e o inferior.
	R2 (amplitude máxima)	É a maior amplitude do segmento analisado.
	R3 (amplitude média)	É a média das amplitudes de 5 segmentos sucessivos com a mesma largura.
	R4 (distância média)	É a distância média entre o perfil real e o perfil de referência (linha desenhada no pico mais elevado).
	R5 (desvio médio)	É calculado pela divisão da área entre o perfil real e o perfil médio pela altura média.

2.8.7 Sistema digital de imagens fotográficas para a avaliação da pele facial

A absorção de luz pela pele comumente transforma a luz em outras formas de energia. Dispersão incluindo a reflexão, refração redirecionamento de difração de alguns segmentos dos comprimentos de onda de luz incidente. Em contextos clínicos e experimentais, um processo controlado para gravação de imagens ópticas é obrigatória para fins comparativos. A iluminação uniforme através do visível e/ou espectros de luz ultravioleta (UV) é de grande importância, embora não seja habitualmente alcançado em sua totalidade (PIÉRARD et. al., 2012).

Neste contexto, o equipamento Visioface Quick (C + K electronic) possui procedimento de imagens trabalhando sob comprimentos de onda de luz visível, chamados visualização cor-aumentada (CEV). Contém cabine de luz com 200 díodos LED brancos iluminando uniformemente a área exposta da pele. A câmera (Canon Powershot A 640) tem resolução de 10,2 megapixels. Tanto a iluminação e a câmera CEV são controladas por computador. O software filtra adequadamente comprimentos de onda de luz específicos, incluindo a tonalidade ciano, a fim para fornecer uma gravação de vídeo de alta resolução, aumentando o contraste de cor devido à melanina. As imagens apresentam os parâmetros de interesse: manchas da pele, poros, rugas e desigualdades. Além disso, imagens “tipo UV” são geradas mediante uma fórmula especial (HERMANNNS-LÊ et. al., 2013; COURAGE-KHASAKA, 2008).

Figura 9. Sistema digital de imagens fotográficas para a avaliação da pele facial e imagem real e de luz de LED obtida com o equipamento (VisioFaceQuick®).

2.8.8 Ultrassom de 20MHZ

A ultrassonografia é um método não-invasivo e de custo relativamente baixo. Foi usado pela primeira vez em dermatologia em 1979 para medir a espessura da pele. As unidades de ultrassom de 20 MHz (alta frequência) bidimensional (B-Scan), têm estado disponíveis desde a década de 1980, devido ao surgimento de transdutores mecânicos que permitiram imagens transversais da pele (CAETANO et. al., 2016).

O dispositivo consiste de um transdutor, um sistema de elaboração, e um sistema de armazenamento de dados. A onda ultrassônica é parcialmente refletida na fronteira entre estruturas adjacentes e gera ecos de diferentes amplitudes. A intensidade dos ecos refletidos é avaliada por um microprocessador e visualizada como uma imagem bidimensional. A escala de cores do eco são: branco-amarelo-vermelho-verde-azul-preto. Em uma imagem cutânea normal, a ecogenicidade epidérmica aparece como uma banda branca, a derme é expressa como uma composição de duas cores: amarelo e / ou vermelho, e a camada subcutânea aparece verde ou preto (CRISAN et. al., 2012). Normalmente, a velocidade de ultrassom na pele humana é reduzida quando o teor de água do tecido é maior, e quando é aumentada a concentração de colágeno é mais elevada (JASAITIENE et. al., 2010).

Figura 10. Equipamento Derascan C[®], (Cortex, Hadsund, Dinamarca) e imagem das diferentes camadas da pele.

As imagens ultrassonográficas são guardadas e processadas com software de análise de imagem específico (Dermavision, Cortex Technology), que tem uma certa propriedade: as amplitudes dos ecos dos pixels são dadas como um valor em uma escala numérica que varia de 0 a 255. Nesta escala, a área de pixel de baixa ecogenicidade corresponde ao intervalo de 0-30, a área de pixels de média ecogenicidade corresponde a 50-150, e os pixels de alta ecogenicidade no intervalo de 200-255 (CRISAN et. al., 2012).

Para análises da espessura da derme, é selecionada a região entre a parte inferior da epiderme e a interface da derme com a hipoderme. A distância média entre estas duas linhas representa a espessura da derme (CAETANO et. al., 2016).

Assim, para análises de eficácia clínica, este equipamento se tornou um grande aliado para avaliação de resultados antes e após o uso de formulações cosméticas.

3. OBJETIVO

Desenvolver formulações cosméticas contendo oligossacarídeos da alfafa, polissacarídeos da mandioca e filtros solares, bem como a analisar a influência desses componentes no sensorial, textura e eficácia clínica de tais formulações após uma única aplicação (efeitos imediatos) e com o uso prolongado (efeitos em longo prazo).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Matérias primas e solventes

As matérias primas descritas estão de acordo com o INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredient) e quando necessário também está descrito o nome comercial e o fornecedor/ fabricante.

- Aqua, Água destilada e deionizada;
- Aminomethyl Propanol, AMP 95- Mapric;
- BHT – Mapric;
- Bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine, Tinosorb[®] S - Basf;
- Ciclometicone- DC 245[®] - Dow Corning;
- Citric Acid, Ácidocítrico – Mapric;
- Cyclopentasiloxane (and) DimethiconeCrosspolymer, DC 9040[®] - Dow Corning;
- Disodium EDTA - Mapric;
- Ethylhexyl Palmitate. Crodamol OP[®] - Croda;
- Glycerin, Glicerina -Mapric;
- Hydrolyzed Manihotesculenta Tuber Extract, Istensyl[®] - Silab;
- Methylene Bis-BenzotriazolylTetramethylbutylphenol (MBBT), Tinosorb[®] M – Basf;
- Octocrylene, Neo Heliopan 303[®] - Symrise;
- Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, Phenova[®] - Mapric;
- PropyleneGlycol, Propilenoglicol - Mapric;
- Poliacrilamida e C13-14 isoparafina e lauret-7, Sepigel 305[®] - Sepic.
- Polyglyceryl-10 Myristate, Triethylhexanoin, Glycerin, Water, NET FS[®] - Nikko Chemicals;
- Water & Medicago sativa (Alfalfa) Extract, Vitanol[®] - Silab.

4.2 Equipamentos e Acessórios

- Agitador mecânico, Heidolph[®], RZR 2021;
- Balança analítica Ohaus, modelo AS 200;
- Balança eletrônica Marte, modelo AS 2000;
- Centrífuga - Excelsa Baby II, modelo 206-R;
- Chapa de aquecimento;
- Corneometer[®] CM 825 (Courage-Khazaka, Alemanha);
- Cutometer[®] SEM 57 (Courage&Kazaka, Alemanha).
- DermaScan[®] C (Cortex Technology, Dinamarca);
- Embalagens plásticas de PVC opacas, com capacidade para 20 e 30 gramas;
- Estufas termostatizadas com controle de umidade e fotoperíodo Eletrolab, modelo 111FC de 37°C e 45°C;
- Reômetro modelo DV-III (tipo Cone & Placa), marca Brookfield, acoplado ao Software Rheocalc versão V1.01, Brookfield e um spindle CP 52;
- Peagâmetro, Digimed[®], modelo DM 20;
- Sebumeter[®] SM 815 (Courage-Khasaka, Alemanha);
- Termômetro;
- Tewameter[®] TM 210 (Courage-Khasaka, Alemanha);
- Texturômetro TA.XT plus (Stable Micro Systems, Inglaterra);
- Visioscan[®] VC 98 (Courage-Khasaka, Alemanha);
- Visioface[®] (CourageKhazaka, Alemanha);
- Vidrarias em geral;

4.3 Métodos

4.3.1 Desenvolvimento das formulações

A partir de pesquisas em literaturas técnicas, foram desenvolvidas formulações gel creme a partir de: polímero hidrofílico (Poliacrilamida e C13-14 isoparafina e lauret-7, Sepigel 305[®] - Sepic), emoliente (EthylhexylPalmitate, Crodamol OP[®] - Croda), filtros solares (Bis-ethylhexyloxyphenolmethoxyphenyltriazine, Tinosorb[®] S – Basf, Octocrylene, NeoHeliopan 303[®] - Symrise e MethyleneBis-BenzotriazolylTetramethylbutylphenol (MBBT), Tinosorb[®] M– Basf), umectantes (Glycerin, Glicerina – Mapric e PropyleneGlycol, Propilenoglicol – Mapric), silicones (Ciclometicone- DC 245[®] - Dow Corning, Cyclopentasiloxane (and) Dimethicone Crosspolymer, DC 9040[®] - Dow Corning e Polyglyceryl-10 Myristate, Triethylhexanoin, Glycerin, Water, NET FS[®] - Nikko Chemicals), conservante (Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, Phenova[®] - Mapric), antioxidante (BHT – Mapric), quelante (Disodium EDTA – Mapric), ajustadores de pH (Citric Acid, Ácido cítrico – Mapric e Aminomethyl Propanol, AMP 95- Mapric) e água destilada/deionizada e a partir de tais literaturas foram estabelecidas as concentrações de cada matéria prima utilizada.

Foram desenvolvidas 6 formulações (Tabela 2). As formulações F1 (formulação veículo), F2 (F1 acrescida de filtros solares) e F3 (F2 acrescida dos ativos objeto de estudo. Estas formulações foram desenvolvidas para cumprimento das etapas de estabilidade, estudos reológicos, análise de textura, avaliações sensoriais e eficácia clínica.

Além disso, foram desenvolvidas as formulações F1A (F1 acrescida de ativos), F2I (F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F2V (F2 acrescida de oligossacarídeos da alfafa) para o cumprimento dos objetivos estabelecidos nas etapas de eficácia clínica. Tais formulações passaram por testes de centrifugação, análise do pH e características organolépticas, estes foram medidos no tempo inicial e após 7 dias, uma vez que F1A, F2I e F2V são formulações derivadas das 3 primeiras e estas passaram por testes de estabilidade durante 90 dias em que foram consideradas estáveis.

O preparo de tais formulações consistiu em 4 etapas. Na primeira etapa foram pesados em um béquer a fase aquosa (água, glicerina, EDTA).

Na segunda etapa foram pesados os filtros solares químicos (apenas em F2 e F3), emoliente e antioxidante e aquecidos em chapa de aquecimento até atingir a temperatura de

70°C. Após fusão dos filtros, a mistura foi retirada do aquecimento e utilizada apenas quando atingisse a temperatura ambiente.

Na terceira etapa a fase aquosa foi vertida sobre a fase oleosa com agitação constante de 600rpm por 15 minutos em agitador mecânico, Heidolph®, RZR 2021 e no início da agitação foram vertidos os silicones e os ativos (ativos apenas em F3).

Na quarta etapa foi acrescentado o filtro físico, previamente diluído em propilenoglicol, no béquer principal e agitado por mais 5 minutos. Por último foi acrescentado o conservante em agitação constante por mais 5 minutos.

Ao final, as formulações tiveram os pHs medidos para verificar se as mesmas se encontravam em pH próprio para uso tópico e, caso necessário, os pHs foram corrigidos com os corretores de pH.

Tabela 2. Formulações desenvolvidas F1 (veículo), F2 (formulação veículo contendo filtros solares), F3 (formulação constituída de veículo, filtros solares e oligossacarídeos de alfafa e polissacarídeos de mandioca), F1A (F1 acrescida de ativos), F2I (F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca), F2V (F2 acrescida de oligossacarídeos da alfafa), seus respectivos componentes (INCI) e a porcentagem (p/p) utilizada de cada um deles.

Ingredientes (INCI)	F1(%p/p)	F2(%p/p)	F3 (%p/p)	F1A(%p/p)	F2I(%p/p)	F2V(%p/p)
Polyglyceryl-10 Myristate, Triethylhexanoin, Glycerin, Water	1%	1%	1%	1%	1%	1%
Cyclopentasiloxane (and) DimethiconeCrosspolymer	1%	1%	1%	1%	1%	1%
Cyclopentasiloxane	2%	2%	2%	2%	2%	2%
Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben	0,5%	0,5 %	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
Glycerin	6%	6%	6%	6%	6%	6%
PropyleneGlycol	1%	1%	1%	1%	1%	1%
Aqua	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%
Disodium EDTA	0,05%	0,05 %	0,05%	0,05%	0,05%	0,05%
Polyacrylamide (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7	2%	2%	2%	2%	2%	2%
EthylhexylPalmitate	5%	5%	5%	5%	5%	5%
BHT	0,01%	0,01 %	0,01%	0,01%	0,01%	0,01%
Bis-EthylhexyMetoxyphenylTriazine	-	7%	7%	-	7%	7%
Octocrylene	-	3%	3%	-	3%	3%
Methylene Bis-BenzotriazolylTetramethylphenol (and) Aqua (and) Decyl Glucoside (and) Propylene Glycol (and) Xanthan Gum	-	2%	2%	-	2%	2%
Water&Medicago sativa (Alfalfa) Extract	-	-	3%	3%	-	3%
HydrolyzedManihotesculentaTuberExtract	-	-	3%	3%	3%	-

4.3.2 Estudo de Estabilidade

Inicialmente foram realizados estudos preliminares de estabilidade com as 3 primeiras formulações desenvolvidas (F1, F2 e F3), cada uma subdividida em 4 alíquotas de aproximadamente 20 gramas e acondicionadas em embalagens de vidro, sendo uma armazenada em temperatura ambiente ($25\pm 5^{\circ}\text{C}$), e as demais submetidas a estresse térmico nas temperaturas de $4(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ (Geladeira Eletrolux), $37(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ e $45(\pm 1)^{\circ}\text{C}$ (estufas Eletrolab, modelo III FC com controle de umidade (70%) e temperatura). Foram analisados aspectos macroscópicos (avaliação visual da homogeneidade) as características organolépticas, valores de pH e separação de fases da formulação por meio de teste de centrifugação. As características organolépticas foram analisadas 24 horas após a manipulação das formulações, após 28, 60 e 90 dias (BRASIL, 2004). A seguir, foi feito o estudo de estabilidade física por determinação da reologia.

4.3.2.1 Teste de Centrifugação

Após 24 horas da elaboração das formulações, foram utilizados 3 gramas de cada uma das 3 formulações, estas foram centrifugadas à 3000 rpm, por 30 minutos (BRASIL, 2014), em 3 ciclos, utilizando a centrífuga Excelsa Baby II, modelo 206-R, potência 0,0440 kW, Fanem. Após cada ciclo, avaliou-se visualmente qualquer sinal de instabilidade das formulações (MAIA CAMPOS & BADRA, 1992). Ao final de 28, 60 e 90 dias as formulações foram novamente submetidas a centrifugação.

4.3.2.2 Determinação do pH

As medidas de pH foram realizadas 24 horas após preparadas as formulações e também nos tempos: 7, 14, 21, 28, 60 e 90 dias, em pHmêtro Digimed, modelo DM 20.

4.3.2.3 Estudo de estabilidade física por determinação da reologia

O estudo do comportamento reológico das formulações F1, F2 e F3 foi realizado em reômetro DV-III digital, tipo Cone e Placa, Brookfield, usando spindle CP52 por meio de

avaliação dos seguintes parâmetros reológicos: viscosidade, índice de fluxo e tixotropia. As amostras serão mantidas no ambiente e submetidas a estresse térmico, nas temperaturas de 25°C, 4°C, 37°C e 45°C, em estufas termostatzadas com controle de umidade e fotoperíodo, modelo 111FC (marca Eletrolab). Durante o período de 28 dias foram coletadas alíquotas de 0,5g das amostras em intervalos de tempo de 7 em 7 dias e as medidas realizadas em velocidades de rotação progressivamente maiores (de 10 rpm a 250 rpm, progredindo de 20 em 20 rpm) para obter a curva ascendente e no sentido inverso para obter a curva descendente (de 10rpm a 250rpm, decrescendo de 20 em 20 rpm) (GASPAR & MAIA CAMPOS, 2003).

4.3.3 Análise de Textura e Espalhabilidade

No estudo de textura e espalhabilidade foi realizada para a comparação das formulações F1, F2 e F3.

Nessas análises foi utilizado o equipamento Texturômetro TA.XT plus, o qual possui diversas sondas para aplicação na análises de parâmetros físicos (CRUZ, 2014), sendo as sondas utilizadas no referido estudo foram “Back ExtrusionRig” com disco de 35mm e preenchido em 75% de sua capacidade, que permite realizar ensaios para avaliação de consistência de formulações e “TCC Spreadability Rig”, que permite realizar ensaios para avaliação da espalhabilidade de formulações. Os parâmetros utilizados para os ensaios foram fornecidos pelo software do aparelho.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: consistência (força necessária para atingir uma determinada deformação), firmeza, coesividade (razão da área sobre o tempo de força em curva produzida por uma segunda compressão) e índice de viscosidade na análise de textura; “*Work of Shear*” ou trabalho de cisalhamento (Área F-T 1:2) na análise de espalhabilidade, ambas por compressão em ciclo triplo.

5. CASUÍSTICA E MÉTODOS

As seguintes etapas foram previamente aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP. Número do Parecer: 1.042.228 04/2015.

5.1 Aspectos éticos

As voluntárias foram esclarecidas e orientadas sobre os objetivos e métodos da pesquisa e, concordando em participar da pesquisa, assinaram o Termo de consentimento livre e esclarecido, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Resolução 466 de 12/12/2012 do Conselho Nacional de Saúde).

5.2 Avaliação Sensorial

5.2.1 Avaliação Sensorial comparativa das formulações F1, F2 e F3

Esta análise foi feita na região anterior dos antebraços de cada uma das 20 voluntárias recrutadas para este estudo. A referida região foi dividida em 3 quadrantes, em cada quadrante as voluntárias aplicaram uma das formulações (15 rotações sentido horário). Após a aplicação as voluntárias responderam a um questionário de avaliação sensorial contendo os seguintes parâmetros: sensação ao toque, espalhabilidade, suavidade da pele, absorção, e também os parâmetros relacionados à sensação na pele após 5 minutos: umidade/hidratação, oleosidade, brilho, maciez, absorção, resíduo branco. Os parâmetros foram pontuados seguindo os critérios: 1 - Péssimo, 2 - Ruim; 3 - Regular, 4 - Bom, 5- Excelente (ANCONI, 2004).

5.2.2 Avaliação Sensorial Benchmark

Nesta avaliação sensorial foi comparada a formulação em estudo F3, que passa a ter a nomenclatura FC, com uma formulação comercial (FA). Para essa análise foi utilizado o conceito benchmark com o intuito de comparar a formulação de estudo com uma formulação

de mercado escolhida a partir de características clínicas semelhantes esperadas para a formulação desenvolvida, bem como o público alvo que se pretende alcançar.

Foi realizada a aplicação, randomizada de cada formulação em 2 regiões no antebraço de 10 voluntárias. Antes de iniciar o estudo, as voluntárias foram orientadas a espalhar a formulação realizando 10 movimentos circulares no sentido horário. O questionário utilizado foi o “check-all-that-apply” (CATA) com questões voltadas às características sensoriais (PARENTE et al., 2011) relacionadas aos parâmetros imediatos: oleosa/gordurosa, pegajosa, suave, facilmente absorvida e fácil de espalhar; e após 5 minutos da aplicação (efeitos na pele): Resíduo oleoso, pele hidratada, pele macia, resíduo esbranquiçado e intenção de compra. (ANCONI, 2004), para que fossem comparados os resultados entre estas e também estabelecer uma relação do sensorial com os testes de eficácia.

