

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação das características hidrolipídicas da pele madura e desenvolvimento e eficácia clínica de formulações dermocosméticas multifuncionais a base de algas

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Patrícia M.B.G. Maia Campos

Versão corrigida da Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas em 14/03/2019. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2019

FICHA CATALOGRÁFICA

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.

Oliveira de Melo, Maísa

Avaliação das características hidrolípídicas da pele madura e desenvolvimento e eficácia clínica de formulações dermocosméticas multifuncionais a base de algas. Ribeirão Preto, 2019.

126 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. Cosmetologia. 2. Eficácia Clínica. 3. Pele Madura.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Maísa Oliveira de Melo

Avaliação das características hidrolípicas da pele madura e desenvolvimento e eficácia clínica de formulações dermocosméticas multifuncionais a base de algas

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Mário e Marlene e irmão, Felipe, por estarem sempre ao meu lado, me orientando, incentivando ao aprendizado e ao crescimento constante e me apoiando na realização de todos os meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Patrícia Maia Campos pela oportunidade, confiança, apoio, amizade e os momentos especiais ao longo de todos os anos de convivência e aprendizados.

A todos os amigos feitos no NEATEC (Lívia, Victor, Letícia Kakuda, Rodolfo, Marcella, Marina, Júlia, Raíssa, Daiane, Tais, Ana Paula, Gabriela, Elisa, Vitória) pelo companheirismo, aprendizados, aventuras e ajuda em todos os momentos. Vou levar vocês comigo para sempre.

Aos meus amigos pessoais (Camila, Ana, Verônica, Eduardo, João Paulo, Felipe, Bruno T., Bruno F., Matheus) por todo apoio ao longo do desenvolvimento desse trabalho e em todos os outros momentos.

À Júlia Sant'anna por todo suporte emocional e incentivo ao longo do curso.

A todos do NEATEC que apoiaram e colaboraram com o meu trabalho.

A todas as participantes do estudo clínico, sem elas o trabalho não seria possível.

Às empresas Galena, Silab, Nikkol, Croda e Mapric que gentilmente forneceram matérias-primas utilizadas neste trabalho.

Ao Lucas, Mariana e toda a equipe da Allergisa pela amizade e suporte técnico.

À Universidade de Ribeirão Preto e os professores que contribuíram com a minha formação.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – docentes, discentes e servidores, pela oportunidade e apoio para este trabalho. Ao Dr. João Carlos Lopes Simão pelo suporte no comitê de ética

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado e à FAPESP, pelo auxílio à pesquisa no laboratório. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

**“I've heard it said that people come into our lives for a reason,
bringing something we must learn.
And we are led to those who help us most to grow, if we let them
and we help them in return.”**

(Stephen Schwartz, *Wicked*)

RESUMO

MELO, M.O. **Avaliação das características hidrolipídicas da pele madura e desenvolvimento e eficácia clínica de formulações dermocosméticas multifuncionais a base de algas.** 2019. 126 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

A pesquisa e desenvolvimento de formulações cosméticas inovadoras cada vez mais específicas aos diferentes tipos de pele e que envolvem alta tecnologia no desenvolvimento é de grande importância para a obtenção de formulações que apresentem características físico-químicas e físico-mecânicas apropriadas às finalidades propostas, agregando o ingrediente ativo de escolha a um veículo adequado, obtendo assim, produtos mais estáveis, seguros, eficazes e com sensorial agradável. Para a comprovação da eficácia de tais formulações, as técnicas não invasivas de biofísica e de análise de imagem da pele são essenciais, uma vez que compreendem diversos equipamentos com diferentes princípios físicos que fornecem dados sobre a ação de um produto cosmético na pele nas reais condições de uso. Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar as características hidrolipídicas da pele madura, desenvolver e avaliar a estabilidade e a eficácia clínica de formulações dermocosméticas contendo extratos de *Spirulina*, de lentilha, extrato de Tara com a alga vermelha *Kappaphycus alvarezii* e Tetraisopalmitato de Ascorbila. Para tal, foi realizada uma avaliação da pele madura para identificar as condições de hidratação e oleosidade, bem como os sinais clínicos do envelhecimento cutâneo, por técnicas de biofísica e análise de imagem da pele. A seguir, foram desenvolvidas formulações com sensorial diferenciado, com matérias primas biocompatíveis e substâncias ativas inovadoras com alto potencial para a melhora das condições gerais da pele madura, as quais submetidas a testes de estabilidade por determinação da reologia e avaliação das propriedades físico-mecânicas. Por fim, as formulações estáveis foram avaliadas em relação à eficácia clínica na hidratação, controle da oleosidade, redução de poros, rugas e manchas, renovação celular e densidade dérmica por técnicas de biofísica e análise de imagem da pele. Os resultados obtidos mostraram que a formulação desenvolvida apresentou um comportamento reológico pseudoplástico e estabilidade entre o tempo inicial e final de estudo. Além disso, a adição das substâncias ativas objeto de estudo alterou o perfil de textura das formulações bem como as propriedades sensoriais, favorecendo a aplicação tanto na pele oleosa como na pele seca. Além disso, observamos as diferenças entre a pele madura normal/seca e oleosa, sendo que a pele oleosa apresenta valores significativamente maiores no conteúdo de sebo e características distintas nos parâmetros de microrrelevo, ecogenicidade e espessura da derme. Por fim, os dados obtidos no estudo clínico de eficácia em longo prazo mostraram que as formulações em estudo foram eficazes para aplicação na pele normal/seca e na pele oleosa uma vez que houve uma melhora significativa da pele nos parâmetros relacionados ao microrrelevo, poros largos, ecogenicidade e oleosidade da pele. Em curto prazo, foi notado um aumento das papilas dérmicas e redução de rugas e brilho na face. Em síntese, o presente trabalho apresenta contribuição para o conhecimento do balanço hidrolipídico da pele madura, avaliado por técnicas objetivas, fornecendo informações para o desenvolvimento de formulações dermocosméticas mais específicas não somente para a pele seca, mas também para a pele oleosa, característica prevalente na pele brasileira que muitas vezes persiste no envelhecimento e dificulta o uso adequado de produtos para os cuidados da pele.

Palavras-chave: Eficácia Clínica, Cosmetologia, Pele Madura, Envelhecimento Cutâneo, oleosidade da pele, técnicas de biofísica e imagem da pele

ABSTRACT

MELO, M.O. **Evaluation of mature skin hydrolipidic characteristics and development and clinical efficacy of algae based multifunctional dermocosmetic formulations.** 2019. 126f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

The research and development of innovative cosmetic formulations that are more specific to different skin types and involve high technology in the development process is of great importance to obtain formulations with physicochemical and physico-mechanical characteristics that are appropriate to the proposed objectives, adding the active substances of choice to a adequate vehicle, obtaining this way, products that are more stable, safe, effective and with good sensory properties. To prove the efficacy of such formulations, non-invasive biophysics and skin imaging techniques are essential, since they use various equipment with different physical principles that provide data on the action of a cosmetic product on the skin under the real conditions of use. In this context, the objective of the present study was to evaluate the hydrolipidic characteristics of mature skin, to develop and evaluate the stability and to evaluate the clinical efficacy of dermocosmetic formulations containing extracts of *Spirulina*, lentil, Tara extract with the red algae *Kappaphycus alvarezii* and Tetraisopalmitate of Ascorbile for mature, normal/dry and oily skin. To this end, a mature skin characterization was performed to identify the conditions of hydration and oiliness, as well as clinical signs of skin aging, by biophysical and skin imaging techniques. Subsequently, the formulations were developed to present differentiated sensorial, with biocompatible raw materials and innovative active substances with high potential for the improvement of the general conditions of mature skin, which went through stability tests by rheology determination and evaluation of the properties physical-mechanical properties. Finally, stable formulations were evaluated for their clinical efficacy in hydration, oil control, pore reduction, wrinkle and blemishes, cell renewal and dermal density by biophysical and skin imaging techniques. The obtained results showed that the developed formulation showed a pseudoplastic rheological behavior and stability between the initial and final time of study. Furthermore, the addition of the active substances under study altered the texture profile of the formulations as well as the sensorial properties, favoring the application in both oily skin and dry skin. In addition, we observed the differences between normal/dry and oily mature skin, with oily skin presenting significantly higher values of sebum content and different characteristics in the parameters of microrelief, echogenicity and thickness of the dermis. In addition, the data obtained in the long-term clinical efficacy study showed that the formulations under study were effective for application in the normal / dry skin and oily skin since there was a significant improvement of the skin in the parameters related to microrelief, large pores, echogenicity and oiliness of the skin. In the short-term study, an increase of the dermal papillae and reduction of wrinkles and gloss on the face were noticed. In summary, the present work presents a contribution to the knowledge of the hydrolipidic balance of mature skin, evaluated by objective techniques, providing information for the development of more specific dermocosmetic formulations not only for dry skin, but also for oily skin, a characteristic prevalent in Brazilian skin that often persists in aging and influence the proper use of skin care products.

Keywords: Clinical Efficacy, Cosmetology, Mature Skin, Skin Aging, Skin Oiliness, Biophysical and Skin Imaging Techniques

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática das camadas da epiderme	06
Figura 2. Representação esquemática da perda transepidérmica de água	09
Figura 3. Fluxograma do desenvolvimento das formulações e fases seguintes do estudo	25
Figura 4. Reogramas obtidos na análise da formulação V1 (veículo) nas temperaturas ambiente (TA), 37 (T37) e 45°C (T45), nos tempos inicial (T0) e após 7, 21, 28, 56 e 84 dias	43
Figura 5. Reogramas obtidos na análise da formulação S1 (para pele normal/seca) nas temperaturas ambiente (TA), 37 (T37) e 45°C (T45), nos tempos inicial (T0) e após 7, 21, 28, 56 e 84 dias	44
Figura 6. Reogramas obtidos na análise da formulação O1 (para pele oleosa) nas temperaturas ambiente (TA), 37 (T37) e 45°C (T45), nos tempos inicial (T0) e após 7, 21, 28, 56 e 84 dias	44
Figura 7. Viscosidade Mínima Aparente da formulação V01 (veículo) nas temperaturas ambiente (TA), 37 e 45°C	45
Figura 8. Viscosidade Mínima Aparente da formulação S01 nas temperaturas ambiente (TA), 37 e 45°C	45
Figura 9. Viscosidade Mínima Aparente da formulação S01 nas temperaturas ambiente (TA), 37 e 45°C	45
Figura 10. Índice de Consistência na análise da formulação V01 (veículo) nas temperaturas ambiente (TA), 37 e 45°C	46
Figura 11. Índice de Consistência na análise da formulação S01 nas temperaturas ambiente (TA), 37 e 45°C	46
Figura 12. Índice de Consistência na análise da formulação O01 nas temperaturas ambiente (TA), 37 e 45°C	46
Figura 13. Índice de Fluxo na análise da formulação V01 (veículo) nas temperaturas ambiente (TA), 37 e 45°C	47
Figura 14. Índice de Fluxo na análise da formulação S01 nas temperaturas ambiente (TA), 37 e 45°C	47
Figura 15. Índice de Fluxo na análise da formulação S01 nas temperaturas ambiente (TA), 37 e 45°C	47
Figura 16. Valores de Firmeza, Consistência, Índice de Viscosidade e Coesividade	

das formulações V01 (veículo), S01 (formulação pele seca) e O01 (formulação pele oleosa) obtidas pela análise de Textura	48
Figura 17. Valores do Trabalho de Cisalhamento das formulações V01, S01 e O01 obtidas pela análise de Espalhabilidade	48
Figura 18. Análise sensorial das formulações V1, V4, S1 e O1	49
Figura 19. Medidas basais da perda transepidérmica de água (TEWL) nas regiões frontal e malar do grupos de pele normal/seca (grupo 1) e de pele oleosa (grupo 2) ..	51
Figura 20. Diferença das medidas basais da perda transepidérmica de água (TEWL) entre as regiões de estudo nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	51
Figura 21. Medidas basais do conteúdo aquoso do estrato córneo nas regiões frontal e malar do grupo de pele normal/seca (grupo 1) e de pele oleosa (grupo 2)	52
Figura 22. Diferença das medidas basais do conteúdo aquoso do estrato córneo entre as regiões de estudo nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	52
Figura 23. Aspereza da pele (Ser) nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa (grupo 2)	53
Figura 24. Descamação da pele (Sesc) nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital nos grupos de pele normal/seca (grupo 1) e de pele oleosa (grupo 2)	53
Figura 25. Rugas da pele (Sew) nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital nos grupos de pele normal/seca (grupo 1) e de pele oleosa (grupo 2)	54
Figura 26. Imagens do microrrelevo da pele nas regiões frontal, periorbital, malar e nasolabial, respectivamente, de duas participantes do estudo	55
Figura 27. Poros finos e Poros largos nas regiões frontal e malar dos grupos de pele normal/seca (grupo 1) e pele oleosa (grupo 2)	55
Figura 28. Medidas basais do conteúdo de sebo nas regiões frontal e malar do grupos de pele normal/seca (grupo 1) e de pele oleosa (grupo 2)	56
Figura 29. Diferença de porcentagem de manchas de sebo entre as regiões de estudo nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	56
Figura 30. Medidas basais da porcentagem de manchas de sebo nas regiões frontal e malar do grupo e pele normal/seca (grupo 1) e de pele oleosa (grupo 2)	57
Figura 31. Manchas de sebo nos adesivos de uma participante com pele normal/seca e de uma com pele oleosa na região frontal da face	57
Figura 32. Diferença de conteúdo de sebo entre as regiões de estudo nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	57

