

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**MARINA MENDES FOSSA SHIRATA**

**Desenvolvimento e eficácia clínica de formulações  
dermocosméticas contendo tetraisopalmitato de ascorbila e  
peptídeos para a pele jovem fotoenvelhecida**

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 13/11/2019. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto  
2019

## RESUMO

FOSSA SHIRATA, M. M., **Desenvolvimento e eficácia clínica de formulações dermocosméticas contendo tetraisopalmitato de ascorbila e peptídeos para a pele jovem fotoenvelhecida**. 2019.133 f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

O envelhecimento da pele pode ser causado por mecanismos intrínsecos e extrínsecos, sendo a radiação solar a principal causa do envelhecimento extrínseco e este está intimamente relacionado com o nível de exposição solar. Dessa forma, é necessário o conhecimento acerca das alterações cutâneas presentes na pele jovem, visando o desenvolvimento de formulações cosméticas fotoprotetoras mais eficazes, contendo substâncias ativas inovadoras para prevenir e atenuar tais alterações, uma vez que elas podem impactar na saúde da pele e auto estima da população. Além disso, durante o desenvolvimento das formulações, avaliações das propriedades físico-mecânicas e sensoriais são muito importantes no intuito de obter formulações com sensorial adequado as expectativas do público alvo, garantindo a adesão ao uso contínuo. Como etapa final, a avaliação da eficácia clínica por meio de técnicas de biofísica e análise de imagem é fundamental para assegurar que as formulações desenvolvidas serão de fato eficazes de acordo com os objetivos propostos. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo desenvolver e avaliar a eficácia clínica de formulações dermocosméticas contendo tetraisopalmitato de ascorbila, peptídeos de arroz e filtros solares para a pele jovem fotoenvelhecida. Inicialmente, quarenta e quatro participantes do sexo feminino foram selecionadas e divididas em dois grupos de acordo com a idade (18-35, grupo 1 e 40-60 anos, grupo 2) que apresentaram alterações cutâneas decorrentes do fotoenvelhecimento. As características hidrolipídicas, morfológicas e estruturais da pele foram avaliadas utilizando técnicas biofísicas e de imagem da pele. Em seguida, foram desenvolvidas formulações dermocosméticas para uso diurno e noturno, contendo ou não tetraisopalmitato de ascorbila, peptídeos de arroz e filtros UV, que foram analisados quanto à estabilidade física, propriedades físico-mecânicas e sensoriais. Para avaliação clínica, foram selecionadas 60 participantes do sexo feminino, com idades entre 20 e 30 anos, fototipos II e III, que apresentavam alterações relacionadas ao fotoenvelhecimento, que não possuíam hábitos diários de fotoproteção. e divididas em 4 grupos que aplicaram as formulações contendo os filtros UV durante o dia e as formulações que continham ou não as substâncias ativas em combinação ou separadamente sem filtros UV à noite, por 90 dias. No tempo basal, 45 e 90 dias, os parâmetros hidrolipídicos, estruturais e morfológicos da pele foram avaliados por equipamentos de biofísica e análise de imagem. Os resultados obtidos na avaliação da pele mostraram que os primeiros sinais de fotoenvelhecimento estão relacionados a alterações no padrão de pigmentação, presença de poros dilatados e redução da ecogenicidade da derme. As formulações desenvolvidas foram estáveis nos testes preliminares de estabilidade, além de apresentarem adequado desempenho físico-mecânico e propriedades sensoriais para a proposta de estudo. Os resultados demonstraram que as formulações desenvolvidas foram eficazes para melhorar a hidratação e ecogenicidade, assim como as substâncias ativas proporcionaram melhora significativa no padrão de pigmentação e na renovação celular da epiderme. Em síntese, o presente estudo mostrou a importância do conhecimento das alterações resultantes do fotoenvelhecimento em jovens brasileiras para o desenvolvimento de formulações mais

específicas e com eficácia clínica comprovada na prevenção e atenuação de tais alterações.

**Palavras chave:** Fotoenvelhecimento, Formulações cosméticas, Eficácia Clínica, Tetraisopalmitato de ascorbila, peptídeos de arroz

