



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho” - Instituto de Biociências
Campus Botucatu, SP
Programa de Pós-graduação em Farmacologia e Biotecnologia

TESE DE DOUTORADO

Avaliação comparativa da eficácia cosmética antienvhecimento e despigmentante
de dois ativos de origem vegetal e de seus potenciais efeitos sinérgicos com ativos
cosméticos clássicos

GIOVANA PADOVANI
ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CLAUDIO DI STASI

Botucatu, SP
2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho” - Instituto de Biociências
Campus Botucatu, SP
Programa de Pós-graduação em Farmacologia e Biotecnologia

**Avaliação comparativa da eficácia cosmética antienvhecimento e
despigmentante de dois ativos de origem vegetal e de seus potenciais efeitos
sinérgicos com ativos cosméticos clássicos**

GIOVANA PADOVANI
ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ CLAUDIO DI STASI

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências, *Campus* de Botucatu, como
parte dos requisitos para obtenção do
título de Doutora em Farmacologia e
Biotecnologia.

Botucatu, SP
2025

P124a Padovani, Giovana
Avaliação comparativa da eficácia cosmética
antienvelhecimento e despigmentante de dois ativos de origem
vegetal e de seus potenciais efeitos sinérgicos com ativos
cosméticos clássicos / Giovana Padovani. -- Botucatu, 2025
101 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Instituto de Biociências, Botucatu
Orientador: Luiz Claudio Di Stasi

1. Cosméticos. 2. Skin Aging. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos
pelo autor(a).

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Este trabalho tem potencial de impactar positivamente a sociedade ao contribuir para o desenvolvimento de formulações cosméticas mais eficazes e cientificamente embasadas, capazes de atender de forma mais robusta às demandas dos consumidores. Também apoia o setor cosmético com uma ferramenta prática e estruturada para o uso assertivo de ativos e sua realização em parceria com uma instituição privada reforça o interesse do mercado no tema.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This work has the potential to positively impact society by contributing to the development of more effective and scientifically grounded cosmetic formulations, capable of more robustly meeting consumer demands. It also supports the cosmetic sector with a practical and structured tool for the assertive use of active ingredients, and its development in partnership with a private institution reinforces the market's interest in the topic.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Avaliação comparativa da eficácia cosmética antienvelhecimento e despigmentante de dois ativos de origem vegetal e de seus potenciais efeitos sinérgicos com ativos cosméticos clássicos

AUTORA: GIOVANA PADOVANI

ORIENTADOR: LUIZ CLAUDIO DI STASI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Ciências, pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **LUIZ CLAUDIO DI STASI**
Data: 09/07/2025 10:52:21-0300
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

Prof. Dr. LUIZ CLAUDIO DI STASI (Participação Presencial)
Departamento de Biofísica e Farmacologia / Instituto de Biociências de Botucatu UNESP

Documento assinado digitalmente
 **ANA ELISA VALENCISE QUAGLIO**
Data: 03/07/2025 08:28:18-0300
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

Pesquisadora ANA ELISA VALENCISE QUAGLIO (Participação Presencial)
Pesquisa e Desenvolvimento / Verum Ingredients

Documento assinado digitalmente
 **FLAVIA KARINA DELELLA**
Data: 07/07/2025 14:45:43-0300
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

Profa. Dra. FLAVIA KARINA DELELLA (Participação Presencial)
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Instituto de Biociências de Botucatu - Unesp

Botucatu, 19 de maio de 2025

Documento assinado digitalmente
 **FLAVIA DANIELI MARTINS GODINHO**
Data: 20/05/2025 15:56:45-0300
Verifique em <https://validar.itu.gov.br>

FLÁVIA DANIELI MARTINS GODINHO
Assistente Técnico Administrativo I da Seção Técnica de Pós-Graduação
Instituto de Biociências de Botucatu – UNESP

Instituto de Biociências - Câmpus de Botucatu -
Professor Doutor Antonio Celso Wagner Zanin, 250, 18618689, Botucatu - São Paulo
<http://www.ibb.unesp.br/#/pos-graduacao/ciencias-biologicas-farmacologia/CNPJ:48031918002259>

Agradecimentos

Durante minha trajetória, todas as pessoas que cruzaram meu caminho tiveram uma contribuição especial, e sou hoje o reflexo de tudo que aprendi e vivi com elas. Algumas se destacam, e aproveito para agradecê-las, não apenas pelo suporte ao longo do doutorado, mas também pelos ensinamentos de vida.

Agradeço a todos que escolheram dedicar sua vida a ensinar e transmitir conhecimento, meus professores. Muito obrigada por escolherem uma profissão tão grandiosa e por exercerem com comprometimento cada atividade proposta. Agradeço, em especial, ao meu orientador, professor Di Stasi, por confiar na minha capacidade de uma forma que nem eu confiava, além do acolhimento e da orientação transmitidos durante todo o processo.

Aproveito para agradecer também a todos os pesquisadores do laboratório FitoFarmaTec, em especial à Erika e à Laís, pela paciência e pelas orientações, por me abrirem as portas e me fazerem sentir prontamente parte do grupo.

Agradeço à empresa Chemyunion, pelo apoio financeiro à pesquisa, por incentivar meu desenvolvimento profissional e permitir que eu conciliasse meus estudos com minhas atividades de trabalho. Sou grata a todos os meus colegas de trabalho, especialmente aos que fizeram ou ainda fazem parte do Laboratório de Segurança e Eficácia — Diego, Lucas, Natalia, Mariah, Suzana e Maiara. Obrigada por todo o companheirismo, pelos ensinamentos compartilhados e por tornarem meu dia a dia mais leve e agradável.

Agradeço à minha família, especialmente aos meus pais, Cidinha e Geraldo, e ao meu namorado e companheiro de vida, Leonardo. Vocês me ajudaram a superar os momentos difíceis, me deram força, confiaram em mim e me ajudaram a enxergar as saídas que eu precisava. Sou imensamente grata pela paciência, dedicação e amor que vocês me transmitem em todos os momentos. Amo vocês!

Aos meus amigos e mentores, Bianca e Wagner:

Desde o primeiro dia, na minha entrevista de emprego, vocês confiaram no meu potencial e continuam confiando, dia após dia. Essa confiança mudou minha trajetória, e sou profundamente grata por todos os ensinamentos, por me guiarem nos momentos difíceis e por me orientarem no caminho profissional. Este trabalho é também, sem dúvida, fruto da dedicação e do investimento que vocês fizeram e continuam fazendo em mim. Agradeço também pela nossa amizade, por fazerem parte da minha vida e me ensinarem tanto — não apenas no âmbito profissional, mas também na vida pessoal. Vocês são uma inspiração e têm um lugar muito especial no meu coração. Muito obrigada!

*“A ciência e a vida cotidiana não
podem e não devem ser separadas. ”*

Rosalind Franklin

Resumo

O processo de envelhecimento cutâneo ocorre em decorrência de fatores naturais e externos como poluição ambiental, exposição à radiação solar, tabagismo e estilo de vida. A pele envelhecida é evidenciada pela perda de proteínas estruturais como colágeno, resultando em rugas e marcas de expressão, além de discromias como hiperpigmentação cutânea. No contexto da busca pela reversão/inibição do processo de envelhecimento e atenuação de discromias, e em resposta à demanda do mercado consumidor, faz-se necessária a criação e avaliação de cosméticos de uso tópico com tais potencialidades. Uma extensa variedade de ativos cosméticos tem sido desenvolvida, com origens e mecanismos distintos, e a combinação de múltiplos ativos em formulações torna-se comum, porém são raros os registros de avaliações sobre os impactos de tais associações em termos de eficácia. Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar comparativamente a eficácia antienvelhecimento do ativo CMZ, com a ação promovida por oito ativos cosméticos de referência (*Ginkgo biloba*, coenzima Q10, niacinamida, ácido glicólico, retinol, bakuchiol, ácido ascórbico e Pal-GQPR/Pal-GHK) e, simultaneamente, avaliar o possível efeito sinérgico entre o ativo alvo e cada um dos ativos referência. Paralelamente, o mesmo modelo de análise foi utilizado para avaliar um ativo cosmético alvo denominado MLA e oito referências com propriedades moduladoras de discromias cutâneas (4-butil-resorcinol, ácido ascorbico 2-Glicosídeo, ácido elágico, ácido kójico, ácido tranexâmico, glabridina, n-acetil glucosamida e niacinamida). O presente estudo foi realizado utilizando o modelo de análise *ex vivo*, no qual fragmentos de pele humana provenientes de cirurgia plásticas foram cortados e distribuídos em 19 grupos, tratados topicamente com produto, mantendo-se em paralelo os controles basais e placebo para cada um dos 5 voluntários utilizados por grupo. O grupo de ativos antienvelhecimento foi avaliado frente a capacidade moduladora da síntese de colágeno tipo I pela técnica de imunofluorescência em cortes histológicos. Já os ativos moduladores de discromias cutâneas foram avaliados frente a capacidade moduladora da presença de melanina, utilizando a técnica Fontana-Masson. Os resultados obtidos demonstram que todos os ativos avaliados promoveram a eficácia cosmética cutânea a qual se propunham, porém em diferentes intensidades. Quando avaliadas as combinações, pode-se observar modulações de incremento de eficácia na associação entre CMZ e ácido ascórbico e extrato de *Ginkgo biloba*, porém o antagonismo foi evidenciado na associação do ativo CMZ ao peptídeo Pal-GQPR/Pal-GHK. Em relação aos ativos com propriedades moduladoras da melanina, a associação de MLA se mostrou benéfica com ácido ascórbico 2-glicosídeo, N-acetil-glucosamina e glabridina, melhorando a eficácia da formulação frente ao ativo MLA isolado. Propõem-se que a essência e definição da eficácia combinações está diretamente relacionada ao mecanismo de ação ao qual os ativos atuam, e que o modelo de análise pré-clínico *ex vivo* é uma importante ferramenta para a avaliação do potencial sinérgico ou antagônico de ativos cosméticos.

Abstract

The skin aging process occurs due to internal and external factors such as environmental pollution, exposure to solar radiation, smoking, and lifestyle. Aging skin is evidenced by the loss of structural proteins such as collagen, resulting in wrinkles and expression marks, as well as dyschromias such as skin hyperpigmentation. In the search to reverse/inhibit the aging process and mitigate dyschromia, and in response to consumer market demand, it is necessary to create and evaluate topical cosmetics with this potential. Various cosmetic active ingredients have been developed with different origins and mechanisms, and combining multiple active ingredients in formulations has become common. However, reports of evaluations on the impacts of such associations in terms of efficacy are rare. Therefore, the present work aimed to evaluate the anti-aging efficacy of the active ingredient CMZ comparatively, with the action promoted by eight reference cosmetic active ingredients (*Ginkgo biloba*, coenzyme Q10, niacinamide, glycolic acid, retinol, bakuchiol, ascorbic acid and Pal - GQPR/Pal -GHK) and, simultaneously, evaluate the possible synergistic effect between the CMZ ingredient and each of the reference active ingredients. In parallel, the same analysis model was used to test a target cosmetic active ingredient called MLA and eight references with cutaneous dyschromia-modulating properties (4-butyl-resorcinol, ascorbic 2-glucoside acid, ellagic acid, kojic acid, tranexamic acid, glabridin, n-acetyl glucosamine, and niacinamide). The present study was performed using the *ex vivo* analysis model, in which fragments of human skin from plastic surgery were cut and distributed into 19 groups, treated topically with the product, and the basal and placebo controls for each one were maintained in parallel for the five volunteers used per group. The group of anti-aging active ingredients was evaluated based on the ability to modulate type I collagen synthesis using the immunofluorescence technique in histological sections. Active modulators of cutaneous dyschromia were tested based on their ability to modulate the presence of melanin using the Fontana-Masson technique. The results demonstrate that all active ingredients evaluated promoted cosmetic efficacy for the skin at different intensities. When assessing the combinations, modulations of increased efficacy could be observed in the association between CMZ and ascorbic acid and *Ginkgo biloba* extract; however, antagonism was evident in the association of active CMZ with the peptide Pal-GQPR/Pal-GHK. Regarding active ingredients with melanin-modulating properties, the association of MLA proved to be beneficial with ascorbic acid 2-glucoside, N-acetyl-glucosamine, and glabridin, improving the effectiveness of the formulation compared to the active MLA alone. It is proposed that the essence and definition of synergistic efficacy are directly related to the mechanism of action the active ingredient may have and that the *ex vivo* preclinical analysis model is a relevant tool for evaluating the synergistic or antagonistic potential of cosmetic active ingredients.

Lista de figuras

Figura 1. Esquematização da síntese de colágeno tipo 1.....	18
Figura 2. Processo intracelular de melanogênese.....	21
Figura 3. Esquema reacional da síntese de melanina.	22
Figura 4. Representação do modelo de adequação das imagens de Fontana Masson para posterior semiquantificação. As figuras A e C representam as imagens originais, e as imagens B e D com as respectivas imagens preparadas para quantificação.	38
Figura 5. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas aos grupos controle (sem tratamento) e Placebo.....	40
Figura 6. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas de tratamentos mencionados	41
Figura 7. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Ativo Pal-GQPR/Pal-GHK.....	42
Figura 8. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Retinol..	43
Figura 9. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Ácido Glicólico.....	44
Figura 10. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo <i>Ginkgo biloba</i>	45
Figura 11. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Coenzima Q10.....	46
Figura 12. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Bakuchiol.....	47
Figura 13. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Ácido Ascórbico.	48

Figura 14. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo <i>Ginkgo biloba</i>	49
Figura 15. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas aos grupos controle (sem tratamento) e Placebo.	50
Figura 16. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas aos tratamentos mencionados. .	51
Figura 17. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo Ácido Ascórbico 2-glicosídeo.	52
Figura 18. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo N-acetil-glucosamida. .	53
Figura 19. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo Glabridina.	54
Figura 20. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo Ácido kójico.	55
Figura 21. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo 4-butil resorcinol.	56
Figura 22. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo ácido elágico.	57
Figura 23. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo Niacinamida.	58
Figura 24. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo Ácido tranexâmico	59

Lista de quadros

Quadro 1. Análise da tendência de lançamentos de produtos contendo os ativos cosméticos entre 2018 e 2022. Os pontos verdes dos gráficos de tendência destacam os valores mais altos da curva de crescimento. Fonte: Mintel (2023).	28
Quadro 2. Composição das formulações pertencentes ao grupo antienvelhecimento. Porcentagens expressas em p/p.	33
Quadro 3. Composição das formulações pertencentes ao grupo despigmentante. Porcentagens expressas em p/p.	33
Quadro 4. Seleção das concentrações de análise dos ativos em estudo	34

Sumário

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Envelhecimento cutâneo.....	17
1.2. Hiperpigmentação cutânea.....	20
1.3. Ingredientes cosméticos com ação antienvelhecimento e/ou despigmentante	23
1.4. Formulações cosméticas com múltiplos ativos	28
2. OBJETIVOS	30
3. METODOLOGIA	31
3.1. Preparação das formulações cosméticas.	31
3.2. Avaliações de eficácia <i>ex vivo</i>	35
3.2.1. Imunofluorescência de colágeno tipo I	36
3.2.2. Fontana-Masson.....	37
3.3. Análise estatística dos resultados	39
4. RESULTADOS.....	40
4.1. Imunofluorescência de colágeno tipo I para avaliação dos produtos pertencentes ao grupo antienvelhecimento.....	40
4.1.1. Avaliação comparativa dos grupos.....	40
4.1.2. Pal-GQPR/Pal-GHK.....	42
4.1.3. Retinol	43
4.1.4. Ácido glicólico	44
4.1.5. Niacinamida.....	45
4.1.6. Coenzima Q10	46
4.1.7. Bakuchiol	47
4.1.8. Ácido ascórbico	48
4.1.9. <i>Ginkgo biloba</i>	49
4.2. Ensaio de Fontana Masson para avaliação dos produtos pertencentes ao grupo despigmentante	50
4.2.1. Avaliação comparativa dos ativos despigmentantes	50
4.2.2. Ácido ascórbico 2-glicosídeo.....	52
4.2.3. N-acetil-glucosamida	53
4.2.4. Glabridina	54
4.2.5. Ácido kójico	55
4.2.6. 4-butil-resorcinol	56
4.2.7. Ácido elágico.....	57
4.2.8. Niacinamida.....	58

4.2.9.	Ácido tranexâmico.....	59
5.	DISCUSSÃO	60
6.	CONCLUSÃO	75
7.	REFERENCIAS	76
8.	ANEXOS	94

1. INTRODUÇÃO

Cosmético é uma palavra de origem grega que define produto utilizado para melhorar ou embelezar a aparência de uma pessoa (Cosmético, 2015). O uso de produtos com esta finalidade pode ser encontrado em registros antigos, desde o tempo dos faraós, na civilização romana e grega, assim como no mundo árabe, continuando presentes nos períodos medieval e Elisabetano e, mantendo-se até a atualidade (Oumeish, 2001). No início, o embelezamento estava intimamente ligado às regras de higiene e elegância. Contudo, nos tempos modernos, passou a ser relacionado com a busca pela beleza imutável, divulgada principalmente pela arte (Corrêa, 2012).

Além do conceito estético, o cuidado com a beleza é associado à psicodermatologia, que compreende a interação entre pele e mente, em que situações de alterações psicológicas, como traumas emocionais e estresse, podem desencadear o aparecimento de doenças cutâneas, tais como psoríase, acne e dermatite atópica, assim como problemas estéticos tornam-se possíveis indutores de alterações psicológicas (Azambuja, 2017). Alterações cutâneas indesejadas, como discromias, rugas e marcas de expressão em decorrência do envelhecimento e da exposição a agentes ambientais como radiação ultravioleta, podem afetar significativamente o bem-estar individual e elevar sintomas de transtorno de ansiedade social (TAS) (Ellison, 2019). Em um estudo com 120 pacientes ambulatoriais com enfermidades da pele e casos dermatológicos variados, Montgomery e cols., 2016, observaram que cerca de 33% dos pacientes relataram ansiedade social clinicamente significativa. Dentro deste contexto, além de atuar no conceito estético, o mercado cosmético também exerce função no campo psicológico, buscando melhorar a qualidade de vida de seus consumidores, ofertando a possibilidade de envelhecer com a aparência jovem e saudável, sem os sinais cutâneos relativos a esse processo, como o surgimento de rugas, perda da firmeza e elasticidade da pele e distúrbios hiperpigmentares. Embora os aspectos estéticos do envelhecimento cutâneo e dos processos de hiperpigmentação da pele colaboram com o bem-estar emocional, mental e psicossocial das pessoas, seu tratamento e/ou prevenção é particularmente importante devido ao fato de que o envelhecimento cutâneo é relacionado à redução da capacidade funcional da pele, ao aumento da

susceptibilidade a problemas cutâneos e ao desenvolvimento de dermatoses, despigmentação, hiperpigmentação e rugas, assim como de tumores benignos e malignos (Blume-Peutavi e cols., 2016). Desta forma, o desenvolvimento de produtos que possuam ações múltiplas sobre diferentes processos que ocorrem na pele, em especial no envelhecimento e na discromia cutânea, é de fundamental importância, ao mesmo tempo que desafiador.