Figura 33. Espessura da derme nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital nos grupos de pele normal/seca (grupo 1) e pele oleosa (grupo 2)	58
Figura 34. Razão de ecogenicidade da derme nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital da face nos grupos de pele normal/seca (grupo 1) e oleosa (grupo 2)	59
Figura 35. Imagens ilustrativas da ecogenicidade da derme de duas participantes nas regiões frontal, periorbital, malar e nasolabial, respectivamente	59
Figura 36. Perda transepidérmica de água (TEWL) nas regiões frontal e malar do após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	60
Figura 37. Conteúdo aquoso do estrato córneo nas regiões frontal e malar após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	60
Figura 38. Rugosidade da pele (SER) nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	61
Figura 39. Descamação da pele (SESC) nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	62
Figura 40. Maciez da pele (SESM) nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	63
Figura 41. Rugas da pele (SEW) nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	63
Figura 42. Poros largos e finos na região malar após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	64
Figura 43. Conteúdo superficial de sebo nas regiões frontal e malar após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	65
Figura 44. Porcentagem de manchas de sebo nas regiões frontal e malar após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	65
Figura 45. Área coberta por sebo nas regiões frontal e malar após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	66
Figura 46. Espessura da Derme nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	66
Figura 47. Ecogenicidade (absoluta) da Derme nas regiões frontal, malar, nasolabial	

e periorbital após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	67
Figura 48. Relação de ecogenicidade da derme da Derme nas regiões frontal, malar, nasolabial e periorbital após 45 e 90 dias de tratamento nos grupos de pele normal/seca e de pele oleosa	68
Figura 49. Imagens ilustrativas de ultrassom de uma participante no grupo de pele normal/seca na região malar da face antes (basal) e após 45 e 90 dias de tratamento com a formulação O01	68
Figura 50. Espessura do estrato córneo na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	69
Figura 51. Espessura da camada granulosa da epiderme na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	69
Figura 52. Profundidade das papilas dérmicas na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	70
Figura 53. Espessura mínima da epiderme na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	74
Figura 54. Espessura máxima da epiderme da epiderme na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	70
Figura 55. Espessura média da epiderme na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	70
Figura 56. Imagens obtidas na microscopia confocal de reflectância a na região periorbital após antes e 28 dias de tratamento com a formulação com as substâncias ativas de estudo	71
Figura 57. Rugosidade média (Ra) na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	71
Figura 58. Profundidade média das rugas (Rz) na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo.....	72
Figura 59. Rugosidade máxima (Rm) na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo.....	72
Figura 60. Ondulação (Wt) na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	73
Figura 61. Volume das Rugas na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	73

Figura 62. Profundidade das Rugas na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	73
Figura 63. Textura da Pele na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	74
Figura 64. Coeficiente de Visibilidade na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	74
Figura 65. Taxa de ocupação na região periorbital após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	75
Figura 66. Brilho na região malar após 28 dias de tratamentos com a formulação teste e veículo	75
Figura 67. Superfície da pele na região malar após 28 dias de tratamento com a formulação teste e veículo	75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formulações desenvolvidas sem a adição dos ingredientes ativos (veículo)	26
Tabela 2 – Formulações desenvolvidas com os ingredientes ativos em estudo	27
Tabela 3 – Critérios de inclusão e exclusão do estudo clínico	32
Tabela 4 – Definição dos parâmetros de superfície avaliados	37
Tabela 5 – Valores de pH das formulações desenvolvidas	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TEWL	Perda Transepidérmica de Água
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
RCM	Microscopia Confocal de Reflectância a laser
JDE	Junção Dermoepidérmica

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de figuras	iii
Lista de tabelas	iv
Lista de abreviaturas e siglas	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 A pele e as suas características hidrolipídicas	6
2.2 Envelhecimento cutâneo nos diferentes tipos de pele	9
2.3 Extratos de <i>Spirulina</i> , Lentilha, Tara com a Alga Vermelha <i>Kappaphycus</i> <i>Alvarezii</i> e Tetraisopalmitato de Ascorbila como ingredientes ativos para os cuidados da pele madura	11
2.4 Desenvolvimento, estabilidade e análise sensorial de formulações dermocosméticas	13
2.5 Avaliação da eficácia clínica de produtos cosméticos por técnicas de biofísica e análise de imagem da pele	16
3. OBJETIVO	21
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Matérias Primas	24
4.2 Equipamentos e acessórios	24
4.3 Desenvolvimento das formulações	25
4.4 Testes preliminares de estabilidade	28
4.4.1 Centrifugação	28
4.4.2 Determinação do pH	28
4.4.3 Avaliação Visual	29
4.5 Estudo de estabilidade física por determinação do comportamento reológico	29
4.6 Determinação do perfil de textura das formulações	29
5. CASUÍSTICA E MÉTODOS	31
5.1 Triagem das participantes	32
5.2 Descrição das técnicas de biofísica e análise de imagem da pele	33
5.2.1 Determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo	33
5.2.2 Determinação da perda transepidérmica de água (TEWL)	33
5.2.3 Determinação do conteúdo de sebo	34
5.2.4 Avaliação das glândulas sebáceas ativas e quantidade de sebo no infundíbulo	34
5.2.5 Determinação do microrrelevo cutâneo	34
5.2.6 Avaliação da pele por imagens de alta resolução	35
5.2.7 Avaliação das características da derme por ultrassom de alta frequência	35
5.2.8 Avaliação das características morfológicas e estruturais da epiderme	35
5.2.9 Avaliação tridimensional do relevo cutâneo	36
5.2.10 Análise de rugas e brilho da pele por fotografia digital	37
5.3 Avaliação Sensorial	38

5.4 Protocolo de estudos de eficácia clínica	38
5.4.1 Caracterização da pele madura oleosa e normal/seca	38
5.4.2 Avaliação dos efeitos em longo prazo – 90 dias	39
5.4.3 Avaliação dos efeitos em curto prazo – 28 dias	39
5.5 Análise estatística	40
6. RESULTADOS	41
6.1 Desenvolvimento das formulações	42
6.2 Testes preliminares de estabilidade	42
6.2.1 Centrifugação	42
6.2.2 Determinação do pH	42
6.2.3 Avaliação visual	43
6.3 Estudo de estabilidade física por determinação do comportamento reológico	43
6.4 Determinação do perfil de textura das formulações	48
6.5 Avaliação sensorial	49
6.6 Caracterização da pele madura oleosa e normal/seca	50
6.6.1 Perda transepidérmica de água	50
6.6.2 Conteúdo aquoso do estrato córneo	51
6.6.3 Determinação do microrrelevo cutâneo	52
6.6.4 Quantificação dos poros por imagens de alta resolução	55
6.6.5 Conteúdo de sebo superficial e no infundíbulo da pele	56
6.6.6 Avaliação das características da derme por ultrassom de alta frequência	58
6.7 Avaliação dos efeitos em longo prazo – 90 dias	60
6.7.1 Perda transepidérmica de água	60
6.7.2 Conteúdo aquoso do estrato córneo	60
6.7.3 Determinação do microrrelevo cutâneo	61
6.7.4 Quantificação dos poros por imagens de alta resolução	64
6.7.5 Conteúdo de sebo superficial e no infundíbulo da pele	64
6.7.6 Avaliação das características da derme por ultrassom de alta frequência	66
6.8 Avaliação dos efeitos em curto prazo – 28 dias	69
6.8.1 Características estruturais e morfológicas da epiderme	69
6.8.2 Avaliação tridimensional do relevo cutâneo	71
6.8.3 Análise de rugas e brilho da pele por fotografia digital	74
7. DISCUSSÃO.....	76
8. CONCLUSÕES	85
7. REFERÊNCIAS	87
ANEXOS	99
Anexo A: Parecer consubstanciado do comitê de ética (estudo clínico de 90 dias)	100
Anexo B: Parecer consubstanciado do comitê de ética (estudo clínico de 28 dias)	103

1. INTRODUÇÃO

Produtos cosméticos e de higiene pessoal são definidos como preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo tópico (na superfície da pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral) com o objetivo principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e/ou corrigir odores corporais, protegê-los e mantê-los em bom estado (BRASIL, 2013).

O termo dermocosmético é utilizado para se referir às preparações cosméticas que possuem atividades específicas na pele, como extratos naturais com propriedades antioxidantes, clareadoras, controle da oleosidade e, conseqüentemente, do balanço hidrolipídico da pele. Esse termo vem sendo utilizado para descrever certos cosméticos classificados pela ANVISA como grau 2 que são produtos com indicações específicas, sendo exigido o registro com análise prévia para alguns (como fotoprotetores, repelentes, alisantes e produtos infantis). Assim, para evitar possíveis efeitos colaterais, testes de segurança de uso e eficácia comprovada por meio de estudos clínicos são necessários (GARBOSSA, 2016). Os produtos dermocosméticos de mercado em geral tem como apelo a avaliação por dermatologistas e apresentam alto desempenho na melhora das condições da pele (DRENO, et al., 2014).

Hoje existe uma forte demanda do mercado por produtos multifuncionais antienvhecimento estáveis, eficazes e seguros, para quais a associação de ingredientes ativos é muito importante. Esse destaque está diretamente relacionado ao aumento da expectativa média de vida no Brasil e uma nova cultura voltada ao cuidado com a aparência e saúde, o que traz uma melhora na qualidade de vida dos usuários (ABIHPEC, 2017).

Considerando as características da pele envelhecida, como rugas, manchas e perda de firmeza, há grande demanda por produtos cosméticos multifuncionais para a melhoria e proteção da pele. Observa-se a utilização de produtos naturais e substâncias ativas inovadoras em diferentes classes de produtos cosméticos, proporcionando benefícios únicos e diferenciando as necessidades específicas para cada tipo de pele (CALIXTO et al., 2018).

Nesse contexto, as substâncias ativas objeto de estudo dessa dissertação possuem potencial para agir na melhoria das condições gerais da pele e a comprovação dos efeitos propostos representa uma contribuição relevante no desenvolvimento de produtos dermocosméticos mais específicos para pele madura, considerando as diferentes características hidrolipídicas desse tipo de pele.

O extrato de *Blue Green Algae, Spirulina*, obtida por processo biotecnológico, possui em sua composição várias substâncias que podem trazer benefícios para pele, como aumento da hidratação e características antioxidantes, o que possibilita o desenvolvimento de uma

formulação cosmética multifuncional: mais estável, segura, com menor custo e número de ingredientes ativos em uso (DELSIN, et al., 2015).

O uso da Vitamina C tópica é um tratamento clássico na dermatologia, sendo utilizada em formulações farmacêuticas e cosméticas, trazendo diversos benefícios para a pele. Porém, a vitamina C em sua forma livre está muito susceptível a instabilidade, uma vez que é facilmente oxidada e inativada quando exposta ao meio externo, além de ter sua penetração prejudicada por ser altamente hidrofílica. Assim, iniciaram-se pesquisas para a obtenção de derivados da vitamina C que exerçam as mesmas funções, com uma maior estabilidade química, segurança e penetração cutânea em níveis eficazes, evitando comprometimento das funções farmacodinâmicas, substituindo o uso da sua forma livre (GONÇALVES, 2002). Nesse contexto, o Tetraisolpalmitato de Ascorbila se destaca, sendo um derivado lipossolúvel da Vitamina C com grande afinidade com a pele, excelente absorção percutânea e que se decompõe em L-ácido ascórbico após penetração na pele (BATISTUZZO, et al., 2002; MAIA CAMPOS, et al., 2012; CAYE, et al., 2008).

Considerando que a pele madura, principalmente em países tropicais, quando avaliada clinicamente, pode apresentar alterações como oleosidade e poros, é importante o estudo e desenvolvimento de produtos específicos para esse tipo de pele, melhorando as condições da pele envelhecida e fornecendo um controle da oleosidade ao mesmo tempo. Assim, como principal alvo no desenvolvimento de produtos para a pele madura oleosa, podemos destacar o extrato de lentilha (*Water & Lens esculenta*) que possui para aplicação em formulações cosméticas devido a sua composição rica em oligossacarídeos, que age atenuando a aparência dos poros dilatados, diminuição da produção de sebo, restaurando o processo de queratinização e limitando assim a sua deformação e afrouxamento (BOUDIER, et al., 2010)

Em síntese, os extratos da alga vermelha *Kappaphycus Alvarezii* e do fruto da Tara, uma planta típica do Peru (*Caesalpinia Spinosa*), ambos ricos em oligossacarídeos, quando submetidos a uma tecnologia inovadora, resulta em um biopolímero com características de alta resistência, flexíveis e não oclusivas, que forma um filme sobre a superfície da pele, imitando as suas propriedades e funções (SILAB, 2016).

Para a análise da estabilidade de formulações cosméticas, a análise do perfil de textura e reologia são fundamentais para a caracterização físico mecânica da formulação. Os parâmetros avaliados na análise do perfil de textura de formulações cosméticas são: firmeza, coesividade, consistência, índice de viscosidade e trabalho de cisalhamento. Essas características são obtidas através de um sistema de análise de características físico-mecânica, o texturômetro (CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2017). A análise reológica, que tem tido

altamente utilizada nas indústrias cosmética e farmacêutica, garante que a consistência e o espalhamento dos produtos podem ser reproduzidos de lote para lote, assegurando a qualidade tecnológica do produto acabado (MAIA CAMPOS, MELO, CAMARGO JUNIOR, 2015).

As técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele compreendem diversos equipamentos com diferentes princípios físicos e/ou físico-químicos que providenciam dados sobre a ação de um produto cosmético em reais condições de uso. Para a avaliação desse efeito, são estudados como os parâmetros de determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda transepidérmica de água, propriedades mecânicas (viscoelasticidade e anisotropia), do conteúdo de sebo, número e atividade das glândulas sebáceas, rugas, poros e manchas da pele e microrrelevo cutâneo (EGAWA et al., 2002; SMITH et al., 2002).

Por fim, a proposta do presente trabalho, a caracterização das características hidrolipídicas da pele madura oleosa e normal/seca, apresenta como contribuição subsídios científicos na elucidação das características desses tipos de peles para o desenvolvimento de produtos mais efetivos. Além disso, teve como proposta o desenvolvimento de uma formulação dermocosmética multifuncional com substâncias ativas de origem natural em associação e a avaliação da eficácia clínica da mesma por técnicas não invasivas de biofísica e imagem da pele.