5.2 Avaliação da Eficácia Clínica

5.2.1 População e Amostra/ Seleção dos voluntários

Para a avaliação dos efeitos imediatos e em longo prazo das formulações objeto de estudo, foram selecionadas voluntárias do sexo feminino, com peles de fototipos II a IV de acordo com a escala de Fitzpatrick, com idades entre 20 a 50 anos (Avaliação dos efeitos imediatos 1), 39 a 55 anos (demais avaliações). Na seleção de voluntárias foram considerados os seguintes critérios de exclusão: gravidez ou aleitamento; indivíduos com história anterior de reações adversas com o uso de produtos cosméticos; indivíduos em uso de medicamentos passíveis de produzir resposta cutânea anormal; doenças dermatológicas localizadas ou generalizadas e excesso de pelos nas regiões de estudo.

5.2.2 Avaliação dos efeitos imediatos – 1ª etapa

Esta etapa do estudo consistiu na avaliação dos efeitos imediatos da formulação objeto de estudo (F3) na qual a sua sigla passou a ser FC, comparativamente com uma formulação de mercado (água, octocrileno, glicerina, dodecano, homosalato, salicilato de etilhexilo, butilmetoxidibenzoilmetano, ciclopentasiloxano, polímero reticulado de dimeticona,

copolimerohidroxiethylacrilato/acriloidimetiltaurato de sodio, escualano, polisorbato 60, dicaprilileter, extracto de semilla de castanea sativa, ácidofenilbenzimidazol sulfônico, c12-15 benzoato de alquilo, trigliceridocaprilico/caprico, benzoato de dietilaminohidroxibenzoilhexilo, estearato de glicerilo, peg-100 estearato, proteína glicina de soya, biosacarido goma -2, biosacarido goma.3, goma xantana, hidróxido de sodio, fenoxietanol, polímero reticulado de acrilatos/ c10-30 alquilacrilato, acetato de tocoferilo, fragancia, bht, biosacarido goma 5, edtadissódico, metilisotiazolinona, extracto de semilla de coffea robusta, licopeno) cuja sigla atribuída foi FA. Foram aplicadas as formulações em 10 voluntárias, em 3 regiões previamente divididas aleatoriamente nos antebraços: 1- Formulação contendo filtros e ativos (FC); 2- Formulação comercial (FA); 3- Região controle. As medidas foram feitas antes da utilização das formulações e após 2 horas da aplicação das mesmas. Foram avaliados conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidermica de água e microrrelevo cutâneo. Todas as medidas foram realizadas após 15 minutos de aclimação em temperatura e umidade do ar controlados (20-22°C e 45-55%, respectivamente).

5.2.3 Avaliação dos efeitos imediatos – 2ª etapa

Esta etapa do estudo consistiu na avaliação da influência dos filtros solares na eficácia clínica imediata da formulação objeto de estudo (F3). Foi utilizada a região periorbital do lado direito e esquerdo previamente delimitados. Foram realizadas medidas logo após a aclimação, foram aplicados 20µL das formulações uma com filtro e ativos (F3) e outra sem filtros, mas contendo os ativos (F1A), com auxílio de uma micropipeta específica. A espalhabilidade foi realizada em 10 movimentos circulares no sentido horário. Foram feitas análises clínicas antes da aplicação das formulações e após 30 minutos da aplicação. Foram avaliados conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidermica de água e microrrelevo cutâneo. Todas as medidas foram realizadas após 15 minutos de aclimação em temperatura e umidade do ar controlados (20-22°C e 45-55%, respectivamente).

5.2.4 Avaliação dos efeitos imediatos – 3ª etapa

Esta etapa do estudo consistiu na avaliação da influência dos oligossacarídeos de alfafa na eficácia clínica imediata da formulação multifuncional. Desta forma, utilizadas as partes posteriores dos antebraços das voluntárias que foram subdivididos em duas regiões previamente delimitadas de cada lado. Foram aplicados 20 µL das formulações F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca), F1, F3 e uma região controle. As formulações foram espalhadas com 10 movimentos circulares no sentido horário. Duas medidas foram realizadas, uma logo após a aclimação e outra após 30 min da aplicação das formulações. Foram avaliados conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidermica de água e microrrelevo cutâneo. Todas as medidas foram realizadas após 15 minutos de aclimação em temperatura e umidade do ar controlados (20-22°C e 45-55%, respectivamente).

5.2.5 Avaliação da eficácia clínica em longo prazo

Esta etapa do estudo consistiu na avaliação da eficácia clínica de uma formulação multifuncional (F3) comparada a uma formulação simples (F2) e também a influência dos polissacarídeos de mandioca em longo prazo. Para o último propósito foi desenvolvida uma formulação sem a adição dos polissacarídeos de mandioca de forma a compará-la a formulação que possuía tal ativo.

Assim, foram selecionadas 45 voluntárias seguindo os critérios de inclusão e exclusão. De forma randomizada, foi delimitada uma área na região periorbital das voluntárias e esta região foi analisada antes e após 45 dias de utilização diária (uma vez ao dia) das formulações. As voluntárias foram divididas aleatoriamente em 3 grupos, grupo 1 (F2), grupo 2 (F2+oligossacarídeos de alfafa) e grupo 3 (F3). Foram feitas medidas após 15 minutos de aclimação em temperatura e umidade do ar controlados (20-22°C e 45-55%, respectivamente).

Foram avaliados parâmetros relacionados ao conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidermica de água, conteúdo de sebo na pele, microrrelevo cutâneo, propriedades

viscoelásticas da pele, análise fotográfica de alta resolução da pele, espessura da derme e ecogeneidade.

5.3 Técnicas de Biofísica e Análise de Imagem

5.3.1 Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL)

Para este estudo foi utilizado o equipamento Tewameter[®] TM 210 (Courage-Khazaka, Alemanha), cuja função é medir a evaporação de água da superfície da pele, baseado no princípio de difusão descrito por Adolf Fick em 1885. A sonda permaneceu por 2 minutos sobre a pele, e a média de 12 medidas foi empregado nos cálculos posteriores (DAL'BELO et. al., 2006).

5.3.2 Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo

O conteúdo aquoso do estrato córneo foi determinado pelo equipamento Corneometer[®] CM 825 (Courage-Khazaka, Alemanha) acoplado a um software, que mede o nível de hidratação do estrato córneo. Essa técnica baseia no princípio da medida da capacitância elétrica da água, de acordo com a quantidade desta na pele. Foram realizadas 5 medidas na região de estudo e os resultados são dados em unidades arbitrárias (UA) pelo próprio equipamento em função do conteúdo aquoso do estrato córneo (LEONARDI et. al., 2002).

5.3.3 Determinação do conteúdo de sebo

O conteúdo de sebo foi avaliado na região periorbital das voluntárias utilizando-se o equipamento Sebumeter[®] SM810. Para tal, uma fita especial opaca de 64mm² foi pressionada sobre a pele por 30s com uma ligeira pressão para recolher o sebo. (DOBREV, 2007; CHENG et. al. 2009).

5.3.4 Determinação do microrrelevo cutâneo

Para a determinação do micro-relevo cutâneo foi utilizado o equipamento Visioscan[®] VC 98, que fornece informações quali e quantitativa da superfície da pele nas condições fisiológicas, através de técnicas de profilometria óptica, as quais utilizam um processo de digitalização de imagem obtida por uma câmera de vídeo. Com este método foram avaliados os seguintes parâmetros relacionados à superfície da pele (SELS - Surface Evaluation of Living Skin): rugosidade (Ser) - porção de pontos escuros que representa a rugosidade; Sew - número e largura das rugas, sendo que quanto maior número de rugas maior é este valor; Sesm- refere-se à forma e largura das rugas, sendo que quanto maior o valor dessa variável melhor a textura e maciez da pele; Sesc - suavidade da pele e CR-1 – profundidade máxima da rugosidade da pele (LEVY et al., 2004).

5.3.5 Determinação das propriedades viscoelásticas da pele

Para a avaliação das propriedades viscoelásticas da pele foi utilizado o aparelho Cutometer[®] SEM 575, equipado com uma sonda que possui um orifício com diâmetro, que mede a deformação da pele em resposta à sucção, ou seja, a pressão negativa que é criada pelo dispositivo de leitura provoca sensível penetração da pele no orifício e o nível de penetração obtido é determinado por um sistema de leitura ótica, no qual a intensidade da luminosidade captada é proporcional à penetração da pele no dispositivo.

Este equipamento é acoplado a um software, com 4 módulos de leitura, que contém fórmulas para calcular as variáveis que podem ser estudadas e são apresentadas na tela do computador e gravados juntamente com o gráfico obtido. Cada leitura foi realizada utilizando 5 ciclos de sucção na região a ser estudada (DOBREV, 2000).

5.3.6 Detecção de manchas cutâneas, cálculo de porcentagem de poros.

Para a detecção das manchas visíveis e as visíveis apenas com a luz UV foi utilizado o equipamento Visioface[®] 1000 D (Courage-Khazaka, Alemanha). Este equipamento fornece

imagem da pele iluminada por diodos emissores de luz branca (white LED) e por diodos emissores de luz semelhante ao UV (UV-like LED), respectivamente. Sobre as imagens obtidas, o software calcula a porcentagem de poros, linhas e rugas, e a homogeneidade na textura da pele (LEVY et al., 2004).

5.3.7 Avaliação da espessura e ecogeneidade da derme

A avaliação da espessura da derme foi realizada pelo ultrassom de 20MHz (Dermascan[®] C). A espessura da derme foi determinada por um analisador de imagem. Foi ainda determinada a ecogenicidade, por unidade de área, determinada em pixels, com o auxílio de um software, que está relacionada com retenção de água entre as fibras de colágeno e com o envelhecimento e fotoenvelhecimento (JASAITIENE et al., 2011).

5.4 Análise Estatística

5.4.1 Estudo de estabilidade e Análise de textura e espalhabilidade

Os dados foram testados quanto a sua normalidade através do teste Shapiro-Wilk para cada avaliação realizada utilizando o programa estatístico Origin 8.

Para avaliar a correlação entre todos os parâmetros estudados em cada uma das regiões, foi utilizada correlação de Pearson com auxílio do programa computacional GraphPadPrism 5. O teste realizado para todos os parâmetros foi ANOVA (pós-teste Bonferroni) para a comparação de médias ($p < 0,05$).

5.4.2 Avaliação da Eficácia Clínica

Para todas as avaliações de eficácia clínica foram feitos testes de normalidade através do teste Shapiro-Wilk, utilizando o programa estatístico Origin 8.

Os grupos foram comparados estatisticamente da seguinte forma: todos os grupos no tempo inicial (medidas basais), todos os grupos após 45 dias de tratamento e cada grupo comparado ao seu respectivo resultado basal. Foi utilizada correlação de Pearson com auxílio do programa computacional GraphPadPrism 5.

Para dados em que foi verificada a distribuição normal (eficácia clínica imediata 2 e 3), foi realizada a análise estatística Análise de Variância com Delineamento Inteiramente Casualizado e teste de Tukey para comparação de médias ($p < 0,05$). Para a avaliação da mesma formulação através do tempo, foi realizado teste t de Student ($p < 0,05$).

Para as análises em que foi verificada distribuição não normal (eficácia clínica em longo prazo), foi utilizado teste não paramétrico de Kruskal-Wallis para comparação das formulações no mesmo tempo. Para a avaliação da mesma formulação através do tempo, foi realizado teste t de Student ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

6.1 Desenvolvimento das formulações

A partir dos critérios estabelecidos, foi desenvolvida uma formulação veículo denominada F1. As porcentagens de cada componente foram definidas com prévia consulta aos seus respectivos informes técnicos, onde foram testadas diferentes porcentagens do polímero selecionado para o estudo, de acordo com a faixa indicada de uso de 2 a 5%. De acordo com o teste de centrifugação, todas as concentrações avaliadas possibilitaram a obtenção de formulações estáveis. Desta forma, foi escolhida a formulação à 2% de polímero, em que a formulação era mais fluida e com melhor espalhamento na pele.

Após o desenvolvimento da formulação F1 e a constatação de que todos os critérios definidos no protocolo de estudo foram atendidos, essa formulação foi acrescida de filtros solares, os quais tiveram suas porcentagens calculadas com base em suas literaturas técnicas e também no software Basf Sunscreen Simulator, a fim de estimar o FPS 25 para a formulação. Obteve-se assim, a formulação F2, a qual foi estável e, portanto, a adição de filtros não influenciou nos referidos critérios. Por fim, a formulação F3 foi desenvolvida com o acréscimo dos ingredientes ativos em estudo na F2. A formulação F3 obtida também atendeu aos critérios estabelecidos e permaneceu estável frente ao teste de centrifugação.

Para o cumprimento dos objetivos relacionados à avaliação da eficácia clínica, foram posteriormente desenvolvidas as formulações F1A (veículo acrescido dos ativos), F2I (formulação contendo filtros solares e polissacarídeos de mandioca) e F2V (formulação contendo filtros solares e oligossacarídeos de alfafa). Tais formulações foram submetidas a testes de centrifugação e medidas de pH no tempo inicial e após 7 dias e foram consideradas estáveis.

6.2 Estudo de Estabilidade

As formulações F1, F2 e F3 as formulações foram submetidas a testes preliminares de estabilidade, visto que este é empregado na fase inicial de desenvolvimento do produto de forma a auxiliar na escolha das formulações e garantir a compatibilidade dos ingredientes da formulação (BRASIL, 2004).

Não foram observadas alterações macroscópicas e das características organolépticas das formulações quando comparadas após 28, 60 e 90 dias de armazenamento a temperatura ambiente e nas temperaturas de 4, 37 e 45°C para todas as condições a que foram submetidas. Assim, as mesmas foram consideradas estáveis.

6.2.1 Centrifugação

Não houve separação de fases durante a centrifugação das amostras tanto no tempo zero, quanto após 28 dias em todas as condições de estudo, o que indica a estabilidade destas.

6.2.2 Determinação do pH

Os valores de pH das formulações mantiveram-se dentro da faixa de pH compatível com os ingredientes ativos, bem como com a pele (pH 5,5 a 7) sem oscilações significativas nos tempos 7, 14, 21 e 28, 60 e 90 dias em todas as condições de armazenamento quando comparados com o tempo inicial, demonstrando que todas as formulações tiveram comportamento estável. (Figuras 1, 2 e 3).

Figura 11. Valores de pH analisados nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 da formulação F1.

Figura 12. Valores de pH analisados nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 da formulação F2.

Figura 13. Valores de pH analisados nos tempos 0, 7, 14, 21, 28, 60 e 90 da formulação F3.

6.2.3 Estudo de Estabilidade Física

Com base nos resultados apresentados com relação à viscosidade aparente mínima (Tabela 3 e Figura 14), observou-se que as formulações não oscilaram de forma significativa, demonstrando a estabilidade das mesmas.

Figura 14. Viscosidade aparente mínima de F1, F2, F3, no decorrer do tempo (0, 7, 14, 21 e 28 dias), nas temperaturas 25°C (A), 4°C (B), 37°C (C) e 45°C (D).

Tabela 3. Viscosidade aparente mínima das formulações F1, F2 e F3 armazenadas em diferentes temperaturas durante 28 dias.

Viscosidade aparente mínima										
	25°C					4°C				
Dias	Inicial	7	14	21	28	Inicial	7	14	21	28
F1	973,2	947,6	959,4	929,9	943,7	1061,6	973,2	983	990,9	992,8
F2	1159.940	1287.730	1108.824	1207.124	1163.872	1144.212	1159.940	1177.634	1098.994	1075.402
F3	1321.152	1407.656	1389.962	1372.268	1303.458	1419,452	1289,696	1297,56	1329,016	1329,016
	37°C					45°C				
Dias	Inicial	7	14	21	28	Inicial	7	14	21	28
F1	1014,5	969,2	998,7	985,5	994,5	998,7	1069,6	969,2	975,9	988,9
F2	1110,79	1077,368	1156,008	894,53	1122,586	1120,62	1057,708	1175,668	1118,654	1203,192
F3	1393,894	1327,05	1366,37	1433,214	1500,058	1498,092	1327,05	1250,376	1242,512	1498,092

Com base nos resultados apresentados na Tabela 4 e Figura 15, foi observado que o índice de consistência das formulações não variou significativamente durante o período de estudo, sugerindo desta forma a estabilidade das formulações.

Tabela 4. Índice de consistência das formulações F1, F2 e F3 armazenadas em diferentes temperaturas durante 28 dias.

Índice de consistência										
Dias	25°C					4°C				
	Inicial	7	14	21	28	Inicial	7	14	21	28
F1	16661	15214	15194	15479	14603	18126	15414	16196	16237	16592
F2	24087	21135	24093	23448	23931	21125	22194	22756	21363	20856
F3	25113	26478	27831	28208	26498	27096	23956	25408	26843	27569
Dias	37°C					45°C				
	Inicial	7	14	21	28	Inicial	7	14	21	28
F1	16846	15602	16297	15164	16134	16693	17173	15653	15276	16543
F2	21223	20912	23048	20833	22638	21692	19830	21832	21223	23767
F3	26306	24972	27734	29490	31020	28329	25828	23497	25452	30110

Figura 15. Índice de consistência de F1, F2, F3, no decorrer do tempo (0, 7, 14, 21 e 28 dias), nas temperaturas 25°C (A), 4°C (B), 37°C (C) e 45°C (D).

Durante o período do estudo reológico, os reogramas das formulações F1, F2 e F3 (Figuras 16 a 21), não apresentaram oscilações significativas ao longo do tempo, tais como picos de instabilidade e alterações no comportamento de fluxo, o que indica estabilidade física das formulações.

Figura 16. Formulação F1 nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 25°C (A) e 4°C (B)

Figura 17. Formulação F1 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 dias, armazenadas a 37°C (A) e 45°C (B).

Figura 18. Formulação F2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 25°C (A) e 4°C (B).

Figura 19. Formulação F2 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 37°C (A) e 45°C (B).

Figura 20. Formulação F3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 25°C (A) e 4°C (B).

Figura 21. Formulação F3 estudada nos tempos inicial, 7, 14, 21 e 28 dias, armazenadas a 37°C (A) e 45°C (B).

Com a análise do índice de fluxo no decorrer do tempo, apresentado graficamente na Figura 22, é possível observar que as formulações apresentam comportamento pseudoplástico, com índice de fluxo menor que 1, o que é muito interessante em produtos cosméticos por facilitar sua aplicação e espalhamento e, assim, conferir um sensorial agradável (MAIA CAMPOS et. al., 2012). Além disso, as formulações não mostraram área de histerese considerável, ou seja, não possuem tixotropia, o que é característico da natureza do polímero empregado (LABA, 1993).

Tabela 4. Índice de fluxo das formulações F1, F2 e F3 armazenadas em diferentes temperaturas durante 28 dias.

