UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Influência da formulação dermocosmética na permeação de substâncias
ativas para o controle de hiperpigmentações cutâneas**

Rodolfo Scarpino Barboza Franco

**Ribeirão Preto
2020**

RESUMO

Scarpino Barboza Franco, R. **Influência da formulação dermocosmética na permeação de ativos para o controle de hiperpigmentações cutâneas**. 2020. 119 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

No mercado cosmético há várias formulações disponíveis com propriedades clareadoras, porém, ainda é pouco estudado a influência da formulação dermocosmética na permeação e eficácia de substâncias ativas clareadoras. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi desenvolver e avaliar a influência da composição de diferentes formulações como creme, gel creme e emulsão transdérmica na permeação de substâncias ativas clareadoras. Para tal, foram desenvolvidas formulações de creme, gel creme e emulsão transdérmica, acrescidas ou não das substâncias ativas tetraisopalmato de ascorbilo (TIPA) e hidroxitirosol, as quais foram submetidas à determinação do comportamento reológico e perfil de textura. A seguir, foi realizado um estudo de permeação com as formulações acrescidas de TIPA utilizando o modelo de células de difusão de Franz modificada. A extração da substância ativa foi feita na epiderme viável + derme e a determinação quantitativa por meio de cromatografia líquida de alta eficiência associada a espectrometria de massas (CLAE-EM/EM). Os resultados obtidos mostraram que as formulações apresentaram comportamento reológico não newtoniano do tipo pseudoplástico, e em relação as propriedades de textura e sensoriais a emulsão transdérmica apresentou os melhores resultados quando comparada às demais formulações estudadas. A emulsão transdérmica permitiu uma maior retenção da substância ativa TIPA no estrato córneo e epiderme viável + derme quando comparada com as formulações creme e gel creme. Em conclusão, a emulsão transdérmica pode ser sugerida como um bom carreador para a substância ativa TIPA, pois promoveu uma maior permeação comparada às outras formulações objeto de estudo. Além disso, mostrou perfil de textura compatível às finalidades propostas.

Palavras-chave: Clareadores, Dermocosméticos, Permeação, derivado lipossolúvel de vitamina C, propriedades físico-mecânicas

ABSTRACT

Scarpino Barboza Franco, Rodolfo. **Influence of the dermocosmetic formulation on the permeation of whitening substances for the treatment of hyperchromias**. 2020. 119 p. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

In the cosmetic market there are several formulations available with whitening properties, however, the influence of the dermocosmetic formulation on the permeation and efficacy of whitening substances is still poorly studied. In this context, the aim of the present study was to develop and evaluate the influence of the composition of different formulations such as cream, cream gel and transdermal emulsion on the permeation of whitening substances. For that, formulations of cream, cream gel and transdermal emulsion were developed, with or without the active substances ascorbyl tetraisoplamate (TIPA) and hydroxytyrosol, which were subjected to the determination of the rheological behavior and texture profile. Next, a permeation study was carried out with the formulations added with TIPA using the modified Franz diffusion cell model. The extraction of the active substance was done in the viable epidermis + dermis and the quantitative determination by means of high performance liquid chromatography associated with mass spectrometry (HPLC-MS/MS). The results obtained showed that the formulations showed non-Newtonian rheological behavior of the pseudoplastic type, and in relation to the texture and sensory properties, the transdermal emulsion presented the best results when compared to the other studied formulations. The transdermal emulsion allowed greater retention of the active substance TIPA in the stratum corneum and viable epidermis + dermis when compared to the cream and gel cream formulations. In conclusion, the transdermal emulsion can be suggested as a good carrier for the active substance TIPA, as it promoted greater permeation compared to the other formulations studied. In addition, it showed a texture profile compatible with the proposed purposes.

Keywords: Whitening substances, Dermocosmetics, Permeation, vitamin C liposoluble derivative, physical-mechanical properties

1. INTRODUÇÃO

1.1 Contextualização

Há poucos estudos relatados na literatura que descrevem como o veículo utilizado em formulações dermocosméticas influencia na permeação de substâncias ativas clareadoras e, conseqüentemente, na eficácia e segurança do tratamento de hiperpigmentações cutâneas.

Além do mecanismo de ação das substâncias ativas clareadoras prescritas nos tratamentos para hiperpigmentação cutânea, a formulação desempenha papel fundamental na eficácia dessas, pois sua liberação nas camadas epidérmicas é promovida por formulações com aplicação dermocosmética como as emulsões - cremes, géis cremes e transdérmicos, ou a partir de polímeros para a formação de géis (MAIA CAMPOS et al., 2014). O desenvolvimento dessas formulações busca melhorar a liberação da substância ativa no alvo desejado, mas este é um processo complexo que depende de diversos fatores físico-químicos e fisiológicos (ATTWOOD et al., 2003; PETRILLI et al., 2016; MARTO et al., 2016).

Neste contexto, estudos de permeação cutânea são de grande relevância, uma vez que as formulações necessitam liberar a substância ativa com propriedades clareadoras nas camadas mais profundas da epiderme, pois é na camada basal, entre os queratinócitos, que estão localizados os melanócitos, responsáveis pela produção de melanina (GRANDAHN et al., 2018; PRAÇA et al., 2018).

O processo de penetração do veículo com a substância ativa é dependente das propriedades físico químicas das substâncias ativas, e, também, da própria composição formulação veículo.

Além disso, como citado anteriormente, as características da pele são importantes no processo de permeação cutânea. Fatores como: espessura e integridade da epiderme, composição de macromoléculas (alta concentração de lipídeos no estrato córneo), região da aplicação, idade, fluxo sanguíneo e pH da pele interferem na liberação das substâncias ativas carregadas pelos diferentes tipos de formulações. Podemos destacar também a influência da hidratação da pele, pois, uma pele mais hidratada promove tumefação das estruturas compactas da camada cornificada da epiderme diminuindo a resistência da mesma e aumentando a

penetração de algumas substâncias ativas (ATTWOOD et. al., 2003; LANE, 2013; LOPES et al., 2015; LEMOS et al., 2018). Além da influência da composição do veículo na permeação e eficácia de formulações clareadoras, elas também são dependentes de outras características como as propriedades físico-químicas e físico-mecânicas, refletindo no comportamento reológico e nas propriedades de textura de formulações cosméticas, respectivamente (CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2017; RISALITI et al., 2018).