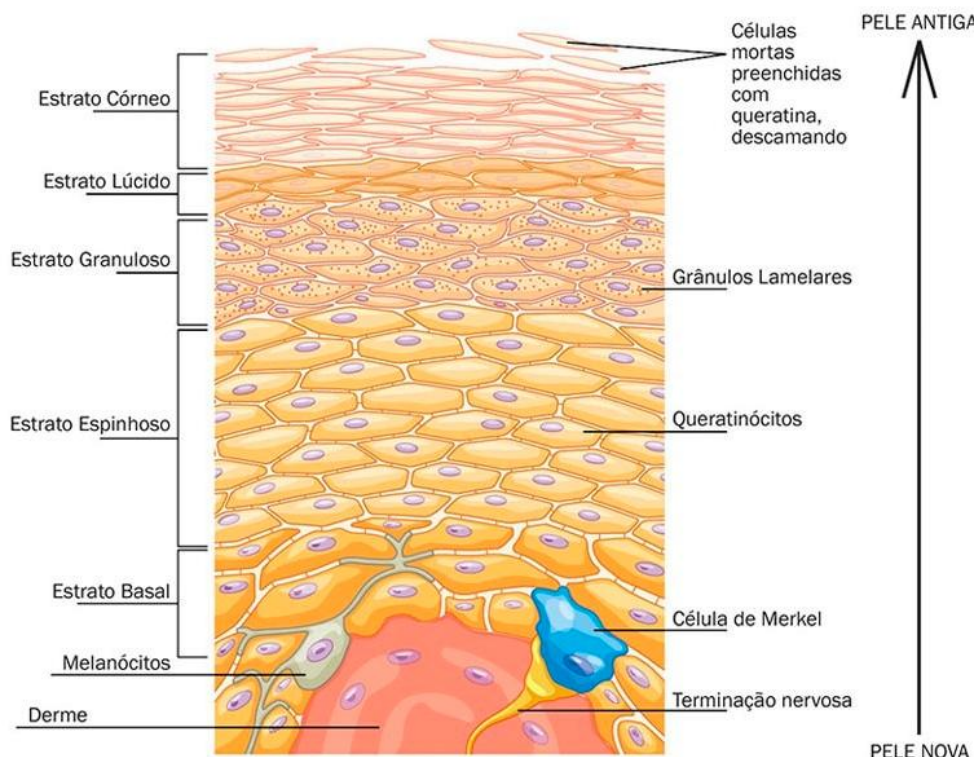
2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A PELE E AS SUAS CARACTERÍSTICAS HIDROLIPÍDICAS

A pele, maior órgão do corpo humano e único que está em contato com o meio externo e interno ao mesmo tempo, tem como principais funções a proteção do organismo contra a radiação ultravioleta e agressões mecânicas, químicas e térmicas do meio externo, além de impedir a desidratação e entrada de microorganismos do ambiente, produção de vitamina D e prevenção da perda excessiva de água (NIKOLAKIS; MAKRANTONAKI; ZAUBOULIS, 2016; MAIA CAMPOS; MERCURIO, 2009). É constituída por uma porção de origem ectodérmica, a epiderme, e outra mesodérmica, a derme. Abaixo da derme está localizado também o tecido subcutâneo (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

A Epiderme, que é a camada mais externa da pele e que representa a barreira fisiológica de proteção, com a função primária de produzir um estrato córneo protetor, semipermeável que permite o contato com o ambiente externo, e sendo formada pelas camadas córnea, lúcida (presente apenas em peles espessas, como a sola dos pés e mãos), granulosa, espinhosa e basal (Figura 1). Na sua maioria, é composta por queratinócitos, porém também apresenta outras estruturas como melanócitos (síntese de melanina), células de Langerhans (defesa imunológica) e células de Merkel (relacionadas com a sensibilidade cutânea) (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Figura 1: Representação esquemática das camadas da epiderme



Fonte: Adaptado de JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013

Além disso, a epiderme também possui em sua constituição um compartimento lipídico extracelular altamente organizado, que leva a firme união dos corneócitos. A geração deste compartimento lipídico extracelular e a transformação dos queratinócitos em corneócitos são as principais características da diferenciação epidérmica (MADISON, 2003). Juntamente com a diferenciação, também ocorre nessa camada, a renovação contínua do estrato córneo, que é igualmente importante e ocorre pela reconstituição dos novos queratinócitos a partir da camada basal em proliferação, e a perda das células mais superficiais após a morte celular programada na epiderme, tudo em um cuidadoso equilíbrio (HOUBEN; DE PAEPE; ROGIERS, 2007).

Em uma epiderme saudável, há um equilíbrio entre os processos de proliferação e descamação o que resulta em um ciclo completo de renovação em um período de 28 dias (BARONI et al., 2012; WEBB; LI; KAUR, 2004).

A camada córnea é composta por células mortas, anucleadas e achatadas com filamentos de queratina envoltos por ligações cruzadas com proteínas (filagrinas), ligadas covalentemente a um envelope lipídico e interligadas por desmossomos (PROKCH; BRADNER; JENSEN, 2008). Apresenta certa resistência ao impacto e impede a perda transepidérmica de água.

A camada granulosa, localizada entre o estrato córneo e o espinhoso, possui células com formato poligonal achatado, com um núcleo central e a presença de grânulos de queratohialina em seu citoplasma. Na camada espinhosa, podem ser observados certos queratinócitos com atividade mitótica, expansão citoplasmática, como tonofilamentos de queratina. Por fim, a camada basal, a mais profunda da epiderme, tem a maioria das suas células em intensa atividade mitótica que darão origem aos queratinócitos das camadas anteriores. Junto com o estrato espinhoso, é a maior responsável pelo processo de renovação celular, que é contínuo e ocorre, em média, a cada 28 dias (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013; BARONI, et al., 2012).

A junção da epiderme e derme é chamada de junção dermoepidérmica (JDE), caracterizada pela presença de uma rede complexa de papilas dérmicas que são invaginações da derme que se projetam na epiderme. A principal função destas papilas é de aumentar a superfície de contato entre as camadas, proporcionando adesão e uma interface dinâmica entre as duas camadas, favorecendo a troca de oxigênio e nutrientes. Com o passar dos anos, estas papilas vão perdendo o seu formato, se tornando mais planas e diminuindo a área de contato entre as duas camadas, sendo também utilizadas como um parâmetro para estudo do

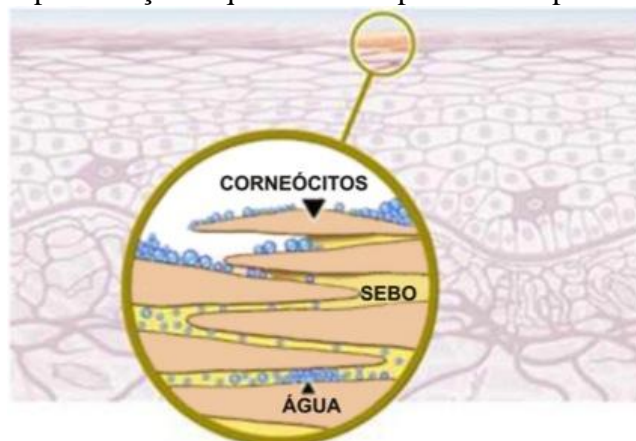
envelhecimento cutâneo (BURGESON; CHRISTIANO, 1997; CIARLETTA; BEN AMAR, 2012).

A seguir está a derme, camada vascularizada, constituída por tecido conjuntivo denso e fibroelástico que nutre a epiderme. Nela estão as raízes dos pelos, glândulas, terminações nervosas, arteríolas e vênulas, e outros. Além disso, também apresenta células como fibroblastos e fibras de colágeno e elastina (o colágeno fornece a sustentação e previne o estiramento excessivo, enquanto a elastina permite a volta da pele após a distensão) (MENON & KLIGMAN, 2009; PEDERSEN; JEMEC, 2006; EDWARDS; MARKS, 1995). Pode ser subdivida entre derme papilar, que é fina e constituída por tecido conjuntivo frouxo, e derme reticular, espessa e constituída por tecido conjuntivo denso (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

Deste modo, a concentração de água nas camadas da pele, é variável e dependente do fator natural de hidratação (NMF - *Natural moisturizer factor*), que é composto, principalmente, por ácido carboxílico da pirrolidona (PCA), ácido urocânico, lactato, uréia, serina, glicina, arginina, ornitina, citrulina, alanina, histidina e fenilalanina (AREKZI et al., 2016; HARDING et al., 2000). Este fator é necessário para a manutenção das propriedades mecânicas do estrato córneo com a sua ação lipofilmógena e é alterada ao passar dos anos. Além disso, a superfície cutânea apresenta um pH de superficial de 4 a 5,5, o qual é chamado de manto ácido da pele e existe para cumprir uma função protetora (LAMBERS et al., 2006). A análise desse composto sem alterar as propriedades físicas e químicas da pele ainda é um procedimento complexo e que deve ser estudado.

A água é um componente imprescindível para o processo de descamação, uma vez que as células córneas são liberadas para o ambiente de forma individual e imperceptível. Na ausência da água, os filamentos que unem as células mais superficiais não são dissolvidos, ocasionando uma esfoliação na forma de blocos de células visíveis, apresentando o aspecto de escamas de peixe, característico desse tipo de pele. Além de não ser esteticamente agradável e gerar um desconforto para o indivíduo, essa desidratação leva ao aparecimento de rachaduras, que podem servir como porta de entrada para microrganismos, inclusive os patogênicos (GODIC, 2016). Além disso, a diminuição da água na pele leva a uma redução da flexibilidade da pele, aumento da descamação e a formação de rugas, visto que há o ressecamento do estrato córneo, o que está de acordo com o fato de que o conteúdo de água da pele diminui ao longo da vida dos seres humanos (WARREN et al., 1991; ZOUBOULIS & MAKRANTONAKI, 2011). A esquematização da perda transepidérmica de água pode ser observada na figura 2.

Figura 2: Representação esquemática da perda transepidérmica de água



Fonte: MELO e MAIA CAMPOS, 2016

Outro fenômeno que ocorre em peles em condições não ideais é a diminuição do seu conteúdo lipídico na pele, que está presente na formação de barreira semipermeável para a passagem de água. Assim, a perda de compostos higroscópicos, como o ácido hialurônico, juntamente com a depleção de lipídeos, pode levar a uma redução da retenção e difusão da água na pele, causando desidratação (ZOUBOULIS & MAKRANTONAKI, 2011).

Assim, considerando que a pele é o órgão em contato com o meio externo, o conhecimento da biologia da pele é essencial para o desenvolvimento de produtos cosméticos que irão ser aplicados topicamente e direcionados na manutenção da eudermia cutânea, melhora do aspecto geral e da qualidade de vida dos usuários.

2.2 ENVELHECIMENTO CUTÂNEO NOS DIFERENTES TIPOS DE PELE

O envelhecimento cutâneo é um processo complexo que envolve alterações estruturais, celulares e da matriz extracelular devido a diversos fatores externos e internos. Com o envelhecimento, a pele diminui a sua capacidade de renovação celular e os mecanismos de reparo e proteção ficam também comprometidos (NIKOLAKIS; MAKRANTONAKI & ZOULOULIS, 2016). Com essas alterações, surgem os sinais clínicos do envelhecimento, como rugas (retificações da epiderme), flacidez, ressecamento, telangiectesias, hiperpigmentações e lesões benignas. Microscopicamente, podem ser observadas alterações na espessura da epiderme, padrão irregular no formato dos queratinócitos, aumento de melanina na camada basal, diminuição da profundidade das papilas dérmicas, encurtamento e perda dos feixes das fibras de colágeno, entre outros (POON; KANG; CHIEN, 2015; LONGO et al., 2011).

O envelhecimento pode ser classificado em dois tipos: o intrínseco e o extrínseco. O envelhecimento intrínseco, ou cronológico, está relacionado a fatores genéticos, metabólicos e hormonais e ocorre em diferentes níveis mas em todos os seres humanos. Assim, as alterações características do envelhecimento intrínseco envolvem modificações do material genético, alterações proteicas e diminuição da proliferação celular, existentes tanto na epiderme quanto na derme. Podemos citar como uma das principais alterações a atrofia cutânea causada pela redução da atividade metabólica (ZOUBOULIS & MAKRANTONAKI, 2011). O envelhecimento extrínseco, depende dos hábitos pessoais e está altamente relacionado com a exposição a radiação UV, tabagismo, e poluição, por exemplo (TUNDIS, et al., 2015). Nesse contexto, a exposição a raios solares é considerado o principal fator associado ao envelhecimento extrínseco, recebendo a denominação de fotoenvelhecimento, uma vez que induz o aumento de espécies radicalares que promovem um dano oxidativo aos componentes celulares da pele (GUARANTINI; MEDEIROS; COLEPICOLO, 2007).

O fotoenvelhecimento também está associado com o aumento da atividade de enzimas envolvidas na degradação da matriz extracelular (como a collagenase, hialuronidase e elastase) (BERNEBURG; PLETTENBERG; KRUTMANN, 2000) e podemos citar como sinais clínicos causados pelas alterações bioquímicas decorrentes da exposição à radiação ultravioleta a presença de rugas finas e profundas, flacidez, rugosidade, alterações no padrão de pigmentação, fragilidade, cicatrização prejudicada, e telangiectasia (TSOURELI-NIKITA; WATSON; GRIFFITHS, 2006). Além disso, a exposição excessiva à radiação ultravioleta pode causar neoplasias malignas da pele, que podem variar de danos pré cancerígenos como queratose solar actínica até cânceres invasivos como o melanoma (GODAR, 2011; KIM & ARMSTRONG, 2012).

As alterações clínicas do envelhecimento ocorrem de maneiras variadas nos diferentes tipos de pele, mudando de acordo com o fototipo e outras características pessoais, como a secreção de sebo, que geralmente são associadas com mudanças na produção endógena de hormônios. As glândulas sebáceas que são bem desenvolvidas em neonatos, diminuem de tamanho dramaticamente após algumas semanas de nascimento e aumentam novamente, atingindo o seu máximo na adolescência. Enquanto o número de glândulas sebáceas se mantém o mesmo durante a vida, a secreção de sebo atinge as suas maiores taxas entre 15 e 35 anos, diminuindo ao longo da vida adulta. Apesar de essas glândulas sebáceas estarem associadas com uma diminuição dos níveis lipídicos, essas glândulas possuem um tamanho maior pela diminuição da renovação celular, o que poderia explicar os poros aumentados na pele madura oleosa (SAKUMA & MAIBACK, 2012). Em países tropicais, é comum observar

uma maior secreção sebácea na população, uma vez que o tipo de pele não é uma condição permanente e pode variar de acordo com os aspectos climáticos (YOUN, et al., 2005).

Assim, o desenvolvimento de produtos cosméticos atuais está cada vez mais direcionado para uma personalização das fórmulas, procurando levar ao mercado produtos completos que complemente todas as características da pele do consumidor, levando em contas o seu dinamismo e complexidade. Para isso, é importante levar em conta os diversos fatores que podem constituir a pele de uma pessoa, além de classificá-la apenas como envelhecida ou jovem.