Índice de fluxo										
	25°C					4°C				
Dias	Inicial	7	14	21	28	Inicial	7	14	21	28
F1	0.32	0.33	0.33	0.32	0.33	0.32	0.33	0.32	0.32	0.32
F2	0.30	0.30	0.29	0.29	0.28	0.30	0.30	0.29	0.29	0.29
F3	0.30	0.30	0.29	0.28	0.28	0.30	0.30	0.29	0.29	0.29
	37°C					45°C				
Dias	Inicial	7	14	21	28	Inicial	7	14	21	28
F1	0.32	0.33	0.32	0.32	0.32	0.32	0.33	0.33	0.32	0.33
F2	0.30	0.29	0.29	0.29	0.28	0.29	0.30	0.30	0.30	0.29
F3	0.30	0.30	0.28	0.28	0.28	0.30	0.29	0.30	0.30	0.28

Figura 22. Índice de fluxo das formulações F1, F2, F3, no decorrer do tempo (0, 7, 14, 21 e 28 dias), nas temperaturas 25°C (A), 4°C (B), 37°C (C) e 45°C (D).

6.3 Análise de Textura e Espalhabilidade

Ao analisar comparativamente as três formulações para todos os parâmetros estudados na análise de textura, os valores obtidos para a formulação F1 – veículo, foram maiores que os valores das formulações F2 que continha filtros solares e formulação F3 (F2 acrescida dos ativos). Além disso, este padrão de resultado também se manteve na análise de espalhabilidade, onde F1 se mostrou com *work of shear* maior que as formulações F2 e F3, significando assim que a espalhabilidade de F1 mostrou-se pior do que as formulações F2 e F3.

Figura 23. Valores de Consistência (A) e Firmeza (B), das 3 formulações em estudo: Veículo (F1), Veículo acrescido de ativos fotoprotetores (F2) e formulação completa contendo os ativos (F3). * Valores estatisticamente diferentes em comparação aos demais grupos ($p < 0,0001$).

Figura 24. Valores de Coesividade (A) e Índice de Viscosidade (B), das 3 formulações em estudo: Veículo (F1), Veículo acrescido de ativos fotoprotetores (F2) e formulação completa contendo os ativos (F3). * Valores estatisticamente diferentes em comparação aos demais grupos (F1 comparado aos demais grupos $p < 0,0001$); (F2 comparado com F3 $p < 0,0003$).

Figura 25. Teste de Espalhabilidade com a avaliação do parâmetro "*Work of Shear*" comparando F1 (formulação veículo), F2 (F1+ filtros solares) e F3 (F2+ substâncias ativas). * Valores estatisticamente diferentes em comparação aos demais grupos ($p < 0,0001$).

6.4 Análise Sensorial

6.4.1 Análise sensorial comparando F1, F2 e F3

Com a análise destes resultados (Figuras 26 a 30) foi possível notar que as formulações no geral tiveram boa percentagem aceitação pelas voluntárias e que a formulação contendo fotoprotetores e ativos (F3) obteve as maiores percentagens de nota máxima na maioria dos parâmetros avaliados, que as demais formulações.

Figura 26. Avaliação das formulações quanto aos quesitos “espalhabilidade” (A) e “sensação ao toque” (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.

Figura 27. Avaliação das formulações quanto aos quesitos “suavidade” (A) e “absorção imediata” (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.

Figura 28. Avaliação das formulações após 5 minutos quanto aos quesitos “hidratação” (A) e “oleosidade” (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.

Figura 29. Avaliação das formulações após 5 minutos quanto aos quesitos “brilho” (A) e “maciez” (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.

Figura 30. Avaliação das formulações após 5 minutos quanto aos quesitos “absorção” (A) e “resíduo branco” (B), através de notas, aonde: 1) péssimo; 2) ruim; 3) regular; 4) bom; 5) excelente.

6.4.2 Análise Sensorial Benchmark

Ao analisar os resultados (Figura 31 e 32), podemos observar que as formulações tiveram características sensoriais semelhantes, podendo destacar os parâmetros “pele macia” e “intenção de compra” que foram mais pronunciados em FC. Isto indica que no geral, as formulações tiveram performances semelhantes, mas que no parâmetro determinante “intenção de compra” a formulação de estudo superou a formulação comercial.

Figura 31. Análise Sensorial comparativa entre FA (formulação comercial) FC (formulação de estudo). Foram avaliados parâmetros imediatamente após a aplicação das formulações como: Oleosa/gordurosa, pegajosa, suave, facilmente absorvida, fácil de espalhar.

Figura 32. Análise Sensorial comparativa entre FA (formulação comercial) FC (formulação de estudo). Foram avaliados parâmetros após 5 minutos da aplicação da formulação como: Resíduo oleoso, pele hidratada, pele macia, resíduo esbranquiçado e intenção de compra.

6.5 Avaliação da Eficácia Clínica

6.5.1 Avaliação dos Efeitos Imediatos – 1ª etapa

6.5.1.1 Perda Transepidermica de água (TEWL)

Com a análise dos resultados foi possível notar que após 2 horas da aplicação das formulações houve tendência a redução do TEWL das mesmas (Figura 33).

Figura 33. Perda transepidermica de água (Tewameter®) antes (T0) e após 2 h (T2) da aplicação das formulações FA (formulação comercial) e FC (formulação de estudo), comparativamente a uma região controle.

6.5.1.2 Conteúdo aquoso do estrato córneo

Com a análise dos resultados, (Figura 34) podemos observar que houve aumento estatisticamente significativo da hidratação com a aplicação de ambas as formulações, FA ($p=0,0005$) e FC ($p=0,0311$). Porém a formulação FA teve elevação significativamente superior da hidratação da pele comparada a formulação FC ($p=0,0232$).

Figura 34. Conteúdo aquoso do estrato córneo antes e 2 horas após aplicação das formulações FA (formulação comercial) e FC (formulação de estudo), comparativamente a uma região controle. * Médias estatisticamente diferentes comparadas a seus respectivos valores basais. FA ($p=0,0005$), FC ($p=0,0311$) e FA_{t45} comparada a FC_{t45} ($p=0,0232$)

6.5.1.3 Determinação do microrrelevo cutâneo

Com a análise dos dados referentes ao parâmetro Ser (Figura 35) que avalia a rugosidade – aspereza da pele observa-se que após duas horas da aplicação das formulações houve tendência a diminuição dos valores da formulação FC diminuiu em relação parâmetro citado.

É importante salientar que os outros parâmetros também foram avaliados, mas os resultados destes não sofreram alterações estatisticamente significativas quando comparados com os valores basais.

Figura 35. Rugosidade da pele a partir do parâmetro Ser (porção de pontos pretos que representam o grau de rugosidade da pele) antes e após 2 horas da aplicação das formulações FA (formulação comercial) e FC (formulação de estudo), comparativamente a uma região controle.

6.5.2 Avaliação de Efeitos Imediatos – 2ª etapa

6.5.2.1 Perda transepidérmica de água (TEWL)

Na avaliação dos efeitos Imediatos (Figura 36), a aplicação da formulação contendo extrato de alfafa (F1A) sem a adição de filtros solares na região periorbital da face reduziu significativamente ($p = 0,0295$) os valores de TEWL após 30 min quando comparada a formulação F3. Porém, a formulação acrescida de filtros solares (F3) não alterou os valores de TEWL após 30 min. Assim, a presença de filtros na formulação influenciou negativamente no efeito imediato da formulação objeto de estudo.

Figura 36. Perda transepidérmica de água (Tewameter®) antes e após a aplicação das formulações: F1A (substâncias ativas) (sem filtros) e F3 (filtros e substâncias ativas). * Média significativamente diferente em relação a formulação F3 T45 ($p=0,0295$).

6.5.2.2 Conteúdo aquoso do estrato córneo

Os resultados obtidos no presente estudo (Figura 37) mostraram que houve aumento estatisticamente significativo ($p=0,0001$) no conteúdo aquoso do estrato córneo após 30 min de aplicação da formulação F1A (veículo acrescido das substâncias ativas). Entretanto, após 30 minutos da aplicação de F3 (formulação contendo filtros e substâncias ativas) houve diminuição do conteúdo aquoso do estrato córneo, o que indica que os filtros solares prejudicaram a hidratação imediata da pele.

Figura 37. Conteúdo aquoso do estrato córneo antes e após 30min da aplicação das formulações F1+A (sem filtro) e F3 (com filtro). Média significativamente diferente em relação aos valores basais (F3 $p=0,0045$, F1A $p = 0,0001$).

6.5.2.3 Microrrelevo cutâneo

Com os resultados da análise do microrrelevo cutâneo foi possível observar que os parâmetros Sesc (suavidade da pele) ($p=0,0089$) (Figura 38) e CR-1 (profundidade máxima da rugosidade da pele) ($p=0,0008$) (Figura 39) tiveram seus valores reduzidos significativamente após 30 minutos da aplicação da formulação F3, enquanto em F1A não houveram alterações significativas. Nos demais parâmetros não foram observadas quaisquer alterações estatisticamente significativas (Figura 40).

Figura 38. Parâmetro Sesc (suavidade da pele) antes e após 30 minutos da aplicação das formulações F1A (sem filtros solares) e F3 (contendo filtros solares). Média significativamente diferente em relação aos valores basais ($p = 0,0089$).

Figura 39. Parâmetro CR-1 (profundidade máxima da rugosidade da pele) antes e após 30 minutos da aplicação das formulações F1A (sem filtros solares) e F3 (contendo filtros solares). Média significativamente diferente em relação aos valores basais ($p = 0,0008$).

Figura 40. Parâmetros Ser (rugosidade da pele) e Sew (número e largura das rugas) antes e após 30 minutos da aplicação das formulações F1A (sem filtros solares) e F3 (contendo filtros solares).

6.5.3 Avaliação dos Efeitos Imediatos – 3ª etapa

6.5.3.1 Perda transepidermica de água

Ao analisar os resultados antes e após a aplicação das formulações (Figura 41), pôde-se observar que houve diminuição da perda transepidermica de água após 30 minutos de utilização das formulações F2I ($p=0,0207$) e F3 ($p=0,0186$).

Figura 41. Perda transepidermica de água (Tewameter®) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. Significativo em relação as mesmas formulações no tempo inicial e em relação ao controle. F2I ($p=0.0207$) e F3 ($p=0,0186$).

6.5.3.2 Conteúdo aquoso do estrato córneo

Observando os resultados apresentados (Figura 42) pôde-se observar um aumento significativo da hidratação da pele após 30 minutos da aplicação das formulações F2I (contendo filtros solares e polissacarídeos de mandioca) ($p=0,0006$) e F3 (contendo fotoprotetores e os ativos objeto de estudo) ($p=0,0394$). Entretanto tais resultados não foram observados após a aplicação da formulação F1 (formulação veículo).

Figura 42. Conteúdo aquoso do estrato córneo antes e após 30min da aplicação das formulações C (controle), F1(sem filtro), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (com filtro, comparativamente a uma região controle.* Significativo em relação as mesmas formulações no tempo inicial e em relação ao controle. F2I ($p=0.0006$) e F3 ($p=0,0394$).

6.5.3.3 Microrrelevo cutâneo

Com base nos resultados analisados, podemos observar que, primeiramente, a rugosidade (Ser) da pele diminuiu ($p=0,0013$) e também a profundidade máxima da rugosidade da pele (CR-1) ($p=0,0040$) após 30 minutos da aplicação da formulação F2I (contendo filtros solares e polissacarídeos da mandioca) (Figura 43).

Além disso, CR-1 (profundidade máxima da rugosidade da pele) ($p=0,0011$) (Figura 44) e Sesc (descamação da pele) ($p=0,0007$) (Figura 45) tiveram redução de seus valores após a aplicação de F3 (contendo filtros e ativos). Por fim, o parâmetro Sesm (maciez da pele) diminuiu significativamente ($p=0,0138$) após 30 minutos da aplicação da formulação F3 (contendo filtros e ativos) (Figura 46).

Com relação ao parâmetro Sew (número e largura de rugas), não houve alterações estatisticamente significativas após a aplicação das formulações (Figura 47).

Figura 43. Parâmetro Ser (rugosidade da pele) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2+I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. * Média estatisticamente diferente em relação aos respectivos valores basais da região controle após 30 min da aplicação ($p=0,0013$).

Figura 44. Parâmetro CR-1 (profundidade máxima da rugosidade da pele) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2+I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. * Média estatisticamente diferente em relação aos respectivos valores basais após 30 min da aplicação (F2I $p=0,0040$ e F3 $p=0,0011$).

Figura 45. Parâmetro Sesc (descamação da pele) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. * Média estatisticamente diferente em relação aos respectivos valores basais ($p=0,0007$) e em relação às demais formulações e controle ($p=0,0499$) após 30 min da aplicação ($p=0,0007$).

Figura 46. Parâmetro Sesm (maciez da pele) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2+I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle. * Média estatisticamente diferente em relação aos respectivos valores basais após 30 min da aplicação ($p=0,0138$).

Figura 47. Parâmetro Sew (número e largura das rugas) antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2+I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle.

6.5.4 Avaliação da Eficácia Clínica em Longo Prazo

6.5.4.1 Perda transepidérmica de água (TEWL)

Com a análise dos referidos resultados (Figura 48), pudemos observar que não houveram alterações estatisticamente significativas nos valores de TEWL após 45 dias de utilização das formulações objeto de estudo.

Figura 48. Perda transepidérmica de água antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

6.5.4.2 Conteúdo aquoso do estrato córneo

Com base na análise dos resultados (Figura 49) pôde-se observar que, após 45 dias, apenas o uso da formulação F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) aumentou significativamente ($p=0,0350$) os valores de hidratação da pele. Contudo, com o uso das demais formulações não foi observado aumento estatisticamente significativo.

Figura 49. Conteúdo aquoso do estrato córneo antes e após 45 dias da utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). * Média estatisticamente diferente em relação aos respectivos valores basais ($p = 0,0350$).

6.5.4.3 Determinação do conteúdo lipídico

Os resultados obtidos demonstraram que não houveram alterações significativas nos valores de conteúdo de sebo na pele durante 45 dias de utilização das formulações de estudo (Figura 50).

Figura 50. Conteúdo de sebo na pele antes e após 45 dias da utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

6.5.4.4 Microrrelevo cutâneo

Com a análise dos resultados foi possível observar que após 45 dias do uso da formulação F2V houve melhora ($p=0,0355$) no parâmetro relacionado a número e largura das rugas da pele (Sew) (Figura 52). No entanto, após a utilização da formulação F2, houve piora ($p=0,0191$) no parâmetro relacionado a rugosidade da pele (Ser) (Figura 51).

Figura 51. Rugosidade da pele (Ser) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). * Média estatisticamente diferente em relação aos respectivos valores basais ($p=0,0355$).

Figura 52. Número e largura das rugas (Sew) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). * Média estatisticamente diferente em relação aos respectivos valores basais ($p=0,0191$).

Figura 53. Descamação da pele (Sesc) (A), profundidade máxima da rugosidade da pele (CR-1) (B) e maciez da pele (Sesm) (C) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

6.5.4.5 Viscoelasticidade da pele

Com base na análise dos dados dos diferentes parâmetros pôde-se observar que após 45 dias da utilização da formulação F3 (contendo filtros solares e os ativos) houve aumento ($p=0,0368$) da elasticidade bruta da pele (R2) (Figura 54). Os demais parâmetros não tiveram alterações significativas (Figura 55).

Figura 54. Elasticidade bruta da pele (R2- Ua: retração total/Uf: distensão final) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). * Média estatisticamente diferente em relação aos respectivos valores basais ($p=0,0386$).

Figura 55. Elasticidade líquida (R5- Uv: distensão retardada/Ue: distensão imediata) (A) e elasticidade biológica (R7- Ur: retração imediata/Uf: distensão final) da pele (B) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

6.5.4.6 Detecção de manchas cutâneas, cálculo de porcentagem de poros

Ao analisar os dados relacionados a manchas na pele (ΔE : diferença total de cor e ΔL : diferença de cor em mais claro e mais escuro) pôde-se observar que não houveram alterações significativas para estes parâmetros (Figura 57). Além disso, não houveram alterações significativas na contagem de poros finos, largos e também no cálculo da área de ambos (Figuras 58 e 59).

Figura 56. Imagens da pele das voluntárias demonstrando a análise de manchas na pele e contagem de poros respectivamente.

Figura 57. ΔE : diferença total de cor (A) e ΔL : diferença de cor em mais claro e mais escuro (B) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

Figura 58. Número de poros finos (A) e poros largos (B) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

Figura 59. Área de poros finos (A) e poros largos (B) antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

6.5.4.7 Avaliação da espessura e ecogeneidade da derme

De acordo com os resultados obtidos, pôde-se observar que após 45 dias de utilização da formulação F2 (contendo filtros solares) houve um aumento da ecogeneidade da pele ($p=0,0456$), demonstrando assim uma melhora neste parâmetro. Além disso, foi observada tendência ao aumento da ecogeneidade das formulações F2V e F3 (Figura 61). Não foram observadas alterações relacionadas a espessura da derme após a aplicação das formulações objeto de estudo (Figura 62).

Figura 60. Imagens do ultrassom Derascan® para a avaliação da espessura e ecogeneidade de voluntárias antes e após 45 dias da utilização das formulações F2 (A e B), F2V (C e D) e F3 (E e F). Área de pixels de baixa ecogeneidade corresponde ao intervalo de 0-30, a área de pixels de média ecogeneidade corresponde a 50-150, e os pixels de alta ecogeneidade no intervalo de 200-255

Figura 61. Relação de ecogenicidade (número de pixels hiperecóicos / número total de pixels) das regiões de face dos grupos antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos). * Média estatisticamente diferente em relação aos respectivos valores basais ($p=0,0456$).

Figura 62. Espessura da derme antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

7. DISCUSSÃO

No âmbito da pesquisa e desenvolvimento de formulações cosméticas, a escolha criteriosa das matérias-primas mostra-se uma etapa muito importante para que, além da estabilidade, segurança e eficácia, as formulações também apresentem sensorial agradável, considerando sua influência na aceitação do produto e adesão ao uso do mesmo (WORTTEL; WIECHERS, 2000). Além disso, a comprovação da eficácia destes produtos é de suma importância para o mercado consumidor, que deseja ver concretizado o apelo de venda que o impulsiona para o ato da compra (GOLÇALVES & MAIA CAMPOS, 2009).

Assim, o presente estudo consistiu no desenvolvimento de formulações cosméticas contendo ou não oligossacarídeos da alfafa, polissacarídeos da mandioca e filtros solares, bem como a análise sensorial, de textura e eficácia clínica das mesmas após uma única aplicação (efeitos imediatos) e com o uso prolongado (efeitos em longo prazo).

Na etapa de desenvolvimento das formulações foram estabelecidos critérios prévios para a seleção das matérias primas e a escolha das concentrações ideais de cada uma delas visando a obtenção de formulações gel creme com o sensorial adequado e estáveis. Tais critérios compreenderam: formulação deveria ser uma emulsão O/A; a formulação deveria permanecer estável frente à adição de filtros solares e ingredientes ativos; a formulação deveria ter um sensorial agradável e ter a sensação de rápida absorção na pele; por ser uma formulação destinada para uso facial, não deveria deixar resíduo oleoso e esbranquiçado na pele.