1.1. Envelhecimento cutâneo

O envelhecimento cutâneo é um processo comum, relativo à maturidade, e pode ser induzido por diversos mecanismos como o acúmulo de danos celulares oxidativos ou pela teoria do encurtamento dos telômeros, sequências de nucleotídeos presentes no final dos cromossomos que são encurtados a cada divisão celular, impossibilitando a divisão celular infinita (Gragnani e cols., 2014; Zhang e Duan, 2018). No entanto, o processo de envelhecimento natural, ou intrínseco, o qual ocorre em decorrência do avanço da idade e condições genéticas, pode ser acelerado devido a fatores externos, como poluição ambiental, exposição à radiação solar, tabagismo e estilo de vida, sendo esse processo denominado envelhecimento extrínseco (Fisher e cols., 2002). O resultado do envelhecimento cutâneo intrínseco e extrínseco evidencia-se pela perda de proteínas estruturais da pele, como colágeno e elastina presentes na derme, resultando em rugas e marcas de expressão (Harris, 2016).

O colágeno é o componente principal da derme que representa cerca de 70% do peso da pele seca, e envolve mais de 15 subtipos de colágeno humano, sendo o tipo I, o mais abundante na derme (James e cols., 2016). O processo de síntese do colágeno é coordenado pelos fibroblastos, e se inicia intracelularmente com a transcrição do mRNA no núcleo celular. Na sequência, o mRNA se move para o citoplasma e interage com os ribossomos para o processo de tradução, formando cadeias alfa-1 ou alfa-2, denominadas cadeia pré-pró-polipeptídica, que ainda serão modificadas no pós-tradução. O pré-pró-polipeptídeo é encaminhado para o retículo endoplasmático onde terá três grandes modificações para se tornar pró-colágeno. A primeira alteração é a remoção do peptídeo de sinalização da região N-terminal, seguido da adição de grupos hidroxila nos resíduos de lisina e prolina por meio de enzimas hidroxilase, que requerem vitamina C como cofator. A última alteração é a

glicosilação dos grupos hidroxila selecionados em lisina com galactose e glicose b. Dessa forma, três cadeias pro- α hidroxiladas e glicosiladas são montadas por torção em formato de tripla hélice, sendo elas duas cadeias alfa-1 e uma alfa-2. Neste formato, a molécula de pró-colágeno é movida para o aparelho de Golgi e secretadas para o espaço extracelular. Já no meio externo das células, peptidases removem as extremidades da molécula e forma-se o tropocolágeno. Para a finalização do processo, a lisil-oxidase, uma enzima dependente de cobre, atua sobre a lisina e as hidroxilisinas, e as ligações covalentes entre as moléculas de tropocolágeno dão origem a uma fibrila de colágeno (Flatt, 2019; Wu, Cronin, Crane, 2022). A Figura 1 esquematiza o processo de síntese descrito.

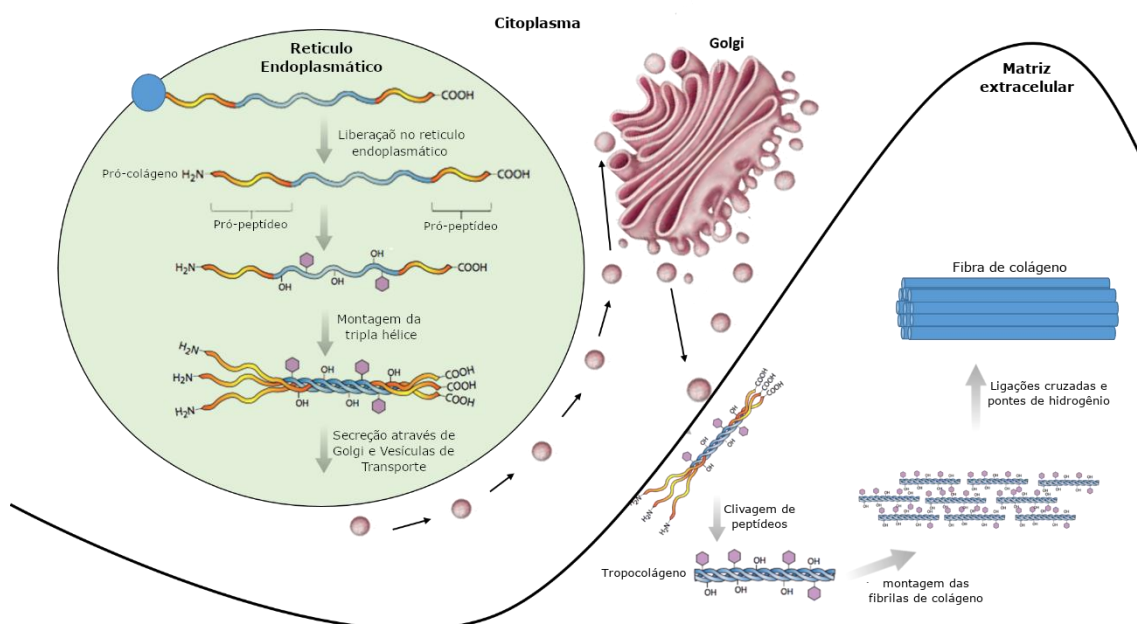


Figura 1. Esquematização da síntese de colágeno tipo 1. (Adaptação de Flatt, 2019)

Dentre os fatores responsáveis pela perda da firmeza cutânea e surgimento de rugas na maturidade, destaca-se a diminuição da capacidade de síntese e alterações biomecânicas na proteína de colágeno tipo 1 (Wilson e cols., 2012; Feitosa e cols., 2022). Um estudo de Varani e cols., 2006, demonstrou que fibroblastos humanos provenientes de voluntários com idade superior a 80 anos produzem cerca de 68% menos pró-colágeno tipo I, quando comparados a fibroblastos extraídos de voluntários com idade entre 18 e 29 anos, além de tais voluntários apresentarem espaços vazios na derme, resultando em perda da estimulação mecânica das células para produção

de colágeno e matriz extracelular (Parsons, 1999; Varani e cols., 2006). Outro mecanismo sugere que a redução do espalhamento e diminuição da força mecânica dos fibroblastos na pele envelhecida eleva a produção de Prostaglandina E2, contribuindo para a redução da produção de colágeno (Li e cols., 2015).

A redução da concentração de colágeno em peles maduras também pode ser associada ao fotoenvelhecimento, no qual ocorre o aumento das proteases relacionadas à degradação desta proteína, especialmente da metaloproteinase tipo I (MMP-1) (Chung e cols., 2001). Ainda sobre a degradação de proteínas, sabe-se que o aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) proveniente do estresse oxidativo na pele também resultam em aumento na expressão de MMP-1 e inibição de TGF- β (Fator Transformador de Crescimento Beta), um importante regulador da síntese de colágeno (Rinnerthaler e cols., 2015).

O processo de envelhecimento, comumente diferenciado como intrínseco e extrínseco, apresenta também peculiaridades relacionada a modulações epigenéticas, descritas como mecanismos capazes de alterar expressões genicas sem que ocorra alterações na sequência de DNA, possibilitando padrões de envelhecimento diferentes até mesmo em indivíduos geneticamente idênticos (Pal; Tyler, 2016). As alterações epigenéticas podem ser resultantes de estímulos endógenos ou exógenos, derivados do estilo de vida, dieta e exposição ambiental (por exemplo, radiações UV, tabagismo, atividade física, ingestão de antioxidantes, restrição calórica) (Orioli; Dellambra, 2018). Existem diferentes meios de modulações epigenéticas, como metilação do DNA, remodelamento da cromatina, transcrição de RNAs não codificantes (ncRNAs) entre outros (Pal; Tyler, 2016). Dentre os ncRNAs, os microRNAs (miRNA) vêm sendo amplamente estudados desde sua descoberta em 1993 (Lee; Feinbaum; Ambros, 1993). Seus mecanismos, tipos, e funções ainda carecem de estudos complementares para serem completamente elucidados, mas sabe-se se grande parte dos miRNAs são capazes de reprimir a tradução de genes-alvo na maioria das condições (Sato e cols., 2011).

Quando avaliada a influência de miRNAs no envelhecimento cutâneo, estudos demonstram que miRNAs relacionados ao mecanismo de envelhecimento cutâneo são significativamente mais expressos no tecido dérmico de indivíduos idosos, quando comparado ao dos jovens, sugerindo o papel crítico de miRNAs sobre o envelhecimento da derme (Varani e cols., 2006; Li e cols., 2016).

1.2. Hiperpigmentação cutânea

Outra característica comumente associada aos sinais de envelhecimento é a discromia cutânea, com o surgimento de manchas pigmentares irregulares na pele, que podem estar relacionadas a diferentes condições como melasma, sardas, resposta pós inflamatória, manchas senis, entre outras. Sabe-se que, com o avanço da idade, tais condições tornam-se mais frequentes, devido a fatores naturais e externos. Com o objetivo de atuar de forma terapêutica sobre esta condição cutânea, diversos ativos cosméticos foram desenvolvidos e possuem capacidade moduladora em variadas vias reguladoras da melanogênese (Mohiuddin, 2019), processo prioritariamente coordenado pelo melanócitos.

Os melanócitos são células dendríticas derivadas dos melanoblastos e, após o completo desenvolvimento, são responsáveis pela síntese e transporte de melanina. Na pele, estão localizados, em sua maioria, na camada basal da epiderme, onde cada melanócito é capaz de alcançar cerca de 36 queratinócitos (Sulaimon; Kitchell, 2003; Smit e cols., 2009).

Diversos fatores impulsionam a melanogênese, especialmente a radiação solar e a liberação de citocinas inflamatórias, resultando na estimulação dos receptores da melanocortina 1 (MC1R), que potencializa a sinalização do hormônio estimulante de alfa-melanócitos (α -MSH), principal precursor de ativação da síntese de melanina (Harris, 2016). A Figura 2 ilustra a cascata reacional intracelular de produção de melanina.

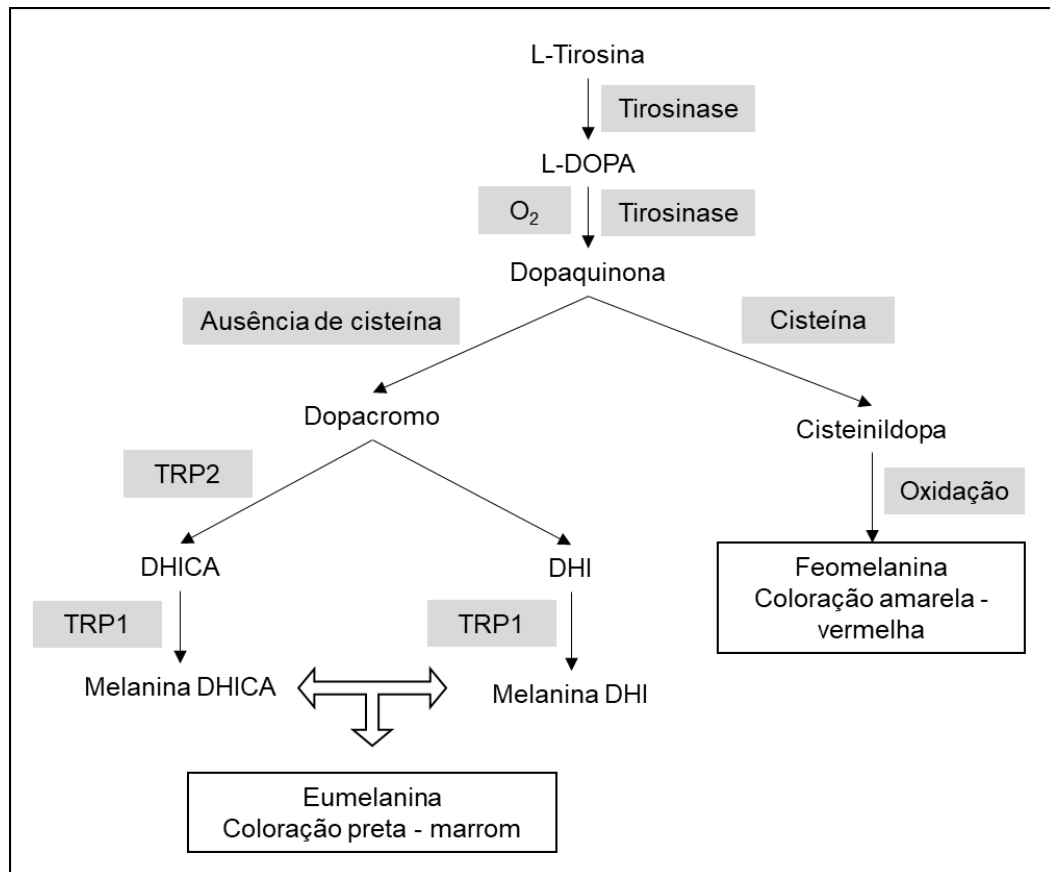


Figura 3. Esquema reacional da síntese de melanina. (Adaptado de Cichorek e cols., 2013)

Após finalizado o processo de síntese, os melanossomos são transportados para os queratinócitos, processo que se inicia dentro dos melanócitos, com a movimentação dos melanossomos até o perímetro celular por meio de microtúbulos, seguido de movimentação ao longo da rede de actina, com a participação das proteínas melanofilina e Rab27a (Ohbayashi; Fukuda, 2020). Na sequência, os melanossomos são fagocitados para dentro dos queratinócitos com o auxílio, dentre outras moléculas, do receptor tipo 2 ativado por protease (PAR2), que é expresso apenas por queratinócitos e atua tanto no aumento da taxa de fagocitose quanto na estimulação da dendricidade dos melanócitos (Seiberg e cols., 2000; Bossche; Naeyaert; Lambert, 2006).

A modulação sobre a cascata de melanização exercida pelos queratinócitos não se limita apenas ao transporte dos melanossomos. A síntese de melanina está também atrelada a outras vias de sinalização tais quais as controladas por

interleucinas, ou sistema plasminogênio/plasmina (Maeda; Tomita, 2007; Harris, 2016).

1.3. Ingredientes cosméticos com ação antienvelhecimento e/ou despigmentante

Dentro do cenário de busca pela reversão/inibição do processo de envelhecimento cutâneo e atenuação de discromias da pele demandados pelo mercado, fazem-se necessárias a criação e avaliação de cosméticos de uso tópico com tais potencialidades.

Parte da comunidade científica considera que os ingredientes ativos cosméticos podem ser classificados em grupos, sendo eles os ingredientes antioxidantes, reguladores celulares, hidratantes e absorvedores de UV, porém, quando avaliada a capacidade de estimular os componentes da matriz extracelular para a reparação e reversão das marcas do envelhecimento, os dois primeiros grupos se destacam (Ganceviciene e cols., 2012; Elewa; Zouboulis, 2014). Fazem parte do grupo de ativos com propriedades antioxidantes as vitaminas, polifenóis e flavonoides, já o grupo denominado reguladores celulares é composto por retinóis, peptídeos e fatores de crescimento, substâncias com efeitos diretos no metabolismo do colágeno influenciando sua produção (Ganceviciene e cols., 2012). No entanto, nota-se que muitas substâncias comprovam sua multifuncionalidade na medida em que são caracterizadas.

Alguns ativos cosméticos estão bem estabelecidos no mercado, e se tornaram referência de eficácia entre os consumidores. Este é o caso de certas vitaminas e ativos antioxidantes, como o ácido ascórbico, que é estudado frente sua atividade antienvelhecimento desde meados do século XX, quando estudos sobre a capacidade moduladora da síntese de colágeno foram realizados por meio da administração oral da substância para cobaias, os quais apresentaram modulação positiva da proteína (Gould, Woessner, 1957). Estudos posteriores corroboraram a influência do ácido ascórbico sobre a síntese de colágeno diretamente em fibroblastos humanos (Freiberger e cols., 1980).

Assim como o ácido ascórbico, a niacinamida também é uma substância naturalmente atuante em diferentes mecanismos funcionais biológicos e dermatológicos (Wohlrab; Kreft, 2014). Sua função biológica é tão importante que,

quando suprimida, resulta na doença denominada pelagra, causando sintomas intestinais, confusão mental, dermatite, entre outros (Hegyi; Schwartz; Hegyi, 2004).

Ainda considerando compostos naturalmente presentes no organismo humano e que vem ganhando destaque na indústria cosmética, a coenzima Q10 (CoQ10), ou ubidecarenona, apresenta-se como um antioxidante essencial para o bom funcionamento fisiológico, sendo que a privação ou redução de disponibilidade de CoQ10 resulta em estresse oxidativo e pode acelerar o envelhecimento cutâneo (Inui e cols., 2008; Marcheggiani e cols., 2019).

De forma complementar, algumas substâncias já são reconhecidas como padrão ouro no que diz respeito à capacidade moduladora da síntese de colágeno, e o consequente efeito antienvelhecimento, como o retinol, com seu metabólito ativo ácido retinóico, e os alfa hidroxiácidos como é o caso do ácido glicólico (Bernstein e cols., 2001; Khalil e cols., 2017).

Nos últimos anos, um modelo cosmético de destaque no mercado é a utilização de peptídeos como ativos antienvelhecimento. Peptídeo são substâncias provenientes da união linear de 2 a 100 aminoácidos presente no organismo cuja função principal é transportar mensagens bioquímicas (Lintner, 2010). Uma subcategoria de tais substâncias são as matricinas, peptídeos curtos gerados pela proteólise de macromoléculas da matriz extracelular, que podem modular a proliferação, migração e apoptose celular (Aldag; Teixeira; Leventhal, 2016). Entre os peptídeos com atuação dermatológica de grande interesse encontram-se os peptídeos Pal-GQPR (*palmitoyl tetrapeptide 7*) e Pal-GHK (*Palmitoyl Tripeptide-1*) (Lintner, 2010; Pickart; Vasquez-Soltero; Margolina, 2015).