2.3 EXTRATOS DE *SPIRULINA*, DE LENTILHA, TARA COM A ALGA VERMELHA *KAPPAPHYCUS ALVAREZII* E TETRAISOPALMITATO DE ASCORBILA COMO INGREDIENTES ATIVOS PARA OS CUIDADOS DA PELE MADURA

O uso de extratos naturais e alternativas aos ingredientes ativos clássicos na cosmetologia está ganhando cada vez mais espaço no mercado atual. Estão normalmente associados às novas tecnologias e testes para disponibilizar produtos inovadores, tecnológicos e com diferentes mecanismos de ação. Além disso, a comprovação da segurança e eficácia desses ativos está sendo muito visada, valorizando progressivamente a escolha dos ingredientes utilizados em uma formulação e o objetivo das combinações realizadas.

Desse modo, o desenvolvimento de formulações cosméticas multifuncionais pode ser considerado um desafio, pois se propõem a disponibilizar diversos benefícios em um único produto, garantindo a manutenção da fisiologia cutânea, ou seja, hidratação, proteção da barreira cutânea, renovação celular, prevenção e/ou tratamento do envelhecimento e alterações cutâneas. Esses produtos são considerados dermocosméticos, uma vez que se objetivam retardar o fotoenvelhecimento e suavizar as características do envelhecimento intrínseco, que ocorre naturalmente, devendo ter eficácia e segurança comprovadas.

Assim, o uso de diferentes extratos naturais deve ser destacado, quer seja pela promoção de diversos efeitos cutâneos positivos, do rejuvenescimento até o controle da oleosidade, quer seja pela grande diversidade existente, com inovações sendo disponibilizadas com rapidez.

Nesse contexto, podemos citar extrato de Blue Green Algae, *Spirulina*, que é uma alga azul-verde unicelular, obtida por processo biotecnológico, possui uma composição rica em vitaminas, minerais, proteínas, ácidos graxos, polissacarídicos, aminoácidos, como metionina,

glicina, lisina e ácido gammalinolenico (GLA) e pigmentos, incluindo o β -caroteno, ou seja, a provitamina A e o complexo de vitamina B. Estes ingredientes podem trazer benefícios cutâneos como aumento da hidratação (características umectantes e emolientes) e características antioxidantes, possuindo um grande potencial para o desenvolvimento de uma formulação cosmética multifuncional estável, segura, eficaz e completa (DELSIN, et al., 2015; STOLZ & OBERMAYER, 2005). Estudos anteriores do nosso grupo de estudo mostraram que este ingrediente ativo na mesma concentração agiu na melhora significativa da hidratação, barreira da pele e controle da oleosidade em grupos de participantes jovens e de pele madura, além de uma tendência de melhora na ecogenicidade e padrão de queratinócitos na epiderme granular, sendo considerado assim, um ingrediente ativo multifuncional (DELSIN, et al., 2015).

Por outro lado, os extratos da alga vermelha *Kappaphycus Alvarezii* e do fruto da Tara, uma planta típica do Peru (*Caesalpinia Spinosa*), ambos ricos em oligosacarídeos, quando submetidos a uma tecnologia inovadora, formam em conjunto um biopolímero com características de alta resistência, flexíveis e não oclusivas, que criam um filme sobre a pele, imitando as suas propriedades e funções. Com essa ação filmógena, o ativo cria uma barreira molecular contra poluentes do ambiente, efeito tensor melhora da aparência geral da pele de uma forma imediata, característica de formulações cosméticas (SILAB, 2016). A substância ativa por si só já pode ser considerado multifuncional, uma vez que apresenta características diferenciadas e atuais em um ativo só. Produtos cosméticos com propriedades filmógenas preenchem a necessidade de proteção e melhora das características gerais da pele de um modo imediato, estando de acordo com as necessidades e tendências atuais.

Também é relevante o uso do o extrato de lentilha (*Water & Lens esculenta*) no desenvolvimento de cosméticos, já que possui características de controle da oleosidade e diminuição do tamanho dos poros. Em combinação com ativos que combatem o envelhecimento da pele, seu uso é de grande importância para a população de regiões com temperaturas climáticas elevadas, uma vez que levariam a uma melhora das condições da pele envelhecida e um controle da oleosidade simultaneamente. Sua composição rica em oligossacarídeos age atenuando a aparência dos poros dilatados, diminuindo a produção de sebo, restaurando o processo de queratinização e limitando assim a sua deformação e afrouxamento. Com a diminuição do tamanho dos poros, ocorre a diminuição da aspereza da pele e do brilho excessivo, resultando em uma pele com aparência mais uniforme. (BOUDIER, D; et al., 2010; DORNI, et al., 2017)

A despeito do uso de extratos naturais, ativos pioneiros em produtos cosméticos também estão sofrendo modificações para serem utilizados de maneira mais prática e segura para os consumidores. O uso tópico da Vitamina C é um tratamento clássico na dermatologia, sendo utilizada em diversas formulações farmacêuticas e cosméticas, trazendo diversos benefícios ao usuário. Porém, a vitamina C em sua forma livre está muito susceptível a instabilidade, uma vez que é facilmente oxidada e inativada quando exposta ao meio externo, além de ter sua penetração prejudicada por ser altamente hidrofílica. Deste modo, o uso dessa vitamina pode também estar associado a novas tecnologias de embalagens para melhorar o prazo de validade, o que demanda altos investimentos. Nesse contexto, o uso de derivados lipossolúveis da Vitamina C apresenta uma maior estabilidade e segurança, substituindo assim o uso da sua forma livre, já que além de manter o mesmo benefício, possui uma melhor penetração e estabilidade (MAIA CAMPOS, et al., 2012). Estudos *in vitro* presentes na literatura comprovam que o uso dessa substância age como um precursor da vitamina C, aumentando a tolerância contra a radiação UVB e espécies reativas de oxigênio (ROS), além de diminuir a pigmentação após exposição a raios UVB (em concentrações acima de 3%) e aumento da produção de interleucina-1 e prostaglandina E2, sendo classificado como um poderoso antioxidante (OCHIAI, et al., 2006; MASAKI, 2010).

2.4 DESENVOLVIMENTO, ESTABILIDADE E ANÁLISE SENSORIAL DE FORMULAÇÕES DERMOCOSMÉTICAS

Uma escolha criteriosa nas matérias-primas utilizadas durante o desenvolvimento de um novo produto cosmético é de alta importância, uma vez que determina como o produto final irá se apresentar, incluindo as suas características físicas, sensorial e efeitos clínicos. Essa escolha deve ser realizada com base em estudos de pré-formulação pautado em pesquisas bibliográficas, a partir das quais será possível compreender e disponibilizar as características físico-químicas e microbiológicas de cada ingrediente, bem como as suas concentrações de uso e incompatibilidades, garantindo a obtenção do objetivo a ser alcançado na etapa do desenvolvimento.

Ainda na etapa do desenvolvimento, deve ser estudada a estabilidade física e reológica do produto, com finalidade validar que estará de acordo com as normas nacionais que garantem a eficácia e segurança do cosmético, mesmo em condições que acelerem o seu processo de degradação. Para isso, é possível submeter as formulações a condições de estresse térmico por meio de um armazenamento em estufas e geladeiras com temperaturas extremas a

fim de analisar possíveis alterações na cor, odor, uniformidade, pH e viscosidade (ANVISA, 2003).

Além disso, a concentração e forma de apresentação de substâncias ativas incorporadas às formulações em desenvolvimento podem influenciar na viscosidade de um produto, causando desestabilização física. Para a análise dessa característica, são indicados estudos do comportamento reológico do produto (GARBOSSA & MAIA CAMPOS, 2016). O estudo do comportamento reológico pode ser definido como o estudo do comportamento de fluxo e deformação da matéria, nesse caso, uma emulsão. A relação entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento define o tipo de fluido apresentado, newtoniano ou não-newtoniano (MARRIOTT, 2008). Fluidos newtonianos apresentam uma deformação diretamente proporcional à tensão de cisalhamento aplicada, sem alterações na sua viscosidade. Por outro lado, fluidos não newtonianos não apresentam uma relação constante entre a tensão e a taxa de cisalhamento, sendo que a sua viscosidade irá depender da tensão de cisalhamento aplicada, conforme encontrado em produtos cosméticos semissólidos (MAIA CAMPOS, et al., 2012; MARRIOTT, 2008).

Os fluidos não newtonianos podem ser classificados em plástico, pseudoplástico e dilatante de acordo com o seu fluxo. Outra classificação possível, é baseada com o tempo, podendo ser reopéticos e tixotrópicos (MARRIOTT, 2008). Materiais plásticos necessitam de uma tensão inicial para começar a fluir e apresentam uma curva de fluxo em um ponto diferente da sua origem, conhecido como tensão de escoamento. Os materiais pseudoplásticos não necessitam de uma tensão inicial para fluírem, apresentando uma curva de fluxo que passa pela origem, sem ponto de tensão de escoamento (*yield value*). Esses dois tipos de materiais apresentam uma menor viscosidade quando sob tensão. Os materiais dilatantes apresentam uma curva de fluxo oposta à curva dos pseudoplásticos e um aumento na viscosidade quando há uma tensão aplicada (MARRIOTT, 2008; MAIA CAMPOS, et al., 2012). Assim, o fluido mais indicado e adequado para emulsões é o pseudoplástico.

Além disso, materiais tixotrópicos e reopéticos estão relacionados com a capacidade de alterar a sua viscosidade em função do tempo de cisalhamento. Os materiais tixotrópicos demonstram uma diminuição da viscosidade e os reopéticos, um aumento. Produtos cosméticos idealmente possuem tixotropia, garantindo que a formulação irá se comportar adequadamente em sua embalagem, sendo de fácil uso (MARRIOTT, 2008; SHIROMA, 2012).

Outra análise importante no desenvolvimento de produtos cosméticos é a textura, que pode ser definida como a resposta táctil a um estímulo físico gerado por meio de um contato

entre a pele e um produto (BOURNE, 2012). Essas análises permitem a avaliação de parâmetros como a consistência, firmeza, espalhabilidade, dureza, entre outros, que podem ser relacionados e predizer as características sensoriais da formulação. Assim, podemos dizer que essa análise determina um grupo de propriedades físicas do sensorial percebido gerados pela estrutura interna do material, determinados pelas interações moleculares dos seus constituintes. (CALIXTO & MAIA CAMPOS, 2017). Dessa forma, a importância desse teste está em poder caracterizar e predizer as propriedades sensoriais que deverão ser apresentadas no produto final.

Antes de entrar no mercado, o sensorial de uma formulação cosmética deve ser levado em consideração, garantindo as necessidades do consumidor. Um produto com um sensorial ruim não terá a aprovação durante a sua utilização, sendo mais fácil suspender o uso e assim, dificultando que o objetivo da formulação seja atingido. Deste modo, após os testes de reologia e textura, os resultados obtidos devem ser correlacionados com o sensorial efetivo da formulação desenvolvida pode ser analisado por meio das técnicas para análise sensorial, como diversos questionários especializados e padronizados, a fim de analisar de fato a aceitação do produto com um grupo que represente o consumidor final (PARENTE; GAMBARO; ARES, 2008). O método sensorial padrão para a análise sensorial é caracterização quantitativa descritiva, que permite obter resultados quantitativos precisos dos parâmetros sensoriais dos produtos em estudo. Neste método os participantes do estudo, chamados de panelistas, são treinados para qualificar e quantificar atributos sensoriais. No entanto, esta metodologia, apesar de amplamente aceita, apresenta como limitação a alta demanda tempo para a formação e treinamento do painel. Nesse contexto, surgiu a necessidade de métodos mais rápidos para a análise do sensorial de produtos e que também possam integrar as necessidades dos consumidores. Dentre os novos métodos propostos, a metodologia CATA (*Check-all-that-apply*) foi desenvolvida para que possa ser realizado por consumidores comuns e sem treinamentos. Cada consumidor recebe um questionário com atributos para serem escolhidos que podem estar relacionados com qualidades sensoriais do produto, intenção de compra ou conceitos de aceitabilidade (PENSÉ-LHÉRITIER, 2015).

Todas as metodologias descritas são essenciais para garantir que o produto em desenvolvimento atinja todas as características descritas nas regulações nacionais e que ele também esteja de acordo com a expectativa dos consumidores ao comprar um produto.

2.5 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICA DE PRODUTOS COSMÉTICOS POR TÉCNICAS DE BIOFÍSICA E ANÁLISE DE IMAGEM DA PELE

As técnicas de biofísica e análise de imagem da pele são consideradas um avanço na área dermatológica e cosmética, possibilitando a análise das características biológicas, estruturais, mecânicas e físicas da pele de forma não invasiva, rápida e em tempo real.

Se iniciando na área dermatológica, sendo utilizadas para diagnósticos médicos, essas técnicas se expandiram para a cosmetologia devido a grande necessidade de avaliar a eficácia clínica dos produtos desenvolvidos, sendo em departamentos de Pesquisa e Desenvolvimento de indústrias cosméticas, empresas especializadas ou em centros de pesquisas em universidades. Os resultados são obtidos de maneira objetiva, prática, criteriosa e em reais condições de uso, com dados quantitativos e qualitativos das características e propriedades da pele, que é um sistema extremamente complexo.

As análises por técnicas de biofísica são fundamentadas nos princípios físico-químicos da pele e as técnicas de imagem, conseguem medir diferentes parâmetros da pele a partir da obtenção de uma imagem por diversos tipos de mecanismos.

Podemos citar como os parâmetros mais analisados em estudos envolvendo essas técnicas o conteúdo aquoso do estrato córneo, a perda transepidermica de água, o padrão de pigmentação, a quantidade de sebo, a elasticidade e propriedades mecânicas, propriedades morfológicas e estruturais da epiderme, ecogenicidade da derme, entre outras (MAIA CAMPOS, et al., 2008).

Para a análise do conteúdo aquoso do estrato córneo é utilizado o equipamento Corneometer® (Courage & Khazaka, Alemanha), que se baseia no princípio da capacitância, que utiliza uma corrente de baixa frequência, sendo pouco afetado pela temperatura e umidade relativa do ambiente. O princípio da capacitância trabalha de acordo com a corrente dielétrica da água e é capaz de medir uma profundidade entre 10-20 μm do estrato córneo e cobre uma área de 49 mm^2 . Nele, uma lâmina de vidro separa duas placas metálicas da pele e quando aplicada sobre a superfície cutânea, é formado um campo elétrico, sendo que uma das placas fica com carga positiva e outra, negativa, possibilitando assim, medir a constante dielétrica de água que é convertida em unidades arbitrárias, o conteúdo aquoso do estrato córneo (DAL'BELO, et al., 2006, MELO & MAIA CAMPOS, 2018).