Assim, a etapa inicial de desenvolvimento resultou em uma formulação gel creme estável nos testes preliminares que foi denominada F1 - Veículo. As porcentagens de cada componente foram definidas com prévia consulta aos seus respectivos informes técnicos, onde foram testadas diferentes porcentagens do polímero selecionado para o estudo, de acordo com a faixa indicada de uso de 2 a 5%. De acordo com o teste preliminar de estabilidade por centrifugação, todas as concentrações avaliadas possibilitaram a obtenção de formulações estáveis. Entretanto, foi escolhida a formulação que continha 2% de polímero a qual, por ser mais fluida e com melhor espalhamento na pele, foi a mais adequada às finalidades propostas.

A seguir, a partir da formulação F1, foi obtida a formulação F2 qual continha a mesma composição da formulação 1, porém acrescida de filtros solares. As porcentagens de filtros solares foram calculadas com base em suas literaturas técnicas e também no software sunscreen Simulator (OSTERWALDER & HERZOG, 2009), afim de estimar o FPS 25 para a formulação. A referida formulação também foi estável no teste de centrifugação. Além disso,

a adição de filtros não influenciou nas características sensoriais desejadas. Por fim, a formulação F3 foi desenvolvida com base na formulação F2 com o acréscimo dos ativos (oligossacarídeos da alfafa e polissacarídeos da mandioca). A formulação F3 obtida também atendeu aos critérios estabelecidos e permaneceu estável frente ao teste de centrifugação.

O estudo de estabilidade é empregado na fase inicial de desenvolvimento do produto de forma a auxiliar na escolha das formulações e garantir a compatibilidade dos ingredientes da formulação (BRASIL, 2004). Assim, foi realizado o estudo de estabilidade com diferentes equipamentos no intuito de obter uma ampla visão acerca da estabilidade das formulações objeto de estudo que foram anteriormente desenvolvidas (F1, F2 e F3).

De acordo com os resultados, as formulações objeto de estudo mantiveram-se dentro de uma faixa de pH 4,5-6,5, considerada compatível para a pele (LEONARDI; GASPAR; CAMPOS, 2002) sendo que o veículo F1 e a formulação F3 (veículo acrescido de filtros solares e ativos) obtiveram pH em torno de 5,5 e a formulação F2 (veículo mais filtros solares), pH 6,5.

Além disso, o estudo de estabilidade mostrou que as formulações permaneceram estáveis nos testes de centrifugação e análise das características organolépticas durante todo o período de estudo nas diferentes temperaturas a que foram submetidas.

Ademais, o estudo reológico de formulações cosméticas tem mostrado grande aplicação na avaliação da estabilidade (MAIA CAMPOS et. al., 2012), pois é possível analisar por meio de gráficos se as formulações mantiveram suas propriedades físicas ao longo de determinado período de tempo e em diferentes condições de temperatura. Com base nos resultados apresentados pôde-se notar que as formulações não apresentaram alterações significativas quanto a suas propriedades físicas ao longo dos 28 dias de estudo.

Dentre as variáveis reológicas, a viscosidade aparente mínima é considerada a medida da resistência de um material ao fluxo, sendo que, quanto maior a viscosidade maior é a resistência e, conseqüentemente, valores menores podem apresentar maiores instabilidades físicas (MAIA CAMPOS, GIANETI, 2012). Neste caso, o veículo (F1) apresentou valores menores de viscosidade aparente mínima, entretanto os valores permaneceram estáveis durante todo o estudo, demonstrando assim a estabilidade desta formulação (Tabela 4 e Figura 14). As demais formulações tiveram valores de viscosidade aparente mínima maiores e também permaneceram estáveis durante o estudo em todas as temperaturas a que foram submetidas.

Com base nos reogramas apresentados (Figuras 16 a 21), foi possível observar que os mesmos não tiveram oscilações significativas ao ponto de indicar alguma instabilidade física das formulações durante todo o estudo nas diferentes temperaturas analisadas.

Com a análise do índice de fluxo no decorrer do tempo, apresentado graficamente (Figura 22), é possível observar que as formulações apresentam comportamento pseudoplástico, com índice de fluxo menor que 1, o que é muito interessante em produtos cosméticos por facilitar sua aplicação e espalhamento e, assim, conferir um sensorial agradável (MAIA CAMPOS et. al., 2012).

As formulações não mostraram área de histerese considerável, ou seja, não possuem tixotropia, o que é característico da natureza do polímero empregado (LABA, 1993). Apesar de formulações tixotrópicas serem consideradas adequadas em determinados produtos cosméticos para aumentar a estabilidade ou facilitar aplicação do produto, neste caso, a ausência de tixotropia não comprometeu a performance das formulações objeto de estudo, uma vez que as formulações apresentaram baixo índice de fluxo (comportamento pseudoplástico), o que favorece a aplicação de tais formulações e, além disso, mostraram-se estáveis durante o estudo.

Além disso, estudos anteriores do nosso grupo de pesquisas, mostraram que formulações com baixa tixotropia apresentam FPS mais altos. Isto se deve ao fato de que, nesse caso, há recuperação suficiente da estrutura para a formação de uma película distribuída uniformemente na pele, inclusive no preenchimento da rugosidade da mesma (GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003). Assim, este comportamento favorece a performance dos filtros solares, além do filme formado pelos polissacarídeos de mandioca.

No desenvolvimento de formulações cosméticas, além do estudo reológico, a análise de textura pode ser considerada uma ferramenta valiosa para a obtenção de formulações de alta performance principalmente em relação ao sensorial (SAMSON, et. al., 2016)

Assim, com relação às análises de textura e espalhabilidade, o equipamento texturômetro se mostrou uma ferramenta útil para a análise das formulações em estudo, pois possibilita que o formulador entenda qual a contribuição de determinados componentes da formulação nas propriedades físicas da mesma. Além disso, é possível na fase de desenvolvimento comparar diferentes formulações quanto a suas propriedades físicas para a escolha da formulação com menores valores tanto de consistência, quanto de *work of shear*

(trabalho de cisalhamento) (BAYARRI et. al., 2012), o que é desejável para formulações cosméticas com sensorial agradável.

No presente estudo, comparando as três formulações F1, F2 e F3, para todos os parâmetros estudados, os valores obtidos para a formulação F1 – veículo, foram maiores que os valores das formulações F2 que continha filtros solares e formulação F3 (F2 acrescida dos ativos). Uma vez que, o polímero formador de gel utilizado nas formulações forma redes poliméricas com a água, o que promove o espessamento da formulação (LABA, 1993), o resultado obtido sugere que, como as demais formulações tiveram menos quantidade de água com acréscimo dos fotoprotetores oleosos, o espessamento dessas formulações (F2 e F3) foi menor em comparação com o veículo (F1).

Além das análises de textura e espalhabilidade, a avaliação sensorial tem fundamental importância na pesquisa e desenvolvimento de cosméticos, uma vez que a aceitação do mercado consumidor frente às características sensoriais pode influenciar de maneira importante na escolha do produto.

Assim, a primeira análise sensorial teve como objetivo a caracterização das formulações bem como a avaliação da aceitação do consumidor, que pode ser mensurada a partir da nota que foi atribuída a cada característica avaliada (SANTOS et al., 2015; CIVILLE & DUS, 2005). Os resultados dessa análise mostraram que as formulações tiveram boa porcentagem de aceitação pelas voluntárias e que a formulação contendo fotoprotetores e ativos (F3) obteve as maiores porcentagens de nota máxima na maioria dos parâmetros avaliados em comparação com as demais formulações. Esse resultado sugere que a presença dos ingredientes ativos objeto de estudo na formulação contendo filtros solares melhorou o sensorial em função, por exemplo, das propriedades filmógenas do extrato de mandioca (PAUFIQUE, 2013).

Cumprir destacar, que o referido resultado obtido na análise sensorial foi coerente com o resultado das análises de textura e espalhabilidade, uma vez que, formulações mais fluidas tendem a apresentar melhores propriedades de textura, sensação ao toque e com melhor espalhabilidade (PARENTE; GÁMBARO; ARES, 2008), mostrando a importância da correlação das análises efetuadas.

A segunda análise sensorial teve por objetivo comparar a formulação multifuncional desenvolvida a uma formulação multifuncional de mercado escolhida a partir dos efeitos clínicos esperados para a formulação desenvolvida, bem como o público alvo que se

pretendeu alcançar. Desta forma foi possível analisar se a formulação desenvolvida possuía características desejáveis semelhantes ou superiores à de uma formulação cosmética já estabelecida do mercado cosmético nacional.

Ao analisar os resultados (Figura 31 e 32), podemos observar que as formulações tiveram características sensoriais semelhantes, podendo destacar os parâmetros “pele macia” e “intenção de compra” que foram mais pronunciados em F3. Isto indica que no geral, as formulações tiveram performances semelhantes, mas que no parâmetro determinante “intenção de compra” a formulação de estudo superou a formulação comercial. Relacionando o presente resultado aos resultados de espalhabilidade e textura podemos notar que com os valores obtidos foi possível desenvolver uma formulação bem aceita pelas voluntárias, tanto no que diz respeito ao parâmetro “fácil de espalhar” quanto aos outros parâmetros. Isto porque na análise de espalhabilidade a formulação F3 apresentou *work of shear* menor do que a formulação que não continha filtros solares e ativos, o que indica que estes componentes tiveram importante contribuição para melhorar as características sensoriais da formulação.

Além da comprovação da estabilidade física e características sensoriais desejáveis, a comprovação da eficácia clínica tem grande importância para que o produto final atenda as expectativas relacionadas a melhoras visíveis das condições gerais da pele e melhora de danos causados pelo envelhecimento da mesma (GONÇAVES & MAIA CAMPOS, 2009).

Desta forma, após a análise sensorial benchmark, foi realizada uma avaliação clínica comparando a formulação de estudo e a formulação comercial quanto à eficácia clínica imediata. Foram assim determinados a perda transepidérmica de água (TEWL), o conteúdo aquoso do estrato córneo e o microrrevelo cutâneo, características estas que estão intimamente relacionadas a hidratação cutânea.

A análise do TEWL na avaliação de eficácia clínica tem um papel fundamental pois a hidratação da pele está diretamente relacionada integridade da barreira da pele e consequentemente com a baixa perda transepidérmica de água, deste modo, com o equipamento Tewameter[®] é possível avaliar, por exemplo, se determinadas formulações cosméticas contribuem para a diminuição do TEWL (LODÉN & PHARM, 2012).

Com a análise dos resultados foi possível notar que após 2 horas da aplicação das formulações houve tendência a redução da TEWL, sendo esta mais pronunciada após a aplicação da formulação FA (Figura 33). A diminuição do TEWL ter sido mais pronunciada após a aplicação da formulação FA é devido ao fato de em sua composição existirem diversos

componentes como silicones, polissacarídeos e emolientes que auxiliam na formação de um filme hidrofóbico na superfície da pele, impedindo a TEWL (DOBREV, 2007). A formulação FC contém ingredientes com as mesmas características, contudo, a formulação FA tem em sua composição um maior número de ingredientes que poderiam impactar na formação de filme oclusivo na pele, o que leva a redução imediata da TEWL.

Para analisar a capacidade que uma formulação cosmética tem para hidratar a pele, a avaliação do conteúdo aquoso do estrato córneo é indispensável. Assim, nesse trabalho utilizamos o equipamento Corneometer® que emprega o método da capacitância para analisar se a formulação objeto de estudo seria capaz de aumentar significativamente a hidratação da pele após 2 horas de sua aplicação, bem como comparar com os resultados da formulação comercial e aos valores basais (MAIA CAMPOS et. al., 2012)

Dessa forma, com a análise dos resultados, (Figura 34) podemos observar que houve aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) da hidratação com a aplicação de ambas as formulações, resultado este que também foi percebido pelas voluntárias ao analisar o parâmetro “pele hidratada” da avaliação sensorial, aonde o mesmo número de voluntárias caracterizou as formulações quanto a este parâmetro.

A determinação do microrrelevo cutâneo tem grande importância na avaliação da eficácia clínica de cosméticos, pois permite através da avaliação de imagens obter uma medida indireta quanto a hidratação da pele, uma vez que com o intumescimento das células, a superfície da pele fica mais uniforme e com menos rugosidades. Além disso, a eficácia dos ativos formadores de filme de ambas as formulações pôde ser testada e comparada com relação a formação de filme na pele diminuindo, deste modo, a rugosidade da mesma (FERREIRA et. al., 2010).

Assim, com a análise dos dados referentes ao parâmetro Ser (Figura 35), que avalia a rugosidade – aspereza da pele observou-se que após duas horas da aplicação das formulações, a formulação FC diminuiu o parâmetro citado, indicando assim que os polissacarídeos da mandioca foram eficazes na formação de um filme tensor na pele, o qual contribuiu para a redução da rugosidade da pele, diminuindo as imperfeições, suavizando as rugas e produzindo um efeito lifting imediato. Esse resultado corrobora com o da análise do conteúdo aquoso do estrato córneo que teve seu valor aumentado após a aplicação desta formulação, bem como com a análise sensorial, onde foi visto que as voluntárias sentiram o aumento da maciez da pele após 5 minutos da aplicação da formulação FC. Assim, a melhora do microrrelevo da

pele por consequência da diminuição da rugosidade e pela formação de filme foi mais pronunciada para a formulação FC quando comparado com a formulação FA, principalmente na percepção de eficácia pelas voluntárias.

É importante salientar que os outros parâmetros também foram avaliados, mas os resultados destes não sofreram alterações estatisticamente significativas quando comparados com os valores basais.

O efeito tensor imediato atribuído aos polissacarídeos da mandioca corrobora com os resultados observados por MANCO et. al. (2013), onde o efeito tensor imediato deste extrato incorporado a uma formulação gel foi atestado utilizando o mesmo equipamento.

Obtendo a eficácia clínica imediata comprovada da formulação multifuncional em estudo (F3) e que esta foi semelhante e, em alguns casos maior, que a eficácia clínica de uma formulação comercial, foram realizadas outras 2 avaliações de eficácia clínica imediata no sentido de compreender a influência de alguns componentes nos efeitos imediatos da formulação.

Desta forma, a 2ª avaliação dos efeitos imediatos teve por objetivo avaliar a influência dos filtros solares em parâmetros relacionados à hidratação da pele (perda transepidérmica de água, conteúdo aquoso do estrato córneo e microrrelevo da pele) cuja importância destes parâmetros foi mencionada anteriormente. Assim, para esta avaliação foi desenvolvida a formulação F1A (formulação veículo contendo os ativos objeto de estudo sem o acréscimo de filtros solares) que foi comparada a formulação F3 (formulação multifuncional contendo filtros solares e os ativos objeto de estudo).

Com os resultados obtidos foi possível observar que a formulação sem a adição de filtros solares (F1A) diminuiu significativamente a perda transepidérmica de água (Figura 36) além de aumentar significativamente o conteúdo aquoso do estrato córneo (Figura 37). Porém o mesmo não foi observado com a aplicação da formulação F3. Assim, os resultados sugerem que a presença de filtros na formulação influenciou negativamente no efeito imediato da formulação objeto de estudo com relação as medidas relacionadas à hidratação.

Por outro lado, em relação aos parâmetros do microrrelevo cutâneo houve melhora significativa na suavidade da pele (Sesc) e profundidade máxima da rugosidade da pele (CR-1) após 30 minutos da aplicação da formulação F3. Deste modo, por um lado, os filtros

solares atuaram negativamente em parâmetros ligados diretamente a hidratação e por outro lado, auxiliaram na melhora dos parâmetros relacionados a textura da pele.

Estes resultados podem ser explicados pelo fato de que os filtros solares são partículas de alto peso molecular e que não devem ultrapassar a superfície da epiderme tanto para a segurança, evitando assim possíveis efeitos tóxicos, quanto para a eficácia da ação destas substâncias na proteção contra os raios UV (DURAND et. al., 2009). Assim, principalmente filtros físicos inorgânicos como o utilizado na formulação de estudo (MethyleneBis-BenzotriazolylTetramethylphenol (and) Aqua (and) DecylGlucoside (and) PropyleneGlycol (and) XanthanGum) se depositam na superfície da pele e nas camadas mais superficiais do estrato córneo (ADLHART; BASCHONG, 2011), preenchendo as rugosidades e trazendo maior uniformidade ao microrrelevo da pele.

A seguir, a 3ª e última avaliação dos efeitos imediatos consistiu na análise da influência dos oligossacarídeos de alfafa na eficácia clínica imediata da formulação multifuncional, além de analisar a eficácia clínica imediata da formulação multifuncional (F3) comparada a formulação veículo (F1). Para tanto, foi desenvolvida mais uma formulação semelhante a formulação F2, porém com o acréscimo dos oligossacarídeos da alfafa (F2I), com o intuito de analisar sua influência positiva, negativa ou nula na eficácia da formulação.

Tendo em vista os resultados obtidos, foi possível notar que as formulações F2I e F3 obtiveram melhores resultados nos parâmetros diretamente relacionados à hidratação (conteúdo aquoso do estrato córneo, perda transepidérmica de água e microrrelevo) e a formulação F1 melhorou apenas o conteúdo aquoso do estrato córneo (Figura 41).

Assim, a formulação F3 (contendo filtros solares e os ativos) e a formulação F2I promoveram melhora na pele em grande parte dos parâmetros avaliados. Os resultados observados podem ser atribuídos aos efeitos tensores imediatos dos polissacarídeos da mandioca. Esses resultados corroboram com resultados anteriormente obtidos por nosso grupo de pesquisa na avaliação de agentes tensores (MANCO, et. al., 2013).

Ademais, os resultados apresentados mostraram que a presença dos oligossacarídeos de alfafa não influenciou na melhora imediata das condições gerais da pele. Resultado este que foi coerente com os dados da literatura, uma vez que os mecanismos de ação oligossacarídeos da alfafa se dão em longo prazo (RODRIGUES, et. al., 2015).

Outro aspecto que deve ser abordado é a eficácia do produto multifuncional (F3) comparado ao seu veículo (F1). De acordo com os resultados apresentados, a formulação veículo promoveu apenas a melhora do conteúdo aquoso do estrato córneo, em contraste com a formulação multifuncional que promoveu melhora em diversos parâmetros. Desta forma, o acréscimo dos ingredientes ativos à formulação contribuiu de forma mais ampla para a melhora imediata das características gerais da pele, em comparação ao veículo. Tal resultado foi coerente com os resultados obtidos nas avaliações de textura, espalhabilidade e sensorial, em que a formulação F3 obteve uma textura e espalhabilidade melhor do que a formulação F1 e obteve também melhores notas nos parâmetros sensoriais.

É importante esclarecer que os resultados da segunda avaliação dos efeitos imediatos não podem ser comparados aos resultados da terceira avaliação de efeitos imediatos uma vez que os locais de aplicação das formulações de estudo foram diferentes (Estudo Imediato 2: regiões periorbitais e Estudo Imediato 3: região interna dos antebraços). Assim, os resultados diferiram utilizando a mesma formulação (F3), pois, cada região da pele pode apresentar um resultado diferente dependendo da estrutura celular e equilíbrio hidro/lipídico da mesma (MACHADO et. al., 2010).