#### ABSTRACT

FOSSA SHIRATA, M. M., **Development and clinical efficacy of dermocosmetic formulations containing ascorbyl tetraisopalmitate and rice peptides to photoaged young skin.** 2019. 133f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Skin aging can be caused by intrinsic and extrinsic mechanisms, with solar radiation being the main cause of extrinsic aging and this is closely related to the level of sun exposure. Thus, it is necessary to know about skin changes present in young skin, aiming at the development of more effective photoprotective cosmetic formulations, containing innovative active substances to prevent and attenuate such changes, since they can impact on skin health and self esteem of the population. In addition, during the development of formulations, evaluations of physico-mechanical and sensory properties are very important in order to obtain formulations with adequate sensory expectations of the target audience, ensuring adherence to continuous use. As a final step, evaluation of clinical efficacy using biophysical techniques and image analysis is fundamental to ensure that the formulations developed will indeed be effective in accordance with the proposed objectives. In this context, the present study aimed to develop and evaluate the clinical efficacy of dermocosmetic formulations containing ascorbyl tetraisopalmitate, rice peptides, and sunscreens for young photoaged skin. Initially, forty-four female participants were selected and divided into two groups according to age, (18-35, group 1 and 40-60 years, group 2) that presented cutaneous alterations resulted from photoaging. The hydrolipidic, morphological and structural characteristics of the skin were evaluated using biophysical and skin imaging techniques. Then, dermocosmetic formulations were developed for day and night use, containing or not (vehicle) ascorbyl tetraisopalmitate, rice peptides and UV filters, which were analyzed for physical stability, physical-mechanical and sensory properties. For clinical evaluation, 60 female participants, aged 20 to 30 years old, phototypes II and III, who presented alterations related to photoaging and who did not have daily photoprotection habits were selected. and divided into 4 groups that applied the formulations containing the UV filters during the day, and the formulations containing or not the active substances in combination or separately without UV filters at night, for 90 days. At baseline time, 45, and 90 days the hydrolipidic, structural and morphological parameters of the skin were evaluated by biophysics and image analysis. The results obtained in the skin evaluation showed that the first signs of photoaging are related to changes in pigmentation pattern, presence of large pores and reduction of dermis echogenicity. The formulations developed were stable in the preliminary stability tests, besides having adequate physical-mechanical and sensorial properties for the study propose. The results demonstrated that the formulations developed were effective in improving hydration and echogenicity, as well as the active substances provided significant improvement in the pigmentation pattern and the cell renewal of the epidermis. In summary, the present study showed the importance of knowledge of the alterations resulting from photoaging in Brazillian young women to the development of more specific formulations and with proven clinical efficacy for prevention and attenuation of such alterations.

**Keywords:** Photoaging, Cosmetic formulations, Clinical efficacy, Ascorbyl Tetraisopalmitate, rice peptides.

## 1. INTRODUÇÃO

A pele pode sofrer 2 tipos de processos de envelhecimento, são eles o envelhecimento intrínseco e o envelhecimento extrínseco.

O envelhecimento intrínseco está intimamente relacionado ao envelhecimento cronológico. Há uma perda de integridade estrutural na pele que ocorre devido à diminuição da renovação celular, vascularização, número de queratinócitos, fibroblastos, fibras de colágeno e elastina, além do achatamento da junção dermoepidérmica (JDE) e redução da resposta imune, que finalmente leva a mudanças funcionais na proteção, absorção, termorregulação e percepção sensorial (TOBIN, 2017).

O envelhecimento extrínseco está relacionado a fatores ambientais e de estilo de vida, como exposição ao sol, tabagismo, poluição, estresse, falta de sono, má nutrição, entre outros. Esses fatores aumentam as espécies reativas de oxigênio (EROs) na pele, e associados ao envelhecimento intrínseco, podem agravar as mudanças na pele, podendo levar ao envelhecimento precoce (BAUMANN, 2008, LONGO et al., 2011).

A principal causa do envelhecimento extrínseco é a exposição aos raios ultravioleta (UV), uma vez que 80 a 90% do envelhecimento da pele é decorrente dos efeitos deletérios da luz solar (FLAMENT et al., 2015).

Considerando assim que a intensidade do fotoenvelhecimento está intimamente relacionada ao grau de exposição aos raios UV, a pele jovem já pode apresentar alterações decorrentes do mesmo, o que pode impactar a autoestima e a qualidade de vida (BAUMANN, 2008).

De acordo com Hillebrand (2001), os primeiros sinais do fotoenvelhecimento em japonesas ocorreram aos 20 anos e o aparecimento de rugas finas aos 30 anos de idade. Em outro estudo, Flament e colaboradores (2015) mostraram que todos os sinais faciais das mulheres asiáticas estudadas apresentavam origem relacionada ao sol. Além disso, em um estudo com participantes caucasianos no sul da França, Flament e colaboradores (2013) observaram que mulheres com pele fotoenvelhecida tinham aparência de idade superior em comparação a mulheres da mesma idade que se protegiam do sol.

Considerando que o Brasil é um país com alta incidência de raios UV e que não há estudos que avaliem as características morfológicas e estruturais da pele jovem

brasileira fotoenvelhecida, é de suma importância avaliar quais são as primeiras alterações decorrentes do fotoenvelhecimento e os níveis em que eles se encontram, demonstrando assim a importância do uso diário de formulações fotoprotetoras contendo substâncias ativas para a prevenção e atenuação dessas alterações.

A partir do conhecimento sobre tais alterações, torna-se possível o desenvolvimento de formulações cosméticas fotoprotetoras, contendo substâncias ativas que previnam e atenuem as alterações analisadas na pele. Além disso, possibilita o desenvolvimento de formulações cosméticas que sejam compatíveis com as características que a pele jovem brasileira possui (MELO; MAIA CAMPOS, 2018).