Outro parâmetro amplamente utilizado é a perda transepidermica de água (em inglês, *transepidermal water loss* - TEWL). É referente a análise da quantidade de água perdida por evaporação e é utilizado para avaliar a integridade da barreira da pele humana para a perda de

água (LEONARDI, et al., 2002). O equipamento para essa análise é o TEWAMETER® (Courage & Khazaka, Alemanha), que possui uma sonda com dois sensores, um de temperatura e outro de umidade, permitindo a obtenção do valor da perda de água em g/h.m. A taxa de evaporação é medida pela diferença de pressão de vapor entre as extremidades da sonda e reflete a integridade da barreira cutânea, de forma que quanto maior o valor medido, pior a integridade da barreira, sendo desejável assim, uma diminuição desse parâmetro ao longo de um tratamento cosmético (COURAGE & KHAZAKA, 2009; MAIA CAMPOS, et al., 2016).

A análise do microrrelevo cutâneo tem grande importância na área cosmética, pois demonstra as mudanças ocorridas na superfície da pele, local de aplicação dos produtos. Para quantificação dessas alterações, é utilizado o equipamento Visioscan VC98® (Courage & Khazaka, Alemanha), que produz uma representação gráfica da pele sob iluminação especial, podendo assim analisar a imagem obtida de acordo com parâmetros clínicos. O aparelho possui uma câmera de fácil manuseio e com iluminação UV, que é capaz de capturar imagens de alta resolução da pele em diferentes regiões por profilometria óptica. A imagem obtida permite uma avaliação clara e criteriosa da pele, além dos parâmetros obtidos por meio do software embutido no equipamento. Os parâmetros SELS (Surface evaluation of the Living Skin) permite a avaliação quantitativa de parâmetros como maciez, rugosidade, aspereza e descamação da pele, entre outros (FERREIRA, et al., 2010; MELO & MAIA CAMPOS, 2016).

Para a análise da oleosidade da pele, podemos citar dois equipamentos diferentes, o Sebumeter® SM 815 e Sebufix® F16, ambos da empresa alemã Courage & Khazaka. Este equipamento funciona a partir de um cassete específico que possui uma fita especial opaca que, quando em contato com o sebo da superfície da pele, torna a fita transparente, sendo que a transparência da fita é medida pelo reflexo da fonte de luz emitida pelo equipamento e quanto maior a transparência, maior a captação de luz e maior a oleosidade da pele (MELO & MAIA CAMPOS, 2018; DOBREV, 2007). O equipamento Sebufix® F16 por sua vez, é utilizado para a análise da produção em tempo real do sebo. Também utiliza uma fita absorvente mas nesse caso, é apresentada em um quadrado adesivo a ser colocado na câmera do equipamento Visioscan®. Essa fita estará em contato com a pele durante o tempo de 30 segundos, assim, sebo produzido no momento nas aberturas foliculares irá ser absorvido, formando manchas transparentes na fita. O número e tamanho dessas manchas indica a atividade das glândulas sebáceas e se a área coberta pelas manchas é proporcional ao volume coletado. O software do equipamento irá quantificar a imagem obtida em parâmetros como a

porcentagem de área coberta por manchas, a área coberta por sebo em μm^2 e o número de manchas (MELO & MAIA CAMPOS, 2016).

Outro exemplo de imagens obtidas para análises quantitativas de parâmetros da pele é a avaliação das fotos obtidas pelo equipamento Visioface®. Ele é composto por uma câmera de alta resolução (10 megapixels) situada em uma cabine facial onde a participante coloca a face em um apoio e é possível tirar uma fotografia em alta resolução com 200 LEDs (diodos emissores de luz) de luz branca iluminando a pele de maneira homogênea. A imagem final terá uma resolução com mais de 7 milhões de pixels e o software acoplado, Visioface Quick®, permite a avaliação de características como poros, manchas, manchas visíveis na luz UV (por meio de um filtro de imagem específico para simular essa luz) e rugas (MELO & MAIA CAMPOS, 2016; COURAGE & KHAZAKA, 2004).

Um sistema similar é o VISIA-CR (Canfield, Estados Unidos), que obtém fotografias digitais da face e foi desenhado especialmente para que as luzes emitidas promovam a iluminação ideal para resultados adequados. O sistema permite a captura e armazenamento de imagens, utilizando luz visível, flash de luz polarizada e flash de raios UV. Os principais tipos de fotografias obtidas por este equipamento são: Standard 1 (usa luz branca equilibrada para uso geral. Recomendada para avaliações subjetivas da maioria das características da pele), Standard 2 (utiliza luz branca plana, sendo possível obter uma imagem com o mínimo de sombra e destaques. Ideal para análises quantitativas), Polarizada Paralela (foto brilhante obtida a partir de uma fonte de luz polarizada com um polarizador paralelo por cima da lente. Com ela é possível visualizar os reflexos da superfície que representam as características topográficas da pele, como rugas, linhas finas, etc) e Polarizada Cruzada (foto opaca obtida a partir de uma fonte de luz polarizada com um polarizador em perpendicular. Filtra os reflexos da pele para visualização de detalhes localizados abaixo da superfície, como lesões vasculares, pigmentos, etc). Assim como o Visioface®, diversas análises podem ser realizadas com esse equipamento, como a análise de porfirinas, por meio da fluorescência emitida a partir da luz UV, de vascularização, hiperpigmentações, rosácea e acne com imagem nos tons vermelho e marrom permite ainda o estudo de características cutâneas como vascularização, oleosidade da pele, por meio da análise de brilho da imagem, rugas, entre outros (JANG, 2015).

O ultrassom de alta frequência, Dermascan® C (Cortex, Dinamarca) possui uma sonda de 20MHz e é utilizada para a análise da espessura e ecogenicidade da derme de maneira rápida e não invasiva (CAETANO et al., 2015). Produz uma onda que é refletida pelas estruturas da pele, resultando em ecos de amplitudes diferentes. O software acoplado ao

equipamento traduz as amplitudes desses ecos em uma imagem bidimensional colorida, onde a ecogenicidade pode ser percebida na seguinte escala de cores: branco>vermelho>amarelo>verde>azul>preto. As maiores amplitudes estão relacionadas com a interação da pele e a água, pele e tecido adiposo e musculatura. A ecogenicidade pode ser avaliada pelo seu valor absoluto ou pela razão da ecogenicidade, calculada pela razão entre os pixels de baixa ecogenicidade e o número de pixels totais. Valores de ecogenicidade alta (um menor número na razão) podem indicar que existe uma maior quantidade de componentes na derme, sendo uma característica observada em pessoas mais jovens. Além do envelhecimento cutâneo, esse equipamento também é amplamente utilizado em estudos de celulite, cicatrizes, preenchimentos, feridas, entre outros, inclusive em tratamentos por suplementação oral (ULRICH, et al., 2014; MELO & MAIA CAMPOS, 2016; MAIA CAMPOS, et al., 2015).

O microscópio confocal de reflectância a laser (*Reflectance Confocal Microscopy - RCM*), também conhecido como Vivascope® (Lucid, Rochester, EUA), é um microscópio confocal desenvolvido para a avaliação cutânea *in vivo*, de maneira rápida e substituindo algumas análises que antes eram só realizadas com biópsias. Como a pele humana é um tecido opticamente não homogêneo e impenetrável a luz, esse equipamento utiliza um comprimento de onda de 830nm, que está dentro do intervalo onde é possível penetrar na pele e obter imagens a partir da reflexão da luz do tecido, resultando em imagens de altíssima qualidade para visualizar as estruturas teciduais e celulares da pele em nível próximo ao histológico (LONGO, 2011; MERCURIO, et al., 2015).

O mapeamento é possível até uma profundidade de cerca de 350µm, mas pode variar com o tipo de pele, normalmente, a resolução é mantida até a derme papilar. Além disso, diferentes microestruturas da pele causam variações naturais ao índice de refração, que fornece o contraste da imagem. Assim, podemos citar como exemplo o citoplasma, que tem um índice de refração próximo da água (1,33) e é representado com um contraste baixo na imagem. Já a melanina e a queratina, apresentam um índice de refração alto (1,7), funcionando como agentes naturais de contraste (BIELFELDT, et al., 2011; KANG, et al., 2015). Existem no mercado diversas versões do Vivascope® mas a mais conhecida é o Vivascope® 1500, que apresenta um feixe de laser de 35 mW e lentes objetivas de 30x, sendo a profundidade alcançada de 200-300 mm com resolução lateral de 0,5-1 mm e resolução axial 2-5 mm. Cada imagem tem campo de visão de 500x500µm (ANDRADE; MERCURIO; MAIA CAMPOS, 2015). Entre as possíveis análises deste equipamento, podemos citar a determinação da espessura das camadas da epiderme, ação antienvhecimento e antiacne, pigmentações da pele, hidratação, entre outros.

Outro equipamento disponível para a avaliação instrumental do relevo cutâneo, é o Optical 3D Skin Measuring Device PRIMOS Compact 5.075, GFMesstechnik GmbH. Sua análise gera dados sobre as características tridimensionais do relevo cutâneo (rugosidade, linhas de expressão e textura da pele) e o método óptico utilizado para realização das medidas é a projeção digital de listras, baseado em microespelhos projetores digitais (DMDTM Digital Micro Mirror Devices) da Texas Instruments/USA. Feixes de luz, com variação sinusoidal na intensidade do brilho são projetados sobre a superfície a ser medida, e a sua imagem (reflexo da luz emitida na pele, alterada pelo perfil topográfico) é captada por uma câmera fotográfica CCD. A estrutura tridimensional é determinada pelo padrão de sombreamento das listras emitidas pela topografia, através do software (BENDEROTH & HAINICH, 2010).

Por fim, há vários equipamentos disponíveis, que envolvem tecnologia avançada, para a avaliação da pele e eficácia de produtos cosméticos de forma não invasiva por técnicas de biofísica e análise de imagem. Essas tecnologias estão sendo constantemente renovadas e novos estudos aplicando as referidas técnicas são considerados de alto padrão técnico-científico.

8. CONCLUSÃO

Nas condições experimentais deste estudo, foi possível concluir que:

As formulações desenvolvidas foram consideradas estáveis com comportamento reológico não newtoniano do tipo pseudoplástico.

Na avaliação do perfil de textura, a adição das substâncias ativas objeto de estudo alterou o perfil de textura das formulações reduzindo o trabalho de cisalhamento e, conseqüentemente melhorou as propriedades sensoriais, mais especificamente a espalhabilidade, o que favorece a aplicação tanto na pele oleosa como na pele seca.

No estudo de caracterização da pele, a pele madura oleosa mostrou características diferentes da pele madura normal/seca nos parâmetros de conteúdo de sebo, microrrelevo cutâneo e espessura da derme.

Na avaliação da eficácia clínica em longo prazo, a formulação multifuncional desenvolvida com as substâncias ativas escolhidas para ambos tipos de pele mostrou eficácia na melhora do microrrelevo, controle da oleosidade redução de poros largos da pele madura, principalmente pela adição do extrato de lentilha na formulação para a pele oleosa.

Os resultados do estudo de eficácia clínica em curto prazo, por meio de análise das imagens obtidas com o microscópio confocal de reflectância a laser e de fotografias digitais, mostrou que ocorreu um aumento significativo das papilas dérmicas e redução de rugas e brilho na face, o qual está relacionado com a oleosidade da pele.

Por fim, formulação proposta contendo as substâncias ativas objeto de estudo apresentou perfil de textura, comportamento reológico e sensorial adequado às finalidades propostas, bem como eficácia clínica em curto e em longo prazo no equilíbrio hidrolipídico da pele e melhora das alterações cutâneas relacionadas ao envelhecimento cutâneo, como o microrrelevo e redução do tamanho dos poros sendo, portanto, uma formulação inovadora para aplicação nos cuidados da pele madura normal/seca ou oleosa.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIHPEC. Panorama do Setor Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, ABIHPEC – Associação Brasileira a Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos, 11 de agosto de 2017, São Paulo.

ANDRADE, J. P., MERCÚRIO, D.G., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Avaliação celular das estruturas cutâneas por meio da microscopia confocal de reflectância. *RBM. Revista Brasileira de Medicina* v. 72, pp. 4-13, 2015.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos, v. I, 2003.

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. *Int J Cosmet Sci.*, v.31, p.72-82, 2016.

ATRUX-TALLAU, N., HUYNH, N.T.T., GARDETTE, L., et al. Effects of physical and chemical treatments upon biophysical and microrelief of human skin. *Arch Dermatol Res*, v.300, n.5, p.243-251, 2008.

BARONI, A. et al. Structure and function of the epidermis related to barrier properties. *Clinics in dermatology*, v. 30, n. 3, p. 257–62, 2012.

BATISTUZZO, J.A.O., ITAYA, M., ETO, Y. **Formulário médico-farmacêutico**. 2. ed. Sao Paulo: Tecnopress, 550 p, 2002.

BENDEROTH, C., HAINICH, R. Optical 3D In-Vivo Skin Imaging for Topographical Quantitative Assessment of Cosmetic and Medical Treatments. International conference on 3D body scanning technologies. 2010, Lugano, Suíça, 2010. Disponível em: <https://www.3dbodyscanning.org/cap/papers/2010/10042_29benderoth.pdf>. Acesso em: 17 de Novembro 2018.

BERNEBURG, M., PLETTENBERG, H., KRUTMANN, J. Photoaging of human skin. Photodermatology, *Photoimmunology and Photomedicine*, v.16, n.6, p.239-244, 2000.

BOUDIER, D., BREUGNOT, J., VIGNAU, E., LAUMONIER, J., CLOSS, B. Skin care – The refinement of pores, Cosmetics Business, 2010. Disponível em: <http://www.cosmeticsbusiness.com/technical/article_page/Skin_care_The_refinement_of_pores/5476>. Acesso em: 17 de Novembro 2018.

BOURNE, M.C. Texture, viscosity and food. In: BOURNE, M.C. **Food Texture and viscosity**. 2. Ed. Elsevier INC, 2012, cap 1, p.1-32.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. Resolução nº 466 de 12 de dezembro de 2012. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 13 jan. 2012, Seção 1, p. 59-62.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Guia para avaliação de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Registro de Produtos Cosméticos. Brasília: 2013. Disponível em: <http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/DiogoPracz/Vigilancia_Sanitaria/capacitacoes/RegistroProdutosCosmeticos.pdf>Acessado em 01 ago. 2016.