Para finalizar o estudo clínico de eficácia, além da avaliação dos efeitos imediatos acima descritos é de fundamental importância a pesquisa clínica de eficácia de cosméticos com o uso do produto em longo prazo, ou seja, a avaliação dos efeitos das formulações nas reais condições de uso. Com esta pesquisa é possível analisar efeitos dos ativos que atuam em longo prazo, além de avaliar os benefícios da utilização de formulações cosméticas durante um determinado período de tempo (GIANETI; MAIA CAMPOS, 2014). Além disso, com a grande complexidade de formulações multifuncionais, sendo esta atribuída a elevada quantidade de ingredientes que a mesma possui em sua composição, é de grande importância o conhecimento do efeito dos ingredientes ativos contidos na mesma ao agirem conjuntamente neste sistema, além do impacto que eles podem ter na eficácia clínica de tais formulações. Assim a avaliação da eficácia clínica de cosméticos multifuncionais é imprescindível.

Para tanto, a avaliação da eficácia clínica em longo prazo teve por objetivo avaliar a influência dos polissacarídeos de mandioca contidos na formulação multifuncional (F3) nos efeitos em longo prazo e também analisar a eficácia clínica desta formulação na melhora das características da pele envelhecida comparada a uma formulação contendo apenas filtros solares, porém sem o acréscimo de ativos dermocosméticos (F2). Nesta etapa, para cumprir o

objetivo inicialmente proposto foi necessário a elaboração de mais uma formulação, a formulação F2V, que é a F2 com o acréscimo de oligossacarídeos da alfafa.

De acordo com os resultados obtidos pôde-se observar que as formulações F2V e F3 apresentaram melhores resultados na maioria dos parâmetros avaliados. A utilização da formulação F2V promoveu melhora significativa da hidratação, redução da largura e profundidade das rugas e tendência ao aumento da viscoelasticidade de acordo com o parâmetro R2 (elasticidade bruta) e da elasticidade da pele pelos resultados dos parâmetros R5 (elasticidade líquida da pele) e R7 (elasticidade biológica da pele). É importante salientar que, em função da variação interindividual, em alguns resultados a melhora observada nos parâmetros avaliados não foi estatisticamente significativa.

A formulação F3 atuou significativamente na melhora da viscoelasticidade da pele observada pelo resultado obtido no parâmetro R2 (elasticidade bruta). Mostrou ainda, tendência na melhora da elasticidade da pele pelos parâmetros R5 (elasticidade líquida da pele) e R7 (elasticidade biológica da pele).

Os resultados obtidos antes e após 45 dias de uso da formulação F2 (contendo filtros solares e sem ativos) mostraram aumento no parâmetro Ser (rugosidade da pele) e aumento da ecogeneidade da derme. O aumento da rugosidade pode ser explicado pela ausência das substâncias ativas objeto de estudo, os quais têm propriedades filmógenas e hidratantes (PAUFIQUE, 2013; RODRIGUES, et. al., 2015).

Os resultados obtidos para a formulação F2V, contendo oligossacarídeos de alfafa, mostrou aumento dos parâmetros relacionados à hidratação e propriedades mecânicas da pele e após a aplicação da formulação F3, contendo a associação dos oligossacarídeos da alfafa e polissacarídeos da mandioca, houve aumento significativo dos parâmetros relacionados a viscoelasticidade da pele, mostrando a importância da associação dos ativos objeto de estudo.

Uma das possíveis explicações para este resultado é o fato de que os polissacarídeos de mandioca possuem alto peso molecular, atuando assim na proteção da superfície da pele. Por outro lado, os oligossacarídeos de alfafa com baixo peso molecular têm maior capacidade de penetrar na pele, podendo atuar de forma a aumentar o colágeno na pele e reduzir a ação das metaloproteinases na pele (PAUFIQUE, 2013; RODRIGUES, et. al., 2015).

Por fim, a aplicação das formulações estudadas não alterou significativamente a ecogenicidade e espessura da derme, provavelmente em função do tempo de uso dos produtos.

Para atuar na derme, em geral, as formulações necessitam de um tempo maior de aplicação. No entanto, a formulação F2 acarretou em aumento na relação da ecogeneidade (pixels hiperecogenicos/pixels totais) da derme, ou seja, aumentou a ecogeneidade da derme.

A ecogeneidade da pele pode aumentar ou diminuir por diversos fatores, sendo um deles o aumento ou a diminuição da hidratação na derme. Uma vez que, na ultrassonografia de alta frequência, a água é representada por pixels de baixa ecogeneidade, na ultrassonografia de alta frequência, a diminuição ou aumento da hidratação da pele até a derme pode alterar o número total de pixels e, conseqüentemente, influenciar na relação de ecogeneidade da derme (MLOSEK, et. al., 2013). A ecogeneidade pode ser expressa de acordo com o resultado do cálculo: número de pixels de alta ecogeneidade/número total de pixels. Assim, o aumento desta relação pode resultar no aumento da ecogeneidade, por diferentes mecanismos, como a hidratação e a densidade da derme.

Em síntese, a presença dos ingredientes ativos implicou na melhora da eficácia clínica da formulação multifuncional estudada em relação aos parâmetros relacionados à hidratação, função barreira e propriedades mecânicas da pele. Assim, foi possível observar que as formulações contendo os ativos cosméticos tiveram eficácia significativa na melhora das condições da pele envelhecida em comparação às formulações que não continham as substâncias ativas objeto de estudo, demonstrando assim a importância do desenvolvimento de formulações cosméticas contendo polissacarídeos de mandioca e oligossacarídeos de alfafa para a obtenção de produtos mais eficazes.

Diante exposto, este estudo mostrou a importância do desenvolvimento de formulações cosméticas cumprindo todas as etapas pertinentes ao protocolo de Pesquisa & Desenvolvimento de cosméticos, resultando formulações multifuncionais estáveis, com perfil de textura e sensorial adequados às finalidades propostas e com eficácia clínica comprovada.

8. CONCLUSÃO

Nas condições experimentais deste estudo, foi possível concluir que:

As formulações desenvolvidas apresentaram comportamento reológico do tipo pseudoplastico e os reogramas não mostraram alterações durante o estudo de estabilidade sendo, portanto, consideradas estáveis.

Na avaliação do perfil de textura, a presença das substâncias ativas e dos filtros solares na formulação multifuncional desenvolvida proporcionou melhora dos parâmetros relacionados às propriedades físico mecânicas desta, tais como consistência, coesividade e espalhabilidade.

Os resultados da análise sensorial foram coerentes com os dados obtidos na análise de textura uma vez que, a formulação F3, que foi melhor avaliada no painel sensorial também obteve melhor textura em função da menor consistência e melhor espalhabilidade.

No estudo dos efeitos clínicos imediatos, a formulação multifuncional desenvolvida mostrou melhora mais pronunciada no microrrelevo da pele quando comparada com a formulação comercial e ambas as formulações hidrataram a pele após 2 horas de aplicação. Além disso, a formulação desenvolvida mostrou melhor desempenho na análise sensorial.

A presença de filtros solares influenciou negativamente na hidratação imediata e a perda transepidérmica de água e positivamente na melhora dos parâmetros relacionados ao microrrelevo da pele. Além disso, a formulação multifuncional, na terceira avaliação dos efeitos imediatos, melhorou significativamente a hidratação, a função barreira da pele e o microrrelevo cutâneo, melhora esta que não foi observada após a aplicação da formulação veículo.

Na avaliação da eficácia clínica em longo prazo, a formulação F2V, que continha oligossacarídeos de alfafa, melhorou significativamente a hidratação e o microrrelevo cutâneo, enquanto que a formulação que continha a associação de polissacarídeos de mandioca e oligossacarídeos da alfafa melhorou as propriedades mecânicas da pele.

A aplicação da correlação das técnicas empregadas neste estudo foi fundamental na definição e obtenção de uma formulação multifuncional estável, com sensorial adequado e eficácia clínica comprovada para a melhora das condições da pele envelhecida.

9. REFERÊNCIAS

ADLHART, C. BASCHONG, W. Surface distribution and depths profiling of particulate organic UV absorbers by Raman imaging and tape stripping.. *Int J. Cosmetic Sci*, v. 33, p. 527–534, 2011.

AMBROISINE, L., EZZEDINE, K.; ELFAKIR, A., GARDINIER, S., LATREILLE, J., MAUGER, E., TENENHAUS, M., GUINOT, C. Relationships between visual and tactile features and biophysical parameters in human facial skin. *Skin Res. Technol.*, v.13, p.176-183, 2007.

ANCONI, G.L., DAL'BELO, S.E., SILVA, M.M., CAMARGO JUNIOR, F.B., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Evaluation of sensorial effects of gels containing L-Fucose and L-Rhamnose and its stability when associated or not with dimethylaminoethanol (DMAE), wheat protein or kinetic in liposomes. In: 1º SINPOSPq, Ribeirão Preto, 2004, in: Ribeirão Preto CD-ROM.

ANVISA – Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>, 2008. Acesso em: 11/03/2015.

BAYARRI, S., CARBONELL, I., COSTELL, E. Viscoelasticity and texture of spreadable cheeses with different fat contents at refrigeration and room temperatures. *J. DairySci*, v. 95, p. 6926–6936, 2012.

BRASIL, Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para avaliação de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

BRADLEY E.J, GRIFFITHS C.E.M, SHERRATT MJ, BELL M, WATSON R. Over-the-counter anti-ageing topical agents and their ability to protect and repair photoaged skin. *Maturitas*, v.80, p.265–272, 2015.

CAETANO, L de V, SOARES J.L., BAGATIN, E, MIOT, H.A. Reliable assessment of forearm photoageing by high-frequency ultrasound: a cross-sectional study. *Int J CosmetSci*, v.38, p.170-177, 2016.

CAVALHEIRO, M., MASCARENHAS, M., LÁRIOS, R., SEIFERT, T. Cosmético multifuncional: Proposta de formulação para desenvolvimento de novos produtos. Congresso ABC, 2010.

CHENG, Y., DONG, Y., WANG, J., DONG, M., ZOU, Y., REN, D., et. al. Moisturizing and anti-sebum secretion effects of cosmetic application on human facial skin. *J CosmetSci*. v.60, p.7-14, 2009.

CIVILLE, G. V., DUS, C., A Avaliação Sensorial como Guia para o Desenvolvimento de Produtos, *Cosmetic&Toiletries* (edição português), v. 17, p. 62-65, 2005.

CLARES, B., GÁLVEZ, P., GALLARDO, V., RUIZ, M. A. Elaboration , characterization , and stability study of a sunscreen emulsion for use as a towelette application in pediatric photoprotection.*J. Cosmet. Sci.* v. 62 p.371–382, 2011.

CLARYS, P., CLIJSEN, R., TAEYMANS J, BAREL A. O. Hydration measurements of the stratum corneum: comparison between the capacitance method (digital version of the Corneometer CM 825[®]) and the impedance method (Skicon-200EX[®]). *Skin Res Technol.*, v.18, p.316-323, 2012.

CONSTANTIN, M. M, POENARU E., POENARU C., CONSTANTIN T. Skin Hydration

Assessment through Modern Non-Invasive Bioengineering Technologies. *Maedica*, v. 9, p. 33-38, 2014.

CORRÊA N. M., CAMARGO, F. B., IGNÁCIO, R. F., LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. *Braz. J. Pharm. Sci.*, v.41 p.73-78, 2005.

CRISAN, D., LUPSOR, M., BOCA, A., CRISAN M., BADEA, R. Ultrasonographic assessment of skin structure according to age. *Indian J DermatolVenereolLeprol*, v.78 p.519, 2012.

COURAGE-KHASAKA, Cutometer[®], Technical Information. Disponível em: <<http://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/140-cutometer>>. Acesso em: 16/02/2016.

COURAGE-KHASAKA, Sebumeter[®], Technical Information. Disponível em: <<http://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/129-sebumeter>>. Acesso em: 15/02/2016.

COURAGE-KHASAKA, Visioface[®]Quick, Technical Information, 2008. Disponível em: <http://www.cosmeticsonline.com.br/produtos/arquivos/A25_manual_visioface_baixa.pdf>. Acesso em: 15/02/2016.

COURAGE-KHASAKA, Visioscan[®] VC 98 USB, Technical Information. Disponível em: <<http://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/296-visoscan-usb-e>>. Acesso em: 16/02/2016.

CROWTHER, J. M. Method for quantification of oils and sebum levels on skin using the. *Int J CosmetSci.*, v. 38, p. 210-216, 2016.

CRUZ, M. Texturômetro: Extralab Brasil, 2014. Disponível em: <<https://textuometro.wordpress.com/author/afrontamkt/>>. Acesso em: 11/03/2015.

DAL'BELO, S. E.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing *Aloe vera* extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. *Skin Res Technol*, v. 12, n.2, p. 241-246, 2006.

DARLENSKI, R., SASSNING, S., TSANKOV, N., FLUHR, J. W. Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties. *Eur. J. Pharm. Biopharm*, v.72, p.295-303, 2009.

DRAELOS, Z. D. The multifunctional value of sunscreen-containing cosmetics. *Skin Therapy Lett*, v. 16, p. 1-3, 2011.

DOBREV, H. Use of cutometer to assess epidermal hydration. *Skin.Res.Tecnol.*, v.6, p.239-244, 2000.

DOBREV, H. Evaluation of dry skin: a comparison between visual score, corneometry and image analysis. in: Congress of the European Academy of Dermatology & Venereology (EADV), 16, Vienna, 2007. Abstracts. Vienna, 2007.

DURAND, L., HABRAN, N., HENSCHER, V., AMIGHI, K. In vitro evaluation of the cutaneous penetration of sprayable sunscreen emulsions with high concentrations of UV filters. *Int. J. Cosmetic Sci.*, v.31, p.279-292, 2009.

ELKEEB, R., HUI, X., CHAN, H., TIAN, L., MAIBACH H. I. Properties in vitro : comparison of three evaporimeters. *Skin Res Technol*, v.16, p.9–15, 2010.

FERREIRA, M. R. P., COSTA, P. C., BAHIA, F. M. Efficacy of anti-wrinkle products in skin surface appearance: a comparative study using non-invasive methods. *Skin Res Technol*. v.16, p. 444-449, 2010.

GASPAR, L. R., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Evaluation of the protective effect of alpha-tocopheryl acetate in a sunscreen, preventing erythema formation, transepidermal water loss and sunburn cell formation. *IFSCC Magazine*., v. 6, p.213-217, 2003.

GASPAR, L.R., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen. *Int J Pharm*; v.307, n.2, p.123-38, 2006.

GASPAR, L. R., CAMARGO, F. B. Jr, GIANETI, M. D., MAIA CAMPOS, P. M. Evaluation of dermatological effects of cosmetic formulations containing *Saccharomyces cerevisiae* extract and vitamins. *J Food Chem Toxicol*., v.46, nº11, p. 3493-3500, 2008.

GIANETI, M. D., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Efficacy evaluation of a multifunctional cosmetic formulation: the benefits of a combination of active antioxidant substances. *Molecules*, v.19, p. 18268-18282, 2014.

GONÇALVES, G.M.S., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Aplicação de métodos de biofísica no estudo da eficácia de produtos dermocosméticos. *Braz. J. Pharm. Sci*, v. 45, n. 1, p.1-10, 2009.

GUARATINI, T.; GIANETI, M.D., MAIA CAMOS, P.M.B.G. Stability of cosmetic formulations containing esters of vitamins E and A: chemical and physical aspects. *Int J Pharm*., v.327, n.1-2, p.12-16, 2006.

HERMANNS-LÊ, T., PIÉRARD-FRANCHIMONT, C., PIÉRARD, G. E. Scrutinizing skinfield melanin patterns in young Caucasian women Scrutinizing skinfield melanin patterns in young Caucasian women. *Expert Opin Med Diagn*, v.7, p.455-462, 2013.

JASAITIENE, D., VALIUKEVICIENE, S., LINKEVICIUTE, G., RAISUTIS, R., JASIUNIENE, E., KAZYS, R. Principles of high-frequency ultrasonography for investigation of skin pathology, *J Eur Acad Dermatol Venereol*.. v.25, p.375–382, 2011.

JOUANDEAUD, M., BORDES, S., SOULIE, C., CLOSS, B. CT The Influence of Oligosaccharides on Skin Aging: An Alternative to Retinoids. *Cosmet Toiletries* v.119 p.67-76, 2004.

KAMMEYER, A., LUITEN, R. M. Oxidation events and skin aging. *Ageing Res Rev*, v. 21, p. 16–29, 2015.

KHAN, B.A., AKHTAR, N., WASEEM, K., MAHMOOD, T., RASUL, A. Visio Scan ® VC98, Corneometer MPA 5 and Tewameter. *Afr. J. Pharm. Pharmacol*., v.6, p.225–227, 2011.

KOTTNER, J., LICHTERFELD, A., BLUME-PEYTAVI, U. Transepidermal water loss in young and aged healthy humans: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dermatol Res*., v.305, p.315-323, 2013.

KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C., BERLITZ, S. J., CONTRI, R. V., ALVES, L. R., HENRIQUE, E. G., BARREIROS, V. R. M., GUTERRES, S. S. Influence of

nanoencapsulation on the sensory properties of cosmetic formulations containing lipoic acid. *Int J Cosmetic Sci*, v.35, p.105–111, 2013.

LABA, D. Rheological properties of cosmetics and toiletries. *Cosmetic science and technology series*, v. 13, c. 4, p. 109-110, 1993.

LAI-CHEONG JE; MCGRATH, J. A., Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine*, v.37, p.223-226, 2009.

LEE, B. M., A. N, S., KIM S.Y., HAN H. J, JEONG Y. J, LEE K. R, et al. Topical application of a cleanser containing extracts of *Diospyros kaki* folium , *Polygonumcuspidatum* and *Castaneacrenata* var . *dulcis* reduces skin oil content and pore size in human skin. *Biomed Rep.*, v.3, p.343-346, 2015.

LÉVÊQUE, J.L.; DRESLER, J.; RIBOT-CISCAR, E. ; ROLL, J.P. ; POELMAN, C. Changes in tactile spatial discrimination and cutaneous coding properties by skin hydration in the elderly. *The society of Investigative Dermatology*. v. 115, n. 3, p. 454-458, 2000.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. Application of a non-invasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. *J Cosmet Sci.*, v. 53, n. 5, p. 263-268, 2002.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva *Study of pH variation on the skin using cosmetic formulations with and without vitamins A, E or ceramide: by a non-invasive method*. *An bras Dermatol*, v. 77, p. 563-569, 2002.

LEVY, J. L.; TRELLES. M.; SERVANT, J. J.; AGOPIAN, L. Non-ablative skin remodeling: an 8-month clinical and 3D in vivo profilometric study with an 810 nm diode laser. *J Cosmet Laser Ther.*, v. 6, n. 1, p. 11-15, 2004.

LIPPACHER, A., MULLER, R.H., MADER, K. Liquid and semisolid SLN (TM) dispersions for topical application: rheological characterization. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.58, p.561–567, 2004.

LODÉN, M.; PHARM M. Effect of moisturizers on epidermal barrier function. *Clin. Dermatol*, v. 30, p. 286–296, 2012.

LUKIC, M., JAKSIC, I., KRSTONOSIC, V., CEKIC, N., SAVIC, S. A combined approach in characterization of an effective w/o hand cream: the influence of emollient on textural, sensorial and in vivo skin performance. *Int. J. Cosmetic Sci*, v.34, p.140–149, 2012.