Estudos de penetração cutânea de formulações dermocosméticas são de fundamental importância, pois a penetração cutânea pode influenciar na eficácia dos produtos dermocosméticos, como os clareadores, que contém, dentre outros, antioxidantes, os quais atuam principalmente na camada basal da epiderme (TSAI et al., 2010; LU et al., 2019).

Estudos preliminares em pele de orelha de porco por meio da técnica de célula de Franz são utilizados para avaliar a penetração de diferentes tipos de substâncias ativas, porém a pele humana apresenta características fisiológicas diferentes que influenciam na penetração destas formulações (CHOE, et al., 2015; RANAMUKHAARACHCHI, et al., 2016; SILVA MEIRA, et al., 2020).

No Brasil, o uso de pele humana para avaliar a penetração de formulações dermocosméticas ainda é recente, porém apresenta um crescimento acelerado devido a necessidade do desenvolvimento de metodologias que não utilizem animais (*cruelty-free*) na avaliação de formulações cosméticas e dermocosméticas.

Além disso, estudos de penetração com pele humana obtida de abdominoplastia, entre outras e com voluntários sadios (CHOE, et al., 2015; RANAMUKHAARACHCHI, et al., 2016), por meio de técnicas *ex vivo* e *in vivo*, são importantes para obtenção de resultados mais fidedignos, pois, mimetizam as condições reais de aplicação das formulações e representam, portanto, um avanço para a redução do uso de animais.

Nesse contexto, considerando que a hiperpigmentação e outras alterações pigmentares são uma das principais queixas em consultórios dermatológicos no Brasil, representando grande importância dermocosmética (SCHAEFER, 2018), o presente estudo comparou diferentes formulações com aplicações dermocosméticas em relação à permeação de substâncias ativas clareadoras e às propriedades

reológicas e de textura, contribuindo para o desenvolvimento de formulações clareadoras mais eficazes.

1.2 Morfologia e fisiologia da pele

A pele é um sistema epitelial que tem como uma de suas principais funções isolar as estruturas internas, delimitando e protegendo-as contra agressões do meio externo. Com isso, a pele atua como uma fronteira limitante entre o organismo e o ambiente, protegendo-o, assim, frente ao exossoma (MILLER & JONES, 2014; DENNIS, et. al., 2016; KRUTMANN, et. al., 2017; KABASHIMA, et. al., 2018). Além disso, a pele, devido à sua composição e estrutura complexa, exerce funções como a manutenção da sua própria integridade e da integridade do organismo, absorção e secreção de fluidos, controle do pH e temperatura corporal, metabolismo de vitamina D e funções estéticas e sensoriais (DHARADHAR, et al, 2019; PARIKH, et al, 2019).

A camada mais externa é a epiderme e ela não possui sistema de irrigação sanguínea direta, então, os nutrientes são transportados através da capilaridade. Essa camada atua como uma barreira protetora, contra o ambiente externo e, ao mesmo tempo, retendo o conteúdo interno, principalmente água, nutrientes e eletrólitos. Um dos principais componentes da epiderme são os queratinócitos, que são células especializadas produtoras de queratina e, quando sofrem o processo de estratificação, gera os corneócitos. Além disso, essa camada é composta por outros tipos de células especializadas como os melanócitos, células de Merkel e as células de Langerhans. Também, ela é transpassada pelos anexos invaginados na derme, como os folículos pilosos, sebáceos e glândulas sudoríparas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013; NIKOLAKIS, MAKRANTONAKI, ZAUBOULIS, 2016).

A epiderme é constituída por diversas subcamadas: o estrato córneo, ou manto hidrolipídico da pele, o qual é composto diferentes lipídeos (Tabela 1), estrato lúcido (presente apenas em peles espessas, como a sola dos pés e das mãos), estrato granuloso, estrato espinhoso e estrato basal. Os queratinócitos que as compõem sofrem o processo de maturação, quando passam de uma camada para outra, até serem eliminados (Figura 1) (BRAGAZZI, et al, 2019).

Figura 1. Representação esquemática das camadas da pele.

Fonte: Adaptado de JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013

Tabela 1. Composição lipídica média da epiderme humana durante o processo de diferenciação e cornificação.

Componente	Estrato basal e espinhoso	Estrato granuloso	Estrato córneo	
			Total	Externo
	%	%	%	%
Lipídios polares	44.5	25.3	4.9	2.3
Sulfato de colesterol	2.4	5.5	1.5	3.4
Lipídeos neutros	51.0	56.5	77.7	68.4
Esteróis livres	11.2	11.5	14.0	18.8
Ácidos graxos livres	7.0	9.2	19.3	15.6
Triglicerídeos	12.4	24.7	25.2	11.2
Ésteres de colesterol/graxos	5.3	4.7	5.4	12.4
Esqualeno	4.9	4.6	4.8	5.6
N-alcano	3.9	3.8	6.1	5.4
Esfingolipídios	7.3	11.7	18.1	26.6
Glucosilceramidas I	2.0	4.0	Traços	Traços
Glucosilceramidas II	1.5	1.8	Traços	Traços
Cerâmidas I	1.7	5.1	13.8	19.4
Cerâmidas II	2.1	3.7	4.3	7.2

Fonte: Adaptado de Franz & Lehman, 2000.

A camada basal é constituída por células proliferativas, cuja função é se multiplicar gerando novas células diferenciadas ou proliferativas, para dar continuidade ao ciclo. Após algumas replicações, essas células começam a se diferenciar, formando as camadas da epiderme (HOUBEN, DE PAEPE; ROGIERS, 2007). Além disso, é nessa camada onde encontram-se as células de Langerhans, responsáveis pela defesa imunológica da pele, as células de Merkel, que atuam como receptores mecânicos na percepção tátil e os melanócitos, que são células dendríticas, produtoras de melanina e responsáveis pela pigmentação da pele (GANDOLFI, IANNELLI, MARINOSCHI, 2020).

O estrato espinhoso é composto por células espinhosas poligonais. É nesse estágio que se inicia o processo de queratinização, onde as células unem-se às suas vizinhas, através de pequenos filamentos de queratina, os desmossomos. Também, é nessa camada que ocorre o início da formação de grânulos de queratohialina e subestruturas lamelares – os corpos lamelares, os quais serão, posteriormente, responsáveis pela formação do manto hidrolipídico da pele (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013; MENON, LEE, & LEE, 2018).