A despeito da notória performance de peptídeos na área cosmética, o mercado global de produtos naturais para cuidados com a pele também é significativo e possui expectativa de crescimento anual expressivo de 2022 a 2030. A conscientização do consumidor sobre sustentabilidade, o aumento da adoção de produtos à base de ingredientes naturais, a mudança no estilo de vida e os avanços biotecnológicos estão impulsionando o mercado. Além disso, a conscientização em constante crescimento sobre os benefícios dos produtos à base de ingredientes orgânicos leva os clientes a buscarem opções de cuidados com a pele que sejam naturais e ecologicamente corretas (Grand View Research, 2023) (Precedence Research, 2023). Corroborando com tais constatações, ao realizar pesquisas em plataformas como ScienceDirect

(2023) e PubMed (2023) sobre artigos científicos que abrangem os termos "natural", "extrato" e "cosmético", é evidente um aumento progressivo de publicações relacionadas ao tema ao longo dos anos. Esta tendência evidencia o interesse contínuo tanto da comunidade científica quanto da indústria sobre o assunto. Entre os extratos vegetais deste segmento encontra-se o Bakuchiol, ingrediente com origem na medicina asiática e extraído da semente da planta *Psoralea corylifolia*, que vem sendo estudado como um produto *retinoid-like* para a área cosmética (Chaudhuri; Bojanowski, 2014). O extrato vegetal de *Ginkgo biloba* também se mantém como alvo de interesse, uma vez que possui uma composição rica em flavonoides e lactonas (Kim e cols., 1997; Liu e cols., 2020). Um recém-lançado ativo cosmético de origem natural, aqui denominado CMZ, (*INCI name: Canola Oil (and) Malus Domestica Fruit Extract (and) Zingiber officinale (Ginger) Extract*) também demonstra capacidade de modular positivamente a síntese de colágeno tipo 1, e outros marcadores importantes no processo de envelhecimento cutâneo. Testes clínicos comprovam sua potencialidade de atuação como redutor de rugas e marcas de envelhecimento (Chemyunion, 2023).

No âmbito de produtos cosméticos com ação reguladora das discromias cutâneas, compostos de origem vegetal também exercem importante eficácia. A Glabridina, um isoflavonoide originalmente obtido pelo extrato das raízes de Alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*), vem sendo utilizada em formulações cosméticas como agente anti-inflamatório, antioxidante e clareador da pele (Simmler; Pauli; Chen, 2013). Outro ativo vastamente estudado é o ácido elágico, um composto fenólico de ocorrência natural, comumente encontrado em morangos, framboesas, amoras e principalmente romãs, o qual apresenta características antioxidantes e reguladoras da melanogênese (Muñoz-Muñoz e cols., 2009).

Algumas substâncias ativas, dada as características e mecanismos de atuação, são comprovadamente multifuncionais, podendo exercer funções moduladoras sobre a síntese de colágeno e atuar como agente hipopigmentante, simultaneamente. A niacinamida e o ácido ascórbico, citados anteriormente, se enquadram nesta categoria e apresentam-se como produtos de grande interesse da indústria cosmética (Ando; Matsui; Ichihashi, 2010; Boo, 2022). No entanto, uma peculiaridade do ácido ascórbico referente à rápida degradação é um empecilho para sua ampla utilização. Visando solucionar essa limitação, foram desenvolvidas formas mais estáveis dessa

substância, como é o caso do Ácido Ascórbico 2-glicosídeo (AA2G), substância resultante do processo de síntese enzimática do ácido ascórbico com maltose (Yamamoto e cols., 1990; Qi e cols., 2021). O AA2G se apresenta estável, mesmo em soluções aquosas e aquecidas, apresenta menor citotoxicidade que o ácido ascórbico, além de ter sua conversão biológica em ácido ascórbico sustentada por um longo período quando topicamente aplicada (Yamamoto; Muto, 1992; Kouki e cols., 1992; Kumano e cols., 1998). Em relação à sua potencialidade, no mercado de cuidados pessoais o AA2G também é utilizado em produtos que visam diminuir a hiperpigmentação cutânea. Um estudo comparativo realizado por Kumano e cols., 1998, entre ácido ascórbico e AA2G frente à capacidade de clareamento da melanina, demonstrou que ambos apresentavam efeitos significativos em modelo de célula de melanoma murino (B16), porém o AA2G apresentou efeitos mais duradouros.

Um ativo historicamente empregado como potencial modulador da síntese de melanina é o ácido kójico, inicialmente descoberto a partir do fungo *Aspergillus albus*, que possui capacidade de atuar como inibidor da enzima tirosinase (Saruno; Kato; Ikeno, 1979). Recentemente, a funcionalidade clínica do ácido kójico foi novamente testada e comprovada, porém utilizando técnica avançada de imagem hiperespectral, comprovando mais uma vez a funcionalidade do composto na regulação da hiperpigmentação cutânea (WAWRZYK-BOCHENEK e cols., 2023). Outro composto inibidor da tirosinase é o 4-butil-resorcinol, um composto orgânico comumente sintetizado utilizando resorcinol como substrato (Resende e cols., 2022). O ativo em questão é capaz de modular negativamente a síntese de melanina, e reduzir a hiperpigmentação cutânea e manchas da idade de forma significativa, de acordo com teste clínico realizado com utilização contínua do produto por 8 semanas (Kolbe e cols., 2012).

Algumas substâncias endogenamente presentes no corpo humano também apresentam eficácia cosmética como moduladoras da melanogênese, como é o caso da glucosamina, uma molécula originária da adição de um grupo amino à glicose, e quando acetilada torna-se a N-acetil glucosamina (Bissett, 2006). Esta molécula está presente naturalmente no organismo e tem como uma de suas funções mais notáveis ser precursora da molécula de ácido hialurônico, um polímero de ligação à água de alto peso molecular, que desempenha importantes funções estruturais e de hidratação na matriz extracelular, inclusive na pele (Bissett e cols., 2007). Porém, a N-acetil

glucosamina mostrou-se eficaz na modulação da síntese de melanina devido a sua capacidade de inibir os estágios iniciais do processo de síntese.

Grande parte dos ativos cosméticos destinados à modulação da pigmentação cutânea tem como alvo os melanócitos, porém estes não figuram como alvo do ácido tranexâmico. Tal composto, reconhecido como importante ingrediente na indústria cosmética, não é capaz de modular os melanócitos pelas vias comuns da síntese de melanina, porém atua na sua inibição por interferir na interação entre a sinalização de melanócitos e queratinócitos (Maeda; Tomita, 2007). A eficácia sobre a hiperpigmentação cutânea exercida por este ativo é comprovada inclusive por estudo clínico, realizado em pessoas com melasma (Na e cols., 2012).

Diante da ampla possibilidade de atuação de ativos moduladores da pigmentação cutânea, produtos com alvos múltiplos e distintos mecanismos de ação têm sido estudados e despontam como novas soluções cosméticas, como o extrato de galanga (*Alpinia officinarum*), padronizado na concentração de flavonoide galangina, denominado MLA. A eficácia de tal ingrediente foi investigada por meio de ensaios pré-clínicos e clínico, e apresenta grande potencialidade cosmética (Chemyunion, 2023).

Corroborando os dados apresentados, o Quadro 1 apresenta uma análise relativa da quantidade de produtos cosméticos lançados no mercado mundial entre os anos de 2018 e 2022, contendo os ativos de referência mencionados. Essa análise é respaldada em um levantamento realizado na plataforma de pesquisa de mercado Mintel (2023) e inclui a tendência observada nos 5 anos anteriores. Em destaque (verde) o ponto máximo da curva de tendência, constando o aumento de lançamento com tais ativos nos últimos anos.

Quadro 1. Análise da tendência de lançamentos de produtos contendo os ativos cosméticos entre 2018 e 2022. Os pontos verdes dos gráficos de tendência destacam os valores mais altos da curva de crescimento. Fonte: Mintel (2023).

Ativos	Aumento entre 2018 e 2022	Tendência por ano (2018 a 2022)
Ácido Ascórbico	43%	
Niacinamida	107%	
Coenzima Q10	25%	
Retinol	142%	
Ácido Glicólico	21%	
Pal-GQPR/Pal-GHK	71%	
Bakuchiol	1359%	
Ginkgo biloba	3%	
Glabridina	367%	
Ácido Elágico	19%	
Ácido Ascórbico 2-Glicosídeo	40%	
Ácido Kójico	60%	
4-butil resorcinol	216%	
N-acetil-glucosamida	26%	
Ácido tranexâmico	117%	

1.4. Formulações cosméticas com múltiplos ativos

Considerando a extensa variedade de ativos cosméticos, com especialidades, origens e mecanismos distintos, é frequente a combinação de múltiplos ativos em formulações cosméticas a fim de potencializar os efeitos exercidos. Formulações cosméticas de uso tópico são comumente apresentadas em excipientes ou emulsões, e podem ser compostas por um ou mais ativos, de acordo com o objetivo proposto. No entanto, é importante destacar que a combinação de diferentes ativos em uma mesma formulação pode resultar em efeitos aditivos, sinérgicos, mas também antagônicos. O efeito aditivo é caracterizado pela soma dos efeitos de duas ou mais substâncias, já o sinergismo é qualificado quando a produção de um efeito de uma associação é maior que a soma dos efeitos individuais das substâncias. De forma oposta, o antagonismo é representado pela neutralização ou redução dos efeitos biológicos de uma substância, quando combinada com outra substância (Secoli, 2001) (Nunes e cols., 2020).

Nos últimos anos, diversos estudos científicos avaliam a interação entre ativos cosméticos utilizados em formulações de uso tópico. A avaliação de sinergismo frente a capacidade antioxidante de ativos associados é de grande interesse. Um exemplo é a avaliação de glutatona e carnosina frente à capacidade antioxidante em associação a peptídeos conjugados a ácidos hidroxicinâmicos, no qual observou-se o sinergismo nessas associações (Kwak; Seo; Lee, 2009). Filtros solares também recebem especial atenção dentro do cenário de combinações de ativos. Um estudo avaliando filtros solares associados a compostos fenólicos provenientes de bagaço de uva Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*) constatou que tal associação aumentou o fator de proteção solar nas formulações, constatando o sinergismo estabelecido entre os ativos (Hubner e cols., 2019).

Em relação às formulações com foco na modulação das proteínas estruturais da derme e no controle de discromias cutâneas, as características de associações de ativos também são consideradas, sendo que tais combinações podem ou não melhorar a eficácia da formulação. Um exemplo é a comprovação por dois estudos clínicos multicêntricos duplo-cegos que a combinação de 2% de 4-hidroxianisol (Mequinol) e 0,01% de tretinoína foi eficaz na melhora da aparência de lentigos solares e lesões hiperpigmentadas (Fleischer e cols., 2000).

Dessa forma, a compreensão adequada sobre sinergismo e antagonismo dentro das combinações de ativos cosméticos apresenta-se como um desafio contínuo. Modelos analíticos que empregam técnicas avançadas, como a tecnologia de impressão molecular, estão sendo avaliados com este propósito, no entanto técnicas de análise biológicas ainda apresentam papel significativo no contexto atual (Chen e cols., 2014).

De acordo com as expectativas de mercado, espera-se que em 2024 os ingredientes ativos clássicos sejam ainda mais aplicados em cosméticos, e trabalhados a fim de aprimorar a eficácia, seja por meio de modificações químicas ou por associações e combinações com novos compostos também eficazes (Ourisman, 2023). Os ativos CMZ e MLA apresentam estudos de eficácia pré-clínica e clínica que sustentam a eficácia de atuação antienvelhecimento e redutora de manchas, respectivamente, no entanto a dados sobre a eficácia em uso concomitante com ativos clássicos são desconhecidos, e tais avaliações apresentam especial relevância mercadológica no contexto atual.

2. OBJETIVOS

Com base nas informações apresentadas, os objetivos do presente projeto são:

1. Delinear metodologia experimental para análise em modelo pré-clínico, que possibilite a avaliação de sinergismo em formulações cosméticas.
2. Avaliar de forma comparativa a eficácia e potência antienvelhecimento do ativo composto pelo extrato padronizado de *Malus* sp (maçã) e *Zingiber officinale* (gengibre), denominado CMZ, com a eficácia promovidas por oito ativos cosméticos de referência.
3. Avaliar os possíveis efeitos sinérgicos em formulação contendo a associação do ativo CMZ com cada um dos oito ativos cosméticos de referência.
4. Avaliar de forma comparativa a eficácia e potência despigmentante da pele de um extrato padronizado de *Alpinia officinarum* (galanga), denominado MLA, com aqueles promovidos por oito ativos cosméticos de referência;
5. Avaliar os possíveis efeitos sinérgicos em formulação contendo a associação do ativo MLA com cada um dos oito ativos cosméticos de referência;

3. METODOLOGIA

3.1. Preparação das formulações cosméticas.

Ingredientes cosméticos utilizados e suas respectivas identificações de acordo com padrão internacional de nomenclatura (*INCI name*):

- Cera autoemulsionante (PLB) (*INCI name: Cetearyl Alcohol (and) Polysorbate 60DCB*)
- Conservante (*INCI name: Xylityl Sesquicaprylate (and) Caprylyl Glycol*)
- Ativo alvo CMZ (*INCI name: Canola Oil (and) Malus Domestica Fruit Extract (and) Zingiber officinale (Ginger) Extract*)
- Ácido ascórbico (*INCI name: Ascorbic Acid*)
- Ácido glicólico (*INCI name: Glicolic Acid*)
- Extrato de bakuchiol (*INCI name: Bakuchiol*)
- Coenzima Q10 (*INCI name: Ubiquinone Liposomes*)
- Extrato de *Ginkgo biloba* (*INCI name: Ginkgo Biloba*)
- Niacinamida (*INCI name: Niacinamide*)
- Pal-GQPR/Pal-GHK (*INCI name: Glycerin (and) Water (and) Butylene Glycol (and) Carbomer (and) Polysorbate 20 (and) Palmitoyl Tripeptide-1 (and) Palmitoyl Tetrapeptide-7*)
- Retinol (*INCI name: Retinol*)
- Ácido ascórbico 2-glicosídeo (AA2G) (*INCI Name: Ascorbyl Glucoside*)
- N-acetil-glucosamida (*INCI Name: Acetyl Glucosamine*)
- Glabridina (*INCI Name: Glabridin*)
- Ácido kójico (*INCI Name: Kojic Acid*)
- Ácido tranexâmico (*INCI Name: Tranexamic acid*)
- Ácido elágico (*INCI Name: Ellagic acid*)
- 4-butil-resorcinol (*INCI Name: 4-Butylresorcinol*)
- Niacinamida (*INCI Name: Niacinamide*)
- Ativo alvo MLA (*INCI Name: Maltodextrin (and) Lecithin (and) Alpinia Officinarum Root Extract*)

As formulações cosméticas foram preparadas utilizando cera autoemulsionante não iônica, com características abrangentes de aplicação (PLB). Para todas as formulações avaliadas e placebo, utilizou-se a cera aplicada a 12% (p/p) em água, com 1% (p/p) de conservante.

Para o preparo da formulação placebo, água em quantidade suficiente foi aquecida a 75°C e então adicionou-se aos poucos sob agitação constante 12% (p/p) de cera autoemulsionante previamente aquecida na mesma temperatura. Manteve-se sob agitação e na mesma temperatura por 10 minutos para completa homogeneização da emulsão. Passado o período, iniciou o resfriamento em temperatura ambiente sob moderada agitação. Ao atingir temperatura inferior a 40 °C, adicionou-se 1% (p/p) de conservante e manteve-se em agitação por mais 10 minutos para finalização do processo.

As formulações cosméticas contendo ativos com características polares foram preparadas de forma similar ao placebo. Ao término da adição do conservante e resfriamento da emulsão, adicionou-se o ativo na concentração de uso previamente solubilizado em 1% (p/p) de água e manteve-se em agitação por 10 minutos.

Já os ativos com propriedades apolares foram adicionados à formulação na fase inicial de preparo. Para isso, foram aquecidos até 75°C (temperatura máxima) e incorporados à água e a cera autoemulsionante na primeira etapa do processo de formulação, com a sequência de preparo como citado anteriormente. Salienta-se que os ativos com propriedades apolares são: CMZ, *Bakuchiol*, Coenzima Q10 e Retinol.

No caso do preparo de formulação com dois ativos, sendo um apolar e outro polar, os ativos foram incorporados em momentos distintos, sendo o primeiro adicionado na etapa inicial do processo, já o segundo após a adição do conservante.

Ao término do preparado de cada formulação, a emulsão foi transferida para embalagem *pump* tipo *airless* opaca, a fim de evitar degradação ou oxidação dos ativos causada pela exposição constante ao ar ou à luminosidade.

Os Quadro 2 e 3 ilustram a composição de cada formulação. A fim de evitar o viés decorrente da identificação do grupo de estudo, as formulações cosméticas receberam um código numérico sequencial para cada grupo, sendo o grupo antienvelhecimento codificado com as iniciais FA e o grupo despigmentante com a inicial FD.

Quadro 2. Composição das formulações pertencentes ao grupo antienvhecimento. Porcentagens expressas em p/p.

[illegible]

Quadro 3. Composição das formulações pertencentes ao grupo despigmentante. Porcentagens expressas em p/p.

[illegible]

As concentrações para teste foram definidas com base na demanda e necessidade da empresa patrocinadora do estudo, levando em consideração as concentrações usuais de utilização das referidas matérias primas no mercado. Dessa forma, as concentrações selecionadas possuem registro de utilização, seja em pesquisa científica ou aplicação em produtos de mercado, conforme demonstrado no Quadro 4.

Quadro 4. Seleção das concentrações de análise dos ativos em estudo

	Ativo	Concentração selecionada	Produto de mercado	Referência
Grupo Antienvelhecimento	Ácido ascorbico	10,00%	La Roche-Posay Pure Vitamin C10 Sérum (LaRoche, 2025)	Fitzpatrick e Rostan (2002)
	Ácido glicólico	5,00%	DermaTech Glycolic Cream® 5% (DermaTech, 2025)	Thibault, Wlodarczyk e Wenck (1998)
	Bakuchiol	0,50%	x	Dhaliwal <i>et al.</i> (2018)
	Coenzima Q10	5,00%	AA SKIN BOOST Q10Concentrate 5% Coenzyme Q10 Bio Raspberry Extract 30 ml (Lyko, 2025)	x
	Ginkgo Biloba	2,00%	x	Bardaa <i>et al.</i> (2021) (cobaías)
	Niacinamida	4,00%	DermDoc 4% Niacinamide Face Toner (DermDoc, 2025)	Kawada <i>et al.</i> (2008)
	Pal-GQPR/ Pal-GHK	3,00%	Skin Republic Matrixyl 3000 3% Under Eye Mask Patch (SkinRepublic, 2025)	Bradley, 2014
	Retinol	0,10%	Gel Creme Redutor de Rugas Botik Retinol Puro 0,1% (Boticário, 2025)	Fauverghe <i>et al.</i> (2016)
Grupo despigmentante	4 butil resorcinol	0,10%	x	Huh <i>et al.</i> (2010)
	AA2G	0,50%	x	Miyai <i>et al.</i> (1996) (cobaia)
	Ácido Elágico	0,50%	x	Dahl <i>et al.</i> (2013)
	Ácido kojico	0,50%	x	Nakayama <i>et al.</i> (1994)
	Ácido Tranexamico	1,00%	Avoskin Your Skin Bae Glow Concentrate Treatment 1% TranexamicAcid + Multi Probiome + Pineapple (AvoSkin, 2024)	x
	Glabridina	0,10%	Monite Brightening Serum Glabridin 0,1% + Galactomyces + Ceramides (Monite, 2024)	x
	n-acetil glucosamida	1,00%	Be Minimalist Vitamin C (EthylAscorbic Acid)10% + Acetyl Glucosamine 1% (BeMinimalist, 2024)	x
	Niacinamida	1,00%	The derma CO Pore Minimizing Clay Daily Face Wash With 1% Niacinamide & 2% PHA (TheDermaCo, 2024)	x

As concentrações, além de estarem presente no mercado, também precisavam apresentar eficácia significativa na metodologia utilizada no presente trabalho, sendo essa uma premissa para sua utilização.