Uma das substâncias ativas antioxidantes mais utilizados na área cosmética é o ácido ascórbico uma vez que atua na diminuição de espécies reativas de oxigênio na pele, também é um cofator necessário para a atividade enzimática da prolil hidroxilase, indutores da produção de colágeno e elastina, além da inibição da metaloproteinase I. Além disso, o mesmo é amplamente utilizado como agente despigmentante devido ao efeito inibitório da tirosinase no processo de produção da melanina (ALMEIDA, et al., 2010; CAPITANI, et al., 2012).

Para que haja aumento da sua estabilidade em formulações cosméticas e aumento da penetração cutânea, foram desenvolvidos alguns tipos de derivados, sendo um deles o derivado lipossolúvel Tetraisopalmitato de ascorbila (MAIA CAMPOS et al., 2008).

Os peptídeos extraídos do arroz também apresentam potencial na melhora das condições da pele fotoenvelhecida, uma vez que eles podem estimular a síntese de colágeno III e VII além de terem efeito antioxidante e protetor, reduzindo o número de espécies reativas de oxigênio na pele (EROs) (GOROUHI; MAIBACH, 2009; HATANAKA et al., 2015).

Nesse contexto, para o desenvolvimento de formulações dermocosméticas inovadoras, é fundamental o protocolo de Pesquisa e Desenvolvimento - P&D, que envolve desde a definição da formulação, seleção de matérias primas e substâncias ativas, testes preliminares de estabilidade, análises das propriedades físico-mecânicas e sensoriais, até estudos de eficácia clínica para a comprovação científica dos benefícios propostos (MAIA CAMPOS, et al., 2012).

Para a avaliação das características do fotoenvelhecimento da pele, bem como para a comprovação da eficácia clínica das formulações cosméticas desenvolvidas, as técnicas biofísicas e de imagem, não invasivas são amplamente utilizadas, uma vez que são métodos in vivo inovadores, que permitem a análise objetiva de uma grande variedade

de fatores relacionados à pele, além da correlação dessas técnicas, garantindo uma ampla visão destas características (MERCÚRIO; MAIA CAMPOS, 2013; DELSIN et al., 2015).

Dessa forma, é possível avaliar parâmetros relacionados à hidratação da pele, perda transepidérmica de água, propriedades mecânicas da pele, cor e homogeneidade da pele e conteúdo de sebo, utilizando os equipamentos Corneometer®, Tewameter®, Cutometer®, Colorimeter® Sebumeter® respectivamente (MAIA CAMPOS et al., 2012; FOSSA SHIRATA; MAIA CAMPOS, 2017).

Em relação à avaliação por análise de imagem, equipamentos como o sistema fotográfico digital de alta resolução com luz ultravioleta Visioface Quick®, o Visioscan VC98, além do ultrassom de 20mHz Dermascan®. Tais equipamentos permitem a avaliação das características visuais da superfície e microrrelevo da pele e também relacionadas a espessura e ecogenicidade da derme. (MAIA CAMPOS et al., 2015; MELO; MAIA CAMPOS, 2018).

Além disso, o Microscópio Confocal de Refletância a Laser (MCR) Vivascope® 1500 é um dispositivo que permite a realização de análises não invasivas com uma resolução quase histológica que permite imagens seriais do mesmo local, permitindo a avaliação das estruturas da pele (WURM et al., 2012; MERCÚRIO et al., 2016).

Assim, como demonstrado em estudos anteriores pelo nosso grupo usando MCR, foi possível avaliar diferenças quantitativas e qualitativas na estrutura e morfologia da pele, comparando diferentes populações, ressaltando assim a importância desta técnica para a avaliação das características da pele (MERCÚRIO et al., 2016).

Em síntese o presente trabalho contribui para o avanço do conhecimento das alterações cutâneas do fotoenvelhecimento na pele jovem por meio da avaliação por técnicas avançadas de biofísica e imagem da pele, as quais possibilitam o desenvolvimento de formulações cosméticas mais efetivas para a proteção e atenuação das alterações observadas, bem como a comprovação de seus benefícios por estudos clínicos.

## **2. CONCLUSÃO**

Nas condições experimentais desse estudo, foi possível concluir que as principais alterações decorrentes do fotoenvelhecimento em mulheres brasileiras de 18 a 35 anos foram hiperpigmentações cutâneas, alterações estruturais na junção dermoepidermica e diminuição da densidade dérmica, demonstrando assim a importância do uso correto de formulações fotoprotetoras desde os primeiros anos de vida, para a prevenção tais alterações.

Além disso, as formulações desenvolvidas a partir dos resultados da avaliação da pele e também das preferências de propriedades sensoriais das participantes do estudo atenderam aos objetivos propostos relacionados à estabilidade, propriedades físico-mecânicas e sensoriais.

Por fim, as formulações desenvolvidas tiveram eficácia clínica comprovada no aumento da hidratação e ecogeneidade da derme, além das substâncias ativas terem auxiliado na redução das hiperpigmentações cutâneas.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. *Editora Anvisa*, 2005.

ANTONIOU, C., KOSMADAKI, M. G., STRATIGOS, A. J., & KATSAMBAS, A. D. Photoaging. *Am J Clin Dermatol*, v. 11, n. 2, p. 95-102, 2010.

ANVISA. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos / Agência Nacional de Vigilância Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Sanitária. 2ª edição, *revista – Brasília : Anvisa*, 2008.