O estrato granuloso é caracterizado pela grande presença de grânulos de queratina nas células. Quando acontece a maturação das células espinhosas, ocorre perda do núcleo e o achatamento dos queratinócitos, formando as placas de queratina. Além disso, o estrato granuloso é composto por estruturas filtrantes, os corpos lamelares. Estes possuem, em sua composição, uma mistura de lipídios – fosfolipídios, esfingolipídios e colesterol. Essas estruturas liberam, por exocitose, a mistura de lipídios no espaço intercelular do estrato córneo, formando o manto hidrolipídico (ELIAS, et al, 1979; MENON, LEE, & LEE, 2018; USUI, et al, 2019).

O estrato lúcido é formado por células mortas, achatadas, ricas em queratina e anucleadas. É encontrado entre o estrato córneo e o estrato granuloso. Porém, essa camada está presente apenas em regiões mais espessas, como as pontas dos dedos, palma das mãos e sola dos pés. Ela é originada pela fricção e exerce função de proteção mecânica (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013; BRAGAZZI, et al, 2019).

A camada mais externa, o estrato córneo, é composto por intercalações entre os corneócitos e as estruturas lipídicas lamelares. Com isso, as substâncias químicas que não são água, só conseguem permear a pele através das camadas lipídicas

intercelulares, ao contrário da água que, ao passar pelos corneócitos, ela será retida pelas fibras de queratina que são altamente hidrofílicas (HOUBEN; DE PAEPE; ROGIERS, 2007; BRAGAZZI, et al, 2019). Os corneócitos são preenchidos por uma rede amorfa de fibrilas que lhes confere resistência mecânica, principalmente ao estiramento vertical e menos ao estiramento longitudinal. Em uma pele saudável, os corneócitos apresentam alto fator natural de hidratação (NMF - *Natural moisturizer factor*), que são compostos por moléculas de baixo peso molecular, higroscópicas e que se ligam a água. Especificamente, o NMF é composto, principalmente, por ácido carboxílico da pirrolidona (PCA), ácido urocânico, lactato, uréia, serina, glicina, arginina, ornitina, citrulina, alanina, histidina e fenilalanina (HARDING, et al, 2000; FOWLER, 2012; AREZKI et al., 2016).

Abaixo da epiderme, encontra-se a derme, que é composta por tecido conjuntivo, vascularizada, e fibroelástica que nutre a epiderme. Nela encontram-se os apêndices da epiderme - os folículos pilosos e glândulas sudoríparas e sebáceas - e, também as terminações nervosas, vasos sanguíneos, entre outros. Além disso, a derme apresenta células como fibroblastos e fibras de colágeno e elastina, onde o colágeno é responsável por fornecer a sustentação e prevenir o estiramento excessivo, enquanto a elastina permite a volta da pele após o estiramento (MENON E KLIGMAN, 2009; EDWARDS e MARKS, 1995). A derme pode ser subdividida em derme papilar - fina e constituída por tecido conjuntivo frouxo e papilas - e derme reticular – espessa, irregular e constituída por tecido conjuntivo denso que garante a força e elasticidade da pele (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Sendo assim, conhecer a biologia e bioquímica da pele é fundamental para o desenvolvimento de produtos cosméticos de uso tópico para que a formulação, junto com a substância ativa, seja direcionada e atue na manutenção da homeostase cutânea, desta forma contribuindo para a saúde e beleza da pele.

1.3 Melanogênese e despigmentantes

Os melanócitos são células dendríticas localizadas na epiderme e na derme e possuem a função de produzir melanina. Esta é a substância responsável pela pigmentação da pele, pelos e cabelos e, quando em excesso, originam as manchas (SERRE et al., 2018; FU et al., 2020).

Além disso, a melanina é fundamental para a proteção celular, especialmente para o DNA nuclear, pois protege as células contra a radiação solar (SERRE et al., 2018). A célula ao receber a radiação ultravioleta é protegida pela melanina, que reduz os efeitos deletérios consequentes à exposição, pois a melanina sintetizada é oxidada pela radiação, ao invés das outras biomoléculas, assim protegendo todo o conteúdo celular (VIDEIRA et al., 2013; SERRE et al., 2018; FU et al., 2020).

A síntese de melanina (melanogênese) é um processo complexo, que ocorre nos melanócitos, tendo como principal precursor a L-tirosina. Este aminoácido, produzido no citosol pela hidroxilação da L-fenilalanina, é transportada para dentro dos melanócitos, dando início à melanogênese (VIDEIRA et al., 2013; SERRE et al., 2018).

Então, a L-tirosina é convertida a L-Dopa pela ação da tirosinase (etapa lenta e determinante da velocidade do processo) e, em seguida é convertida a dopaquinona pela ação da mesma enzima, a tirosinase (SIMON et al., 2009). A partir desse ponto, a reação pode seguir dois caminhos. O primeiro, é a conversão da dopaquinona em cisteinildopa, em seguida forma-se a alanil-hidroxi-benzotiazina e, por fim, é formado a feomelanina – tons amarelados e vermelhos. O segundo caminho é a conversão da dopaquinona em dopacromo (OHBAYASHI e FUKUDA, 2020). Neste ponto, o dopacromo se decompõe espontaneamente, por descarboxilação em pH neutro, para formar a eumelanina DHI (di-hidroxi-indol), que promove tons de preto. Porém, se há a ação da dopacromo tautomerase (TRP-2), o dopacromo sofre tautomerização e há a formação da eumelanina DHICA (ácido di-hidroxi-indol carboxílico), responsável por tons de marrom (Figura 2) (VIDEIRA et al., 2013; SERRE et al., 2018; QIAN et al., 2020).

Então, as eumelaninas são biopolímeros nitrogenados polimorfos, DHI e DHICA, que apresentam tonalidades do marrom ao preto. Elas são o principal tipo em indivíduos com pele e cabelos escuros e é mais eficiente na fotoproteção que, por apresentarem uma subunidade semiquinona, participam de reações redox interagindo com espécies reativas de oxigênio (EROS) e radicais livres (SLOMINSKI et al., 2004; OHBAYASHI e FUKUDA, 2020). Com isso, esses biopolímeros, além de proporcionar a cor, atuam na proteção das células basais da epiderme contra a radiação ultravioleta (UV). Consequentemente, os indivíduos que produzem mais

melanina são menos propensos a queimaduras solares e câncer de pele (SIMON et al., 2009; VIDEIRA et al., 2013; QIAN et al., 2020).