3.2. Avaliações de eficácia *ex vivo*.

As avaliações de eficácia realizadas utilizaram a metodologia *ex vivo*, tendo como substrato de estudo os explantes de pele humana provenientes de cirurgia plásticas de blefaroplastia, conforme aprovação na Plataforma Brasil e no comitê de Ética do Hospital Oftalmológico de Sorocaba (CAAE 31980820.8.1001.5411).

Após o procedimento cirúrgico realizado pelo corpo clínico de cirurgias plásticas, os explantes de pele humana provenientes de cirurgia plásticas eletivas foram alocados em frasco contendo solução salina para transporte até o laboratório e início dos tratamentos, realizados sempre no mesmo dia da cirurgia. Primeiramente, as amostras foram imersas em nova solução salina para a lavagem do tecido. Em seguida, os explantes de pele foram imersos em etanol 70% (v/v) por 60 segundos para descontaminação, e posteriormente transferidos para nova solução salina para lavagem e remoção do etanol residual.

Na sequência, os explantes de pele foram alocados em placa de petri contendo 4 mL de meio de cultura (Dulbecco's Modified Eagle Medium – DMEM Gibco Código 10569010 - suplementado com 10% de Soro fetal bovino, 100 unidades/mL de penicilina, 100 unidades/mL de estreptomicina e 0,25 ug/mL de Anfotericina B) onde foram cortados em fragmentos de 0,4 cm². A fim de atender as premissas do estudo, os explantes de pele provenientes de duas pálpebras de um mesmo voluntário deviam ter tamanho suficiente para a obtenção de 19 fragmentos de pele de 0,4 cm².

Cada fragmento de pele foi tratado com 12 mg/cm² de um produto, mantendo-se em paralelo e sob as mesmas condições um controle basal (sem nenhum tratamento) e um controle placebo (tratamento com o creme não iônico, veículo dos produtos) para cada um dos 5 voluntários utilizados. Os fragmentos foram então alocados em poços individuais de placas de 06 poços, e mantidos em contato com meio de cultura por 72 horas, em incubadora de CO₂ (Thermo Scientific™ Forma™

Series II Water-Jacketed CO2 Incubator) em atmosfera úmida, a 37 °C e CO₂ a 5%, com reaplicação do produto e troca do meio de cultura a cada 24 horas.

Passado o período de tratamento, os fragmentos de pele *ex vivo* foram imersos em solução de paraformaldeído 4% (m/v) por 24 horas para fixação das estruturas cutâneas e então transferidas para solução de sacarose a 30% (m/v) por, no mínimo, 48 horas, ambas as etapas a 4°C.

Na sequência, os fragmentos armazenados em sacarose foram transferidos para molde contendo meio de congelamento (Leica, 14020108926) e armazenadas a -20°C até completa solidificação, de modo que o fragmento permanecesse na posição horizontal. Em seguida, os blocos foram alocados em criostato (Leica, CM1950) e fixados em suporte específico. Cortes histológicos de 10 µm foram coletados diretamente sobre lâminas silanizadas, sendo uma lâmina para cada fragmento de pele. Ao término da coleta dos cortes, os mesmos foram submetidos a fixação imergindo as lâminas em solução de paraformaldeído 2% (m/v) por 1 hora a 4°C.

3.2.1. Imunofluorescência de colágeno tipo I

O ensaio de imunofluorescência foi realizado por voluntário, ou seja, 19 lâminas silanizadas contendo os cortes histológicos foram avaliadas simultaneamente. Inicialmente, as lâminas foram imersas em solução *Phosphate Buffered Saline* (PBS) para lavagem e remoção do meio de congelamento residual. Na sequência, as lâminas foram incubadas por 1 hora a temperatura ambiente com solução de bloqueio contendo *Normal Goat Serum* (Abcam, ab7481). Passado o período, removeu-se a solução de bloqueio para adição do anticorpo primário anti-Colágeno tipo I (Sigma-Aldrich, C2456), diluído em solução de bloqueio na proporção 1:1000, a qual ficou em contato com os cortes histológicos durante o período noturno.

No dia seguinte, os cortes histológicos foram submetidos a sequência de 3 lavagens de 5 minutos com PBS e incubados por 1 hora com anticorpo secundário Goat anti-Mouse (Invitrogen, A11001) na concentração de 1:500 diluído em solução de bloqueio. Ao término desse período, as lâminas foram lavadas novamente com PBS (3 lavagens de 5 minutos) e então incubadas com marcador de DNA 4'-6-Diamidino-2-Fenilindol (DAPI) (Invitrogen, D1306) por 3 minutos na proporção de

diluição 1:10000 em PBS. A finalização da marcação ocorreu com mais 3 lavagens de 5 minutos com solução de PBS.

Após o término das etapas experimentais, as lâminas foram montadas em meio de montagem (Invitrogen, P36980) e analisadas em Microscópio de Fluorescência (Leica, DM 6000 B) acoplado a câmera de 2,8 MP (Leica, DFC7000 T), com auxílio do Software LAS (*Leica Application Suite*, v.4.12), fotografando 8 imagens de cada grupo para cada voluntário, totalizando 40 imagens por tratamento. O parâmetro avaliado foi a intensidade de fluorescência emitida pela marcação com anticorpo específico, em verde, e semiquantificação com o auxílio do *software* ImageJ®, o qual identifica a média de coloração da imagem.

3.2.2. Fontana-Masson

Os cortes histológicos provenientes do grupo de tratamento de ativos despigmentantes foram corados pela técnica de Fontana-Masson, utilizando kit específico (Fontana Masson Kit 4X, FM07223SO, Scientific Exodus). Após a montagem das lâminas com os cortes histológicos, as lâminas foram lavadas com PBS e hidratadas com imersão em água destilada por 10 minutos. Em seguida, as lâminas foram transferidas para recipiente contendo solução de prata amoniacal onde ficaram alocadas por 1 hora a 56 °C. Após esse período, as lâminas foram lavadas utilizando água destilada e imersas em solução de cloreto de ouro por 15 segundos. Imediatamente depois, o procedimento de lavagem foi realizado novamente e as lâminas imersas em solução de tiosulfato de sódio por 3 minutos, seguida de lavagem. Finalmente, as lâminas foram mergulhadas em solução de Safranina e os cortes foram desidratados em soluções de etanol e xilol com diferentes gradações. Após o término de todas as etapas, as lâminas foram alocadas em temperatura ambiente para secagem e, assim, montadas com meio de montagem Entellan™ Novo (Sigma-Aldrich, 107961) e lamínula.

As lâminas foram observadas e fotografadas em microscópio ótico (Leica, DM 6000 B) acoplado a câmera de 2,8 MP (Leica, DFC7000 T), com auxílio do Software LAS (*Leica Application Suite*, v.4.12), sendo registradas 8 imagens de cada grupo para cada voluntário, totalizando 40 imagens por tratamento.

A semiquantificação da melanina foi realizada com auxílio dos Softwares GIMP e ImageJ®. Inicialmente, utilizando o software GIMP, a epiderme viável foi selecionada utilizando a ferramenta de seleção livre, seguida pela exclusão de toda área adjacente. Na sequência, utilizou-se a ferramenta de seleção por cor para seleção dos tons próximos a preto presentes na imagem, padronizando o limiar de seleção para todas as imagens. Com as tonalidades escuras selecionadas, as demais áreas foram excluídas e a imagem negativa resultante foi então revelada, utilizando a ferramenta inverter cores.

Por fim, utilizando o software ImageJ®, os pixels foram contabilizados por meio da função *Measure*, sendo a área clara identificada como a presença de melanina dos cortes histológicos, conforme Figura 4.

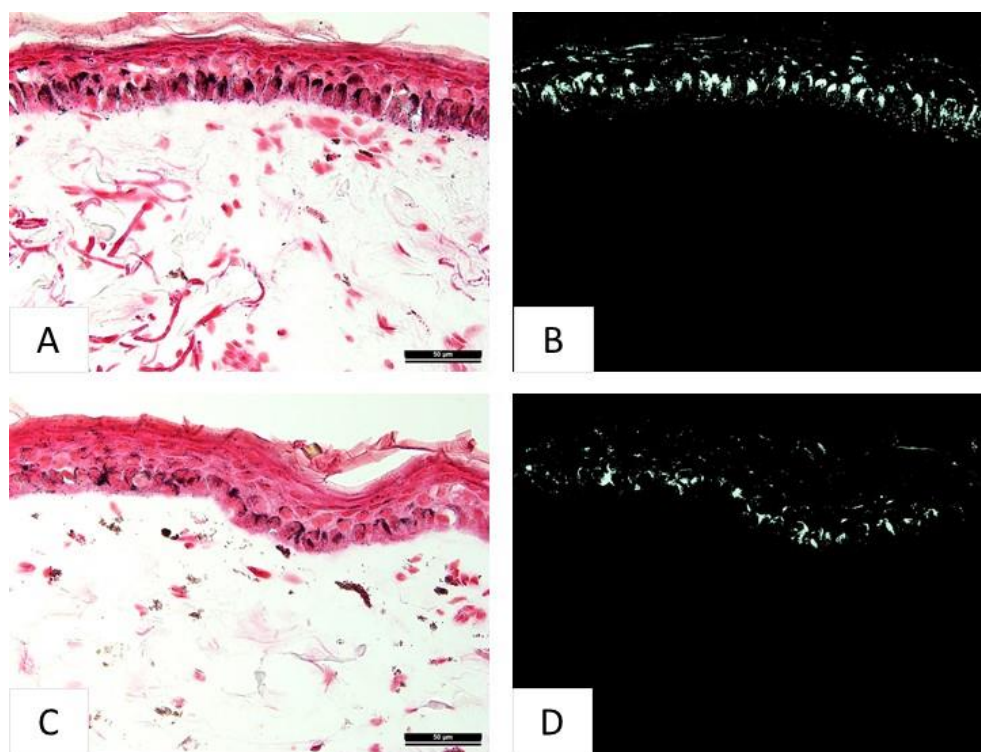


Figura 4. Representação do modelo de adequação das imagens de Fontana Masson para posterior semiquantificação. As figuras A e C representam as imagens originais, e as imagens B e D com as respectivas imagens preparadas para quantificação.

3.3. Análise estatística dos resultados

Inicialmente, os grupos foram avaliados frente a característica de distribuição amostral por meio do teste de normalidade Shapiro Wilk. Uma vez que parte dos grupos avaliados não demonstrou normalidade de distribuição, o teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi utilizado para identificar diferenças significativas entre os grupos, e teste de comparações múltiplas de Dunn utilizado como teste à posteriori. Tratando-se de dados não paramétricos, os gráficos de representação dos resultados foram construídos no formato Boxplot, com a representação do primeiro, segundo e terceiro quartis, sendo o segundo a mediana, e pontos mínimos e máximos desconsiderando *outliers*.

4. RESULTADOS

4.1. Imunofluorescência de colágeno tipo I para avaliação dos produtos pertencentes ao grupo antienvelhecimento

O ensaio de imunofluorescência conduzido com as amostras relativas ao grupo antienvelhecimento foi realizado em fragmentos de peles provenientes de 5 diferentes voluntários, com a avaliação dos grupos controle basal e placebo em paralelo. Em relação a tais grupos, a análise estatística comparativa não constatou diferença significativa entre os grupos sobre síntese de colágeno tipo 1, conforme observado na **Figura 5**. As imagens representativas do estudo de imunofluorescência de Colágeno tipo 1 estão dispostas no Anexo I.

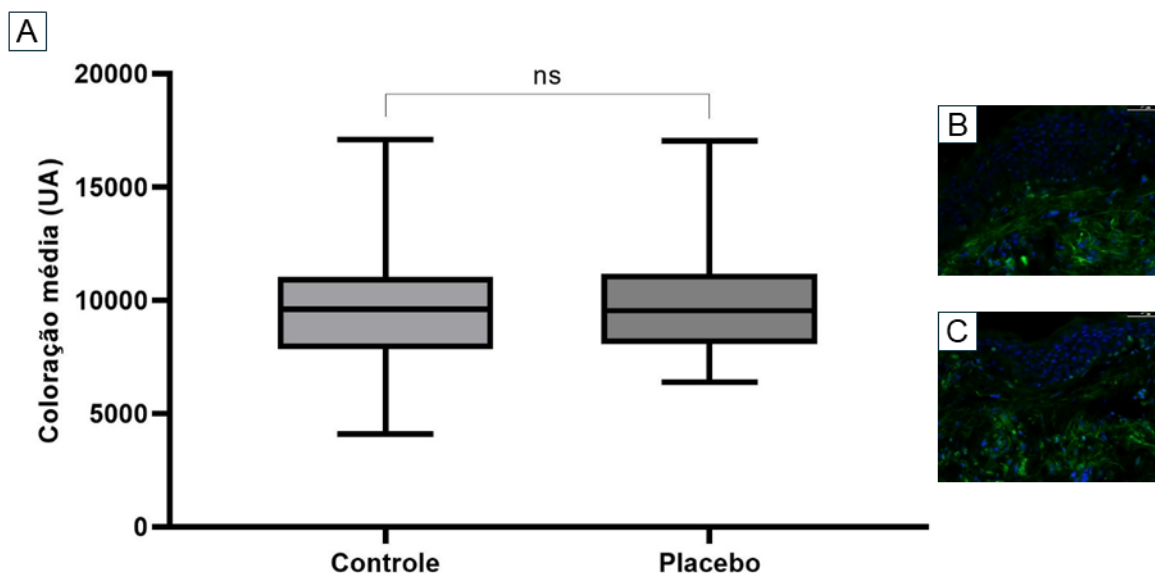


Figura 5. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas aos grupos controle (sem tratamento) e Placebo. ns $p > 0,05$. Imagens representativas dos grupos Controle **(B)** e Placebo **(C)**.

4.1.1. Avaliação comparativa dos grupos

A fim de avaliar comparativamente a eficácia dos ativos cosméticos estudados, a **Figura 6** ilustra a distribuição e mediana das quantificações das imagens obtidas através da avaliação dos cortes histológicos provenientes dos fragmentos de pele dos

5 voluntários. Observa-se que todos os ativos avaliados foram capazes de modular significativamente a síntese de Colágeno tipo 1 no modelo apresentado. Os resultados de mediana obtidos com as aplicações de *Ginkgo biloba* 2%, Coenzima Q10 5% e Niacinamida 4%, apresentaram variação positiva de 33, 39 e 49% quando comparadas à mediana do grupo placebo, e suas distribuições e análises estatística apresentaram $p=0,032$, $p = 0,0020$ e $p = 0,0002$, respectivamente. A avaliação estatística dos resultados obtidos com os demais ativos demonstrou significância de $p<0,0001$ para todas as comparações em relação ao grupo placebo. É possível observar que ácido glicólico 5%, *bakuchiol* 0,5%, retinol 0,1%, ácido ascórbico 10%, CMZ 2% e ativo Pal-GQPR/Pal-GHK 3% apresentaram medianas com modulação 59, 60, 74, 79, 89 e 121% superiores ao placebo, respectivamente, sobre o mesmo parâmetro.

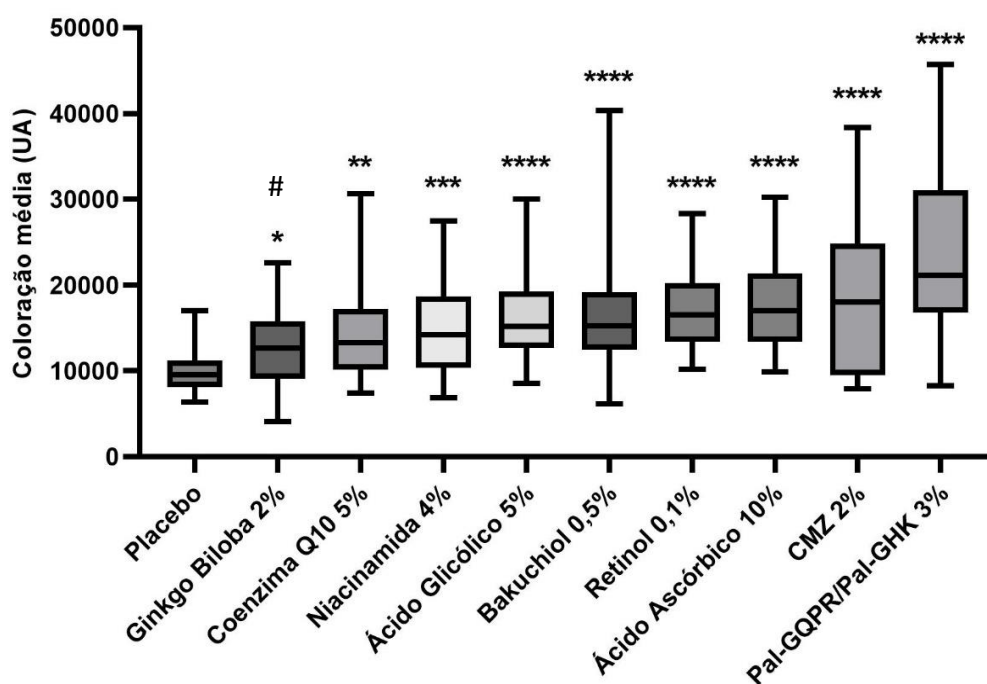


Figura 6. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas de tratamentos mencionados. * entre $p<0,05$ e $p>0,01$; ** entre $p<0,01$ e $p>0,001$; *** entre $p<0,001$ e $p>0,0001$; **** $p<0,0001$ em relação ao placebo. # $p<0,05$ em relação ao CMZ 2%

Quando avaliada a modulação comparativa entre os ativos clássicos e o ativo de origem vegetal CMZ 2%, observa-se diferença estatisticamente significativa ($p=0,033$) apenas em relação ao grupo *Ginkgo Biloba* 2%, conforme demonstrado pelo símbolo “#” na Figura 6.