MACHADO, M.; HADGRAFT, J.; LANE M. E. Assessment of the variation of skin barrier function with anatomic site, age, gender and ethnicity. *J Cosmet Sci*, v. 32, p. 397–409, 2010.

MAIBACH H. Transepidermal Water Loss Transepidermal Water Loss (TEWL). References and Further Reading. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays*, p.5–7, 2015.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; BADRA, M. V. L. Estudo da estabilidade física de bases dermocosméticas contendo ésteres fosfóricos. *Aerosol & Cosméticos*, v. 79, p. 8-11, 1992.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; GIANETI, M.D. **Bases Físicas e Químicas dos Cosmecêuticos**. In: Adilson Costa. (Editor). Tratado Internacional de Cosmecêuticos. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan Ltda, v. 1, p. 68-75, 2012.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; GIANETI, M. D.; CAMARGO JÚNIOR, F. B.; GASPAR, L., R. Application of tetra-isopalmitoyl ascorbic acid in cosmetic formulations: Stability studies and in vivo efficacy. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 82, n. 3, p. 580-586, 2012.

MANCO, L. M., OLIVEIRA, J. F., MERCURIO, D. G., CAMPOS, P. M. B. G. M. Evaluation of clinical efficacy of cosmetic formulations containing glucan biopolymer. In: ISBS/SICC 1st JOINT INTERNATIONAL CONGRESS, 2013, Milão. ISBS/SICC 1st JOINT INTERNATIONAL CONGRESS - Ageing Skin: Diagnostic Tools and Cosmetic Treatment, 2013.

MERCURIO, D. G.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Clinical scoring and instrumental analysis to evaluate the skin types and efficacy of dermocosmetics. Clinical and Experimental Dermatology. *ClinExpDermato.*, v. 38, p. 1-10, 2013.

MLOSEK, R. K., MALINOWSKA, S., SIKORA, M., DBOWSKA, R., STEPIEN, A., CZEKAJ, K., et. al. The use of high frequency ultrasound imaging in skin moisturization measurement. *Skin Res Technol*, v. 19, p. 169-175.

MORABITO, K., SHAPLEY N. C., STEELEY, K. G., TRIPATHI, A. Review of sunscreen and the emergence of non-conventional absorbers and their applications in ultraviolet protection. *Int J CosmetSci*, v. 33, p.385–390, 2011.

MUKHERJEE, S., KORTING, H. C., ROEDER, A. Retinoids in the treatment of skin aging: an overview of clinical efficacy and safety. *ClinInterv Aging*, v.1, p.327–348, 2006.

NAKAGAWA, N., MATSUMOTO, M., SAKAI, S. In vivo measurement of the water content in the dermis by confocal Raman spectroscopy. *Skin Res Technol*, v.1, p.137–141, 2010.

NOLAN, K.; MARMUR, E. Moisturizers: reality and the skin benefits. *Dermatologic Therapy*, v. 25, p. 229-233, 2012.

OSTERWALDER, U., HERZOG, B. Sun protection factors: world wide confusion. *Br J Dermatol*, v.161, p.13–24, 2009.

PARENTE, M. E; ARES, G; GÁMBARO, A. V., Sensory characterization of emollients. *J. Sens. Stud.*, v.23, p.149–161, 2008.

PARENTE, M. E; ARES, G; MANZONI, A. V., Application of two consumer profiling techniques to cosmetic emulsions. *J. Sens. Stud.*, v.25, p. 685-705, 2010.

PARENTE, M. E.; MANZONI, A. V.; ARES, G. External preference mapping of commercial antiaging creams based on consumers' responses to a check-all-apply questions. *J. Sens. Stud.* v. 26, p. 158-166, 2011.

PAUFIQUE, J, inventor; Societe Industrielle Limousine d'Application Biologique, assignee. Saccharide polymer obtained from *Manihotesculenta*, production process, and use as cosmetic active ingredient for tightening the skin. US patent 20130289136A1. 2013 Oct 31.

PAWLACZYK, M., LELONKIEWICZ, M., WIECZOROWSKI, M. Age-dependent biomechanical properties of the skin. *PostepDermAlergol.*, v. 30, p.302–306, 2013.

PEIRANO, R. I., HAMANN, T., DÜSING, H. J., AKHIANI, M., KOOP, U., SCHMIDT-ROSE, T., et. al. Topically applied L -carnitine effectively reduces sebum secretion in human skin. *J CosmetDermatol.*, v.11, v30–36, 2012.

PIÉRARD, G.E. Instrumental non-invasive assessments of cosmetic efficacy. *J. Cosm.Dermatol.*v.1, p.57-58, 2002.

PROKSCH, E., BRANDNER, J. M., JENSEN, J. The skin: an indispensable barrier. *ExpDermatol.*, p. 1063–1072, 2008.

RAMOS, S., HOMEM, V., ALVES, A., SANTOS, L. Advances in analytical methods and occurrence of organic UV- filters in the environment — A review.*Sci Total Environ*, v. 526, p.278–311, 2015.

RODRIGUES, F., SARMENTO, B., AMARAL, M. H., OLIVEIRA, M. B. P. P., SARMENTO, B., AMARAL, M. H, et al. Exploring the antioxidant potentiality of two food by-products into a topical cream: stability, in vitro and in vivo evaluation. *Drug Dev Ind Pharm*, p.1-10 2015.

SAMSON, S., BASRI, M., FARD MASOUMI, H. R., ROGHAYEH A. K., ABDUL, M. E. Design and development of a nanoemulsion system containing copper peptide by D-optimal mixture design and evaluation of its physicochemical properties. *RSC Adv*, v. 6, p.17845-17856, 2016.

SCOTTI, L., VELASCO, M.V.R. Envelhecimento cutâneo à luz da cosmetologia – estudo das alterações da pele no decorrer do tempo e da eficácia das substâncias ativas na prevenção. 2003, 113p. São Paulo, Tecnopress.

SERPONE, N., DONDI, D., ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. *Inorg. Chim. Acta*, v.360, p.794–802, 2007.

SILAB, Instensyl® 3D Express Lifting - Technical Information, 2011.

SILAB, VitanoEngineering Natural Active Ingredients – Technical Information, 2006.

SILVA, L. R., PEREIRA, M. J., AZEVEDO, J., GONÇALVES, R. F., VALENTÃO, P., GUEDES, P., et al. Glycine max (L .) Merr ., Vigna radiata L . and Medicago sativa L . sprouts : A natural source of bioactive compounds. *Food. Res. Int.*, v. 50, p. 167–175, 2013.

TAI, A. R., BIANCHINI R., JACHOWICZ J. Texture analysis of cosmetic/pharmaceutical raw materials and formulations. *J CosmetSci*, v. 36, p. 291-304, 2014.

TAYLOR, P., GANCEVICIENE, R., LIAKOU, A. I, THEODORIDIS, A., MAKRANTONAKI, E., ZOUBOULIS, C. C., et al. Skin anti-aging strategies. *Dermatoendocrinol* v.4, p.308-319, 2015.

VENUS, M., WATERMAN, J., MCNAB, I. Basic physiology of the skin. *Surgery*, v.29, p.471–474, 2011.

WESTER R.C. et al. Percutaneous absorption of drugs. extracts as functional agents. *Farmaco*. v.437. n.31, p.56, 2011.

WOO, M. S., MOON, K. J., JUNG, H. Y., PARK, S. R., MOON, T. K., KIM, N. S, et al. Comparison of skin elasticity test results from the Ballistometer. *Skin Res Technol*, v. 20, p.422–8, 2014.

WORTEL, V. A. L.; WIRCHERS, J. W. Skin sensory performance of individual personal care ingredients and marketed personal care products. *Food Qual Prefer.*,v. 11, n. 1, p. 121-127, 2000.

ZOU, Y., SONG, E., JIN, R. Age-dependent changes in skin surface assessed by a novel two-dimensional image analysis. *Skin Res Technol*, v.15, p.399–406, 2009.

ZOUBOULIS C. C. Acne and Sebaceous Gland Function. *Clin. Dermatol*, v.22, p.360-366 2004.

APÊNDICE A

Questionário aplicado na avaliação sensorial comparativa das formulações F1, F2 e F3.

Ficha de Análise Sensorial

- ➔ Será colocada uma quantidade da formulação sobre o antebraço previamente delimitado, pede-se para voluntária utilizar o dedo indicador, fazendo 10 movimentos circulares sentido horário.
- ➔ Atribuir as seguintes notas para cada característica:
1 (péssimo), 2 (ruim), 3 (regular), 4 (bom), 5 (excelente)

Efeitos imediatos:

- Espalhabilidade: F1 () F2 () F3 ()
- Sensação ao toque: F1 () F2 () F3 ()
- Pegajosidade: F1 () F2 () F3 ()
- Suavidade: F1 () F2 () F3 ()
- Absorção imediata: F1 () F2 () F3 ()

Após 5 minutos:

- Hidratação: F1 () F2 () F3 ()
- Oleosidade: F1 () F2 () F3 ()
- Brilho: F1 () F2 () F3 ()
- Maciez: F1 () F2 () F3 ()
- Absorção: F1 () F2 () F3 ()
- Resíduo Branco: F1 () F2 () F3 ()

APÊNDICE B

Questionário de avaliação sensorial Benchmark, comparando a formulação de estudo F3 (FC) e uma formulação comercial (FA).

NOME: _____

AVALIAÇÃO SENSORIAL

CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS APÓS APLICAÇÃO:

FA() FC() Oleosa/gordurosa

FA() FC() Pegajosa

FA() FC() Suave

FA() FC() Fácil de espalhar

FA() FC() Facilmente absorvida

CARACTERÍSTICAS SENSORIAIS APÓS 5 MIN- EFEITOS NA PELE:

FA() FC() Resíduo oleoso

FA() FC() Pele macia

FA() FC() Pele hidratada

FA() FC() Resíduo esbranquiçado

FA() FC() Intenção de Compra

APÊNDICE C

Valores de cada voluntária na 1ª Avaliação dos Efeitos Imediatos a partir dos parâmetros analisados na região dos antebraços.

Tabela 1. Valores de perda transepidérmica de água de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a utilização das formulações FA (formulação comercial) e FC (formulação de estudo), comparativamente a uma região controle.

Controle T0	Controle T2	FA T0	FA T2	FC T0	FC T2
5,75	4,55	4,45	3,75	4,55	3,65
2,60	3,20	5,45	2,20	4,65	3,75
4,00	5,70	4,15	3,45	4,80	4,55
3,40	3,40	4,70	5,30	3,60	5,05
4,20	5,50	4,45	3,70	4,90	6,60
5,80	4,75	4,90	4,35	6,00	3,05
5,90	5,45	3,05	3,30	4,50	4,40
4,85	7,80	7,35	7,20	5,15	4,45
2,65	5,15	4,80	2,40	4,30	4,15
5,35	4,55	3,85	3,30	4,45	2,15

Tabela 2. Valores de conteúdo aquoso do estrato córneo de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a utilização das formulações FA (formulação comercial) e FC (formulação de estudo), comparativamente a uma região controle.

Controle T0	Controle T2	FA T0	FA T2	FC T0	FC T2
5,75	4,55	4,45	3,75	4,55	3,65
2,60	3,20	5,45	2,20	4,65	3,75
4,00	5,70	4,15	3,45	4,80	4,55
3,40	3,40	4,70	5,30	3,60	5,05
4,20	5,50	4,45	3,70	4,90	6,60
5,80	4,75	4,90	4,35	6,00	3,05
5,90	5,45	3,05	3,30	4,50	4,40
4,85	7,80	7,35	7,20	5,15	4,45
2,65	5,15	4,80	2,40	4,30	4,15
5,35	4,55	3,85	3,30	4,45	2,15

Tabela 3. Valores de rugosidade do microrrelevo cutâneo (Ser) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a utilização das formulações FA (formulação comercial) e FC (formulação de estudo), comparativamente a uma região controle.

Controle T0	Controle T2	FA T0	FA T2	FC T0	FC T2
0,980	0,830	1,210	0,840	0,700	0,760
1,260	0,380	1,400	0,600	1,260	0,600
0,540	1,060	0,540	1,120	0,630	0,460
0,650	0,730	0,870	0,640	1,430	0,510
0,370	0,220	0,530	0,380	0,370	0,130
0,530	0,440	0,320	0,630	0,090	0,270
0,650	1,010	0,730	0,720	1,610	0,930

APÊNDICE D

Valores de cada voluntária na 2ª Avaliação dos Efeitos Imediatos a partir dos parâmetros analisados na região periorbital.

Tabela 1. Valores detransepidérmica de água (Tewameter®), de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações: F1A (substâncias ativas) (sem filtros) e F3 (filtros e substâncias ativas).

F1A t0	F1A t30	F3 t0	F3 t30
5,87	4,67	3,25	4,83
9,45	5,30	8,80	7,10
9,45	6,25	9,90	8,30
6,60	4,20	6,90	4,90
6,70	6,35	6,55	8,30
7,40	6,00	6,95	6,45
9,30	10,60	9,10	8,20
7,40	6,70	6,75	8,25
4,85	4,75	11,55	7,95
10,85	9,90	7,70	10,20
11,10	11,35	13,60	15,20
6,20	2,85	6,65	2,20
9,35	11,45	8,15	11,20
12,60	10,35	8,70	8,55
13,17	5,45	13,50	9,28
10,23	6,55	8,50	9,90
9,55	6,45	12,65	11,05
6,10	1,85	6,15	7,80
6,45	6,65	8,35	5,85

Tabela 2. Valores de conteúdo aquoso do estrato córneo, de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações: F1A (substâncias ativas) (sem filtros) e F3 (filtros e substâncias ativas).

F1A t0	F1A t30	F3 t0	F3 t30
63,60	55,60	84,80	71,00
50,80	69,60	78,20	71,20
40,80	49,60	47,20	63,20
44,40	70,60	74,00	66,80
49,60	67,40	49,20	53,40
48,00	72,00	51,80	61,80
73,00	69,00	77,80	62,40
69,80	71,80	66,40	72,00
75,40	79,00	68,00	66,80
73,20	75,20	62,00	59,20
66,00	73,00	73,20	60,00
51,40	75,20	45,40	54,60
59,00	75,40	55,80	65,60
54,00	73,00	51,00	60,40
44,40	74,20	46,20	46,40
40,80	60,40	41,00	58,20
69,40	74,80	61,40	72,00
52,40	74,00	47,80	65,80
67,00	77,40	69,20	68,20
56,00	74,60	46,20	66,00

Tabela 3. Valores relacionados ao parâmetro Sesc (suavidade da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações: F1A (substâncias ativas) (sem filtros) e F3 (filtros e substâncias ativas).

F1A T0	F1A T30'	F3 T0	F3 T30'
0,350	0,330	0,350	0,270
0,490	0,410	0,620	0,080
0,140	0,400	0,510	0,300
0,440	0,620	0,200	0,350
0,430	0,400	0,360	0,200
0,490	0,170	0,090	0,310
0,490	0,890	0,750	0,310
0,930	0,550	0,270	0,290
0,300	0,550	0,440	0,340
0,580	0,280	0,100	0,340
0,390	0,550	0,390	0,140
0,420	0,520	0,480	0,460
0,390	0,300	0,660	0,150
0,470	0,670	0,350	0,170
0,420	0,550	0,500	0,460
0,530	0,490	0,390	0,440
0,430	0,490	0,390	0,340
0,690	0,860	0,480	0,260
0,510	0,840	0,400	0,370

Tabela 4. Valores relacionados ao parâmetro CR-1 (profundidade máxima da rugosidade da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações: F1A (substâncias ativas) (sem filtros) e F3 (filtros e substâncias ativas).

F1A T0	F1A T30'	F3 T0	F3 T30'
42,000	44,000	53,000	45,000
53,000	47,000	36,000	32,000
37,000	46,000	44,000	41,000
47,000	47,000	62,000	44,000
50,000	51,000	42,000	34,000
45,000	38,000	43,000	42,000
48,000	43,000	51,000	33,000
50,000	39,000	74,000	39,000
60,000	51,000	42,000	34,000
43,000	34,000	39,000	38,000
39,000	46,000	47,000	38,000
53,000	51,000	54,000	45,000
46,000	49,000	35,000	32,000
43,000	34,000	40,000	29,000
61,000	58,000	65,000	42,000
40,000	46,000	40,000	39,000
47,000	44,000	62,000	40,000
59,000	39,000	59,000	33,000
49,000	42,000	52,000	44,000

Tabela 5. Valores relacionados ao parâmetro Ser (rugosidade da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações: F1A (substâncias ativas) (sem filtros) e F3 (filtros e substâncias ativas).

F1A T0	F1A T30'	F3 T0	F3 T30'
1,290	1,820	1,560	1,440
0,910	0,930	0,780	1,320
1,290	1,850	1,290	1,090
0,610	1,210	1,820	0,780
1,810	2,350	0,850	0,860
2,040	1,580	1,350	3,200
1,140	1,070	1,640	0,780
0,770	0,650	1,250	1,120
1,250	0,830	1,240	1,770
1,130	0,520	0,950	0,470
0,990	1,900	0,730	0,560
0,610	1,170	0,960	1,380
1,140	2,260	0,890	1,520
1,720	0,680	0,760	0,600
2,570	1,140	2,100	0,700
1,090	0,840	0,550	0,740
2,150	1,960	4,830	2,230
1,370	0,760	1,490	0,990
2,040	1,030	0,690	0,800

Tabela 6. Valores relacionados ao parâmetro Sew (número e largura das rugas) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações: F1A (substâncias ativas) (sem filtros) e F3 (filtros e substâncias ativas).

F1A T0	F1A T30'	F3 T0	F3 T30'
38,620	40,540	46,500	38,650
40,600	43,750	38,000	45,380
43,750	43,130	40,370	45,700
40,370	42,870	35,970	48,210
36,590	38,500	38,650	52,410
37,940	51,920	46,500	40,290
42,950	36,330	36,590	38,000
36,590	43,390	46,000	40,750
41,930	42,950	39,820	40,290
37,940	46,710	40,520	41,930
38,500	40,520	36,590	43,390
44,290	36,330	39,710	38,500
42,870	37,500	41,930	45,800
38,000	45,000	37,370	42,870
54,290	37,900	41,470	37,900
42,190	35,780	48,210	38,500
37,940	38,620	38,620	38,650
39,820	41,270	44,290	37,500
41,470	40,290	35,840	35,840

APÊNDICE E

Valores de cada voluntária na 3ª Avaliação dos Efeitos Imediatos a partir dos parâmetros analisados na região dos antebraços.

Tabela 1. Valores de transepidermica de água (Tewameter®), de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle.