Por outro lado, a feomelanina apresenta tonalidades do amarelo ao vermelho - formado pela conjugação de cisteína ou glutatona – e é encontrada predominantemente em indivíduos com cabelos ruivos e de pele clara. Ao contrário da eumelanina, ela exibe comportamento pró-oxidante fototóxico nos quais os indivíduos são mais propensos a apresentarem câncer de pele e queimaduras solares (SIMON et al., 2009; VIDEIRA et al., 2013; QIAN et al., 2020; OHBAYASHI e FUKUDA, 2020).

Figura 2. Rota biossintética da produção dos pigmentos de eumelanina e feomelanina

Fonte: Acervo pessoal (SIMON et al., 2009; VIDEIRA et al., 2013; SERRE et al., 2018).

Considerando que a melanogênese envolve um processo de oxidação, antioxidantes podem ser utilizados para inibir a produção de melanina. Dessa forma, alguns antioxidantes como o ácido ascórbico e derivados e o hidroxitirosol vem sendo propostos para aplicação em formulações dermocosméticas com propriedades despigmentantes

O derivado lipossolúvel da vitamina C, tetraisopalmitato de ascorbila, apresenta atividade antioxidante, protegendo os danos da radiação UVA/UVB, bem como atua sobre os melanócitos reduzindo a atividade da tirosinase (Figura 3) (MAIA CAMPOS et al., 2012; JEON, et al., 2016; NARDA, et al., 2020; GOLDBERG, et al., 2020).

O hidroxitirosol, de caráter hidrofílico, que possui ação inibitória em diversas etapas na síntese de melanina, promove proteção frente a exposição UVA/UVB, estimula a renovação celular e atua nos melanócitos, o que resulta em benefícios para a pele devido ao seu alto potencial antioxidante (Figura 4) (HU et al., 2014; OMAR, et al., 2018; RODRIGUES, et al., 2018; MAHESH, et al., 2019).

Figura 3. Estrutura química do derivado lipossolúvel de vitamina C – tetraisopalmitato de ascorbila (TIPA).

Figura 4. Estrutura química do hidroxitirosol nos extratos aquoso e seco de oliva.

1.4 Permeação e penetração cutânea

A permeação e penetração de substâncias ativas pode ocorrer por duas vias sendo a transepidérmica e a transfolicular. Ambas as vias apresentam suas especificidades, que dentre elas facilitam a permeação de substâncias ativas de acordo com a lipofilicidade, tamanho molecular, carga e estrutura destas (LANE, 2013; ALKILANI, et al., 2015; SILVA MEIRA, et al., 2020).

Substâncias lipofílicas devido a sua natureza química tendem a penetrar na pele pelo caminho intercelular, no qual a substância se difunde na pele por meio da bicamada lipídica do estrato córneo. Já substâncias hidrofílicas e/ou de baixo peso molecular realizam o caminho intracelular, desta forma, penetrando entre as células e se difundindo para as camadas mais profundas da pele. Além disso, estas substâncias também apresentam facilidade de penetração pelo caminho transfolicular, no qual as substâncias se difundem diretamente para a derme através do folículo piloso (LANE, 2013; ALKILANI, et al., 2015; SILVA MEIRA, et al., 2020).

A permeação e penetração de substâncias é dependente de diversos fatores como a integridade do estrato córneo, hidratação dos corneócitos, peso molecular, solubidade e concentração das substâncias, e do sistema de entrega das substâncias os quais atuam melhorando e otimizando a entrega das substâncias ativas à partir da desestruturação do manto hidrolipídico da pele (LANE, 2013; ALKILANI, et al., 2015; SILVA MEIRA, et al., 2020).

1.5 Propriedades reológicas e de textura

1.5.1 Propriedades reológicas

Para garantir a estabilidade de um produto cosmético, é preciso submetê-lo, durando o processo de desenvolvimento, em condições que acelerem seu processo de degradação. Para tal, o acondicionamento desses produtos em temperaturas extremas, por exemplo, é uma maneira de acelerar a desestabilização química da formulação. Além disso, a análise de pH, alteração de cor, odor, uniformidade e viscosidade são necessárias para garantir a estabilidade dos cosméticos ao longo do tempo (ANVISA, 2004).

Diversos motivos podem levar a essa instabilidade, como os componentes de uma formulação ou até mesmo a adição de ingredientes ativos, bem como suas concentrações. Então, essas alterações físicas também podem ser avaliadas pela análise do comportamento reológico (GARBOSA; MAIA CAMPOS, 2016).

Essa análise é definida como estudo o estudo do comportamento de fluxo e deformação da matéria, onde a formulação é cisalhada formando uma curva ascendente composta pelos eixos “Taxa de cisalhamento” *versus* “Tensão de cisalhamento” (CALIXTO E MAIA CAMPOS, 2017). A partir do gráfico, é possível determinar o índice de fluxo das formulações, onde os fluidos, dependendo do valor, podem ser classificados em newtonianos ou não newtonianos (CALIXTO E MAIA CAMPOS, 2017).

Os fluidos newtonianos apresentam deformação de fluxo diretamente proporcional a tensão de cisalhamento, sem que haja alteração da sua viscosidade. Por outro lado, os fluidos não newtonianos apresentam alteração da sua viscosidade dependendo da tensão de cisalhamento (MARRIOT, 2008; MAIA CAMPOS, et al, 2012). Os fluidos são classificados de acordo com o tempo, em reopéticos e tixotrópicos (MARRIOTT, 2008), onde a viscosidade é alterada em função do tempo de cisalhamento. Os tixotrópicos perdem viscosidade e os reopéticos ganham viscosidade de acordo com o tempo de cisalhamento (SHIROMA, 2012).

Os fluidos não newtonianos também podem ser classificados de acordo com as suas propriedades de fluxo. Quando a viscosidade diminui com a força aplicada – cisalhamento, o fluxo é plástico ou pseudoplástico e quando ele aumenta, o fluxo é

dilatante (Figura 5). Os materiais plásticos são aqueles que precisam de uma tensão inicial para começarem a fluir, apresentando curva de fluxo com início em um ponto diferente da origem, esse ponto é denominado ponto de cedência (Figura 5) (CALIXTO E MAIA CAMPOS, 2017; Eudier, et al., 2019; Faucheux, et al., 2020), enquanto que os materiais pseudoplásticos apresentam em geral curva de fluxo passando pela origem (Figura 5). Também, o fluxo pseudoplástico é o mais comum e o mais aplicado para produtos cosméticos, pois apresentam viscosidade compatíveis com a grande maioria das preparações cosméticas, como géis, emulsões e shampoos, além de permitirem um bom espalhamento, formando uma cobertura sobre a pele (MAIA CAMPOS, et al, 2012). O mesmo resultado não ocorre com fluidos newtonianos devido ao rápido escoamento sobre a pele, formando uma distribuição não uniforme (MARTIN; BUSTAMANTE; CHUN, 1993, Eudier, et al., 2019).