Com o objetivo de compreender os efeitos da associação dos ativos cosméticos com o CMZ, realizaram-se as avaliações comparativas individuais das amostras isoladas e associadas, em relação ao grupo placebo e ao grupo CMZ também isolado.

4.1.2. Pal-GQPR/Pal-GHK

O ativo Pal-GQPR/Pal-GHK foi avaliado aplicado em base placebo na concentração de 3% e em associação ao CMZ 2%. Neste modelo, a formulação foi capaz de modular positivamente a síntese de colágeno tipo 1 em fragmentos de pele *ex vivo*, porém de forma não significativa em relação ao placebo, com aumento de 20% na mediana das quantificações. Este resultado é ilustrado na **Figura 7**, na qual também é possível observar o decréscimo de 37% frente ao CMZ isolado e de 46% frente ao ativo Pal-GQPR/Pal-GHK sobre o mesmo parâmetro e nas mesmas condições, sendo ambas diferenças estatisticamente significativas, com $p=0,0055$ e $p<0,0001$ respectivamente.

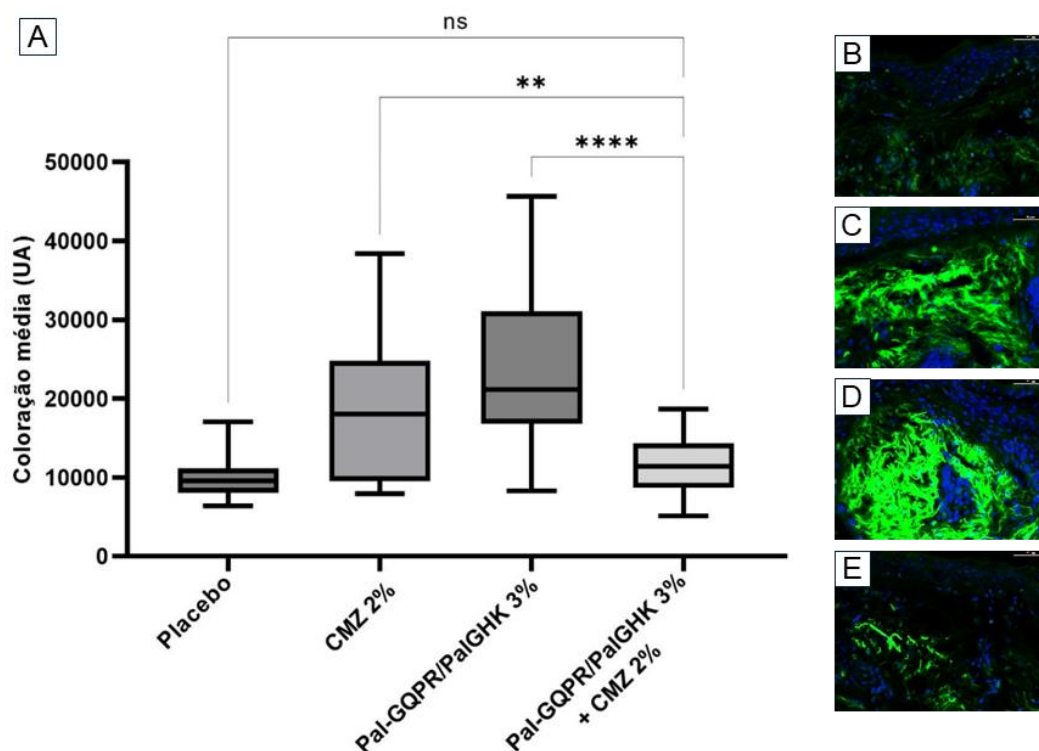


Figura 7. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Ativo Pal-GQPR/Pal-GHK. ns $p>0,05$; ** entre $p<0,01$ e $p>0,001$; **** $p<0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), CMZ (C), Pal-GQPR/Pal-GHK (D) e Pal-GQPR/Pal-GHK + CMZ (E).

4.1.3. Retinol

A formulação contendo a associação dos ativos Retinol 0,1% e CMZ 2% promoveram aumento significativo ($p=0,0236$) na semiquantificação das imagens dos fragmentos de pele tratados, com mediana 31% superior em relação ao placebo, conforme observado na **Figura 8**. Contudo, quando avaliada a associação frente à formulação contendo apenas o ativo CMZ 2%, não se observa significância estatística, apesar de um decréscimo de 31% sobre a mediana. Quando avaliada a associação frente ao ativo Retinol, observa-se redução estatisticamente significativa ($p=0,0051$), com mediana 25% inferior a este grupo.

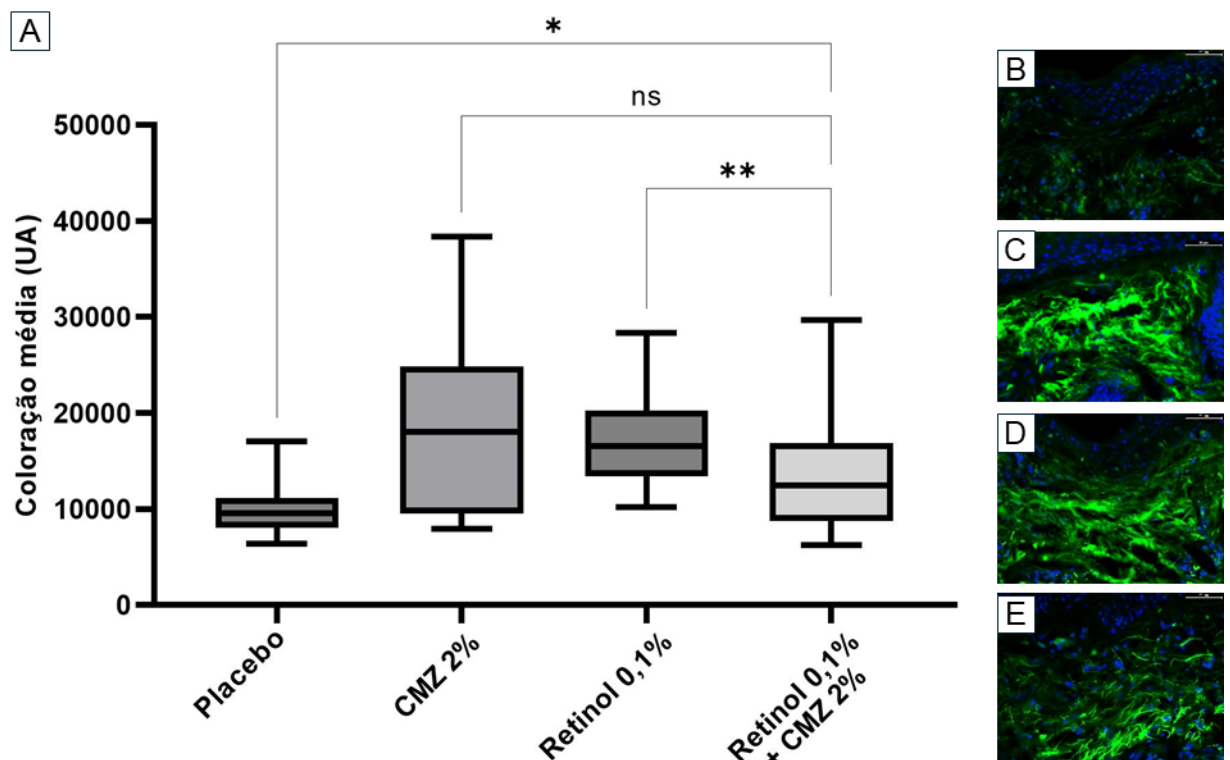


Figura 8. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Retinol. ns $p>0,05$; * entre $p<0,05$ e $p>0,01$; ** entre $p<0,01$ e $p>0,001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), CMZ (C), retinol (D) e retinol + CMZ (E).

4.1.4. Ácido glicólico

O Ácido Glicólico, avaliado na concentração de 5% associado ao CMZ 2%, demonstrou potencial atuação sobre a síntese de Colágeno tipo 1 em fragmentos de pele humana, conforme observado na **Figura 9**. A comparação ao grupo placebo resultou em modulação estatisticamente significativa ($p=0,0016$), com mediana 59% superior a este grupo. No entanto, não é possível identificar diferenças relevantes quando comparada a associação aos ativos isolados. Em relação ao CMZ 2%, observa-se 26% de queda da mediana e, quando comparara ao grupo tratado apenas com Ácido Glicólico, a variação negativa é de 12%.

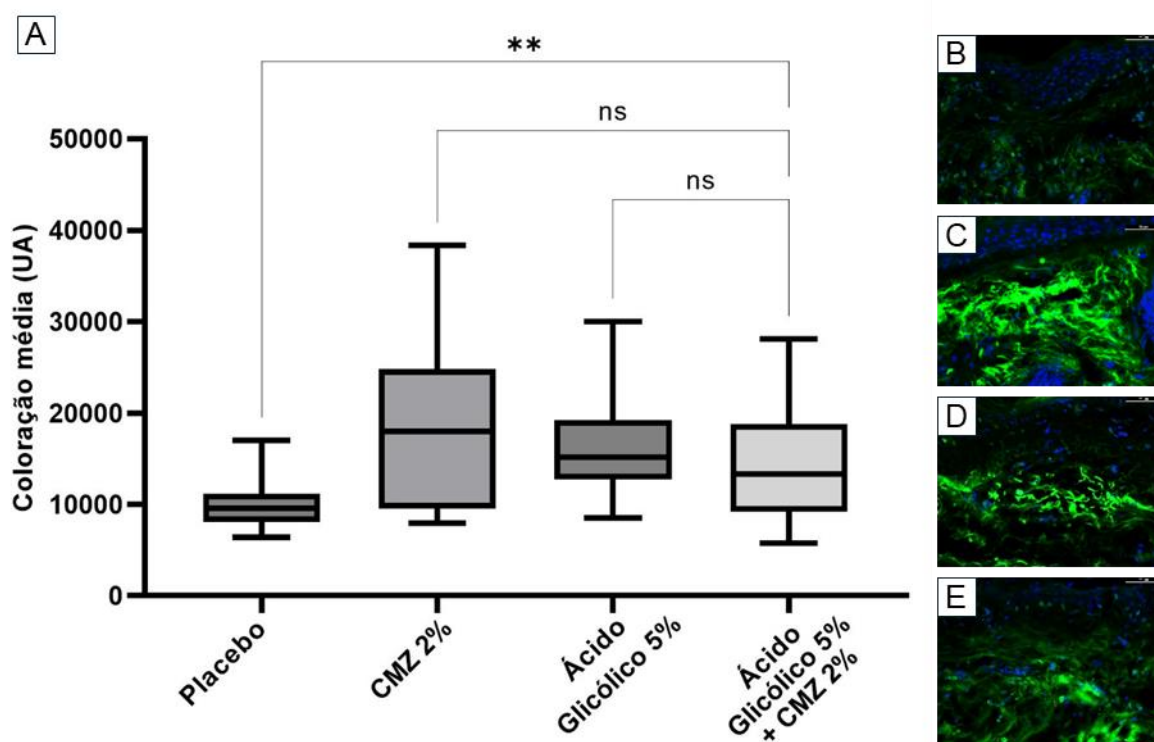


Figura 9. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Ácido Glicólico. ns $p>0,05$; ** entre $p<0,01$ e $p>0,001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), CMZ (C), ácido glicólico (D) e ácido glicólico + CMZ (E).

4.1.5. Niacinamida

Na **Figura 10** observa-se também os resultados obtidos com o tratamento utilizando formulação com associação do ativo niacinamida 4% e CMZ 2%. Nos fragmentos de pele avaliados, observa-se que, em relação ao placebo, houve variação estatisticamente significativa ($p < 0,0001$), com mediana 57% superior. No entanto, quando comparada a associação aos ativos isolados, não é possível observar diferenças relevantes, sendo que frente ao CMZ 2% a associação apresentou resultado 17% inferior e, frente à niacinamida 4% isolada, houve variação positiva de 5%.

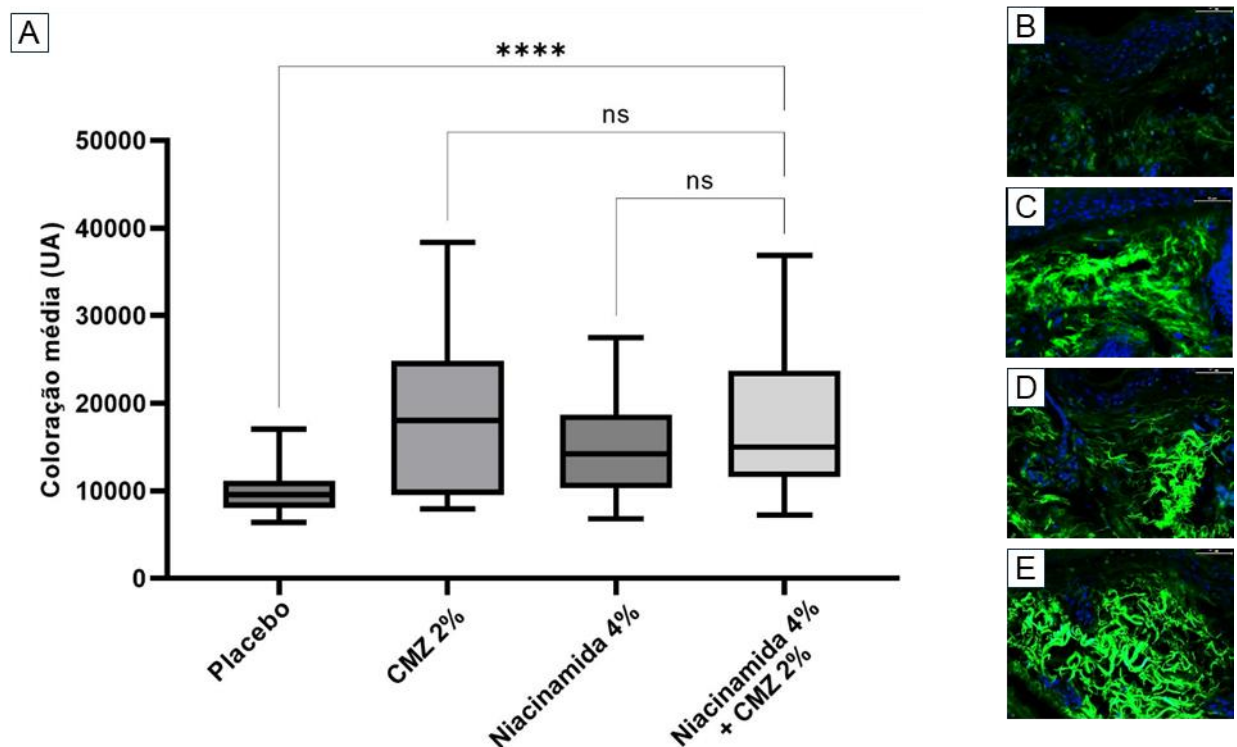


Figura 10.A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo *Ginkgo biloba*. ns $p > 0,05$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (**B**), CMZ (**C**), niacinamida (**D**) e niacinamida + CMZ (**E**).

4.1.6. Coenzima Q10

A **Figura 11** apresenta os resultados obtidos com a avaliação do ativo Coenzima Q10 aplicado a 5% em associação ao CMZ 2%. Quando comparada a mediana em relação ao grupo placebo, observa-se modulação 140% superior e significativa ($p < 0,0001$). Frente ao ativo CMZ 2% isolado, não houve variação estatisticamente significativa, com mediana 27% superior. Porém, em relação ao ativo Coenzima Q10 isolado, a associação foi capaz de promover modulação sobre a síntese de colágeno tipo 1 de forma significativamente superior ($p = 0,0006$), com mediana 72% mais elevada.

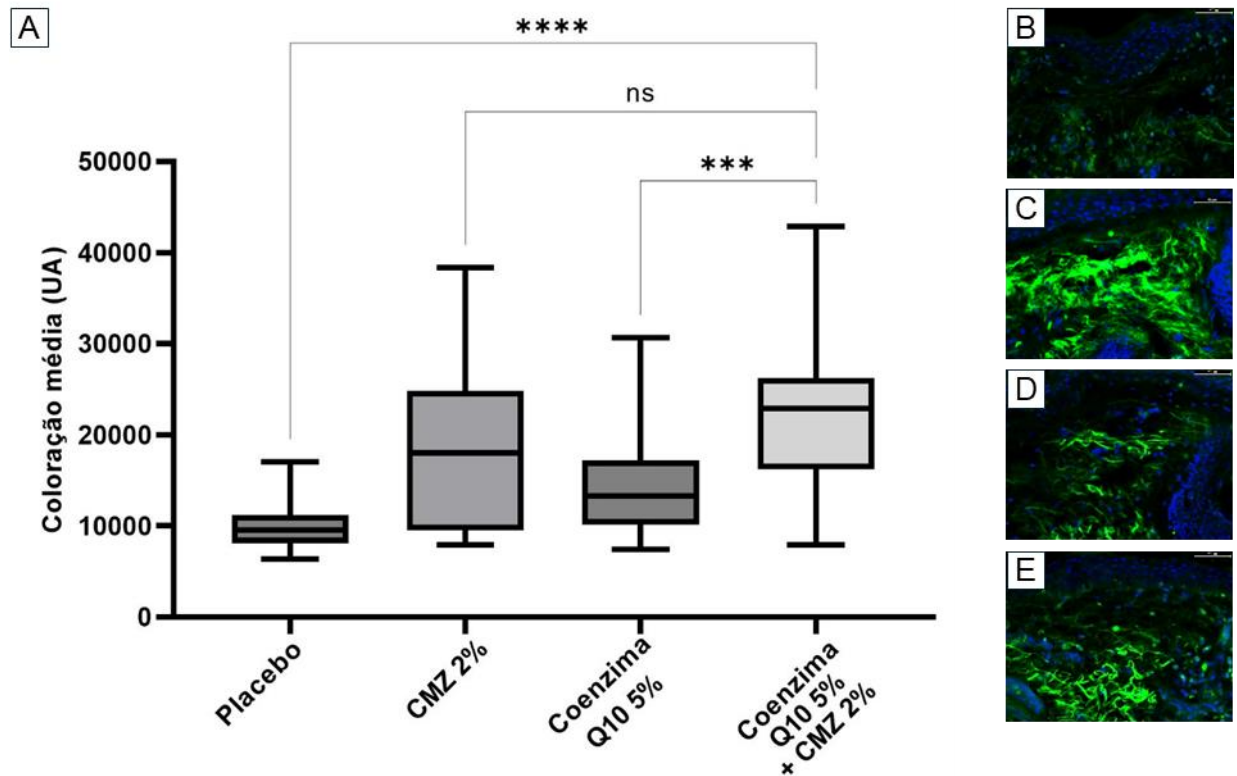


Figura 11. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Coenzima Q10. ns $p > 0,05$; *** entre $p < 0,001$ e $p > 0,0001$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), CMZ (C), coenzima Q10 (D) e coenzima Q10 + CMZ (E).