ALMEIDA, M. M. D., LIMA, C. R. R. D. C., QUENCA-GUILLEN, J. S., MOSCARDINI Filho, E., MERCURI, L. P., SANTORO, M. I. R. M., KEDOR-HACKMANN, E. R. M. Stability evaluation of tocopheryl acetate and ascorbyl tetraisopalmitate in isolation and incorporated in cosmetic formulations using thermal analysis. *Braz. J. Pharm. Sci.* v.46, p.129-134, 2010.

AKHALAYA, M. Y., MAKSIMOV, G. V., RUBIN, A. B., LADEMANN, J., DARVIN, M. E. Molecular action mechanisms of solar infrared radiation and heat on human skin. *Ageing research reviews*, v. 16, p. 1-11, 2014.

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

BAGATIN, E., DE VASCONCELOS NASSER CAETANO, L., SOARES, J. L. M. Ultrasound and dermatology: basic principles and main applications in dermatologic research. *Expert Rev Dermatol.*, v. 8, n. 5, p. 463-477, 2013.

BAQUIÉ, M., KASRAEE, B. Discrimination between cutaneous pigmentation and erythema: comparison of the skin colorimeters Dermacatch and Mexameter. *Agache's Measuring the Skin: Non-invasive Investigations, Physiology, Normal Constants*, p. 55-66, 2017.

BASTIANINI, M., SISANI, M., PETRACCI, A. Ascorbyl Tetraisopalmitate Inclusion into Y-Cyclodextrin and Mesoporous SBA-15: Preparation, Characterization and In Vitro Release Study. *Cosmetics*, v. 4, n. 3, p. 21, 2017.



BAUMANN, L. Understanding and Treating Various Skin Types: The Baumann Skin Type Indicator. *Dermatol Clin*, v. 26, p. 359–373, 2008.

BATTIE, C., JITSUKAWA, S., BERNERD, F., DEL BINO, S., MARIONNET, C., VERSCHOORE, M. New insights in photoaging, UVA induced damage and skin types. *Exp dermatol*, v.23, p.7-12, 2014.

BERI, A., NORTON, J. E., NORTON, I. T. Effect of emulsifier type and concentration, aqueous phase volume and wax ratio on physical, material and mechanical properties of water in oil lipsticks. *Int J Cosmet Sci*, v. 35, n. 6, p. 613-621, 2013.

BÖHLING, A., BIELFELDT, S., HIMMELMANN, A., KESKIN, M., & WILHELM, K. P. Comparison of the stratum corneum thickness measured in vivo with confocal Raman spectroscopy and confocal reflectance microscopy. *Skin Res Technol*, v. 20, n. 1, p. 50-57, 2014.

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

BRENNER, M., HEARING, V. J. The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochem Photobiol*. v.84, p.539-549, 2008.

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

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*, p. 1-8, 2018.

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

CAPITANI, R. D., MERCÚRIO, D. G., CAMARGO JÚNIOR, F. B. D., CAMPOS, P. M. Estabilidade e eficácia clínica de formulações cosméticas hidratantes contendo Vitaminas C e E. *Biomed Biopharm Res*. V.2, p.215-224, 2012.

CHARROUF, Z. GUILLAUME, D. Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. *Eur J Lip Sci Technol*, v. 110, n. 7, p. 632-636, 2008.

CHENG, Y.; DONG, Y.; WANG, J.; DONG, M.; ZOU, Y.; REN, D.; YANG, X.; LI, M.; SCHRADER, A.; ROHR, M.; LIU, W. Moisturizing and anti-sebum secretion effects of cosmetic application on human facial skin. *J Cosmet Sci*. v.60, n.1, p.7-14, 2009.

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

COLOMB, L., FLAMENT, F., WAGLE, A., AGRAWAL, D. In vivo evaluation of some biophysical parameters of the facial skin of Indian women. Part I: variability with age and geographical locations. *Int J Cosmet Sci*, v.40, p.50-57, 2018.

CONSTANTIN, M. M, POENARU E., POENARU C., CONSTANTIN T. Skin Hydration Assessment through Modern Non-Invasive Bioengineering Technologies. *Maedica*, v. 9, p. 33-38, 2014.

CORREA, M. D. P. Solar ultraviolet radiation: properties, characteristics and amounts observed in Brazil and South America. *An Bras Dermatol.* v90, p.297-313, 2015.

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

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

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

CZAIKA, V., ALBOROVA, A., RICHTER, H., STERRY, W., VERGOU, T., ANTONIOU, C., KOCH, S. Comparison of transepidermal water loss and laser scanning microscopy measurements to assess their value in the characterization of cutaneous barrier defects. *Skin pharmacology and physiology*, v. 25, n. 1, p. 39-46, 2012.

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

DE FARIAS PIRES, T., AZAMBUJA, A. P., HORIMOTO, A. R. V. R., NAKAMURA, M. S., DE OLIVEIRA ALVIM, R., KRIEGER, J. E., PEREIRA, A. C.. A population-based study of the stratum corneum moisture. *Clin Cosmet Invest Dermatol*, v. 9, p. 79, 2016.