BURGESSON, R. E., CHRISTIANO, A. M. The dermal—epidermal junction. *Current Opinion in Cell Biology*, v. 9, n. 5, p. 651–658, 1997.

CAETANO, L. et al. Reliable assessment of forearm photoageing by high- frequency ultrasound: a cross- sectional study. *Int J Cosmet Sci*, v.28, p.17–177, 2015.

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. *AAPS PharmSciTech*, v.19(4), p. 1-8, 2018.

CALIXTO, L.S., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Physical Mechanical characterization of cosmetic formulations and correlation between instrumental measurements and sensorial properties. *Int J Cosm Sci*, v. 39, p. 1, 2017.

CAMARGO, F.B., GASPAR, L.R., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Skin moisturizing effects of panthenol-based formulations. *Int J Cosmet. Sci.* 2011;62:361-369.

CAYE, M. T., et al. Utilização da vitamina C nas alterações estéticas do envelhecimento cutâneo. Universidade do Vale do Itajaí - UNIVALI, p. 1-13, Balneário Camboriú, 2008. Acesso em: 21 mai. 2017.

CHOI, E.H., MAN, M.Q., WANG, F., ZHANG, X., BROWN, B.E., FEINGOLD, K.R., ELIAS, P.M. Is endogenous glycerol a determinant of stratum corneum hydration in humans? *J Invest Dermatol*, v.125, p.288–293, 2005.

CIARLETTA, P., BEN AMAR, M. Papillary networks in the dermal—epidermal junction of skin: A biomechanical model. *Mechanics Research Communications*, v. 42, p. 68–76, 2012.

CORCUFF, P., DE RIGAL, J., LEVEQUE, J.L., MAKKI, S., AGACHE, P. Skin relief and aging. *J Soc Cosmet Chem* v.34, p.177–190, 1983.

COURAGE, K.; KHAZAKA, G. Information and operating instructions for the multi probe adapter MPA and its probes, 2004.

COURAGE, K.; KHAZAKA, G. Information and operation instructions for multiprobe MPA adapter and its probes. 2009.

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, p.241-246, 2006.

DELSIN, S.D., MERCURIO, D.G., FOSSA, M.M., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Clinical Efficacy of Dermocosmetic Formulations Containing Spirulina Extract on Young and Mature Skin: Effects on the Skin Hydrolipidic Barrier and Structural Properties. *Clin Pharmacol Biopharm.* v..4, n.144, 2015.

DE PAEPE, K., LAGARDE, J.M., GALL, Y., et al. Microrelief of the skin using a light transmission method. *Arch Dermatol Res*, v.292, n.10, p.500-510, 2000.

DOBREV H. Clinical and instrumental study of the efficacy of a new sebum control cream. *J Cosmet Dermatol* v.6, p.113–18, 2007.

DOBREV, H. Fluorescence diagnostic imaging in patients with acne. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 26: 285–289, 2010.

DORNI, C.A.I., AMALRAJ, A., GOPI, S., VARMA, K., ANJANA, S. N. Novel cosmeceuticals from plants—An industry guided review. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v.7,p. 1–26, 2017.

DRENO, B., ARAVIISKAIA, E., BERARDESCA, E., et al. The science of dermocosmetics and its role in dermatology. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, v.28, p.1409-1417, 2014

DZWIGAŁOWSKA, A., SOŁYGA-ŻUREK, A., DEBOWSKA, R.M., ERIS, I. Preliminary study in the evaluation of anti-aging cosmetic treatment using two complementary methods for assessing skin surface. *Skin Res Technol*, v.19, p.155-161, 2013.

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

EGAWA, M., OGURI, M. KUWAHARA, T., TAKAHASHI, M. Effect of exposure of human skin to a dry environment. *Skin Res. Technol*, v. 8, n. 4, p. 212-218, 2002.

EISENBEISS, C., WELZEL, J., EICHLER, W., KLOTZ, K. Influence of body water distribution on skin thickness: measurements using high-frequency ultrasound. *Br J Dermatol*, v.144, p.947-951, 2001.

FARAGE, M.A., MILLER, K.W., ELSNER, P., MAIBACH, H.I. Structural characteristics of the aging skin: a review. *Cutan Ocul Toxicol.*, v.26, p.343-357, 2007.

FARAGE, M.A., MILLER, K.W., ELSNER, P., MAIBACH, H.I. Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *Int J Cosmet Sci.* v.30, p.87-95, 2008.

FARAGE, M.A., MILLER, K.W., ELSNER, P., MAIBACH, H.I. Characteristics of the Aging Skin. *Advances in wound care*, v.2,n.1, p.5-10, 2013.

FERREIRA, S.P., SOUZA-SOARES L, Costa, J.A.V. Revisão: microalgas: uma fonte alternativa na obtenção de ácidos gordos essenciais. *Rev. Ciênc. Agr.*, v.36, n.3, p.275-287, 2013.

FRANZOL, A., REZENDE, M.C. Estabilidade de emulsões: um estudo de caso envolvendo emulsificantes aniônico, catiônico e não-iônico. *Polímeros*, v.25, n.spe, p.1-9, 2015.

FUR, I.L., LOPEZ, S., MORIZOT, F., GUINOT, C., TSCHACHLER, E. Comparison of cheek and forehead regions by bioengineering methods in women with different self-reported “cosmetic skin types.” *Skin Research and Technology*, v.5, n.3, p.182–188, 1999.

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

GARBOSSA, W.A.C., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Evaluation of the Brazilian Cosmetic Legislation and its impact on the industries during the 20th century. *Braz. J. Pharm. Sci.* v. 52, n. 2, p. 319-328, 2016 .

GASPAR, L. R., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Rheological behavior and the SPF of sunscreens. *Inter J Pharma*, v.250, n.1, p.35-44, 2003.

GIANETI, M. D.; MERCÚRIO, D.G.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. The use of green tea extract in cosmetic formulations: not only an antioxidant active ingredient. *Dermatologic Therapy*, v. 26, p. 267-271, 2013.

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. 10, p. 18268-18282, 2014.

GIOIA, F., CELLENO, L. The dynamics of transepidermal water loss (TEWL) from hydrated skin. *Skin Res. Technol*, v.8, p.178–186, 2002.

GNIADACKA, M., JEMEC, G.B. Quantitative evaluation of chronological aging and photoaging in vivo: Studies on skin echogenicity and thickness. *Br J Dermatol*, v.139, p.815-821, 1998.

GODAR, D. E. Worldwide increasing incidences of cutaneous malignant melanoma. *Journal of Skin Cancer*, v. 2011, p. 858425, 2011.

GODIC, Aleksandar. Skin Conditions in elderly. *Molecular Mechanisms of Skin Aging and Age-Related Diseases*, v. 5, p. 172, 2016.

GOLDSBERRY, A., HANKE, W.C; HANKE, K.E. VISIA System: A possible tool in the cosmetic practice. *Journal of Drugs in Dermatology*, v.13, n.11, p. 1312-1314. 2014.

GONÇALVES, G.M.S. Ácido ascórbico e Ascorbil fosfato de magnésio na prevenção do envelhecimento cutâneo. *Infarma Ciências Farmacêuticas*, v. 18, n. 7, p.3-6, 2006.

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.

GUPTA, A., BLUHM, R. Seborrheic dermatitis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, v.18, p.13-26. 2004.

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.

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

JANG, S. I. et al. A quantitative evaluation method using processed optical images and analysis of age-dependent changes on nasolabial lines. *Skin research and technology*, v. 21, n. 2, p. 201–206, 2015.

JOSHI, B.C., SUNDRIVAL, A. Healing acne with medicinal plants: An Overview. *Inventi Rapid: Planta Activa*, v.2, p.1-13, 2017.

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

KANG, H.Y., BAHADORAN, P., ORTONNE, J. Reflectance confocal microscopy for pigmentary disorders. *Experimental Dermatology*, v.19, n.3, p.233-239, 2010.

KATSUHIRO, M., YURI, O., HITOSHI, M., HIROMU, S. Effect of free fatty acids in sebum on epidermal barrier function. *J Soc Cosmet Chem.*, v.35, p.133-140, 2001.

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

KIM, B., CHOI, J., PARK, K., YOUN, S. Sebum, acne, skin elasticity, and gender difference—which is the major influencing factor for facial pores? *Skin Res Technol.*, v.19, p.e45-e53, 2013.

KIM, R. H., ARMSTRONG, A. W. Nonmelanoma skin cancer. *Dermatologic Clinics*, v. 30, n. 1, p. 125–139, 2012.

KOTTNER, J., SCHARIO, M., BARTELS, N. G., PANTCHECHNIKOVA, E., HILLMANN, K., BLUME-PEYTAVI, U. Comparison of two in vivo measurements for skin surface topography. *Skin Res Technol*, v.19, p.84-90, 2013.

LAMBERS, H. et al. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 28, n. 5, p. 359–370, 2006.

LEONARDI, G. R., GASPAR, L. R., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. 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. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, v. 77, n. 5, p. 563–569, 2002.

LONGO, C., CASARI, A.; BERETTI, F.; CESINARO, A. M.; PELLACANI, G. Skin aging: in vivo microscopic assessment of epidermal and dermal changes by means of confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol*, v.13, 2011.

LOPEZ, S., LE FUR, I., MORIZOT, F., HEUVIN, G., GUINOT, C., TSCHACHLER, E. Transepidermal water loss, temperature and sebum levels on women's facial skin follow characteristic patterns. *Skin Res Technol.*, v.6, p.31-36, 2006.

MADISON, K.C. Barrier Function of the Skin: "La Raison d'Être" of the Epidermis. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 121, n. 2, p. 231–241, 23 2003.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G., MELO M.O., CAMARGO JUNIOR F.B. **Effects of Polysaccharide-Based Formulations on Human Skin.** In: Ramawat K., Mérillon JM. (eds) Polysaccharides. Springer, 2015.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G., MERCURIO, D.G., MELO, M.O., CLOSS-GONTHIER, B. Chicory root extract: A -vitamin D-like- active ingredient to improve skin barrier function. *Journal of Dermatological Treatment*, v. 27, p. 1-4, 2016.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G., GONÇALVES, G. M. S. AND GASPAR, L. R. In vitro antioxidant activity and in vivo efficacy of topical formulations containing vitamin C and its

derivatives studied by non-invasive methods. *Skin Research and Technology*, v.14, p.376–380, 2008.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; MERCÚRIO, D. G. Farmacologia e a pele. *Revista Brasileira de Medicina*, v. 66, n. supl. 4, 2009.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G., GIANETI, M.D., CAMARGO JUNIOR, 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*, v.82, p.580-586, 2012.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G., MELO, M. O., CALIXTO, L. S., *et. al.* An Oral Supplementation Based on Hydrolyzed Collagen and Vitamins Improves Skin Elasticity and Dermis Echogenicity: A Clinical Placebo-Controlled Study Clinical. *Pharmacology & Biopharmaceutics*. v.4,n.3, p.:1-6, 2015.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G., MERCURIO, D.G., MELO, M.O., CLOSS-GONTHIER, B. Cichorium intybus root extract: A “vitamin D-like” active ingredient to improve skin barrier function. *Journal of Dermatological Treatment*, v.28, n.1, p.78-81, 2017.

MARRIOT, C. Reologia, in: AULTON, M.E., trad. ORTEGA, G.G. et al. 2.Ed. Delineamento de Formas Farmacêuticas. Artmed, Porto Alegre, p.56-73, 2008.

MASAKI, H. Role of antioxidants in the skin: Anti-aging effects. *Journal of Dermatological Science*, v.58, n.2, p. 85–90, 2010.

MELO, M. O., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Characterization of oily mature skin by biophysical and skin imaging techniques. *Skin Res Technol*, v.24, n.3, p.386-395, 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.

MANUSKIATTI, W., SCHWINDT, D.A., MAIBACH, H.I. Influence of Age, Anatomic Site and Race on Skin Roughness and Scaliness. *Dermatology*, v.196, p.401–407, 1998.

MERCURIO, D.G., JDID, R., MORIZOT, F., MASSON, P., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Morphological, structural and biophysical properties of French and Brazilian photoaged skin. *British Journal of Dermatology*, v. 174, n.3 p. 553-561, 2015.

MERCURIO, D.G., SEGURA, J.H., MAIA CAMPOS, P.M.G.B. Clinical scoring and instrumental analysis to evaluate skin types. *Clin Exp Dermatol.*, v.38, p.302-309, 2013.

MIZUKOSHI, K., YONEKURA, K., FUTAGAWA, M., NAKAMURA, T., HIRAYAMA, K., TAKAHASHI, K. Changes in dermal papilla structures due to aging in the facial cheek region. *Skin Res Technol*, v.21, p.224-231, 2015.

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, 2013.

NIKKOL, Nikkomulese LC Supplementary Information. Lecture Note. Distributed in Phytocosmetic ORM 624 at Rangsit University, Thailand on 19 January 2013

NIKOLAKIS, G., MACRANTONAK, E., ZOUNOULIS, C.C. Aging Skin: A window to the body. In: QUAN, t. Molecular mechanisms of skin aging and age-related diseases. 1 Ed. Boca Raton: Taylor & Francis Group, Cap 11, p.200-227, 2016.

OCHIAI, et al. A new lipophilic pro-vitamin C, tetra-isopalmitoyl ascorbic acid (VC-IP), prevents UV-induced skin pigmentation through its anti-oxidative properties. *J Dermatol Sci.*, v.44, n.1, p.37-44, 2006.

PAPPAS, A., JOHNSEN, S., LIU, J.C., EISINGER, M. Sebum analysis of individuals with and without acne. *Dermato-endocrinology*, v.1, p.157-161, 2009.

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

PEDERSEN, L., JEMEC, G. B. E. Mechanical properties and barrier function of healthy human skin. *Acta Dermato-Venereologica*, v. 86, n. 4, p. 308–311, 2006.

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

PENSÉ-LHÉRITIER, A.M. Recent developments in the sensorial assessment of cosmetic products: a review. *International Journal of Cosmetic Science*, v. 37, n. 5, p. 465–473, 2015.

PIERARD G, PIÉRARD-FRANCHIMONT C, MARKS R, PAYE M, ROGIERS V. EEMCO Guidance for the in vivo Assessment of Skin Greasiness. *Skin pharmacology and applied skin physiology*, v.13, p. 372-89, 1999.