4.1.7. Bakuchiol

Aplicado em base placebo na concentração de 0,5%, o Bakuchiol associado a CMZ 2% foi capaz de promover modulação positiva estatisticamente significativa da síntese de Colágeno do tipo 1 em relação ao placebo, com variação de 139% sobre a mediana de tal grupo. Conforme observa-se na **Figura 12**, quando comparada ao ativo CMZ isolado, os resultados obtidos não indicam variação significativa entre os grupos, sendo a mediana da associação 26% superior à mediana do grupo CMZ 2%. Quando avaliada a associação frente ao ativo Bakuchiol 0,5%, observa-se variação significativa ($p=0,0321$), com aumento de 49% sobre o mesmo parâmetro.

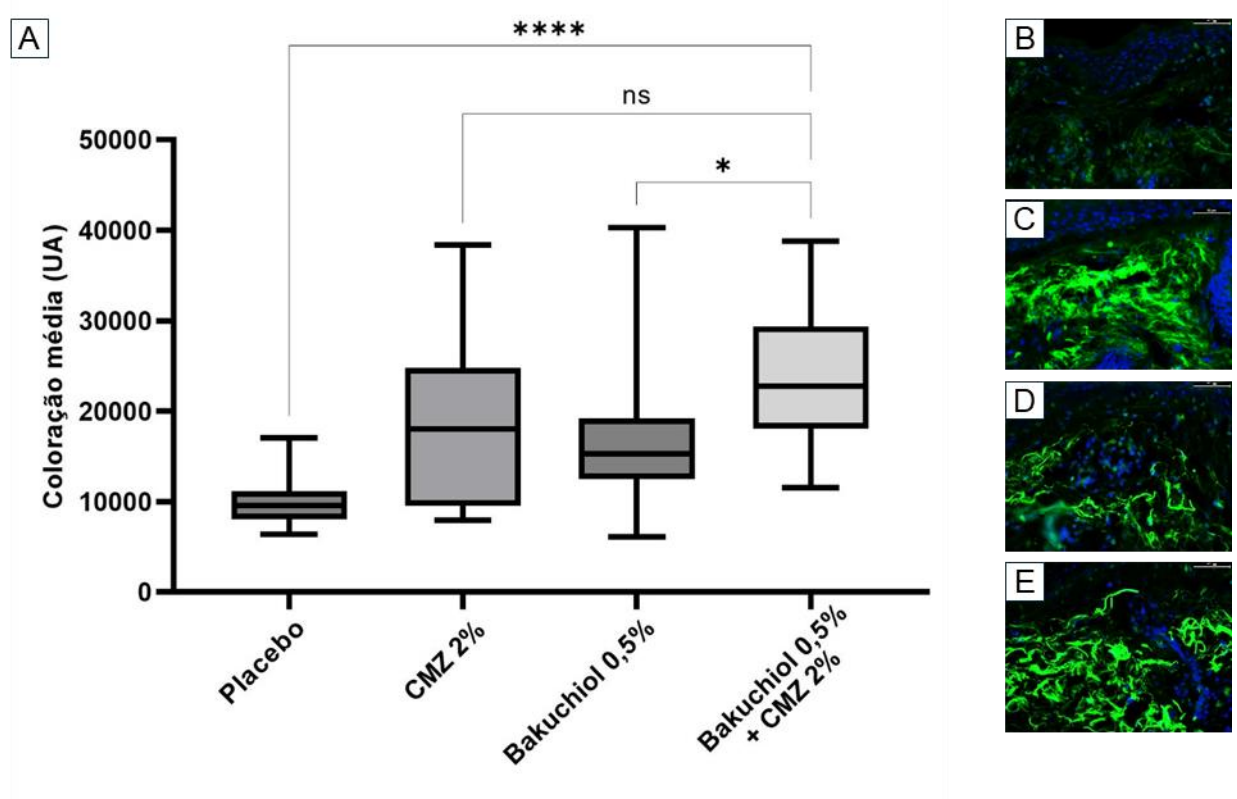


Figura 12. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Bakuchiol. ns $p>0,05$; * entre $p<0,05$ e $p>0,01$; **** $p<0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), CMZ (C), Bakuchiol (D) e Bakuchiol + CMZ (E).

4.1.8. Ácido ascórbico

A associação entre CMZ 2% e Ácido Ascórbico 10%, promoveu aumento estatisticamente significativo ($p < 0,0001$) sobre a síntese de colágeno tipo 1 em fragmentos de pele *ex vivo*, com variação positiva de 158% sobre a mediana do grupo placebo avaliado em paralelo. Quando avaliada a associação comparando-a aos grupos isolados, observa-se diferença estatisticamente significativa sendo que, quando avaliada a mediana, a associação apresentou modulação 37% superior ao CMZ 2% ($p = 0,0004$) e 45% superior ao Ácido Ascórbico 10% ($p = 0,0017$). Tais resultados estão ilustrados na **Figura 13**.

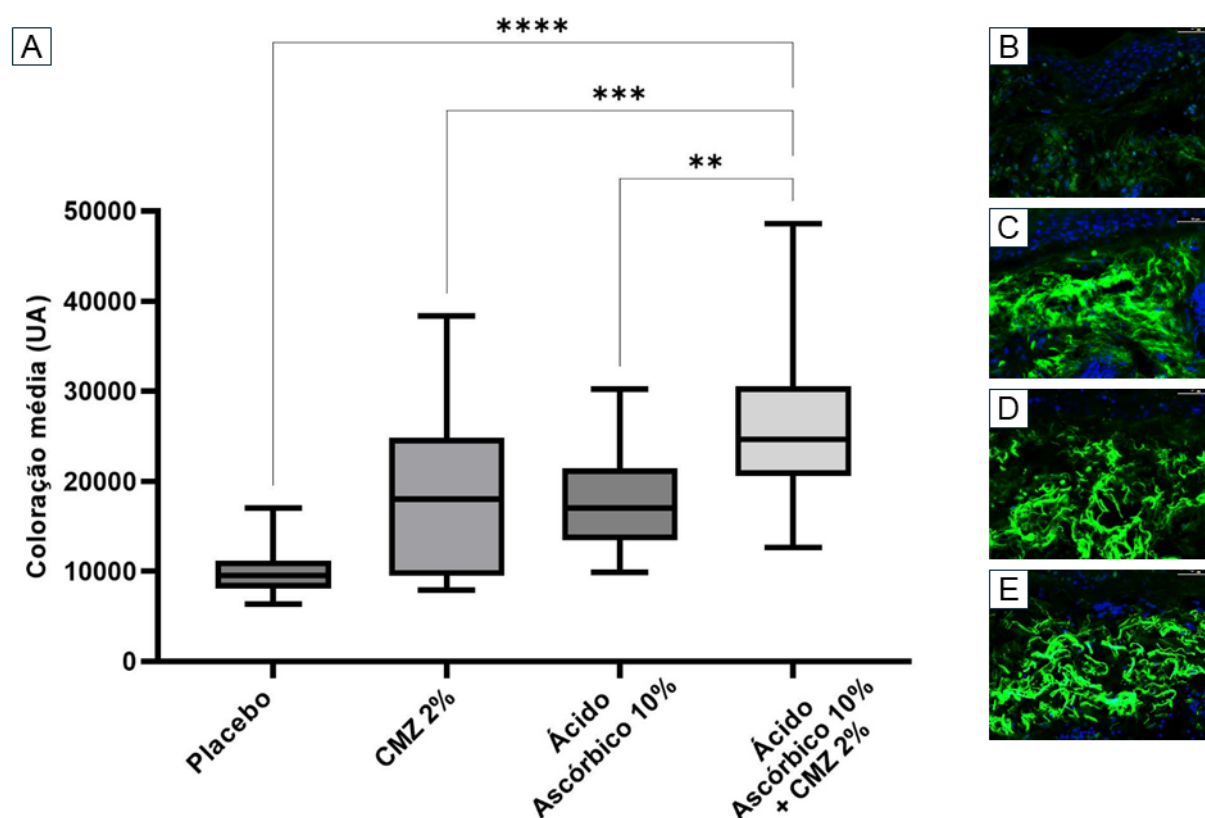


Figura 13. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo Ácido Ascórbico. ** entre $p < 0,01$ e $p > 0,001$; *** entre $p < 0,001$ e $p > 0,0001$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), CMZ (C), ácido ascórbico (D) e ácido ascórbico + CMZ (E).

4.1.9. *Ginkgo biloba*

O extrato vegetal de *Ginkgo biloba*, aplicado a 2% em formulação placebo em associação ao CMZ 2%, conforme observado na **Figura 14**, foi capaz de promover modulação significativa sobre a síntese de colágeno tipo 1, sendo a mediana 165% superior ao grupo Placebo. Quando avaliada a associação frente aos ativos isolados, também é possível observar a superioridade dos ativos associados, sendo 40% superior ao CMZ 2% ($p = 0,0013$) e 100% superior ao *Ginkgo biloba* 2% ($p < 0,0001$).

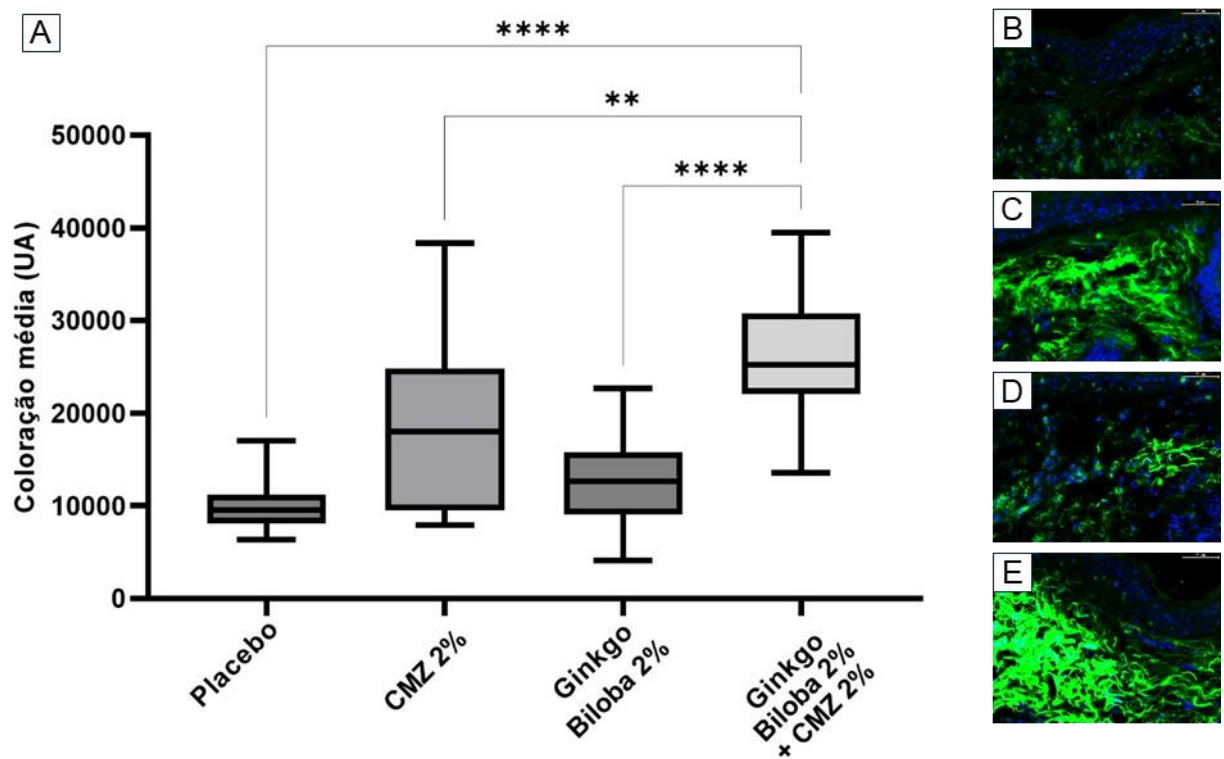


Figura 14. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1, relativas ao grupo *Ginkgo biloba*. ** entre $p < 0,01$ e $p > 0,001$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), CMZ (C), *Ginkgo biloba* (D) e *Ginkgo biloba* + CMZ (E).

4.2. Ensaio de Fontana Masson para avaliação dos produtos pertencentes ao grupo despigmentante

Assim como executado para as amostras analisadas anteriormente, frente à capacidade de estimular a síntese de Colágeno, as amostras objetivadas à ação despigmentante também foram avaliadas em 5 voluntários distintos, em paralelo e sob as mesmas condições. Inicialmente, avaliou-se a influência da base placebo na execução do experimento, e os resultados obtidos estão dispostos na **Figura 15**. Observa-se que não houve identificação de diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos avaliados. As imagens representativas do estudo de Fontana Masson estão dispostas no Anexo II.

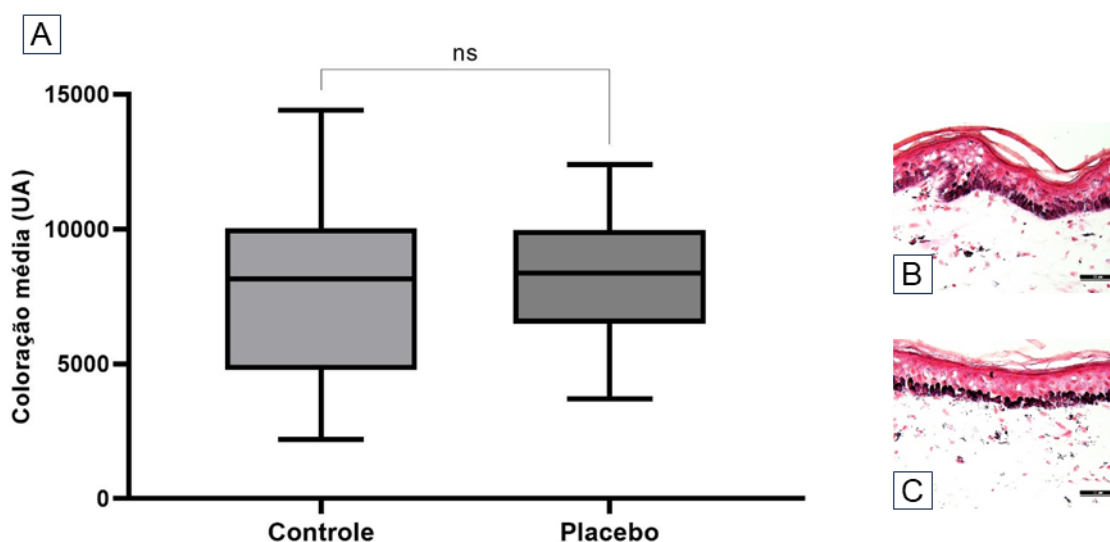


Figura 15. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas aos grupos controle (sem tratamento) e Placebo. ns $p > 0,05$. Imagens representativas dos grupos Controle **(B)** e Placebo **(C)**.

4.2.1. Avaliação comparativa dos ativos despigmentantes

Com o objetivo de avaliar comparativamente a eficácia na redução da presença de melanina nos fragmentos de pele tratados com os diversos ativos isolados, a **Figura 16** representa os resultados obtidos. Pode-se observar que todos os ativos avaliados apresentaram capacidade de modular negativamente e de forma estatisticamente

significava a quantificação de melanina. Os ativos ácido ascórbico 2-glicosídeo e ácido kójico modularam em 26 e 28%, respectivamente, com $p=0,0352$ e $p=0003$. Os demais ativos promoveram alterações com $p<0,0001$, sendo elas de 34, 35, 39, 40, 43, 45 e 56% em comparação à mediana dos placebos, para os ativos MLA, niacinamida, ácido tranexâmico, N-acetil-glucosamida, ácido elágico, 4-butil-resorcinol e glabridina, respectivamente, nas concentrações avaliadas.

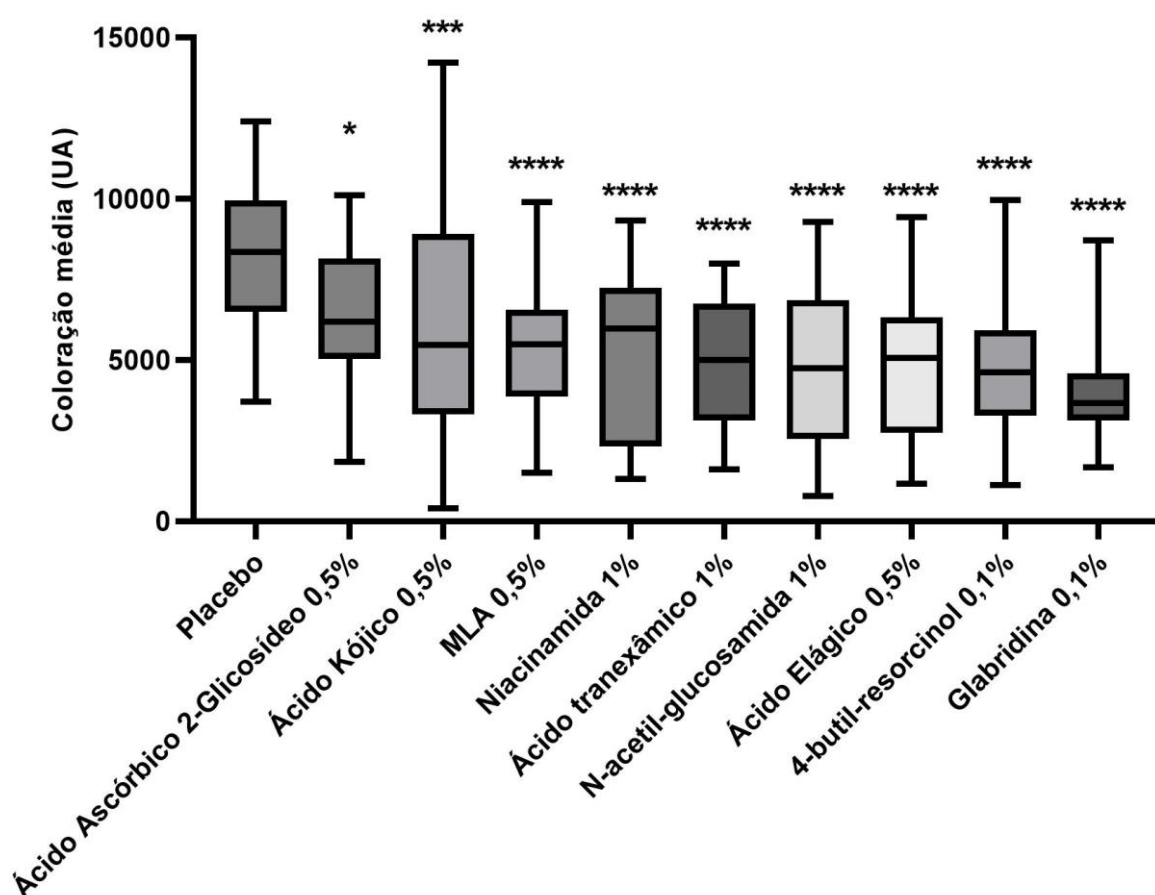


Figura 16. Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas aos tratamentos mencionados. * entre $p<0,05$ e $p>0,01$; *** entre $p<0,001$ e $p>0,0001$; **** $p<0,0001$ em relação ao placebo.