Além disso, o fluxo pseudoplástico pode apresentar a tixotropia, o que facilita ainda mais a espalhabilidade e até mesmo a penetração de substâncias ativas. A tixotropia é calculada por meio da área formada entre a curva ascendente e descendente do reograma. Esse resultado indica a capacidade de uma formulação cosmética de reconstituir sua estrutura após a aplicação de uma força.

Figura 5. Comportamento de fluidos não newtonianos

Fonte: Acervo pessoal.

1.5.2. Propriedades de textura

A textura, que pode ser definida como a resposta tátil a um estímulo físico gerado por meio de um contato entre a pele e um produto (BOURNE, 2012). Essa análise permite avaliar parâmetros como a consistência, firmeza, espalhabilidade, coesividade, entre outros, que podem ser relacionados e predizer as características sensoriais de uma formulação. Durante o desenvolvimento de novos produtos cosméticos, o sensorial é um parâmetro que deve ser fortemente considerado a fim de obter um produto que seja agradável ao toque e, conseqüentemente, fidelizando o consumidor. Então, em paralelo ao desenvolvimento, a avaliação sensorial deve ser executada em conjunto (PENSÉ-LHÉRITIER, 2015; CALIXTO E MAIA CAMPOS, 2017).

Nesse contexto, a análise do perfil de textura pode predizer as características sensoriais de uma formulação, facilitando, assim, o desenvolvimento de cosméticos com o sensorial desejado. Então, a análise *back extrusion* consiste na aplicação de uma força sobre a formulação, de forma que esta seja deformada e escorra para as laterais da célula de extrusão (Figura 6).

No caso do perfil de textura, o êmbolo, que aplica a força, é um disco plano e a célula de extrusão, onde a formulação é acondicionada é um copo cilíndrico. Ao iniciar a análise, o ponto mais alto da curva durante a compressão, indica o grau de firmeza da formulação e a área sobre essa curva, indica seu índice de consistência. Quando o êmbolo inicia o movimento inverso, ou seja, de descompressão da formulação, o ponto mais alto da curva inversa indica a coesividade e a área sob essa curva indica o índice de viscosidade (Figura 7). Então, a firmeza é a força máxima que o êmbolo precisa fazer para penetrar na formulação e a coesividade é a força que ele executa para romper a força de coesão entre a formulação e o fundo da célula de extrusão (TAI, et al, 2014; CALIXTO E MAIA CAMPOS, 2017).

Figura 6. Representação esquemática da análise do perfil de textura – back extrusion.

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 7. Representação esquemática do gráfico obtido pelo software Texture Exponent 3.0.5.0 na análise de textura.

Adaptado: CALIXTO e MAIA CAMPOS, 2017.

A análise de espalhabilidade segue o mesmo princípio de *back extrusion*, a diferença está no formato da extremidade do êmbolo, que no outro teste era um disco e nesse é cônico – sonda cônica - com ângulo de 45° e a célula de extrusão acompanha esse formato cônico, para que se encaixe com o êmbolo perfeitamente (Figura 8 e 9). Com isso, o parâmetro obtido por essa técnica é o trabalho de cisalhamento. Este é obtido durante a deformação da formulação quando o êmbolo aplica uma força sobre ela (Figura 10), sendo que esse parâmetro é inversamente proporcional a espalhabilidade, ou seja, quanto menor trabalho de cisalhamento, melhor é a espalhabilidade de uma formulação (CALIXTO E MAIA CAPOS, 2017).

Assim, podemos dizer que a análise do perfil de textura determina um conjunto de propriedades físicas de uma formulação - gerados pela estrutura interna do material que é determinado pelas interações moleculares dos seus constituintes - que podem ser correlacionadas com o sensorial (CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2017). Sendo assim, a importância desse teste está em poder caracterizar e prever as propriedades sensoriais que deverão ser apresentadas na formulação final, de acordo com a finalidade proposta.

Figura 8. Representação esquemática da análise de espalhabilidade – *back extrusion*.

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 9. Representação prática da análise de espalhabilidade da formulação emulsão transdérmica (T1) – *back extrusion*

Fonte: Acervo pessoal.

Figura 10. Representação esquemática do gráfico obtido pelo software Texture Exponent 3.0.5.0 na análise de espalhabilidade.

Fonte: software *Texture Exponent 3.0.5.0* na análise de espalhabilidade.

5. CONCLUSÕES

De acordo com as condições experimentais desse estudo foi possível concluir que:

As substâncias ativas objeto de estudo não apresentam potencial de citotoxicidade e fototoxicidade, sendo consideradas seguras.

As formulações desenvolvidas foram estáveis e apresentaram comportamento reológico não newtoniano do tipo pseudoplástico.

As formulações com maior carga oleosa – emulsão transdérmica e creme, apresentaram resultados de perfil de textura e propriedades sensoriais semelhantes, porém a emulsão transdérmica obteve melhores resultados nos parâmetros avaliados.

O método analítico proposto apresentou conformidade para a quantificação do derivado lipossolúvel de vitamina C.

O modelo de pele humana apresentou resultados de permeação no estrato córneo e epiderme viável + derme, os quais mimetizam melhor as reais condições de aplicação das formulações dermocosméticas contendo o derivado lipossolúvel de vitamina C.