DELSIN, S. D., FOSSA, M. M., MERCURIO, D. G. , CAMPOS, PMBGM . Clinical Efficacy of Dermocosmetic Formulations Containing Spirulina. *Clin Pharmacol Biophar*, v. 4, p. 1-5, 2015.

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

ELEWA, R. M., ABDALLAH, M. A., ZOUBOULIS, C. C. Age-associated skin changes in innate immunity markers reflect a complex interaction between aging mechanisms in the sebaceous gland. *J. Dermatol*, v.42,p. 467–476, 2015.

EVANS, M. E., HYDE, S. T. From three-dimensional weavings to swollen corneocytes. *J R Soc Interface*, v. 8, n. 62, p. 1274-1280, 2011.

FARAGE, M. A., MILLER, K. W., ELSNER, P.,MAIBACH, H. I. Characteristics of the aging skin. *Adv wound care*. v.2, p.5-10, 2013.

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

FISHER, G.J., KANG, S. AND VARANI, J. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *J. Arch Dermatol*. v.138, p.1462-1470, 2002.

FLAMENT F, BAZIN R, LAQUIEZE S, RUBERT V, SIMONPIETRI E, PIOT B. Effect of the sun on visible clinical signs of aging in Caucasian skin. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. v.6, p.221–232, 2013.

FLAMENT, F., BAZIN, R., QIU, H., YE, C., LAQUIEZE, S., RUBERT, V., PIOT, B.. Solar exposure (s) and facial clinical signs of aging in Chinese women: impacts upon age perception. *Clin Cosmet Investig Dermatol.*, v. 8, p.75, 2015.

FOSSA SHIRATA, M. F., CAMPOS, P. M. B.G. MAIA CAMPOS. Influence of UV filters on the texture profile and efficacy of a cosmetic formulation. *Int. J. Cosm.Sci*, v. 39, p. 622-628, 2017.

FOSSA SHIRATA, M. M., ALVES, G. A., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Photoageing-related skin changes in different age groups: a clinical evaluation by biophysical and imaging techniques. *International journal of cosmetic science*, 2019.

FOURTANIER, A., MOYAL, D., SEITÉ, S. Sunscreens containing the broad-spectrum UVA absorber, Mexoryl® SX, prevent the cutaneous detrimental effects of UV exposure: a review of clinical study results. *PHOTODERMATOL PHOTO*, v. 24, n. 4, p. 164-174, 2008.

GABARD, B., TREFFEL, P. Transepidermal water loss. **Agache's Measuring the Skin: Non-invasive Investigations, Physiology, Normal Constants**, p. 1119-1129, 2017.

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

10, 2009.

GOROUHI, F., MAIBACH, H. I. Role of topical peptides in preventing or treating aged skin. *Int. J. Cosm.Sci.*, v. 31p. 327–345, 2009.

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

HARA, Y., MASUDA, Y., HIRAO, T., & YOSHIKAWA, N. The relationship between the Young's modulus of the stratum corneum and age: a pilot study. *Skin Skin Res Technol*, v. 19, n. 3, p. 339-345, 2013.

HATANAKA, T., URAJI, M., FUJITA, A., KAWAKAMI, K. Anti-oxidation Activities of Rice-Derived Peptides and Their Inhibitory Effects on Dipeptidylpeptidase-IV. *Int J Pept Res Ther*, v. 21, p. 479–485, 2015.

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

HILLEBRAND, G.G., LEVINE, M. J., MIYAMOTO, K. The age dependent changes in skin condition in African- Americans, Asian Indians, Caucasians, East Asians & Latino's. *IFSCC Mag.* 4, p. 259–266, 2001.

ICHIHASHI, M., ANDO, H. The maximal cumulative solar UVB dose allowed to maintain healthy and young skin and prevent premature photoaging. *Exp Dermatol*, v.23, p.43–46, 2014.

INFANTE, V. H. P., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Reflectance Confoca Microscopy for the evaluation of photoaging on young men. *ISBS Congress*, 2018.

JABLONSKI, N. G.; CHAPLIN, G. Human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation. *Proc Natl Acad Sci*, v. 107, n. Supplement 2, p. 8962-8968, 2010.

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

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

KAWASAKI, K., YAMANISHI, K., & YAMADA, H. Age-related morphometric changes of inner structures of the skin assessed by in vivo reflectance confocal microscopy. *Int. J. Dermatol.*, v. 54, n. 3, p. 295-301, 2015.