Realizou-se também a avaliação comparativa do ativo alvo MLA 0,5% em relação aos demais ativos avaliados, no entanto não foi possível identificar diferença estatisticamente significativa entre os grupos mencionados.

De forma complementar, objetivando compreender os efeitos da associação dos ativos cosméticos com o MLA, realizaram-se as avaliações comparativas

individuais das amostras isoladas e associadas, em relação ao grupo placebo e ao grupo MLA também isolado.

4.2.2. Ácido ascórbico 2-glicosídeo

O Ácido Ascórbico 2-Glicosídeo (AA2G), avaliado na concentração de 0,5% em associação ao ativo MLA 0,5%, demonstrou capacidade de reduzir significativamente ($p < 0,0001$) a presença de melanina em fragmentos de pele humana em relação ao grupo placebo, com variação negativa de medianas de 58%. Quando comparado aos ativos isolados, observa-se significância em ambas as avaliações, com 36% de modulação negativa frente ao MLA ($p = 0,0115$) e 44% frente ao ativo AA2G aplicado isoladamente em formulação ($p < 0,0001$). Tais resultados estão ilustrados na **Figura 17**.

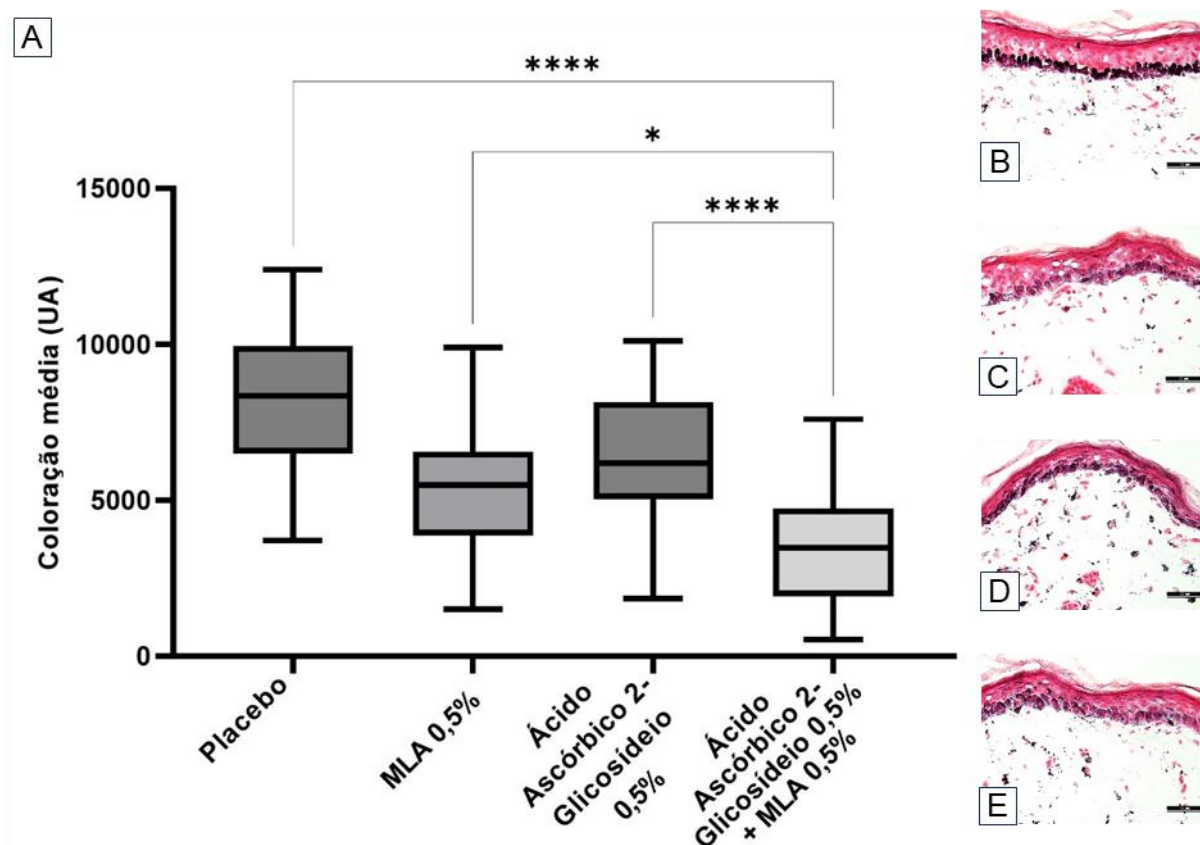


Figura 17. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo ácido ascórbico 2-glicosídeo. * entre $p < 0,05$ e $p > 0,01$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), MLA 0,5% (C), ácido ascórbico 2-Glicosídeo (D) e ácido ascórbico 2-Glicosídeo + MLA (E).

4.2.3. N-acetil-glucosamida

A **Figura 18** ilustra os resultados de mensuração de melanina nos fragmentos de pele tratados com o ativo N-acetil-glucosamida 1% em associação ao ativo MLA 0,5%, ambos aplicados em base placebo. Observa-se modulação negativa significativa de 65% ($p < 0,0001$) exercida pela associação frente à mediana do grupo placebo. Em relação à comparação entre os ativos isolados, foi possível observar diferença significativa ($p = 0,0089$) entre o MLA 0,5% e a associação, com diferença de 46% entre as medianas. Porém, quando avaliada N-acetil-glucosamida isolada e associada, observa-se diferença não significativa de 38%.

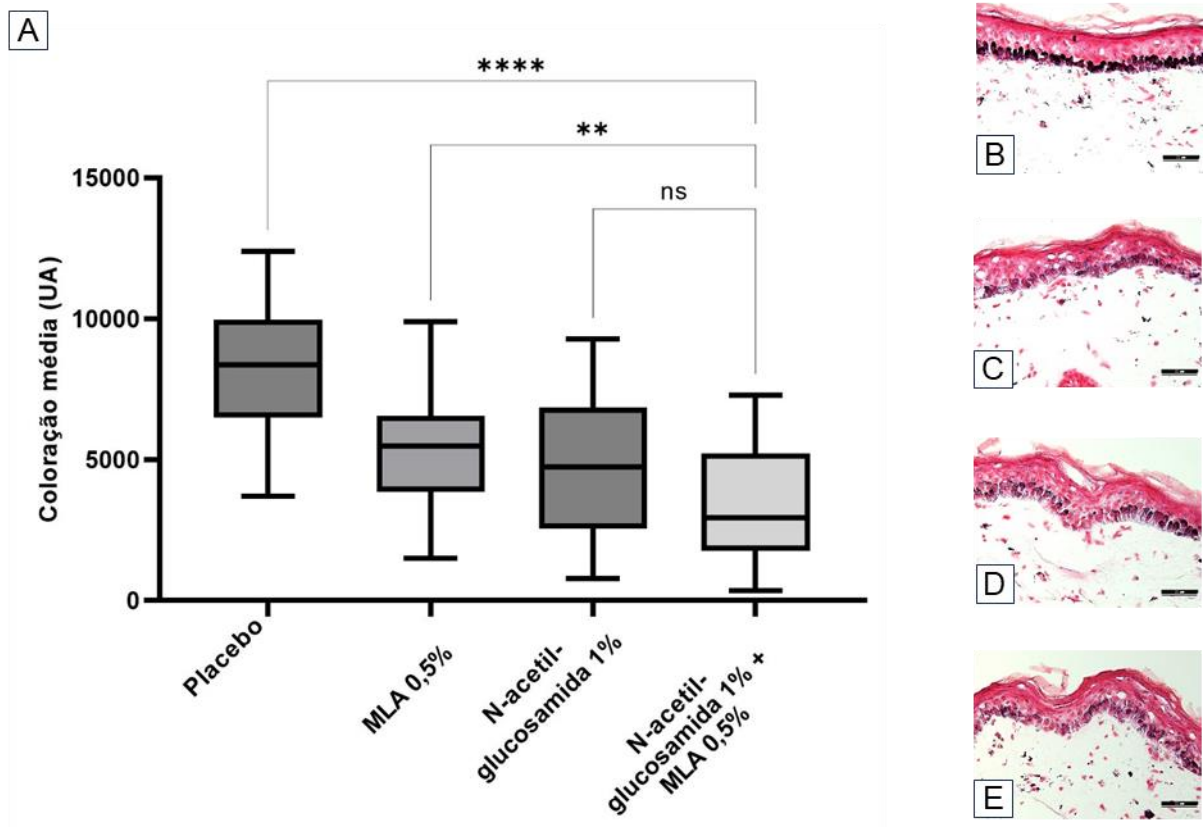


Figura 18. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo N-acetil-glucosamida. *ns* $p > 0,05$; ** entre $p < 0,01$ e $p > 0,001$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), MLA 0,5% (C), N-acetil-glucosamida (D) e N-acetil-glucosamida + MLA (E).

4.2.4. Glabridina

A glabridina foi adicionada à base placebo na concentração de 0,1% em associação ao ativo MLA 0,5%, conforme pode ser observado na **Figura 19**. Nessa condição, pode-se observar variação negativa estatisticamente significativa ($p < 0,0001$) em relação ao placebo, com redução de 63% na mediana em relação ao placebo. Em relação ao ativo MLA aplicado isoladamente a 0,5% em base placebo, a associação apresentou modulação de negativa 44% sobre a mediana ($p = 0,0147$), já em relação à glabridina isolada, observa-se modulação negativa de 16%, porém sem significância estatística.

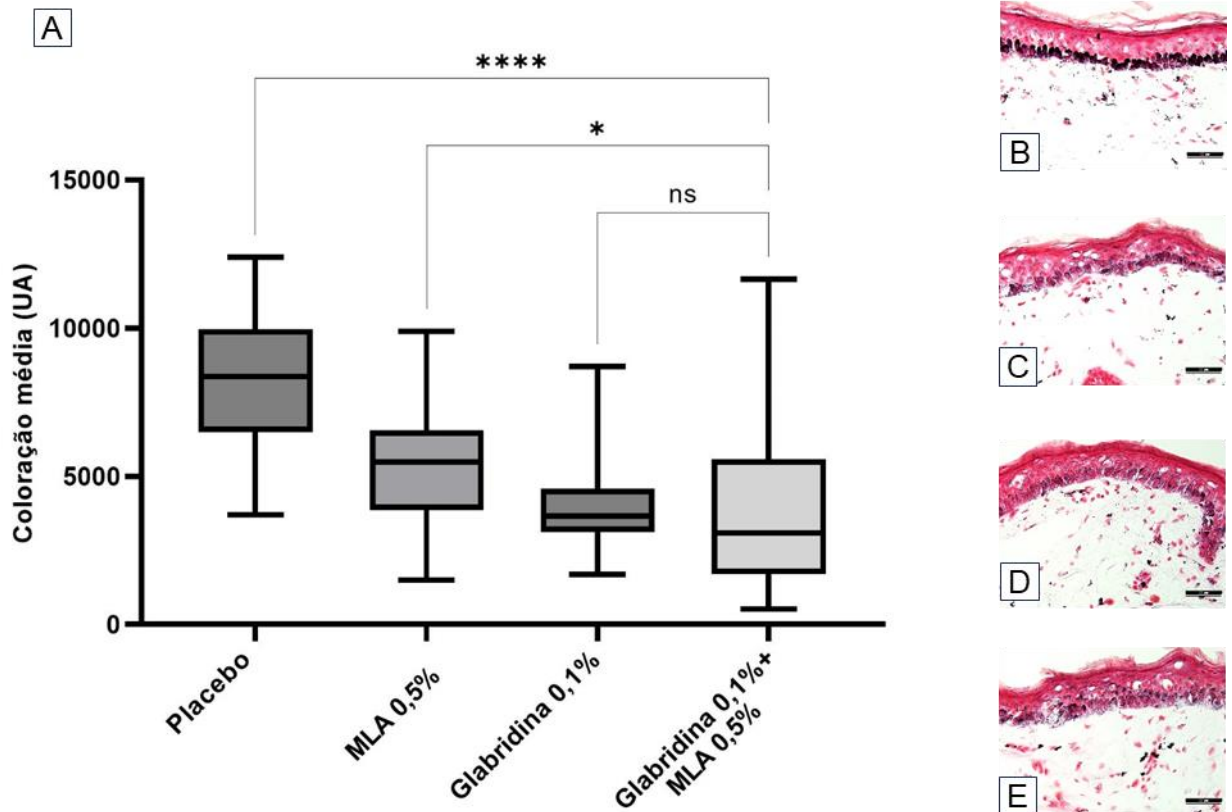


Figura 19. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo glabridina. *Ns* $p > 0,05$; * entre $p < 0,05$ e $p > 0,01$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), MLA 0,5% (C), glabridina (D) e glabridina + MLA (E).

4.2.5. Ácido kójico

O Ácido kójico foi avaliado mediante a eficácia em reduzir a presença de melanina em fragmentos de pele, quando aplicado em base placebo na concentração de 0,5% em associação ao MLA na mesma concentração. Quando comparado ao grupo placebo, observa-se modulação negativa significativa ($p < 0,0001$) de 56% na presença de melanina nos fragmentos de pele tratados com o produto teste, conforme **Figura 20**. Em comparação aos ativos isolados, tanto em relação à mediana do grupo MLA quanto à mediana do grupo ácido kójico, houve redução não significativa de 36% no parâmetro avaliado.

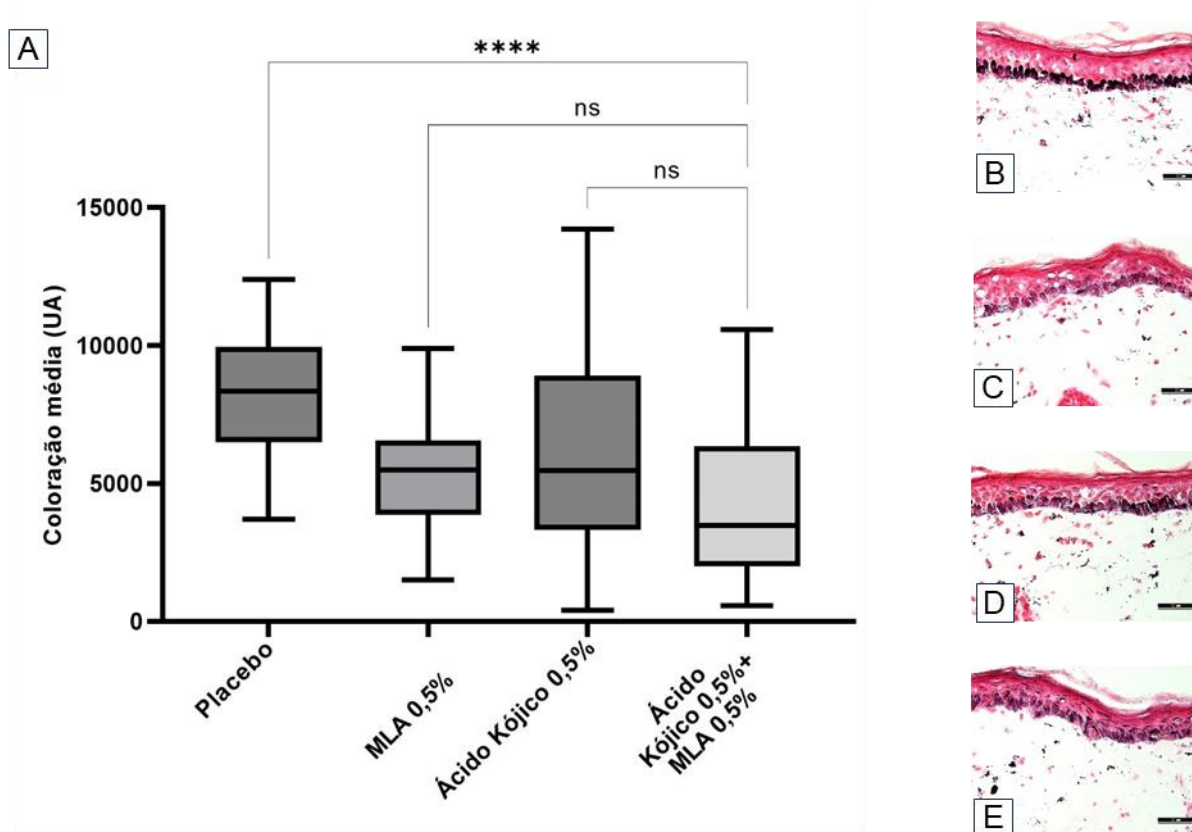


Figura 20. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo Ácido kójico. Ns $p > 0,05$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), MLA 0,5% (C), ácido kójico (D) e ácido kójico + MLA (E).

4.2.6. 4-butil-resorcinol

A análise da associação do ativo 4-butil resorcinol com MLA demonstrou que a formulação foi capaz de promover efeitos estatisticamente significativos nos fragmentos de pele tratados frente a redução de melanina, com modulação negativa de 37% em relação ao grupo Placebo. Avaliando a associação aos ativos aplicados de forma isolada na formulação, não se observa diferença estatisticamente significativa, sendo que houve decréscimo de 4% em relação à mediana do grupo MLA e aumento de 13% em relação ao mesmo parâmetro referente ao grupo 4-butil resorcinol, conforme **Figura 21**.