PIERARD, G., GOFFIN, V., HERMANNNS-LE, T., PIERARD-FRANCHIMONT, C. Corneocyte desquamation. *International Journal of Molecular Medicine*, v.6, p.217-238, 2000.

POON, F., KANG, S., CHIEN, A. L. Mechanisms and treatments of photoaging. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, v. 31, n. 2, p. 65–74, 2015.

PROKSCH, E., BRANDNER, J.M., JENSEN, J. The skin: an indispensable barrier. *Experimental Dermatology*, v.17, n.12, p.1063-1072, 2008.

RASUL, A., AKHTAR, N. Formulation and in vivo evaluation for anti-aging effects of an emulsion containing basil extract using non- invasive biophysical techniques. *Journal of Faculty of Pharmacy*, v.19, n.5, p.344-350, 2011.

ROH, M., HAN, M., KIM, D., CHUNG, K. Sebum output as a factor contributing to the size of facial pores. *Br J Dermatol*, 155:890-894, 2016.

SAKUMA, T. H., MAIBACH, H. I. Oily Skin: An Overview. *Skin Pharmacol Physiol*, v.25, n.5, p.227–235, 2012.

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. 17845-14856, 2016.

SHIROMA, P.H. Estudo de comportamento reológico de suspensões aquosas de bentonita e CMC: Influência da concentração de NaCl. 2012. 130 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

SILAB. FILMEXEL® The excellence of a natural, protective and lifting film. *H&PC Today - Household and Personal Care Today*, vol. 11(2), 2016.

SMITH, C. et al. A novel combined experimental-numerical approach for determination of mechanical proprieties of skin in vivo. In: 22th IFSCC Congress, 2002, Edinburgh. Cosmetic Science for a Global Marketplace, CD-ROM, 2002.

SMITH, K.R., THIBOUTOT, D.M. Thematic review series: skin lipids. Sebaceous gland lipids: friend or foe? *J Lipid Res* v.49, p.271–281, 2008.

SOUZA, C., MAIA CAMPOS, P.M.B.G., Development and photoprotective effect of a sunscreen containing the antioxidants Spirulina and dimethylmethoxy chromanol on sun-induced skin damage. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 104, p. 52-64, 2017

STOLZ P, OBERMAYER B. Manufacturing Microalgae for Skin Care. *Cosm Toil* v. 120, p. 99-106, 2005.

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

TAKEMA, Y., TSUKAHARA, K., FUJIMURA, T., HATTORI, M. Age- related changes in the three- dimensional morphological structure of human facial skin. *Skin Research and Technology*, v.3, p.95-100, 1997.

TSOURELI-NIKITA, E.; WATSON, R. E.; GRIFFITHS, C. E. Photoageing: the darker side of the sun. *Photochemistry and Photobiology Sciences*, v. 5, n. 2, p. 160–164, 2006.

TUNDIS, R. et al. Potential roles of natural compounds against aging skin. *Current Medicinal Chemistry*, v.22, n.12, p.1515-1538, 2015.

ULRICH, J. et al. Sonographic diagnostics in dermatology. *Journal of the German Society of Dermatology*, v. 12, n. 12, p. 1083–98, 2014.

WARREN, R. et al. Age, sunlight and facial skin: a histological and quantitative study. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 25, p. 751–760, 1991.

WEBB, A., LI, A., KAUR, P. Location and phenotype of human adult keratinocyte stem cells of the skin. *Differentiation: research in biological diversity*, v. 72, n. 8, p. 387–95, 2004.

WIEDERSBERG, S., LEOPOLD, C.S., GUY, R.H. Effects of various vehicles on skin hydration in vivo. *Skin Pharmacol Physiol* v.22, p.128–130, 2009.

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.

WU Y, NIU Y, ZHONG S, LIU H, ZHEN Y, SAINT-LEGER D, VERSCHOORE M. A preliminary investigation of the impact of oily skin on quality of life and concordance of self-perceived skin oiliness and skin surface lipids (sebum). *Int J Cosmet Sci*, v.35, p.442–447, 2013.

WURM E.M., LONGO, C., CURCHIN, C., SOYER, H.P., PROW, T.W., PELLACANI, G. In vivo assessment of chronological ageing and photoageing in forearm skin using reflectance confocal microscopy. *Br J Dermatol*, v. 267, n.9, p. 270-279, 2012.

YOUN, S.W., KIM, S.J., HWANG, I.A., PARK, K.C. Evaluation of facial skin type by sebum secretion: discrepancies between subjective descriptions and sebum secretion. *Skin Res Technol*, v.8, p.168-172, 2002.

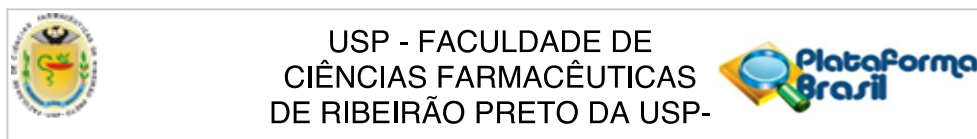
YOUN, S.W.; NA, I. J.; CHOI, S. Y.; HUH, C. H.; PARK, K. C. Regional and seasonal variations in facial sebum secretions: a proposal for the definition of combination skin type. *Skin Research and Technology*, v.11, p. 189-195, 2005.

YUJI K, IIDA T, INOMATA S, DENDA M. Unsaturated fattyacids induce calcium influx into keratinocytes and cause abnormal differentiation of epidermis. *J Invest Dermatol.*,v.124, p.1008-1013, 2005.

ZOUBOULIS, C. C.; MAKRANTONAKI, E. Clinical aspects and molecular diagnostics of skin aging. *Clinics in dermatology*, v. 29, n. 1, p. 3–14, 2011.

ANEXOS

Anexo A: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética (Estudo Clínico de 90 dias)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação das características hidrolipídicas da pele madura e desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de formulações dermocosméticas multifuncionais a base de algas

Pesquisador: Maísa Oliveira de Melo

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 58730816.5.0000.5403

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

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.133.637

Apresentação do Projeto:

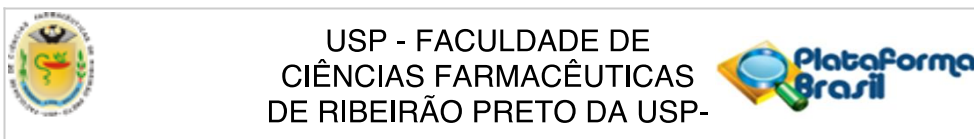
O projeto busca estudar as características da pele madura através de medidas biofísicas e análise de imagem para contribuir para o desenvolvimento de produtos específicos para pele madura seca e oleosa. Além disto será desenvolvida uma formulação para cuidado da pele madura contendo os ativos: extratos de Spirulina, lentilha, Tara, alga vermelha Kappaphycus alvarezii e tetraisopalmitato de ascorbila. Esta formulação será submetida a testes de estabilidade (centrifugação, avaliação visual, avaliação de textura, determinação de pH e parâmetros reológicos), estudos de análise sensorial e eficácia clínica por técnicas não invasivas: técnicas de biofísica e análise de imagem (determinação do conteúdo aquoso do estrato córneo, perda trans epidérmica de água, quantidade de sebo, avaliação de manchas e poros na pele por imagem de alta resolução, avaliação da ecogenicidade e espessura da derme por ultrassom, avaliação das características morfológicas e estruturais da pele por microscopia confocal de reflectância a laser.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliação das características hidrolipídicas da pele madura.

Desenvolvimento e avaliação da estabilidade, eficácia clínica e análise sensorial de formulações contendo vários ativos: extratos de Spirulina, lentilha, Tara, alga vermelha Kappaphycus alvarezii e tetraisopalmitato de ascorbila.

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



Continuação do Parecer: 2.133.637

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: há a possibilidade de alergias cutâneas e irritações.

Benefícios: melhoria das condições da pele envelhecida.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Nada a comentar.

Todas as pendências foram atendidas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Nada a comentar.

Todas as pendências foram atendidas.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Todas as pendências foram atendidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado "ad referendum" do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP/USP) em 22.06.2017. Em atendimento às Resoluções vigentes, deverá ser encaminhado ao CEP/FCFRP, através da Plataforma Brasil, o relatório final da pesquisa conforme modelo de Relatório aprovado pelo CEP, 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". O TCLE deve ser apresentado ao participante da pesquisa em documento impresso frente e verso e as assinaturas não devem ficar em folhas separadas do texto do TCLE.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_765924.pdf	21/06/2017 14:50:50		Aceito
Outros	5VERSAOCarta_encaminhamento.pdf	21/06/2017 14:50:17	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	VERSAO5_TCLE_Maisa.docx	21/06/2017 14:37:52	Maisa Oliveira de Melo	Aceito

Endereço: Avenida do Café s/nº

Bairro: Monte Alegre

CEP: 14.040-903

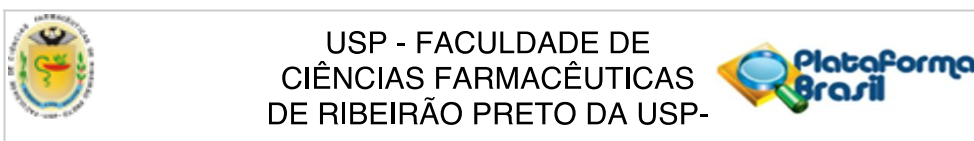
UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3315-4213

Fax: (16)3315-4892

E-mail: cep@fcrp.usp.br



Continuação do Parecer: 2.133.637

Justificativa de Ausência	VERSAO5_TCLE_Maisa.docx	21/06/2017 14:37:52	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Outros	PercepcaoMestradoVersao4.doc	16/05/2017 16:11:42	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Outros	CartaMedicoVersao3.JPG	19/04/2017 15:32:52	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	VERSAO2_Projeto_Mestrado_Maisa2016.pdf	20/02/2017 23:23:20	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Outros	Ficha_Analise_sensorial.docx	20/02/2017 23:16:34	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Outros	VCIP_050822_MSDS.pdf	20/02/2017 23:13:58	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Outros	pRefinyl_MSDS_en.pdf	20/02/2017 23:13:21	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Outros	Filmexel_SDS_br.pdf	20/02/2017 23:12:43	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Outros	Carta_Encaminhamento.JPG	09/08/2016 14:51:52	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO.docx	09/08/2016 14:49:53	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA.docx	09/08/2016 14:49:45	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Pesquisadores.pdf	09/08/2016 12:37:09	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura.pdf	09/08/2016 12:36:54	Maisa Oliveira de Melo	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	09/08/2016 12:36:41	Maisa Oliveira de Melo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

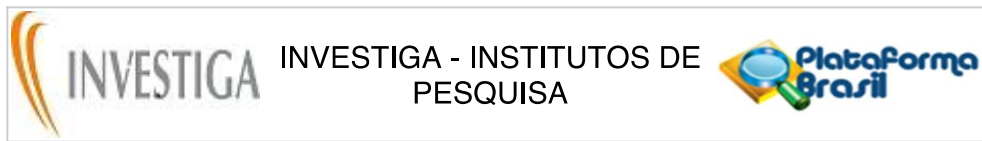
Não

RIBEIRAO PRETO, 22 de Junho de 2017

Assinado por:
Cleni Mara Marzocchi Machado
(Coordenador)

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

Anexo B: Parecer Consubstanciado do Comitê de Ética (Estudo Clínico de 28 dias)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação Instrumental de Formulações para Pele Madura por Técnicas de Biofísica e Análise de Imagem

Pesquisador: Lucas O. Guerra

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 79583517.4.0000.5599

Instituição Proponente: ALLERGISA PESQUISA DERMATO-COSMETICA LTDA

Patrocinador Principal: ALLERGISA PESQUISA DERMATO-COSMETICA LTDA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.416.321

Apresentação do Projeto:

Encaminhamento de resposta pendência referente ao parecer:2.375.829

NOVO PARECER ABAIXO:

TIPO DE PRODUTO: Antienvhecimento

DATA DO PROTOCOLO: 15/11/2017

Considerando as características da pele envelhecida, como rugas, manchas e perda de firmeza, a busca por produtos cosméticos multifuncionais para a melhoria e proteção da pele está em grande evidência. Nesse contexto, observa-se a utilização de produtos naturais e ingredientes ativos inovadores nos diferentes produtos cosméticos, proporcionando benefícios únicos e diferenciando as necessidades específicas para cada tipo de pele. Assim, podemos dar destaque para o uso de ingredientes ativos como extratos da alga vermelha *Kappaphycus Alvarezii*, extrato seco de Spirulina, extrato de lentilha e Tetraisopalmitato de Ascorbila em produtos inovadores, sendo propostos para a melhora de condições gerais da pele, como hidratação, microrrelevo, espessura das camadas e rugas, sendo indicados para o uso em peles envelhecidas. Deste modo, podemos empregar as técnicas de análise de imagem da pele para avaliação destes parâmetros, observando as melhoras em reais condições de uso, com auxílio de softwares específico para estas análises,

Endereço: Av. Dr. Romeu Tórtima, 739

Bairro: JARDIM SANTA GENEBRA II (BARAO

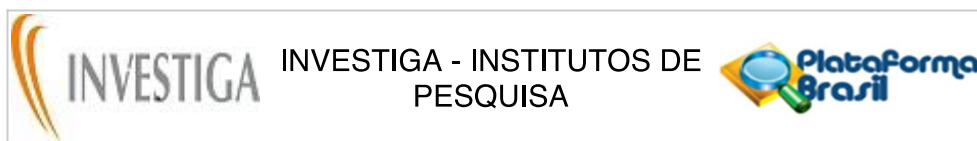
CEP: 13.084-791

UF: SP

Município: CAMPINAS

Telefone: (19)3517-6830

E-mail: cep_investiga@grupoinvestiga.com.br



Continuação do Parecer: 2.416.321

juntamente com as suas alterações visíveis, com os seus efeitos em um período de tempo. As medidas serão realizadas antes da aplicação do produto e 28 dias de tratamento com o produto em estudo. Dois grupos de 20 participantes que cumpram os critérios de inclusão / exclusão serão utilizados, o primeiro com os quatro ingredientes em estudo e um segundo grupo veículo.