- KING, L. S., KOZONO, D., AGRE, P. From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology. *Nature reviews Molecular cell biology*, v. 5, n. 9, p. 687, 2004.
- KHAN, B.A., AKHTAR, N., WASEEM, K., MAHMOOD, T., RASUL, A. Visio Scan ® VC98, Corneometer MPA 5 and Tewameter. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, v.6, p.225–227, 2011.
- KIM, J. E., CHANG, S., WON, C. H. Combination treatment using bipolar radiofrequency-based intense pulsed light, infrared light and diode laser enhanced clinical effectiveness and histological dermal remodeling in Asian photoaged skin. *Dermatol Surg*. v.38, v.68-76, 2012.
- KIM, E. J., JIN, X. J., KIM, Y. K., OH, I. K., KIM, J. E., PARK, C. H., CHUNG, J. H. UV decreases the synthesis of free fatty acids and triglycerides in the epidermis of human skin in vivo, contributing to development of skin photoaging. *J dermatol sci*, v.57, p.19-26, 2010.
- KIM, H., KOH, J., BAEK, J., SEO, Y., KIM, B., KIM, J., JUNG, H. Retinylretinoate, a novel hybrid vitamin derivative, improves photoaged skin: a double-blind, randomized-controlled trial. *Skin Res Technol*, v.17, p. 380–385, 2011.
- KHAVKIN, J., ELLIS, D.A.F. Aging skin: histology, physiology, and pathology. *Plast Reconstr Surg*, v. 19, n. 2, p. 229-234, 2011.
- KHURY, E., BORGES, E. Protetores solares. *Rev. Brás. Med.*, São Paulo, v. 68, n. 4, p. 4-18, 2011.
- KOLARSICK, Paul AJ; KOLARSICK, Maria Ann; GOODWIN, Carolyn. Anatomy and physiology of the skin. *J Dermatol Nurses Assoc*, v. 3, n. 4, p. 203-213, 2011.
- KOTTNER, J., LICHTERFELD, A., BLUME-PEYTAVI, U. Transepidermal water loss in young and aged healthy humans: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dermatol Res.*, v.305, p.315-323, 2013.
- KÜLKAMP-GUERREIRO, I. C., BERLITZ, S. J., CONTRI, R. V., ALVES, L. R., HENRIQUE, E. G., BARREIROS, V. R. M., GUTERRES, S. S. Influence of nanoencapsulation on the sensory properties of cosmetic formulations containing lipoic acid. *Int J Cosmetic Sci*, v.35, p.105–111, 2013.
- KUTLU HAYTOGLU, N. S., GUREL, M. S., ERDEMIR, A., FALAY, T., DOLGUN, A., HAYTOGLU, T. G. Assessment of skin photoaging with reflectance confocal microscopy. *Skin Res Technol*, v.20, p.363-372, 2014.

- LAGARRIGUE, S. G., GEORGE, J., QUESTEL, E. In vivo quantification of epidermis pigmentation and dermis papilla density with reflectance confocal microscopy: variations with age and skin phototype. *Exp dermatol.* v.21, p.281-286, 2012.
- LAI-CHEONG JE; MCGRATH, J. A., Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine*, v.37, p.223-226, 2009.
- LEE, B. M., A. N, S., KIM S.Y., HAN H. J, JEONG Y. J, LEE K. R, et al. Topical application of a cleanser containing extracts of *Diospyros kaki folium* , *Polygonumcuspidatum* and *Castaneacrenatavar . dulcis* reduces skin oil content and pore size in human skin. *Biomed Rep.*, v.3, p.343-346, 2015.
- LEONARDI, G. R., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Estabilidade de formulações cosméticas. *Int J Pharm Compd.*, v. 3, n. 4, p. 154-156, 2001.
- LEVY, J. L., TRELLES. M., SERVANT, J. J., AGOPIAN, L. Non-ablative skin remodeling: an 8-month clinical and 3D in vivo profilometric study with an 810 nm diode laser. *J Cosmet Laser Ther.*, v. 6, n. 1, p. 11-15, 2004.
- LIPPACHER, A., MULLER, R.H., MADER, K. Liquid and semisolid SLN (TM) dispersions for topical application: rheological characterization. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.58, p.561–567, 2004.
- 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.
- LUKIC, M., JAKSIC, I., KRSTONOSIC, V., CEKIC, N., SAVIC, S. A combined approach in characterization of an effective w/o hand cream: the influence of emollient on textural, sensorial and in vivo skin performance. *Int. J. Cosmetic Sci*, v.34, p.140–149, 2012.
- MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; BADRA, M. V. L. Estudo da estabilidade física de bases dermocosméticas contendo ésteres fosfóricos. *Aerosol& Cosméticos*, v. 79, p. 8-11, 1992.
- MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; GIANETI, M. D.; CAMARGO JÚNIOR, F. B.; GASPARI, L. R. Application of tetra-isopalmitoyl ascorbic acid in cosmetic formulations: Stability studies and in vivo efficacy. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 82, n. 3, p. 580-586, 2012.
- MAIA CAMPOS, P.M.B.G., MELO, M. O., CALIXTO, L. S., FOSSA, M. M. An Oral Supplementation Based on Hydrolyzed Collagen and Vitamins Improves Skin Elasticity and Dermis Echogenicity: A Clinical Placebo-Controlled Study. *Clin Pharmacol Biophar*, v. 4, p. 1-6, 2015.

MARTINI, A. P. M., MERCURIO, D. G., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Assessment of skin pigmentation by confocal microscopy: Influence of solar exposure and protection habits on cutaneous hyperchromias. *J Cosmet Dermatol*, v. 16, n. 3, p. 364-369, 2017.