A emulsão transdérmica apresentou os melhores resultados no estudo de permeação tanto no modelo de pele de orelha de porco e pele humana *in vivo* e *in vitro* sendo, portanto, sugerida como uma nova abordagem no tratamento de hiperpigmentações cutâneas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANVISA. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Vol. 1, 2014.
http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content%2F101_assetEntryId=108217&_101_type=document. < Acessado as 21:59 horas horário de Brasília em 19 de junho de 2019 >.
- AREZKI, N. R.; WILLIAMS, A. C.; COBB, A. J. A.; BROWN, M. B. Design, synthesis and characterization of linear unnatural amino acids for skin moisturization. **International journal of cosmetic science**, v.31, p.72-82, 2016.
- ATTWOOD, DAVID; FLORENCE, ALEXANDER TAYLOR; ROTHSCCHILD, ZULEIKA. **Princípios físico-químicos em farmácia**. Vol. 4. Edusp, cap. 7, pág. 345-411, 2003.
- BASU, S.; SHIVHARE, U.S. Rheological, textural, micro-structural and sensory properties of mango jam. **Journal of food engineering**. v.100, n.2, p.357-365, 2010.
- BAYARRI, S.; CARBONELL, I.; COSTELL, E. Viscoelasticity and texture of spreadable cheeses with different fat contents at refrigeration and room temperatures. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 12, p. 6926-6936, 2012.
- Bragazzi, N. L.; Sellami, M.; Salem, I.; Conic, R.; Kimak, M.; Pigatto, P. D. M.; & Damiani, G. Fasting and its impact on skin anatomy, physiology, and physiopathology: A comprehensive review of the literature. **Nutrients**, 11(2), 249, 2019.
- CALIXTO, L. S.; INFANTE, V. H. P.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; Design and Characterization of Topical Formulations: Correlations Between Instrumental and Sensorial Measurements; **American association of pharmaceutical scientists**, V.19, n.4, p.1512–1519, 2018.
- CALIXTO, L. S.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Physical Mechanical characterization of cosmetic formulations and correlation between instrumental measurements and

sensorial properties. **International journal of cosmetic science**, v. 39, p. 527-534, 2017.

CAMPOS, P. M. B. G.; GIANETI, M. D.; CAMARGO JR, F. B.; & GASPAR, L. R. Application of tetra-isopalmitoyl ascorbic acid in cosmetic formulations: Stability studies and in vivo efficacy. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, 82(3), 580-586. 2012.

COBIOISA, HidrOlive+ - Technical Information, 2016.

DENNIS, K. K.; AUERBACH, S. S.; BALSHAW, D. M.; CUI, Y.; FALLIN, M. D.; SMITH, M. T.; & MILLER, G. W.. The importance of the biological impact of exposure to the concept of the exposome. **Environmental health perspectives**, 124(10), 1504, 2016.

DHARADHAR, S.; MAJUMDAR, A.; DHOBLE, S.; & PATRAVALE, V. Microneedles for transdermal drug delivery: a systematic review. **Drug development and industrial pharmacy**, 45(2), 188-201, 2019.

DOOLEY, L.; LEE, Y. S.; & MEULLENET, J. F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food quality and preference**, 21(4), 394-401, 2010.

EDWARDS, C.; MARKS, R. Evaluation of biomechanical properties of human skin. **Clinics in dermatology**, v. 13, n. 4, p. 375–380, 1995.

ELIAS, P. M.; BROWN, B. E.; FRITSCH, P.; GOERKE, J.; GRAY, G. M.; & WHITE, R. J. Localization and composition of lipids in neonatal mouse stratum granulosum and stratum corneum. **Journal of investigative dermatology**, 73(5), 339-348, 1979.

FOWLER, J. Understanding the role of natural moisturizing factor in skin hydration. **Pract Dermatol**, 9, 36-40, 2012.

FRANZ, T. J.; & LEHMAN, P. A. The skin as a barrier: structure and function. In *Biochemical Modulation of Skin Reactions: Transdermals, Topicals, Cosmetics* (pp. 15-33). **CRC Press Boca Raton, FL**, 2000.

FU, C.; CHEN, J.; LU, J.; YI, L.; TONG, X.; KANG, L.; ... & ZHAO, X. Roles of inflammation factors in melanogenesis. **Molecular Medicine Reports**, 21(3), 1421-1430, 2020.

GANDOLFI, A.; IANNELLI, M.; & MARINOSCHI, G. The Basal Layer of the Epidermis: A Mathematical Model for Cell Production Under a Surface Density Constraint. **SIAM Journal on Applied Mathematics**, 80(1), 543-571, 2020.

GARBOSSA, W. A. C.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Euterpe oleracea, Matricaria chamomilla, and Camellia sinensis as promising ingredients for development of skin care formulations. **Industrial Crops and Products** 83: 1-10, 2016.

GIANETI, M. D.; GASPAR, L. R.; BUENO DE CAMARGO JÚNIOR, F.; & BERARDO GONÇALVES MAIA CAMPOS, P. M. Benefits of combinations of vitamin A, C and E derivatives in the stability of cosmetic formulations. **Molecules**, 17(2), 2219-2230, 2012.

GOLDBERG, D. J.; MRAZ-ROBINSON, D.; & GRANGER, C. Efficacy and safety of a 3-in-1 antiaging night facial serum containing melatonin, bakuchiol, and ascorbyl tetraisopalmitate through clinical and histological analysis. **Journal of Cosmetic Dermatology**, 19(4), 884-890. (2020).

GRANDAHL, K.; ERIKSEN, P.; IBLER, K. S.; BONDE, J. P.; & MORTENSEN, O. S. Measurements of solar ultraviolet radiation exposure at work and at leisure in Danish workers. **Photochemistry and photobiology**, 94(4), 807-814, 2018.

HARDING, C.R.; LONG, S.; RICHARDSON, J.; ROGERS, J.; ZHANG, Z.; BUSH, A.; RAWLINGS, A.V. The cornified cell envelope: an important marker of stratum corneum maturation in healthy and dry skin. **International Journal of Cosmetic Science**. v.25, n.4, p.157-67, 2000.

HERZOG, BERND; OSTERWALDER, ULI. Simulation of sunscreen performance. **Pure and Applied Chemistry**, v. 87, n. 9-10, p. 937-951, 2015.

HEWITT, Julian; DAHMS, G. H. Rheology-its effect on physical SPFs. **Soap Perfumery and Cosmetics**, v. 69, n. 3, p. 23, 1996.

HOUBEN, E.; DE PAEPE, K.; ROGIERS, V. A Keratinocyte's Course of Life. **Skin pharmacology and physiology**, v. 20, n.3, p. 122-132, 2007.

HU, T.; HE, X. W.; JIANG, J. G.; & XU, X. L. Hydroxytyrosol and its potential therapeutic effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62(7), 1449-1455, 2014.