As técnicas de análise de imagem da pele compreendem diversos equipamentos com que providenciam dados sobre a ação de um produto cosmético em reais condições de uso a longo ou curto prazo. O microscópio confocal de reflectância a laser (Vivascope® 1500), auxilia na avaliação da espessura de epiderme, permitindo a obtenção de imagens da epiderme e derme papilar em nível celular, são considerados inovações na pesquisa cosmética, por permitirem a obtenção de imagens que demonstram as reais características da pele em tempo real (GIANETI, 2014). Além disso, o equipamento Visia CR® obtém fotografias digitais da face e foi desenhado especialmente para que as luzes emitidas promovam a iluminação ideal para resultados adequados. O sistema permite a captura e armazenamento de imagens, utilizando luz visível, flash de luz polarizada e flash de raios UV. A avaliação instrumental de relevo cutâneo pode também ser realizada com o equipamento Optical 3D Skin Measuring Device PRIMOS Compact®, onde são obtidas medidas tridimensionais do relevo cutâneo (rugos, linhas de expressão e textura da pele), que podem ser quantificadas de acordo as alterações ocorridas.

Os participantes permanecerão em repouso, em sala com temperatura e umidade relativa controladas (20°C ± 2°C e 50% ± 5UR) por no mínimo 30 minutos antes da realização das medidas e durante todo o tempo das medidas.

As medidas serão realizadas nos seguintes tempos:

- T0 – inicial, antes da aplicação do produto;
- T28 – após tratamento por 28 dias com o produto;

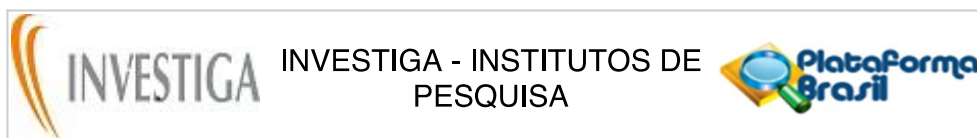
Objetivo da Pesquisa:

O objetivo deste estudo será avaliar a eficácia clínica do produto cosmético através de técnicas de análise de imagem.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Como qualquer produto, estes poderá(ão) causar reações inesperadas como “vermelhidão”, “inchaço”, “coceira” e “ardor” nos locais de aplicação dos produtos. No entanto, qualquer reação adversa provocada pelo produto em teste será acompanhada pelo médico especialista até sua finalização e, se necessário, será fornecida medicação adequada.

Endereço: Av. Dr. Romeu Tórtima, 739	CEP: 13.084-791
Bairro: JARDIM SANTA GENEBRA II (BARAO	
UF: SP Município: CAMPINAS	
Telefone: (19)3517-6830	E-mail: cep_investiga@grupoinvestiga.com.br



Continuação do Parecer: 2.416.321

As pesquisas na área de cosmético visam comprovar eficácia do produto em estudo. Participando dessa pesquisa os participantes estarão contribuindo para que as ações antienvhecimento desta formulação seja avaliada e comparada com região veículo, de modo que se possa definir caso uma formulação tenha ações diferentes na pele. A comprovação das ações antienvhecimento dos produtos podem se reverter como benefício aos participantes da pesquisa pois os mesmos são potenciais consumidores destes produtos no mercado, além do benefício da ação do produto durante o estudo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O protocolo de pesquisa foi bem elaborado com bibliografia pertinente. Com relação aos Aspectos Éticos, a pesquisa segue as normas da Resolução CNS n° 466/2012. A metodologia é adequada aos objetivos apresentados.

O Pesquisador Principal e o Patrocinador declararam, através dos documentos, Termo de Compromisso e Folha de Rosto, o cumprimento dos termos da Resolução CNS n° 466/2012.

O Patrocinador declarou ainda que seus produtos são formulados com matérias primas consagradas e que estas não constituem risco à saúde quando utilizadas em conformidade com as instruções de uso especificadas no protocolo de pesquisa. Além disso, confirma não ter utilizado ingredientes não autorizados pela Agência Regulatória e, no caso de ingredientes regulados, não tê-los utilizado em concentrações acima do permitido.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

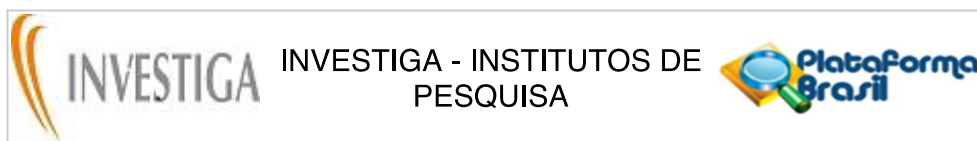
Termos apresentados:

- Folha de Rosto preenchida e assinada;
- Declarações do Pesquisador e Patrocinador quanto ao cumprimento dos termos da Resolução CNS n° 466/2012;
- Fórmula(s) do(s) Produto(s);
- Orçamento e Cronograma detalhado.

-Para atendimento das pendências colocadas para o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE VER_01 –30/10/2017) sobre adequar:

- Área de aplicação do produto (aleatorização);
- Descrição completa dos Procedimentos
- Descrever quantidade de produtos avaliados (objetivos) e como serão aplicados na face (aleatorização).

Endereço: Av. Dr. Romeu Tórtima, 739	CEP: 13.084-791
Bairro: JARDIM SANTA GENEBRA II (BARAO	
UF: SP Município: CAMPINAS	
Telefone: (19)3517-6830	E-mail: cep_investiga@grupoinvestiga.com.br



Continuação do Parecer: 2.416.321

- Inserir:Interdição e Restrição (para garantia dos resultados).
- Verificar benefícios dessa pesquisa uma vez que são produtos tidos como "Antienvhecimento".

Foi encaminhada nova versão do TCLE: VER_02 –18/11/2017

Adicionalmente foram alterados no projeto:

-Tempos de medidas

De: T0 (tempo inicial), T1 (após 1 hora de aplicação), T2 (após 2 horas de aplicação) e T4 (após 4 horas de aplicação). A formulação seria aplicada no instituto.

Para: T0 (tempo inicial) e T28 (28 dias). A formulação será utilizada em domicilio

-Fatores de inclusão

Foram adicionados os tópicos de “ser usuária habitual de protetor solar” e “Apresentar rugas/linhas de expressão visíveis de no mínimo grau II na região periorbital de acordo com a escala do instituto”

-Ingredientes ativos

De: Extrato da alga vermelha Kappaphycus Alvarezii e do fruto da Tara, Ácido Hialurônico e Proteínas hidrolisadas de arroz utilizados separadamente.

Para: Combinação de Spirulina, Extrato de lentilha, Tetraisopalmitato de Ascorbila e Extrato da alga vermelha Kappaphycus Alvarezii e do fruto da Tara.

-Região de estudo

De: Meia face

Para: Face inteira, lado de análise será aleatorizado

-Grupos de estudo

De: 4 grupos - Extrato da alga vermelha Kappaphycus Alvarezii e do fruto da Tara, Ácido Hialurônico e Proteínas hidrolisadas de arroz utilizados separadamente e formulação veículo

Para: 2 grupo - Combinação de Spirulina, Extrato de lentilha, Tetraisopalmitato de Ascorbila e Extrato da alga vermelha Kappaphycus Alvarezii e do fruto da Tara e formulação veículo.

-Equipamentos

Endereço: Av. Dr. Romeu Tórtima, 739

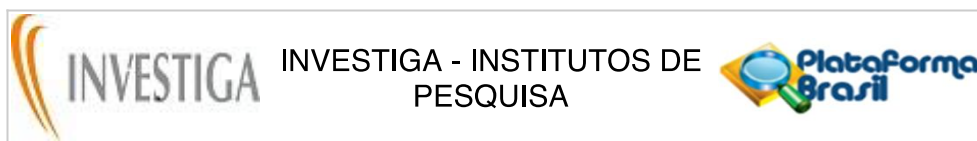
Bairro: JARDIM SANTA GENEBRA II (BARAO

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3517-6830

CEP: 13.084-791

E-mail: cep_investiga@grupoinvestiga.com.br



Continuação do Parecer: 2.416.321

De: Vivascope, Visia, Primus e Visioscan

Para: Vivascope, Visia e Primus

-Número de participantes

De: 60 participantes

Para: 40 participantes

Em atendimento às pendências acima citadas e para as modificações necessárias no desenho de estudo, gerou-se novas versões dos seguintes documentos:

- TCLE_CEP_VR02
- PRO_CEP_15_11_2017_PRV02
- CRONOGRAMA_DETALHADO_VR2
- CRONOGRAMA
- DECLARACAO_SEGURANCA_INGREDIENTES_EXTRATOLENTILHA
- DECLARACAO_SEGURANCA_INGREDIENTES_SPIRULINA
- DECLARACAO_SEGURANCA_INGREDIENTES_TETRAISOPALMITATOASCORBILA
- DIARIO_DE_USO_DO_PRODUTO_TESTE_EM_DOMICILIO
- FORMULA_CEP_VR2
- TERMO_DE_CONSENTIMENTO_PARA_DIVULGACAO_DE_IMAGEM
- DECLARACAO_SEGURANCA_ATIVOS

Recomendações:

Em atendimento à Resolução CNS nº 466/2012, deverá ser encaminhado ao CEP o relatório final da pesquisa e a publicação de seus resultados, para acompanhamento, bem como comunicada qualquer intercorrência ou a sua interrupção.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pesquisa apresenta metodologia adequada aos objetivos propostos, descreve os critérios de inclusão e exclusão necessários para o desenvolvimento da mesma, e apresenta todas as orientações para que o participante da pesquisa possa colaborar com o bom andamento do estudo.

Endereço: Av. Dr. Romeu Tórtima, 739

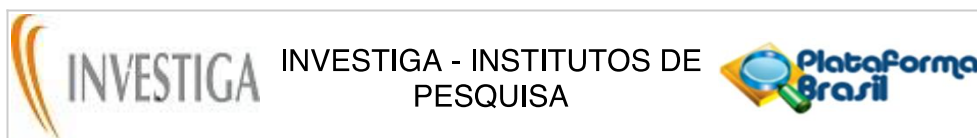
Bairro: JARDIM SANTA GENEBRA II (BARAO

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3517-6830

CEP: 13.084-791

E-mail: cep_investiga@grupoinvestiga.com.br



Continuação do Parecer: 2.416.321

PENDÊNCIAS ATENDIDAS.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1024000.pdf	29/11/2017 10:01:20		Aceito
Outros	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_PARA_DIVULGACAO_DE_IMAGEM.docx	29/11/2017 10:00:38	Lucas O. Guerra	Aceito
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO.pdf	29/11/2017 09:56:26	Lucas O. Guerra	Aceito
Outros	DECLARACAO_SEGURANCA_ATIVOS.docx	29/11/2017 09:47:40	Lucas O. Guerra	Aceito
Outros	RESPOSTA_A_PENDENCIA_TEMA2.docx	29/11/2017 09:43:24	Lucas O. Guerra	Aceito
Outros	FORMULA_CEP_VR2.docx	29/11/2017 09:43:03	Lucas O. Guerra	Aceito
Outros	DIARIO_DE_USO_DO_PRODUTO_TESTE_EM_DOMICILIO.docx	29/11/2017 09:42:43	Lucas O. Guerra	Aceito
Outros	DECLARACAO_SEGURANCA_INGREDIENTES_TETRAISOPALMITATOASCORBILA.pdf	29/11/2017 09:42:19	Lucas O. Guerra	Aceito
Outros	DECLARACAO_SEGURANCA_INGREDIENTES_SPIRULINA.pdf	29/11/2017 09:41:54	Lucas O. Guerra	Aceito
Outros	DECLARACAO_SEGURANCA_INGREDIENTES_EXTRATOLENTILHA.pdf	29/11/2017 09:41:34	Lucas O. Guerra	Aceito
Outros	CRONOGRAMA.docx	29/11/2017 09:41:15	Lucas O. Guerra	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_DETALHADO_VR2.docx	29/11/2017 09:40:35	Lucas O. Guerra	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CEP_VR2.docx	29/11/2017 09:40:23	Lucas O. Guerra	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PRO_CEP_15_11_2017_PRV02.doc	29/11/2017 09:40:11	Lucas O. Guerra	Aceito
Outros	FORMULA_CEP.docx	04/11/2017 22:15:54	Lucas O. Guerra	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_DETALHADO_DA_PESQUISA.docx	04/11/2017 22:15:31	Lucas O. Guerra	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_DETALHADO.docx	04/11/2017 22:15:21	Lucas O. Guerra	Aceito

Endereço: Av. Dr. Romeu Tórtima, 739

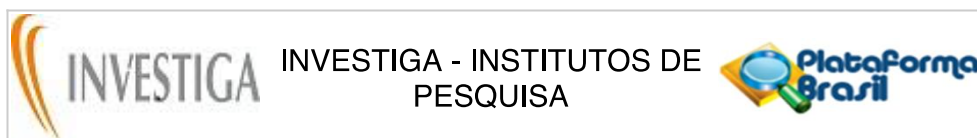
Bairro: JARDIM SANTA GENEBRA II (BARAO

CEP: 13.084-791

UF: SP **Município:** CAMPINAS

Telefone: (19)3517-6830

E-mail: cep_investiga@grupoinvestiga.com.br



Continuação do Parecer: 2.416.321

Declaração do Patrocinador	DECLARACAO_SEGURANCA_INGRE DIENTES_EXTRATOTARA.pdf	04/11/2017 22:15:11	Lucas O. Guerra	Aceito
Declaração do Patrocinador	DECLARACAO_SEGURANCA_INGRE DIENTES_ACIDOHIALUTONICO.pdf	04/11/2017 22:15:03	Lucas O. Guerra	Aceito
Declaração do Patrocinador	DECLARACAO_SEGURANCA_INGRE DIENTE_ARROZ.pdf	04/11/2017 22:14:54	Lucas O. Guerra	Aceito
Declaração do Patrocinador	TermodeCompromissoPatrocinador_Tema2.pdf	04/11/2017 22:14:44	Lucas O. Guerra	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DeclaracaoPesquisador_Tema2.pdf	04/11/2017 22:14:20	Lucas O. Guerra	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CEP.docx	04/11/2017 22:13:26	Lucas O. Guerra	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PRO_CEP_31_10_2017_PRV01.doc	04/11/2017 22:13:15	Lucas O. Guerra	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 05 de Dezembro de 2017

**Assinado por:
Cristiana Madjarof
(Coordenador)**

Endereço: Av. Dr. Romeu Tórtima, 739
Bairro: JARDIM SANTA GENEBRA II (BARAO) **CEP:** 13.084-791
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3517-6830 **E-mail:** cep_investiga@grupoinvestiga.com.br