MASAKI, H. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *J Dermatol Sci*, v. 58, n. 2, p. 85-90, 2010.

MATIAS, A. R., FERREIRA, M., COSTA, P., NETO, P. Skin colour, skin redness and melanin biometric measurements: comparison study between Antera® 3D, Mexameter® and Colorimeter®. *Skin Res Technol*, v. 21, n. 3, p. 346-362, 2015.

MCGRATH, J. A.; EADY, R. A. J.; POPE, F. M. Anatomy and organization of human skin. *Rook's textbook of dermatology*, v. 1, p. 3.1-3.15, 2010.

MELO, M. O.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Characterization of oily mature skin by biophysical and skin imaging techniques. *Skin Res Technol*, 2018.

MERCÚRIO, D. G., JDID, R., MORIZOT, F., MASSON, P., CAMPOS, P. M. B. G. M. Morphological, structural and biophysical properties of French and Brazilian photoaged skin. *Br. J. Dermatol*, v. 173, p. 1–9, 2016.

MERCÚRIO, D. G.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Clinical scoring and instrumental analysis to evaluate the skin types and efficacy of dermocosmetics. *Clin Exp Dermatol*, v. 38, p. 1-10, 2013.

MERCURIO, D. G., MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Reflectance confocal microscopy as a support for the clinical evaluation of the changes caused by aging skin. *Surg Cosmet Dermatol*, v. 7, n. 3, p. 236-40, 2015.

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

MORAVKOVA, T., FILIP, P. The influence of thickeners on the rheological and sensory properties of cosmetic lotions. *Acta Polytechnica Hungarica*, v. 11, n. 6, p. 173-186, 2014.

MUISE, A., DESMARAIS, S. Women's perceptions and use of "anti-aging" products. *Sex Roles*, v. 63, n. 1-2, p. 126-137, 2010.

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

- NAKAGAWA, N., MATSUMOTO, M., SAKAI, S. In vivo measurement of the water content in the dermis by confocal Raman spectroscopy. *Skin Res Technol*, v.1, p.137–141, 2010.
- NAKAJIMA, A., FUNASAKA, Y., KAWANA, S. Investigation by in vivo reflectance confocal microscopy: melanocytes at the edges of solar lentigines. *Exp dermatol*, v. 21, p. 18-21, 2012.
- NOLAN, K., MARMUR, E. Moisturizers: reality and the skin benefits. *Dermatologic therapy*, v. 25, n. 3, p. 229-233, 2012.
- OHSHIMA, H., KINOSHITA, S., OYOBIKAWA, M., FUTAGAWA, M., TAKIWAKI, H., ISHIKO, A., & KANTO, H. Use of Cutometer area parameters in evaluating age-related changes in the skin elasticity of the cheek. *Skin Res Technol*, v. 19, n. 1, p. e238-e242, 2013.
- PARENTE, M. E; ARES, G; MANZONI, A. V., Application of two consumer profiling techniques to cosmetic emulsions. *J. Sens. Stud.*, v.25, p. 685-705, 2010.
- PARENTE, M. E.; MANZONI, A. V.; ARES, G. External preference mapping of commercial antiaging creams based on consumers' responses to a check-all-apply questions. *J. Sens. Stud.* v. 26, p. 158-166, 2011.
- TREESIRICHOD, A., CHANSAKULPORN, S., WATTANAPAN, P. Correlation between skin color evaluation by skin color scale chart and narrowband reflectance spectrophotometer. *Indian J Dermatol.*, v. 59, n. 4, p. 339, 2014.
- PAWLACZYK, M., LELONKIEWICZ, M., WIECZOROWSKI, M. Age-dependent biomechanical properties of the skin. *Postep Derm Alergol.*, v. 30, p.302–306, 2013.
- PEIRANO, R. I., HAMANN, T., DÜSING, H. J., AKHIANI, M., KOOP, U., SCHMIDT-ROSE, T., et. al. Topically applied L -carnitine effectively reduces sebum secretion in human skin. *J Cosmet Dermatol.*, v.11, v30–36, 2012.
- PENSÉ-LHÉRITIER, A.-M. Recent developments in the sensorial assessment of cosmetic products: A review. *Int J Cosmet Sci*, v. 37, n. 5, p. 465-473, 2015.
- PIÉRARD-FRANCHIMONT, C., LESUISSE, M., COURTOIS, J., RITACCO, C., PIÉRARD, G. E. Sebum production. *Textbook of aging skin*, p. 739-751, 2017.
- PIÉRARD, G. E., PIÉRARD-FRANCHIMONT, C., PIÉRARD, S. Visioscan-driven ulev method. *In: Non Invasive Diagnostic Techniques in Clinical Dermatology*. Springer, Berlin, Heidelberg, p.27-33, 2014.
- PIÉRARD, G. E., PIÉRARD-FRANCHIMONT, C., QUATRESOOZ, P. Field melanin mapping of the hairless scalp. *Skin Res Technol*, v. 18, n. 4, p. 431-435, 2012.