IKEUCHI-TAKAHASHI, Y.; KOBAYASHI, A.; ISHIHARA, C.; MATSUBARA, T.; MATSUBARA, H.; ONISHI, H. Influence of Polysorbate 60 on Formulation Properties and Bioavailability of Morin-Loaded Nanoemulsions with and without Low-Saponification-Degree Polyvinyl Alcohol. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 41(5), 754-760. (2018).

JEON, J. S.; KIM, H. T.; KIM, M. G.; OH, M. S.; HONG, S. R.; YOON, M. H.; ... & ABD EL-ATY, A. M. Simultaneous detection of glabridin,(-)- α -bisabolol, and ascorbyl tetraisopalmitate in whitening cosmetic creams using HPLC-PAD. **Chromatographia**, 79(13-14), 851-860. (2016).

JUNQUEIRA, L. C. & CARNEIRO, J. Pele e anexos. *Histologia Básica*, ed, v. 12, p. 303–309, 2013.

KABASHIMA, K.; HONDA, T.; GINHOUX, F.; & EGAWA, G. The immunological anatomy of the skin. **Nature Reviews Immunology**, 1, 2018.

KAWAKAMI, C. M.; & GASPAR, L. R. Mangiferin and naringenin affect the photostability and phototoxicity of sunscreens containing avobenzone. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 151, p. 239-247, 2015.

KHIAO IN, M.; RICHARDSON, K. C.; LOEWA, A.; HEDTRICH, S.; KAESSMEYER, S.; & PLENDL, J. Histological and functional comparisons of four anatomical regions of porcine skin with human abdominal skin. **Anatomia, histologia, embryologia**, 48(3), 207-217. (2019).

KIM, J. Y.; SONG, J. Y.; LEE, E. J.; PARK, S.K. Rheological properties and microstructures of Carbopol gel networks system. **Colloid and Polymer Science.**, v.281, p.614-623, 2003.

KRUTMANN, J.; BOULOC, A.; SORE, G.; BERNARD, B. A.; & PASSERON, T. The skin aging exposome. **Journal of dermatological science**, 85(3), 152-161, 2017.

LANE, M. E. Skin penetration enhancers. **International journal of pharmaceutics**, 447(1-2), 12-21, 2013.

LEE C.H.; MOTURI, V.; LEE, Y.; Thixotropic property in pharmaceutical formulations, **Journal of Controlled Release**, v.136 p.88–98, 2009.

LEMOS, C. N.; PEREIRA, F.; DALMOLIN, L. F.; CUBAYACHI, C.; RAMOS, D. N.; & LOPEZ, R. F. Nanoparticles influence in skin penetration of drugs: In vitro and in vivo characterization. **Nanostructures for the Engineering of Cells, Tissues and Organs** (pp. 187-248). William Andrew Publishing, 2018.

LOPES, L. B.; J GARCIA, M. T.; & LB BENTLEY, M. V. Chemical penetration enhancers. **Therapeutic delivery**, 6(9), 1053-1061, 2015.

LUCERO, M. J.; FERRIS, C.; SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, C. A.; JIMENEZ-CASTELLANOS, M. R.; & DE-PAZ, M. V. Novel aqueous chitosan-based dispersions as efficient drug delivery systems for topical use. Rheological, textural and release studies. **Carbohydrate polymers**, 151, 692-699, 2016.

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. **International journal of cosmetic science**, 34(2), 140-149, 2012.

MAHESH, S. K.; FATHIMA, J.; & VEENA, V. G. Cosmetic potential of natural products: industrial applications. **In Natural Bio-active compounds** (pp. 215-250). Springer, Singapore. (2019).

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; MERCURIO, D. G. Formas Cosméticas. **Cosmetics & Toiletries** (Ed. português), v. 26, p. 1-5, 2014.

MARCON, A. F. V. S.; WAGEMAKER, T. A.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Rheology, clinical efficacy and sensorial of a silicone-based formulation containing pearl extract. **Biomedical and Biopharmaceutical Research**, 11(2), 247-55, 2014.

MARTO, J.; ASCENSO, A.; SIMOES, S.; ALMEIDA, A. J.; RIBEIRO, H. M. Pickering emulsions: challenges and opportunities in topical delivery. **Expert opinion on drug delivery**, 13(8), 1093-1107, 2016.

MENON, G. K.; LEE, S. E.; & LEE, S. H. An overview of epidermal lamellar bodies: novel roles in biological adaptations and secondary barriers. **Journal of dermatological science**, 92(1), 10-17, 2018.

MENON, G. K.; KLIGMAN, A. M. Barrier functions of human skin: a holistic view. **Skin Pharmacology and Physiology**, v. 22, n. 4, p. 178–189, 2009.

MILLER, G. W.; JONES, D.P. The Nature of Nurture: Refining the Definition of the Exposome. **Toxicological Sciences** 137 (1): 1–2. January, 2014.

NARDA, M.; BROWN, A.; MUSCATELLI-GROUX, B.; GRIMAUD, J. A.; GRANGER, C. Epidermal and Dermal Hallmarks of Photoaging are Prevented by Treatment with Night Serum Containing Melatonin, Bakuchiol, and Ascorbyl Tetraisopalmitate: In Vitro and Ex Vivo Studies. **Dermatology and Therapy**, 10(1), 191-202. (2020)

NEXIRA, Oli-Ola - Technical Information, 2016.

NIKKOL, Nikkol VC-IP - Technical Information, 2017.

NIKOLAKIS, G.; MAKRANTONAKI, E.; ZOUBOULIS, C. C. Aging Skin: A Window to the Body. **Molecular Mechanisms of Skin Aging and Age-Related Diseases**, 200-228, 2016.

OECD, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Test No. 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test (Original Guideline, adopted 13th April 2004), <<https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oecd/oecd432-508.pdf>>, 2018.

OHBAYASHI, N.; FUKUDA, M. Recent advances in understanding the molecular basis of melanogenesis in melanocytes. **F1000Research**, 9, 2020.

OMAR, S. H.; SCOTT, C. J.; HAMLIN, A. S.; OBIED, H. K. Biophenols: Enzymes (β -secretase, Cholinesterases, histone deacetylase and tyrosinase) inhibitors from olive (*Olea europaea* L.). **Fitoterapia**, 128, 118-129. (2018).