C t0	C t30	F1 t0	F1 t30	F2I t0	F2I t30	F3 t0	F3 t30
3,40	3,05	4,50	4,60	1,80	2,25	3,55	2,03
5,00	5,30	5,77	4,95	6,00	3,85	4,70	2,40
4,35	5,05	4,05	5,60	3,85	4,10	4,55	4,85
1,10	2,55	2,30	2,95	1,10	2,95	0,60	1,30
3,15	4,20	1,80	2,75	4,40	2,75	3,10	3,30
4,45	2,05	4,75	3,20	4,80	3,15	4,20	2,15
5,65	6,35	7,77	6,40	4,40	4,25	4,95	3,35
4,85	3,20	4,30	0,65	3,95	1,95	4,45	1,15
6,00	5,60	5,55	5,05	3,50	3,70	5,35	4,70
7,45	6,65	6,70	6,90	6,95	4,55	7,77	3,70
1,80	3,35	4,03	3,70	3,15	3,90	1,60	3,20
5,55	6,60	5,70	6,35	5,70	6,35	7,05	7,55
8,50	6,55	5,85	4,75	8,58	6,15	6,35	4,15
4,65	4,15	7,50	4,05	5,85	3,30	3,70	2,35
5,10	3,10	3,75	2,50	3,35	2,95	5,35	3,40
5,45	4,15	1,40	5,40	3,90	1,65	2,60	2,95
3,95	4,00	8,60	4,90	4,15	4,50	3,73	5,30
5,95	3,35	2,65	2,25	3,75	1,55	2,95	0,50

Tabela 2. Valores de conteúdo aquoso do estrato córneo de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle.

C t0	C t30	F1 t0	F1 t30	F2I t0	F2I t30	F3 t0	F3 t30
31,2	34,4	29,0	40,4	33,0	44,4	33,0	36,2
32,8	32,2	34,2	44,0	26,6	37,2	30,4	31,0
27,0	25,4	30,0	39,8	31,4	39,6	33,4	41,4
32,2	31,6	28,8	36,6	27,0	31,8	32,2	30,8
29,2	26,4	28,2	38,4	27,6	34,2	25,6	32,2
29,0	25,6	35,2	39,4	28,6	34,8	27,2	25,4
22,4	25,4	19,8	29,4	29,6	33,8	27,2	33,0
39,2	35,6	34,6	44,0	29,0	40,0	33,8	45,6
34,8	34,0	37,0	45,8	37,4	40,6	30,8	31,4
36,0	33,0	38,6	51,4	41,6	40,6	39,4	44,6
36,8	38,0	40,2	53,0	34,0	42,4	36,8	41,4
34,6	37,0	32,6	31,8	31,8	37,2	37,2	40,2
30,8	26,2	32,4	41,8	24,6	36,2	33,4	34,8
43,6	44,4	36,2	46,0	34,0	37,6	32,2	37,0
34,4	31,6	25,6	37,0	28,0	25,0	31,4	27,2
29,0	31,4	28,4	39,8	31,6	39,4	32,6	36,2
36,0	43,6	37,2	54,6	36,0	51,4	26,0	38,2
29,2	36,6	27,0	37,4	37,6	47,8	34,4	43,4
38,6	37,2	37,0	50,8	37,8	47,8	37,4	42,4

Tabela 3. Valores do parâmetro Ser (rugosidade da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle.

Controle T0	Controle T30'	F1 T0	F1 T30'	F2I T0	F2I T30'	F3 T0	F3 T30'
0,82	0,37	0,25	0,40	0,49	0,30	0,43	0,27
0,49	0,73	0,64	0,73	0,33	0,21	0,27	0,32
0,61	0,12	0,14	0,26	0,31	0,32	0,35	0,14
0,62	0,89	0,47	0,64	1,81	0,27	0,79	0,47
0,63	0,51	0,41	0,69	0,88	0,32	0,79	0,25
0,42	0,57	0,55	0,25	0,36	0,09	0,29	0,18
1,69	1,40	1,81	1,85	1,82	0,36	1,82	0,25
0,04	0,14	0,07	0,05	1,22	0,36	0,22	0,29
1,14	0,56	0,66	0,48	0,92	0,87	0,79	1,55
0,47	0,49	1,15	0,28	0,71	0,35	0,53	0,55
0,36	0,74	0,82	0,33	0,53	0,33	0,61	0,17
1,69	1,40	1,81	1,85	1,82	0,36	1,82	0,25
0,04	0,14	0,07	0,05	1,22	0,36	0,22	0,29
1,14	0,56	0,66	0,48	0,92	0,87	0,79	1,55
0,47	0,49	1,15	0,28	0,71	0,35	0,53	0,55
0,36	0,74	0,82	0,33	0,53	0,33	0,61	0,17

Tabela 4. Valores do parâmetro CR-1 (profundidade máxima da rugosidade da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle.

Controle T0	Controle T30'	F1 T0	F1 T30'	F2I T0	F2I T30'	F3 T0	F3 T30'
48,00	45,00	36,00	39,00	43,00	47,00	48,00	42,00
45,00	42,00	52,00	44,00	45,00	42,00	43,00	41,00
40,00	40,00	39,00	40,00	38,00	40,00	37,00	34,00
37,00	58,00	47,00	56,00	43,00	45,00	43,00	45,00
42,00	42,00	40,00	36,00	46,00	38,00	40,00	32,00
37,00	44,00	40,00	42,00	42,00	42,00	37,00	40,00
37,00	41,00	41,00	40,00	40,00	42,00	35,00	40,00
46,00	33,00	41,00	32,00	46,00	37,00	46,00	29,00
39,00	38,00	40,00	40,00	41,00	37,00	42,00	38,00
39,00	40,00	32,00	40,00	38,00	35,00	35,00	33,00
38,00	34,00	38,00	43,00	37,00	39,00	39,00	33,00
44,00	42,00	45,00	38,00	54,00	38,00	50,00	36,00
42,00	45,00	48,00	42,00	48,00	33,00	49,00	43,00
51,00	39,00	50,00	42,00	36,00	36,00	40,00	37,00
57,00	48,00	60,00	43,00	57,00	36,00	52,00	33,00
31,00	30,00	30,00	27,00	38,00	35,00	34,00	34,00
52,00	41,00	59,00	48,00	55,00	43,00	56,00	41,00
51,00	36,00	47,00	31,00	51,00	33,00	52,00	33,00
46,00	41,00	50,00	46,00	49,00	37,00	46,00	35,00

Tabela 5. Valores do parâmetro Sesc (suavidade da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle.

Controle T0	Controle T30'	F1 T0	F1 T30'	F2I T0	F2I T30'	F3 T0	F3 T30'
0,31	0,52	0,52	0,44	0,22	0,44	0,47	0,29
0,33	0,25	0,35	0,42	0,32	0,31	0,34	0,36
0,35	0,28	0,24	0,29	0,27	0,33	0,22	0,26
0,38	0,39	0,51	0,44	0,61	0,35	0,36	0,21
0,31	0,30	0,19	0,16	0,46	0,38	0,25	0,07
0,38	0,42	0,45	0,17	0,27	0,40	0,44	0,20
0,28	0,36	0,78	0,42	0,36	0,21	0,21	0,22
0,30	0,11	0,33	0,15	0,27	0,26	0,39	0,12
0,35	0,15	0,21	0,18	0,13	0,45	0,35	0,34
0,46	0,33	0,17	0,33	0,31	0,24	0,35	0,18
0,46	0,34	0,31	0,29	0,42	0,27	0,38	0,14
0,26	0,27	0,38	0,33	0,36	0,35	0,31	0,16
0,60	0,57	0,30	0,26	0,92	0,16	0,35	0,36
0,37	0,17	0,37	0,21	0,39	0,09	0,14	0,22
0,28	0,22	0,28	0,37	0,44	0,30	0,27	0,21
0,20	0,11	0,31	0,15	0,36	0,18	0,34	0,27
0,42	0,30	0,62	0,42	0,39	0,34	0,68	0,20
0,63	0,31	0,56	0,28	0,43	0,17	0,60	0,20
0,27	0,38	0,53	0,53	0,33	0,31	0,24	0,18

Tabela 6. Valores do parâmetro Sesm (maciez da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle.

Controle T0	Controle T30'	F1 T0	F1 T30'	F2I T0	F2I T30'	F3 T0	F3 T30'
36,60	34,07	24,30	30,79	30,34	35,88	31,58	28,35
31,72	28,93	37,11	36,10	33,22	30,66	33,78	33,00
29,82	30,80	25,65	28,43	28,83	32,91	26,40	27,03
26,59	38,50	34,71	41,51	29,73	32,19	33,48	37,44
34,29	32,09	28,34	26,48	35,36	34,29	30,37	27,48
28,83	36,38	33,48	35,40	28,81	37,48	30,40	32,45
33,72	34,59	27,77	31,01	31,48	37,04	27,64	30,69
34,63	25,68	35,78	24,63	38,28	33,70	35,87	24,09
27,92	30,27	30,93	32,09	27,49	27,72	33,21	30,58
29,22	26,43	24,77	26,43	31,68	31,89	27,52	25,94
33,30	27,90	37,57	40,06	31,12	36,19	36,88	33,86
31,12	32,49	31,68	25,41	35,20	32,76	29,22	29,42
27,92	31,42	37,66	35,50	29,73	26,12	37,11	37,20
41,12	32,64	34,75	27,86	27,36	25,14	30,78	28,02
37,08	32,25	40,27	33,54	39,19	28,95	38,41	27,09
29,06	27,98	24,90	23,04	27,92	34,75	32,18	29,70
35,70	27,98	42,63	36,96	42,05	32,47	40,86	27,23
41,40	29,99	31,79	22,58	45,14	30,60	39,70	26,77
28,34	30,18	36,10	33,43	32,05	28,83	32,81	28,71

Tabela 7. Valores do parâmetro Sew (número e largura das rugas) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após a aplicação das formulações F1(veículo), F2I (formulação F2 acrescida de polissacarídeos de mandioca) e F3 (contendo filtros solares e ativos), comparativamente a uma região controle.

Controle T0	Controle T30'	F1 T0	F1 T30'	F2I T0	F2I T30'	F3 T0	F3 T30'
47,23	47,78	42,19	43,73	50,57	46,30	46,30	42,19
46,50	48,21	42,95	43,39	39,08	43,55	40,95	40,00
42,35	43,75	42,19	38,00	39,71	42,86	40,00	40,95
40,29	46,00	43,39	41,93	40,95	43,73	45,00	48,00
42,87	45,00	45,70	43,55	44,20	42,87	50,62	48,21
46,50	43,73	45,00	49,17	42,87	49,98	52,41	49,17
44,42	41,93	43,39	38,00	46,15	42,87	46,92	45,00
40,37	40,95	38,98	41,47	42,97	42,55	39,08	44,29
40,29	46,50	40,75	40,52	42,95	40,00	41,93	40,29
37,37	35,97	38,35	35,97	40,00	39,08	39,71	38,14
46,71	45,00	52,19	46,15	44,20	45,24	49,17	51,30
38,14	39,82	40,00	37,37	38,35	39,71	37,37	40,52
40,29	38,50	45,00	45,80	40,95	42,95	42,95	46,15
47,37	47,86	46,71	48,87	48,00	56,12	53,07	49,17
46,00	37,94	43,39	37,94	40,95	35,97	42,87	37,94
41,93	43,73	39,71	42,35	40,29	45,24	43,73	42,19
37,50	36,33	40,37	40,00	38,65	37,10	41,27	38,14
35,84	38,35	36,33	35,84	37,94	40,91	36,59	37,50
45,70	42,87	43,39	40,52	43,55	39,71	51,43	46,30

APÊNDICE F

Valores de cada voluntária na Avaliação da Eficácia Clínica em longo prazo a partir dos parâmetros analisados na região periorbital.

Tabela 1. Valores da perda transepidérmica de água de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
9,450	15,300	5,150	5,650	9,900	13,300
6,600	6,700	5,466667	7,600	9,300	10,850
6,550	9,100	6,750	12,350	8,450	13,550
6,950	9,450	9,350	17,750	10,850	12,700
4,850	25,000	12,650	9,050	6,500	6,450
12,050	12,750	5,600	9,950	6,450	9,700
12,600	11,800	7,600	8,250	7,800	6,200
15,100	19,150	3,700	8,750	8,350	8,450
13,23333	19,500	8,750	11,000	11,500	11,500
15,500	11,750	11,050	11,250	7,600	8,550
12,400	10,900	11,400	9,100	9,450	9,600
9,533334	11,800	11,750	16,050	5,133333	10,450

Tabela 2. Valores do conteúdo aquoso do estrato córneo de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
50,80	57,8	63,6	77,6	46,0	55,8
44,40	64,2	60,0	63,4	74,0	63,8
49,20	50,6	66,4	79,4	73,0	53,4
51,80	60,4	58,4	65,2	56,5	58,4
74,25	71,2	47,8	60,4	51,5	59,0
74,20	66,2	62,2	53,8	60,5	62,6
53,40	73,2	49,0	65,6	59,5	73,0
41,00	58,4	45,8	51,6	44,5	55,2
57,20	66,2	52,6	77,2	60,0	74,0
60,20	61,8	55,4	71,0	72,5	63,4
58,60	75,4	44,8	52,6	56,0	73,4
66,60	73,0	68,4	66,4	43,0	57,0

Tabela 3. Valores do conteúdo de sebo de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
13	0	0	8	14	27
15	24	5	65	27	23
47	173	0	32	164	85
18	36	15	135	0	22
0	103	35	0	4	128
75	44	31	35	0	37
31	237	95	117	21	33
49	36	28	13	69	74
6	0	64	17	31	0
11	5	4	25	12	9
96	75	49	37	12	152
31	0	9	1	59	40

Tabela 4. Valores do parâmetro Ser (rugosidade da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
1,290	1,430	1,350	1,470	1,560	1,820
1,290	1,850	0,610	0,970	2,040	1,960
0,610	2,050	4,830	0,680	1,860	3,320
1,810	1,310	1,170	0,440	1,250	1,000
0,770	0,690	1,680	1,670	0,990	1,080
0,910	0,970	2,110	1,640	0,370	0,120
1,140	2,630	0,550	2,320	0,550	0,730
2,100	1,530	0,430	0,300	0,690	1,360
0,940	1,170	0,460	0,590	1,900	3,090
0,560	1,730	1,020	1,260	0,830	0,900
0,600	1,850	0,435	0,301	2,800	2,730

Tabela 5. Valores do parâmetro Sew (número e largura das rugas) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
38,620	37,550	46,500	40,520	46,500	39,930
43,750	40,000	44,290	32,250	37,940	50,000
40,370	41,070	38,620	26,640	44,290	45,430
36,590	49,510	46,000	26,740	46,000	45,800
36,590	43,730	49,510	40,220	38,500	38,350
40,370	41,470	40,950	39,820	40,290	52,410
42,870	45,700	49,890	46,920	48,210	40,950
41,470	44,200	43,750	42,860	35,840	39,710
48,210	40,000	47,860	40,290	45,380	52,940
49,510	45,380	45,800	46,000	55,380	43,730
45,700	52,410	46,000	41,000	37,940	40,750

Tabela 6. Valores do parâmetro Sesc (descamação da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
0,350	0,390	0,170	0,350	0,330	0,690
0,140	0,360	0,420	0,430	0,490	0,300
0,440	0,460	0,490	0,390	0,430	0,560
0,430	0,380	0,230	0,160	0,550	0,170
0,930	0,390	0,380	0,270	0,390	0,450
0,110	0,420	0,370	0,390	0,190	0,060
0,390	0,490	0,140	0,330	0,490	0,490
0,550	0,310	0,360	0,400	0,840	0,520
0,260	0,680	0,300	0,670	0,320	0,270
0,200	0,270	0,440	0,280	0,100	0,310
0,120	0,350	0,370	0,270	0,350	0,490

Tabela 7. Valores do parâmetro CR-1 (profundidade máxima da rugosidade da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
42,000	49,000	43,000	43,000	53,000	56,000
37,000	38,000	53,000	50,000	45,000	53,000
47,000	53,000	62,000	41,000	65,000	56,000
50,000	49,000	34,000	33,000	74,000	42,000
50,000	34,000	39,000	56,000	39,000	39,000
32,000	44,000	41,000	43,000	41,000	29,000
46,000	48,000	43,000	47,000	40,000	36,000
65,000	58,000	36,000	44,000	52,000	33,000
41,000	56,000	32,000	34,000	52,000	43,000
37,000	40,000	49,000	43,000	41,000	34,000
32,000	42,000	50,000	45,000	57,000	67,000

Tabela 8. Valores do parâmetro Sesm (maciez da pele) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
27,580	35,490	24,510	33,430	36,500	35,300
26,600	26,400	34,010	32,250	37,940	40,500
31,970	33,880	39,400	26,640	34,290	37,800
34,580	35,650	25,670	26,740	36,000	25,560
28,170	26,580	26,740	40,220	38,500	26,080
19,980	32,840	25,680	29,780	30,290	19,760
31,550	32,590	22,450	24,730	28,210	24,320
43,790	41,020	28,000	28,800	35,840	36,690
24,590	33,000	28,190	23,930	35,380	26,100
29,710	32,350	29,820	24,240	37,940	36,310
19,830	25,840	26,000	28,000	32,350	27,230

Tabela 9. Valores da elasticidade bruta da pele (R2) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
0,4667	0,4615	0,4375	0,1429	0,500	0,300
0,500	0,3077	0,4762	0,5455	0,4524	0,4167
0,500	0,2333	0,4839	0,625	0,3571	0,3333
0,100	0,2813	0,5625	0,5152	0,3714	0,600
0,4792	0,4286	0,7308	0,7222	0,5909	0,3902
0,4737	0,6364	0,500	0,5882	0,3333	0,5429
0,4828	0,6444	0,4375	0,4286	0,5862	0,5526
0,3929	0,6286	0,3571	0,5484	0,5926	0,6944
0,450	0,320	0,5556	0,600	0,2778	0,600
0,619	0,900	0,4167	0,7895	0,3636	0,5278
0,4375	0,4364	0,500	0,6667	0,3636	0,640

Tabela 10. Elasticidade líquida (R5- Uv: distensão retardada/Ue: distensão imediata) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
0,1905	0,3636	0,2700	0,2727	0,5000	0,2500
0,4400	0,1818	0,4545	0,1000	0,4667	0,5000
0,5625	0,2000	0,3571	0,5714	0,2857	0,3333
0,6667	0,2222	0,2750	0,4400	0,3846	0,5926
0,5135	0,5556	0,5000	0,4231	0,5714	0,3750
0,5000	0,7143	0,7778	0,7143	0,3478	0,4231
0,5000	0,5111	0,5833	0,5455	0,7778	0,5357
0,3913	0,5926	0,3333	0,3030	0,6316	0,6897
0,5000	0,2857	0,2000	0,4792	0,1875	0,6154
0,7692	0,8485	0,6667	0,5263	0,3200	0,5000
0,3636	0,3696	0,3333	0,7667	0,3529	0,4737
0,5000	0,5484	0,5000	0,6957	0,1818	0,5862

Tabela 11. Valores de elasticidade biológica (R7- Ur: retração imediata/Uf: distensão final) da pele de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
0,1481	0,3077	0,2300	0,2308	0,3333	0,2000
0,2857	0,1538	0,3125	0,0909	0,3333	0,3333
0,3600	0,1667	0,2381	0,3077	0,2051	0,2222
0,4286	0,1875	0,3226	0,3438	0,2857	0,4571
0,3958	0,3571	0,3750	0,3333	0,3636	0,2927
0,3684	0,4545	0,5385	0,5556	0,2667	0,3143
0,3922	0,6571	0,3500	0,3529	0,4828	0,3947
0,3214	0,4571	0,2500	0,2381	0,4444	0,5556
0,3500	0,2400	0,1667	0,3710	0,1579	0,4000
0,5238	0,7000	0,4286	0,4286	0,2581	0,3889
0,3125	0,3091	0,2500	0,6053	0,2727	0,3600
0,3784	0,4359	0,4000	0,5333	0,1538	0,4722