- POLEFKA, T. G., MEYER, T. A., AGIN, P. P., BIANCHINI, R. J. Effects of solar radiation on the skin. *J Cosmet Dermatol*, v. 11, n. 2, p. 134-143, 2012.
- POLJŠAK, B., DAHMANE, R. Free radicals and extrinsic skin aging. *Dermatol Res Pract*, v. 2012, 2012.
- PRAJAPATI, V. D., MAHERIYA, P. M., JANI, G. K., & SOLANKI, H. K. Carrageenan: a natural seaweed polysaccharide and its applications. *Carbohydr Polym.*, v. 105, p. 97-112, 2014.
- PROKSCH, E., BRANDNER, J. M., JENSEN, J. The skin: an indispensable barrier. *Exp Dermatol.*, p. 1063–1072, 2008.
- PULLAR, J. CARR, A., VISSERS, M. The roles of vitamin C in skin health. *Nutrients*, v. 9, n. 8, p. 866, 2017.
- QIAN, C. Y., YUAN, C., TAN, Y. M., LIU, X. P., DONG, Y. Q., YANG, L. J., WANG, X. M. Comparing performance of Chromameter®, Mexameter® and full-field laser perfusion imaging for measurement of ultraviolet B light-induced erythema. *Clin Exp Dermatol*, v. 40, n. 4, p. 438-440, 2015
- RASHID, U., ANWAR, F., MOSER, B. R., KNOTHE, G. Moringa oleifera oil: a possible source of biodiesel. *Bioresource technology*, v.99, p.8175-8179, 2008.
- RINNERTHALER, M., BISCHOF, J., STREUBEL, M. K., TROST, A., & RICHTER, K. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules*, v.5, p.545-589, 2015.
- RITTIÉ, L., FISHER, G. J. Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harb Perspect Med*, v. 5, n. 1, p. a015370, 2015.
- RYU, H. S., JOO, Y. H., KIM, S. O., PARK, K. C., & YOUN, S. W. Influence of age and regional differences on skin elasticity as measured by the Cutometer®. *Skin Res Technol*, v. 14, n. 3, p. 354-358, 2008.
- SAMBANDAN, D. R., RATNER, D. Sunscreens: an overview and update. *J Am Acad Dermatol*, v. 64, n. 4, p. 748-758, 2011.
- SAUERMAN, K., JASPERS, S., KOOP, U., WENCK, H. Topically applied vitamin C increases the density of dermal papillae in aged human skin. *BMC dermatology*, v. 4, n. 1, p. 13, 2004.
- SCOTTI, L., VELASCO, M.V.R. Envelhecimento cutâneo à luz da cosmetologia – estudo das alterações da pele no decorrer do tempo e da eficácia das substâncias ativas na prevenção. São Paulo, *Tecnopress*, p.113 2003.
- SERPONE, N., DONDI, D., ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and suncare products. *Inorg. Chim. Acta*, v.360, p.794–802, 2007.

SHIRATA, M. M. F, MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Importance of texture profile and sensory evaluation in the dermoscosmetic development. *Surg. cosmet. dermatol.* v.8, p.223-230, 2016.

SKLAR, L. R., ALMUTAWA, F., LIM, H. W., & HAMZAVI, I. Effects of ultraviolet radiation, visible light, and infrared radiation on erythema and pigmentation: a review. *Photochem Photobiol Sci*, v. 12, n. 1, p. 54-64, 2013.

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. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v. 104, p. 52-64, 2017.

SVOBODOVÁ, A., VOSTÁLOVÁ, J. Solar radiation induced skin damage: review of protective and preventive options. *Int J Radiat Biol*, v. 86, n. 12, p. 999-1030, 2010.

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

TOBIN D. J. Introduction to skin aging. *J Tissue Viability.*, v. 26, n. 1, p. 37-46, 2017.

TOFETTI, M. H. F. C., DE OLIVEIRA, V. R. A importância do uso do filtro solar na prevenção do fotoenvelhecimento e do câncer de pele. *INVESTIGAÇÃO*, v. 6, n. 1, 2010.

VAN DER WAL, M., BLOEMEN, M., VERHAEGEN, P., TUINEBREIJER, W., DE VET, H., VAN ZUIJLEN, P., & MIDDELKOOP, E. Objective color measurements: clinimetric performance of three devices on normal skin and scar tissue. *J Burn Care Res*, v. 34, n. 3, p. e187-e194, 2013.

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

WANG, S. Q., BALAGULA, Y., OSTERWALDER, U. Photoprotection: a review of the current and future technologies. *Dermatologic therapy*, v. 23, n. 1, p. 31-47, 2010.

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

WRIGHT, C. Y., WILKES, M., DU PLESSIS, J. L., REEDER, A. I., & ALBERS, P. N. In multiple situational light settings, visual observation for skin colour assessment is comparable with colorimeter measurement. *Skin Res Technol*, v. 22, n. 3, p. 305-310, 2016.

WURM, E. M. T., 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.167, p.270-279, 2012.

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

ZUSSMAN, J., AHDOUT, J., KIM, J. Vitamins and photoaging: do scientific data support their use?. *J Am Acad Dermatol*, v. 63, n. 3, p. 507-525, 2010.