PATHAK, M.A; FITZPATRICK, T.B. Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis and skin cancer with sun-protective agents. In: FITZPATRICK, T.B.; EILSEN, A.Z.; WOLFF, K.; FREEDBERG, I.M.; AUSTEN K.F. 4th ed. *Dermatology in General Medicine*, 4th ed., New York: McGraw-Hill, cap.137, p.1689-1716. 1993.

PARIKH, S. A.; KELSEY, A.; FINCH, J.; GRANT-KELS, J. M. Skin Health and Healthy Aging: Skin Cosmetics. **Healthy Aging** (pp. 105-113). Springer, Cham, 2019.

PETRILLI, R.; ELOY, J. O.; PRAÇA, F. S. G.; DEL CIAMPO, J. O.; FANTINI, M. A. C.; FONSECA, M. J. V.; BENTLEY, M. V. L. B. Liquid crystalline nanodispersions functionalized with cell-penetrating peptides for topical delivery of short-interfering RNAs: a proposal for silencing a pro-inflammatory cytokine in cutaneous diseases. **Journal of biomedical nanotechnology**, v. 12, n. 5, p. 1063-1075, 2016.

PRAÇA, F. S. G.; MEDINA, W. S. G.; ELOY, J. O.; PETRILLI, R.; CAMPOS, P. M.; ASCENSO, A.; & BENTLEY, M. V. L. Evaluation of critical parameters for in vitro skin permeation and penetration studies using animal skin models. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 111, p. 121-132, 2018.

PROKSCH, E. pH in nature, humans and skin. **The Journal of Dermatology**, 45(9), 1044-1052. (2018).

QIAN, W.; LIU, W.; ZHU, D.; CAO, Y.; TANG, A.; GONG, G.; & SU, H. Natural skin-whitening compounds for the treatment of melanogenesis. **Experimental and Therapeutic Medicine**, 20(1), 173-185, 2020.

RANAMUKHAARACHCHI, S. A.; LEHNERT, S.; RANAMUKHAARACHCHI, S. L.; SPRENGER, L.; SCHNEIDER, T.; MANSOOR, I.; ... & STOEBER, B. A micromechanical comparison of human and porcine skin before and after preservation by freezing for medical device development. **Scientific reports**, 6(1), 1-9. (2016).

RISALITI, L.; PIAZZINI, V.; DI MARZO, M. G.; BRUNETTI, L.; CECCHI, R.; LENCIONI, P.; ... & BERGONZI, M. C. Topical formulations of delta-aminolevulinic acid for the treatment of actinic keratosis: Characterization and efficacy evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 115, p. 345-351, 2018.

RODRIGUES, F.; ALVES, A. C.; NUNES, C.; SARMENTO, B.; AMARAL, M. H.; REIS, S.; & OLIVEIRA, M. B. P. Permeation of topically applied caffeine from a food by—product in cosmetic formulations: Is nanoscale in vitro approach an option?. **International Journal of Pharmaceutics**, 513(1-2), 496-503. (2016).

RODRIGUES, F.; DE LA LUZ CÁDIZ-GURREA, M.; NUNES, M. A.; PINTO, D.; VINHA, A. F.; LINARES, I. B.; ... & CARRETERO, A. S. **Cosmetics. In Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications** (pp. 393-427). Woodhead Publishing. (2018).

SAMCZEWSKA, G.; PIECHOTA-URBAŃSKA, M.; & KOŁODZIEJSKA, J. Polyoxyethylene fatty acid esters as potential promoters of transdermal absorption for morphine hydrochloride and sulphate. **Polymers in medicine**, v. 36, n. 2, p. 17-32, 2006.

SCHAEFER, L. V. Estudo proteômico do melasma facial em mulheres. Dissertação de mestrado, Faculdade de Medicina (FMB), Botucatu. pág. 7, 2018.

SERRE, C.; BUSUTTIL, V.; & BOTTO, J. M. Intrinsic and extrinsic regulation of human skin melanogenesis and pigmentation. **International journal of cosmetic science**. 40(4), 328-347, 2018.

SHIRATA, M.M.F.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Importance of texture and sensory profile in the development of cosmetic formulations. **Surgical & Cosmetic Dermatology**. v.8, n.3, p.223-320, 2016.

SILVA, A. P.; SEGADÃES, A. M.; PINTO, D. G.; OLIVEIRA, L. A.; & DEVEZAS, T. C. Effect of particle size distribution and calcium aluminate cement on the rheological behaviour of all-alumina refractory castables. **Powder technology**, v. 226, p. 107-113, 2012.

SIMON, J. D.; PELES, D.; WAKAMATSU, K.; & ITO, S. Current challenges in understanding melanogenesis: bridging chemistry, biological control, morphology, and function. **Pigment cell & melanoma research**, 22(5), 563-579, 2009.

SLOMINSKI, A.; TOBIN, D. J.; SHIBAHARA, S.; & WORTSMAN, J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. **Physiological reviews**, 84(4), 1155-1228, 2004.

SOUZA, C.; DE FREITAS, L. A. P.; & CAMPOS, P. M. B. G. M. Topical formulation containing beeswax-based nanoparticles improved in vivo skin barrier function. **Aaps Pharmscitech**. v. 18, n. 7, p. 2505-2516, 2017.

TAI, A.; BIANCHINI, R.; JACHOWICZ, J. Texture analysis of cosmetic/pharmaceutical raw materials and formulations. **International journal of cosmetic science**. v.36, n.4, p.291-304, 2014.

TAMPUCCI, S.; BURGALASSI, S.; CHETONI, P.; & MONTI, D. Cutaneous Permeation and Penetration of Sunscreens: Formulation Strategies and In Vitro Methods. **Cosmetics**, v. 5, n. 1, p. 1, 2018.

USUI, K.; KADONO, N.; FURUICHI, Y.; SHIRAGA, K.; SAITOU, T.; KAWASAKI, H.; ... & MATSUI, T. 3D in vivo imaging of the keratin filament network in the mouse stratum granulosum reveals profilaggrin-dependent regulation of keratin bundling. **Journal of dermatological science**, 94(3), 346-349, 2019.

VALENTIN, D.; CHOLLET, S.; LELIÈVRE, M.; & ABDI, H. Quick and dirty but still pretty good: A review of new descriptive methods in food science. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 47, n. 8, p. 1563-1578, 2012.

VIDEIRA, I.F.D.S.; MOURA, D.F.L.; & MAGINA, S. Mechanisms regulating melanogenesis. **Anais brasileiros de dermatologia**, 88(1), 76-83, 2013.