Tabela 12. ΔE : diferença total de cor das manchas de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
4,52	5,16	8,70	3,15	1,74	7,18
7,38	8,75	9,94	4,22	4,70	4,71
5,56	9,30	9,92	5,24	8,59	8,90
6,59	5,88	3,62	2,10	3,10	3,20
7,89	3,96	10,77	4,93	4,57	6,60
12,14	3,62	5,00	9,00	4,91	4,69
9,89	6,45	4,67	5,35	8,92	4,27
8,42	9,22	6,70	9,94	3,39	3,51
8,62	2,49	6,47	6,00	1,35	3,57
5,46	3,91	6,53	5,38	2,95	6,75
11,28	5,51	8,57	10,94	5,15	9,70
1,56	15,49	7,47	2,30	11,65	4,82

Tabela 13. ΔL : diferença de cor em mais claro e mais escuro das manchas de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
-4,60	-3,97	-4,04	-3,14	-1,40	-3,78
-3,56	-4,40	-6,75	-3,64	-2,37	-4,13
-5,20	-6,34	-4,08	-3,44	-5,28	-1,86
-6,55	-4,69	-2,87	-0,25	-1,75	-1,12
-8,86	-3,59	-9,92	-4,42	-4,12	-5,98
-8,89	-3,56	-4,24	-7,35	-4,85	-4,43
-7,41	-3,13	-3,59	-4,94	-4,66	-3,91
-7,98	-7,29	-5,10	-9,05	-2,87	-3,36
-3,92	-2,01	-5,03	-5,43	-1,24	-3,31
-10,37	-3,58	-4,95	-4,45	-2,77	-4,75
-1,45	-5,42	-4,35	-9,43	-4,79	-4,65
-7,47	-14,67	-6,33	2,10	-9,94	-4,32

Tabela 14. Número de poros finos de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
91	97	82	76	62	67
134	140	51	61	185	204
97	111	86	73	116	105
64	89	54	70	93	116
71	71	117	87	62	54
35	61	97	121	101	93
114	127	162	175	162	158
38	39	74	56	109	105
75	109	82	102	77	105
83	135	72	83	75	66
78	132	143	139	51	83
71	58	65	33	48	54

Tabela 15. Número de poros largos de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
22	16	22	17	11	11
22	28	9	9	69	128
14	16	30	29	44	42
10	10	12	16	16	22
12	16	30	18	12	13
7	18	27	28	24	13
36	61	26	36	93	122
4	4	38	25	38	39
16	33	14	16	22	24
25	26	26	35	21	20
20	37	85	73	4	14
9	6	9	7	11	7

Tabela 16. Valor de largura (mm) dos poros largos de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
3,181	2,130	3,030	2,293	1,304	1,597
2,913	3,837	1,460	1,265	9,799	19,533
1,721	1,996	4,114	4,144	6,220	5,656
1,518	1,207	1,717	2,337	2,305	2,931
1,485	2,187	4,197	2,509	1,443	1,632
961,000	2,500	3,580	3,663	3,204	1,847
5,520	8,482	3,559	4,756	14,762	19,076
440,000	495,000	5,690	4,052	5,848	5,793
2,041	4,456	1,831	2,068	3,184	3,457
3,007	3,619	3,812	4,765	2,758	2,799
2,912	5,124	13,131	11,175	548,000	1,789
973,000	856,000	1,132	1,065	1,404	925,000

Tabela 17. Valor de largura (mm) dos poros finos de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
5,221	5,268	4,341	3,839	3,344	3,303
7,223	7,396	2,617	3,661	10,997	12,827
5,162	6,211	4,942	4,147	6,357	6,210
3,414	4,857	2,608	3,828	4,913	6,115
3,791	3,470	6,675	4,760	3,255	3,338
1,960	3,429	5,341	6,969	5,806	4,675
6,749	6,841	8,990	9,760	9,505	8,873
1,841	1,916	4,043	3,386	6,242	5,670
4,414	6,603	4,246	5,543	4,510	5,737
4,723	6,732	3,822	4,765	4,059	3,504
4,405	7,307	8,227	7,933	2,720	4,768
3,384	2,986	3,454	1,635	2,580	2,982

Tabela 18. Valores da relação de ecogeneidade de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
0,468	0,492	0,383	0,346	0,308	0,406
0,371	0,416	0,349	0,333	0,230	0,443
0,316	0,292	0,294	0,381	0,319	0,453
0,150	0,354	0,518	0,366	0,240	0,445
0,400	0,504	0,498	0,433	0,424	0,385
0,452	0,391	0,226	0,349	0,471	0,389
0,360	0,563	0,554	0,540	0,323	0,339
0,423	0,585	0,376	0,368	0,352	0,378
0,353	0,541	0,535	0,442	0,348	0,343
0,342	0,487	0,445	0,562	0,451	0,462
0,506	0,412	0,466	0,555	0,579	0,544
0,328	0,470	0,197	0,357	0,311	0,555
0,433	0,632	0,541	0,433	0,306	0,345

Tabela 19. Valores da espessura da derme (mm) de cada uma das voluntárias do estudo, antes e após 45 dias de utilização das formulações F2 (contendo apenas filtro solares), F2V (filtros solares e oligossacarídeos de alfafa) e F3 (filtros solares e ativos).

F2 t0	F2 t45	F2V t0	F2V t45	F3 t0	F3 t45
0,986	1,555	1,288	1,496	1,098	1,047
1,377	1,430	1,273	1,552	1,437	1,274
1,081	1,149	1,722	1,666	1,408	1,356
1,573	1,561	1,420	1,846	1,595	1,431
1,114	1,028	0,992	1,058	1,334	1,792
1,171	1,346	1,905	1,576	1,210	1,023
1,563	1,327	1,150	1,160	1,624	1,462
1,266	1,037	1,419	1,293	1,209	1,670
1,584	1,300	1,634	1,927	1,633	1,468
1,284	1,525	1,242	1,351	1,187	1,192
1,505	1,230	1,246	1,579	1,130	1,140
1,517	1,511	1,708	1,758	1,566	1,793
1,567	1,373	1,319	1,579	1,230	1,144

ANEXO A

Certificado de aprovação do Comitê de Ética

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Influência dos componentes da formulação cosmética nas propriedades biofísicas e estruturais da pele.

Pesquisador: Marina Mendes Fossa

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 36109214.8.0000.5403

Instituição Proponente: Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.042.228

Data da Relatoria: 17/04/2015

Apresentação do Projeto:

Idem ao parecer anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Idem ao parecer anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Foram apresentadas as justificativas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Idem ao parecer anterior.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentadas as correções solicitadas.

Recomendações:

--

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As pesquisadoras atenderam as solicitações e também responderam aos questionamentos.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Avenida do café s/n°

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-903

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3315-4213

Fax: (16)3315-4892

E-mail: cep@fcrp.usp.br

FACULDADE DE CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS DE
RIBEIRÃO PRETO - FCFRP/

Continuação do Parecer: 1.042.228

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado pelo CEP/FCFRP em sua 142ª reunião extraordinária. Em atendimento às Resoluções vigentes, deverá ser encaminhado ao CEP, através da Plataforma Brasil, o relatório final da pesquisa conforme modelo de Relatório aprovado pelo Comitê, bem como comunicada qualquer alteração, intercorrência ou interrupção da mesma. Informamos que, de acordo com a Resolução 466/12, item IV.5, letra d, o TCLE deve "ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela (s) pessoa (s) por ele delegada (s), devendo as páginas de assinaturas estar na mesma folha". Sugerimos que o TCLE seja apresentado ao sujeito da pesquisa em documento impresso frente e verso.

RIBEIRAO PRETO, 29 de Abril de 2015

Assinado por:

Cleni Mara Marzocchi Machado
(Coordenador)

Endereço: Avenida do café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-903

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3315-4213

Fax: (16)3315-4892

E-mail: cep@fcrp.usp.br

ANEXO B

Termo de consentimento

Pesquisadora responsável: Profa. Dra. Patrícia M. B. G. Maia Campos (CRF: 11922)

Médico responsável: Dr. João Carlos Lopes Simão (CRM: 94214)

Pesquisador principal: Marina Mendes Fossa.(CRF: 71898)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(de acordo com a Resolução 466 de 12/12/2012 do Conselho Nacional de Saúde)

Meu nome é Marina Mendes Fossa, sou pesquisadora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto e gostaria de lhe convidar para participar da minha pesquisa como voluntária. Estou desenvolvendo a pesquisa “Influência dos componentes da formulação cosmética nas propriedades biofísicas e estruturais da pele.”, na qual serão avaliados a estabilidade e a eficácia da aplicação de formulações cosméticas antienvhecimento contendo extratos de alfafa e mandioca por métodos não invasivos, ou seja, não causarão nenhuma lesão na pele.

Uma série de medidas por aparelhos específicos serão realizados nos seus antebraços que serão divididos em 2 regiões cada. Serão realizadas medidas iniciais e após 30 minutos da aplicação, determinando-se a “quantidade de água na pele”, a “perda de água pela pele”, o relevo da pele, utilizando-se equipamentos que avaliam a pele de maneira não invasiva, ou seja, sem causar corte, dor ou qualquer tipo de desconforto, pois possuem sondas especiais, que são somente encostadas na pele durante a leitura. Você deverá comparecer a 1 visita e o tempo de duração de cada visita é de aproximadamente 30 (trinta) minutos.

As formulações Gel-creme serão aplicadas nos antebraços apenas 1 vez.

Porém os cremes poderão eventualmente causar vermelhidão e/ou coceira, o que pode ocorrer com o uso de qualquer creme, mas para a sua segurança haverá acompanhamento da pesquisa pelo pesquisador e pelo médico, responsáveis pela mesma, sendo que, caso você venha a apresentar o menor sinal de alguma reação indesejável, você será imediatamente excluída da pesquisa e serão tomadas todas as providências necessárias para a recuperação do estado normal da sua pele e para que não fiquem sequelas, **estando nós pesquisadores obrigados a arcar com as despesas necessárias para isto.**

Além disso, será disponibilizada assistência médica em decorrência de qualquer reação adversa ou dúvidas. O contato com o médico será por intermédio dos pesquisadores aqui apresentados e/ou através do telefone e endereço abaixo informados.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – CEP/FCFRP. Em caso de dúvidas quanto aos seus direitos como voluntário de pesquisa entre em contato com o Comitê: Av Monte Alegre, s/n, FCFRP/USP, CEP 14040-903, Ribeirão Preto – SP. Fone/Fax (16) 3315-4213 e-mail: cep@fcfrp.usp.br

Se você está de acordo em participar da pesquisa, posso garantir-lhe que as informações fornecidas serão confidenciais e somente serão utilizadas neste trabalho, e se houver interesse de sua parte, os resultados lhes serão fornecidos.

Se tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, poderá entrar em contato comigo por meio dos telefones (16) 3315-4307 no endereço Av. do Café s/n, Bairro Monte Alegre, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – SP, bloco A, sala 39A-A. **E com o médico João Carlos Lopes Simão no telefone (16) 3602-2447 ou no endereço Av. Bandeirantes nº 3900, Bairro Monte Alegre, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, Ribeirão Preto – SP.**

Marina Mendes Fossa (16) 98179-3289 Av do Café, s/n° FCFRP CEP 14040-903 Ribeirão Preto/SP marinamfmg@usp.br	Patrícia M. B. G. Maia Campos (16) 3315-4307 Av do Café, s/n° FCFRP CEP 14040-903 Ribeirão Preto/SP pmcampos@usp.com	Comitê de Ética em Pesquisa (16) 3315-4213/(16) 3315-4216 Av do Café, s/n° FCFRP CEP 14040-903 Ribeirão Preto/SP cep@fcfrp.usp.br
---	--	---

Termo de consentimento

EU: _____

—, R. G. n°: _____, abaixo assinado, acredito ter sido suficientemente esclarecido(a) sobre a pesquisa **“Influência dos componentes da formulação cosmética nas propriedades biofísicas e estruturais da pele.”** e tendo recebido as informações contidas neste termo de consentimento, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar como voluntário da pesquisa citada.

1 – A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa e o tratamento a que serei submetidos;

2 – A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento, e deixar de participar do estudo sem que isso me traga alguma penalidade ou prejuízo;

3 – A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com a minha privacidade;

4 – O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando;

5 – A disponibilidade de tratamento médico e a indenização que legalmente teria direito, por parte da Instituição à Saúde, em caso de danos que justifiquem diretamente causados pela pesquisa;

6 – Que se existirem gastos adicionais, o valor gasto será reembolsado pelo orçamento da pesquisa;

7 – Que se ocorrerem reações adversas na pele (como alergia, irritações e outras), decorrente da aplicação local das formulações, os voluntários deverão interromper imediatamente o uso destas, e serei encaminhado aos cuidados do médico responsável por esta pesquisa;

8 – Que receberei uma via deste termo de compromisso.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL

Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos
CPF: 062.568.918-64

PESQUISADORA PRINCIPAL

Marina Mendes Fossa
CPF: 077.095.356-58

Tenho ciência do exposto acima e desejo colaborar com a pesquisa.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____

Assinatura do voluntário

Termo de consentimento

Pesquisadora responsável: Profa. Dra. Patrícia M. B. G. Maia Campos (CRF: 11922)

Médico responsável: Dr. João Carlos Lopes Simão (CRM: 94214)

Pesquisador principal: Marina Mendes Fossa.(CRF: 71898)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(de acordo com a Resolução 466 de 12/12/2012 do Conselho Nacional de Saúde)

Meu nome é Marina Mendes Fossa, sou pesquisadora da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto e gostaria de lhe convidar para participar da minha pesquisa como voluntária. Estou desenvolvendo a pesquisa “Influência dos componentes da formulação cosmética nas propriedades biofísicas e estruturais da pele.”, na qual serão avaliados a estabilidade e a eficácia da aplicação de formulações cosméticas antienvelhecimento contendo extratos de alfafa e mandioca por métodos não invasivos, ou seja, não causarão nenhuma lesão na pele, pois possuem sondas especiais, que são somente encostadas na pele durante a leitura.

Uma série de medidas por aparelhos específicos serão realizadas no rosto, mais especificamente nas regiões do canto externo dos olhos direito e esquerdo. Serão realizadas medidas na primeira visita e ao findar das 6 semanas de uso (2ª visita), determinando-se a “quantidade de água na pele”, a “perda de água pela pele”, a "oleosidade", o relevo da pele, avaliação da espessura da pele, viscoelasticidade da pele, coloração da pele, detecção de manchas na pele, porcentagem de poros, linhas e rugas, utilizando-se equipamentos que avaliam a pele de maneira não invasiva, ou seja, sem causar corte, dor ou qualquer tipo de desconforto, pois possuem sondas especiais. O tempo de cada visita é de aproximadamente 1 (uma) hora.

A formulação Gel-creme será aplicada na face duas vezes ao dia. Deve-se tomar cuidado com o contato do produto com os olhos, e em caso de contato lavar os olhos com água em abundância.

Com o término das avaliações clínicas, você receberá uma ficha para avaliação da eficácia do creme utilizado, na qual serão avaliados os parâmetros relacionados com o sensorial do produto na pele (opinião sobre características do produto que serão dadas através de notas) e intenção de compra.

Porém os cremes poderão eventualmente causar vermelhidão e/ou coceira, o que pode ocorrer com o uso de qualquer creme, mas para a sua segurança haverá acompanhamento da pesquisa pelo pesquisador e pelo médico, responsáveis pela mesma, sendo que, caso você venha a apresentar o menor sinal de alguma reação indesejável, você será imediatamente excluída da pesquisa e serão tomadas todas as providências necessárias para a recuperação do estado normal da sua pele e para que não fiquem sequelas, estando nós pesquisadores obrigados a arcar com as despesas necessárias para isto.

Além disso, será disponibilizada assistência médica em decorrência de qualquer reação adversa ou dúvidas. O contato com o médico será por intermédio dos pesquisadores aqui apresentados e/ou através do telefone e endereço abaixo informados.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – CEP/FCFRP. Em caso de dúvidas quanto aos seus direitos como voluntário de pesquisa entre em contato com o Comitê: Av Monte Alegre, s/n, FCFRP/USP, CEP 14040-903, Ribeirão Preto – SP. Fone/Fax (16) 3315-4213 e-mail: cep@fcfrp.usp.br

Se você está de acordo em participar da pesquisa, posso garantir-lhe que as informações fornecidas serão confidenciais e somente serão utilizadas neste trabalho, e se houver interesse de sua parte, os resultados lhes serão fornecidos.

Se tiver alguma dúvida em relação ao estudo ou não quiser mais fazer parte do mesmo, poderá entrar em contato comigo por meio dos telefones (16) 3315-4307 no endereço Av. do Café s/n, Bairro Monte Alegre, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – SP, bloco A, sala 39A-A. **E com o médico João Carlos Lopes Simão no telefone (16) 3602-2447 ou no endereço Av. Bandeirantes nº 3900, Bairro Monte Alegre, Hospital das Clínicas da FMRP-USP, Ribeirão Preto – SP.**

Marina Mendes Fossa (16) 98179-3289 Av do Café, s/nº FCFRP CEP 14040-903 Ribeirão Preto/SP marinamfmg@usp.br	Patrícia M. B. G. Maia Campos (16) 3315-4307 Av do Café, s/nº FCFRP CEP 14040-903 Ribeirão Preto/SP pmcampos@usp.com	Comitê de Ética em Pesquisa (16) 3315-4213/(16) 3615-4216 Av do Café, s/nº FCFRP CEP 14040-903 Ribeirão Preto/SP cep@fcfrp.usp.br
---	---	---

Termo de consentimento

EU: _____

_____,
R. G. nº: _____, abaixo assinado, acredito ter sido suficientemente esclarecido(a) sobre a pesquisa **“Influência dos componentes da formulação cosmética nas propriedades biofísicas e estruturais da pele.”** e tendo recebido as informações contidas neste termo de consentimento, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, concordo em participar como voluntário da pesquisa citada.

1 – A garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida a cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados com a pesquisa e o tratamento a que serei submetido;

2 – A liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento, e deixar de participar do estudo sem que isso me traga alguma penalidade ou prejuízo;

3 – A segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada com a minha privacidade;

4 – O compromisso de me proporcionar informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar minha vontade de continuar participando;

5 – A disponibilidade de tratamento médico e a indenização que legalmente teria direito, por parte da Instituição à Saúde, em caso de danos que justifiquem diretamente causados pela pesquisa;

6 – Que se existirem gastos adicionais, o valor gasto será reembolsado pelo orçamento da pesquisa;

7 – Que se ocorrerem reações adversas na pele (como alergia, irritações e outras), decorrente da aplicação local das formulações, os voluntários deverão interromper imediatamente o uso destas, **e serei encaminhado aos cuidados do médico responsável por esta pesquisa;**

8 – Que receberei uma via deste termo de compromisso.

PESQUISADOR RESPONSÁVEL
Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos
CPF: 062.568.918-64

PESQUISADORA PRINCIPAL
Marina Mendes Fossa
CPF: 077.095.356-58

Tenho ciência do exposto acima e desejo colaborar com a pesquisa.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de _____

Assinatura do voluntário