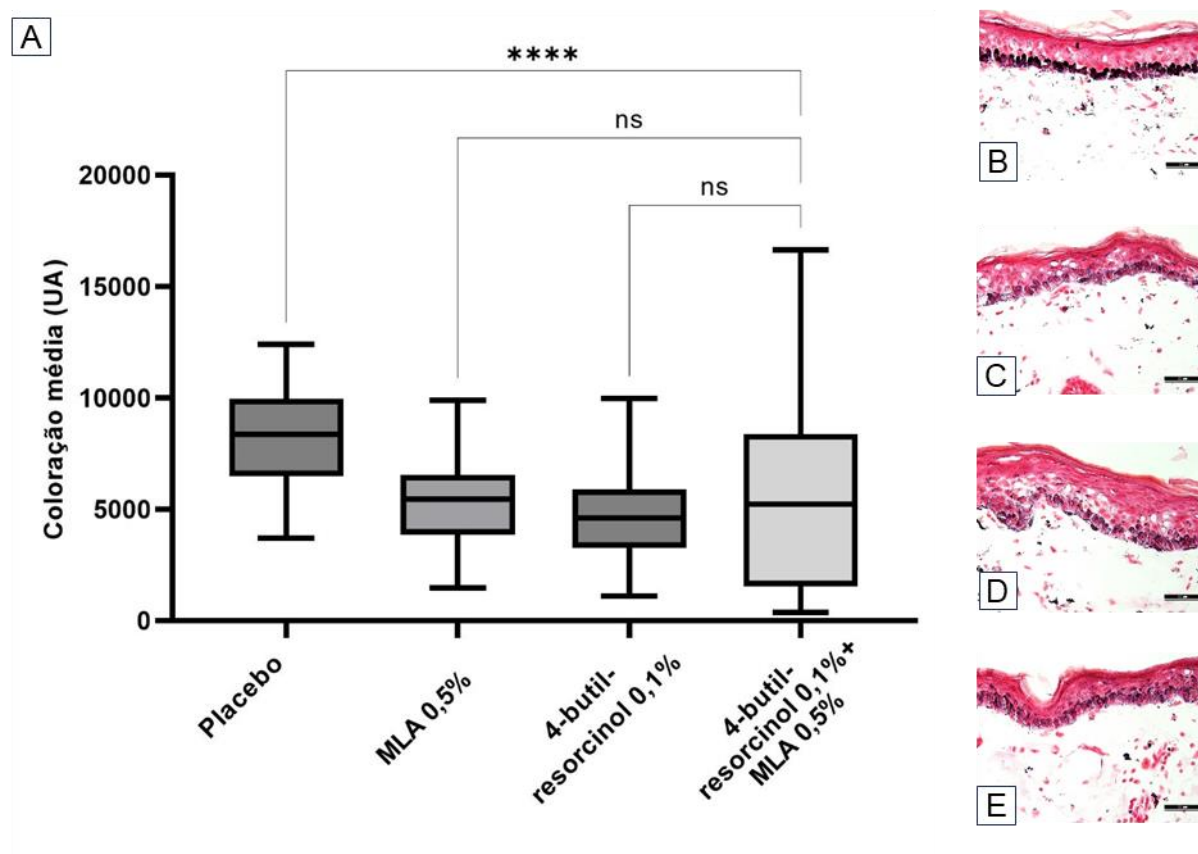


Figura 21.A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo 4-butil resorcinol. Ns $p > 0,05$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), MLA 0,5% (C), 4-butil resorcinol (D) e 4-butil resorcinol + MLA (E).

4.2.7. Ácido elágico

A formulação contendo ácido elágico 0,5% e MLA 0,5% apresentou eficácia na redução da presença de grânulos de melanina em fragmentos de pele humana, com modulação significativa ($p < 0,0001$) 30% inferior à mediana do grupo placebo, conforme observado na **Figura 22**. Não houve variação estatisticamente significativa quando comparada aos grupos MLA e ácido elágico de forma isolada, com modulação positiva de 6 e 15% frente a quantidade de melanina nas imagens avaliadas, respectivamente.

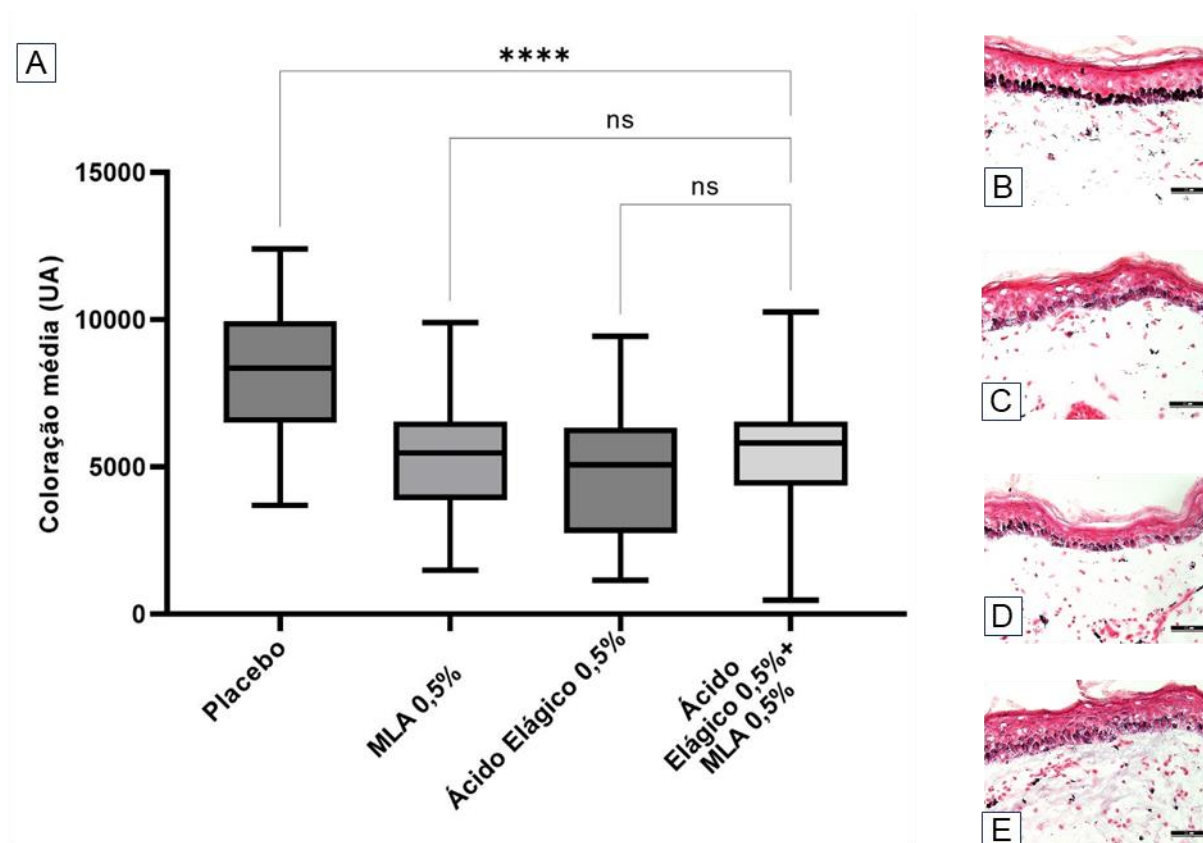


Figura 22.A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo ácido elágico. ns $p > 0,05$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), MLA 0,5% (C), ácido elágico (D) e ácido elágico + MLA (E).

4.2.8. Niacinamida

A niacinamida avaliada na concentração de 1% em conjunto com MLA 0,5% em base placebo, conforme **Figura 23**, demonstrou capacidade de modular significativamente a presença de melanina nos fragmentos de pele, reduzindo em 36% a mediana das quantificações em relação ao Placebo ($p < 0,0001$). Em relação aos ativos isolados, não houve diferença relevante nas quantificações, com modulação negativa de 3% frente ao MLA e redução de 11% frente a niacinamida.

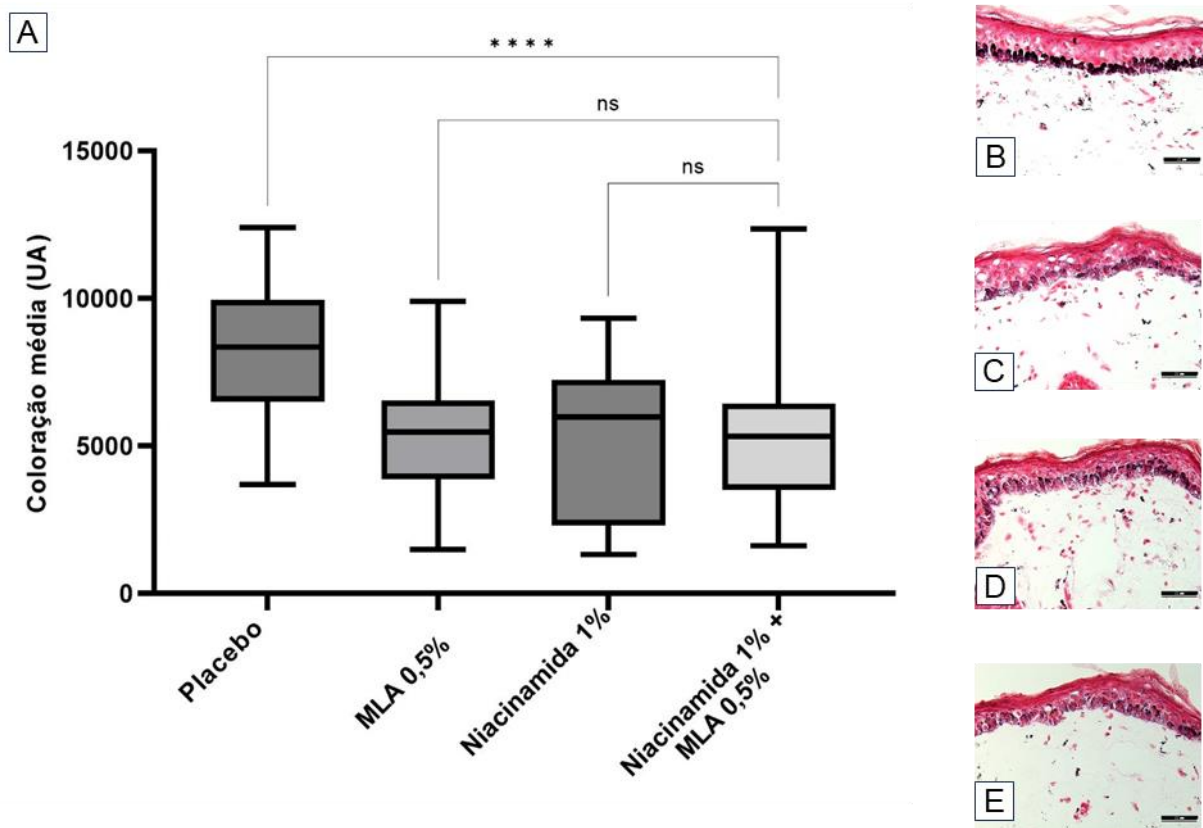


Figura 23. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo Niacinamida. ns $p > 0,05$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (B), MLA 0,5% (C), niacinamida (D) e niacinamida + MLA (E).

4.2.9. Ácido tranexâmico

Ácido tranexâmico, quando aplicado a 1% em base placebo em conjunto com o ativo MLA 0,5%, demonstrou potencialidade de reduzir a presença de melanina em fragmentos de pele de maneira significativa ($p < 0,0001$), reduzindo a mediana de quantificação de grânulos de melanina em 33% quando comparada à mediana do grupo Placebo. Em contrapartida, quando comparada aos ativos isolados, não foi possível observar modulação estatisticamente significativa, sendo a mediana da associação 3% superior ao MLA e 13% superior à formulação contendo apenas ácido tranexâmico, conforme observado na **Figura 24**

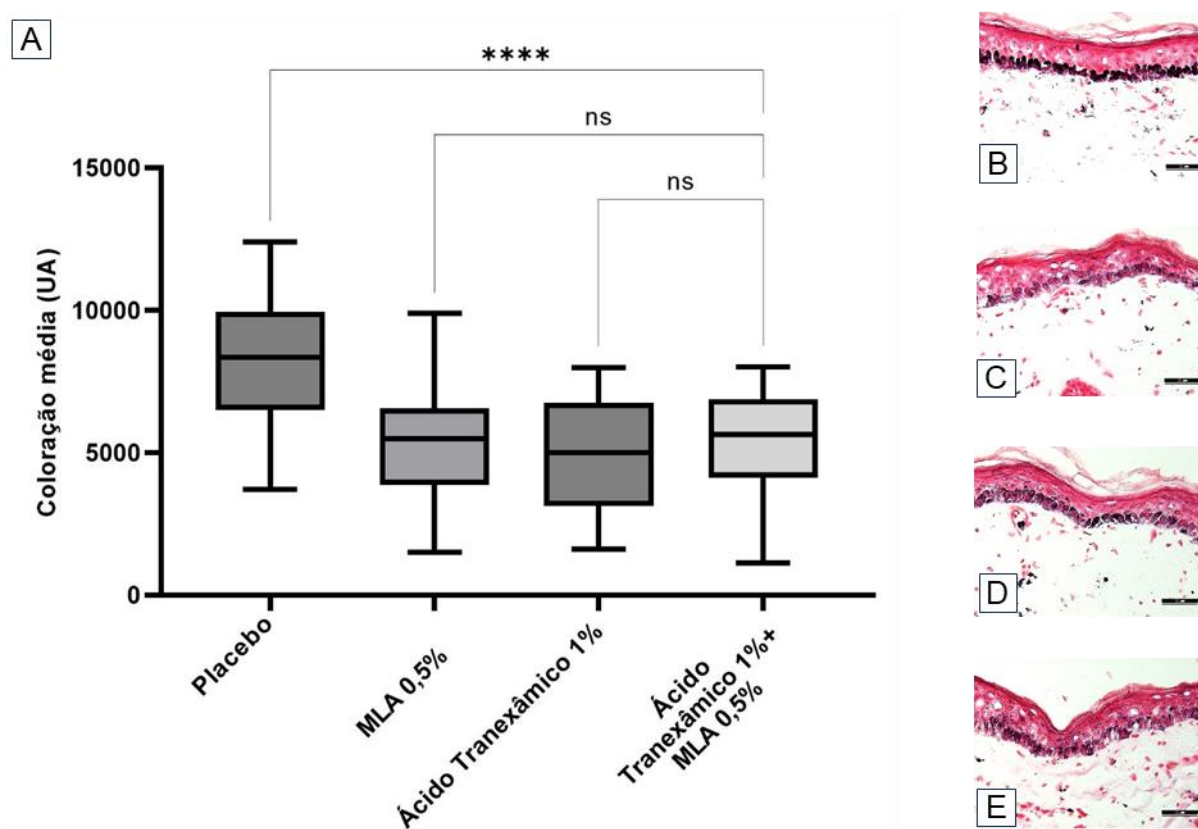


Figura 24. A: Semiquantificação da coloração média (unidades arbitrárias – UA) das imagens provenientes do ensaio de Fontana Masson, relativas ao grupo ácido tranexâmico. ns $p > 0,05$; **** $p < 0,0001$ em relação ao placebo. Imagens representativas dos grupos Placebo (**B**), MLA 0,5% (**C**), ácido tranexâmico (**D**) e ácido tranexâmico + MLA (**E**).

5. DISCUSSÃO

A indústria cosmética é um mercado extremamente valioso, amplo e diverso, apresentando números extraordinários ano após ano. Em 2023, a venda de produtos de higiene pessoal, perfumaria e cosméticos no Brasil totalizaram R\$ 156,5 bilhões, números que colocam o país como o terceiro maior mercado global do seguimento, ultrapassando o Japão e ficando atrás apenas de Estados Unidos e China (Mendonça, 2024). Aproximadamente 42% do mercado global de cosmético é composto por cuidados com a pele, sendo esse o maior segmento atualmente, e até 2026, estima-se que a indústria global de cosméticos antienvelhecimento alcance US\$ 60,26 bilhões (Kolmar, 2023; Petruzzi, 2023). Dentro de um mercado com tais características, a variedade e disponibilidade de produtos voltados para combater os sinais do envelhecimento também apresentam grandes proporções.

Quando destinados ao uso tópico, os ativos cosméticos usualmente apresentam-se em formulações carreadoras de suas propriedades. No presente estudo, a escolha da formulação levou em consideração a característica de alta tolerância cutânea, uma vez que a metodologia *ex vivo* tem como premissa manter a pele viável fora de seu sistema. Dessa forma, buscou-se a menor perturbação, a fim de garantir a integridade do material biológico durante o período experimental (Fiume e cols., 2012; Zhang e Lunter, 2018; Liu e Lunter, 2020). Além disso, dados os atributos do projeto com a utilização de ativos com características diferentes, associados ou não, fez-se necessário a escolha de uma base placebo de ampla atuação, característica da base autoemulsionante não iônica utilizada no presente trabalho (Chemyunion, 2023). A avaliação de impacto da formulação placebo nos estudos de eficácia frente a capacidade moduladora da síntese de colágeno tipo 1 demonstrou que não houve variação estatisticamente significativa quando comparado ao grupo controle sem tratamento, comprovando a mínima interferência da formulação nas análises executadas.

Quando observado os resultados relativos aos tratamentos com diferentes ativos cosméticos do grupo antienvelhecimento, nota-se a variabilidade dos dados. O presente estudo foi realizado utilizando fragmentos de pele provenientes de 5 voluntários distintos, sendo possível identificar a oscilação responsiva entre eles, característica comum e que vem despertando o interesse da comunidade científica e

do mercado cosmético, inclusive com a possibilidade de personalização dos cuidados com a pele e utilização de inteligência artificial para o mesmo propósito (Li e cols., 2020; Seo e Kwon, 2022). Sabe-se que fatores fisiológicos e externos resultam em diversidade na estrutura e fisiologia da pele, e podem ser responsáveis por diferentes reatividades do tecido a fatores químicos, podendo afetar, por exemplo, a taxa e a eficácia da penetração, absorção e sensibilização a um ativo cosmético (Berardesca e Maibach, 1996; Wesley e Maibach, 2003; Markiewicz e Idowu, 2018).

A fim de minimizar o impacto da variação individual, grupos experimentais placebo e tratamentos foram incluídos para todos os voluntários de forma paralela, sendo possível observar a variação positiva na síntese de colágeno para todos os ativos avaliados em relação ao placebo. Conforme observado, os ativos *Ginkgo biloba*, Coenzima Q10, Niacinamida, Ácido Glicólico, Retinol, Bakuchiol, Ácido Ascórbico, CMZ e Pal-GQPR/Pal-GHK, nas concentrações e condições avaliadas, apresentaram modulações significativas sobre a síntese de colágeno, quando comparados ao grupo placebo.

Na sequência, os ingredientes de referência foram avaliados em associação ao ativo antienvhecimento alvo de estudo. É descrito que o ativo cosmético CMZ possui capacidade de modular negativamente miRNAs que atuam como silenciadores da tradução de proteínas cutâneas da matriz dérmica, sendo eles EGFR, colágeno tipo I, colágeno tipo IV, decorina e fibronectina (Chemyunion, 2023). Além de tal mecanismo, CMZ possui em sua composição extrato de *Malus domestica* e extrato de *Zingiber officinale*, rico em gingeróis e 6-desidrogingerona, compostos que sabidamente atuam sobre a regulação das vias de colágeno, proliferação celular e fatores de crescimento, como o TGF- β , sendo o último um importante estimulador da expressão gênica e síntese proteica de colágenos tipos 1 e 3 (Chen e cols., 2013; Varga e cols., 1987). Chen e colaboradores, em 2013, também demonstraram que o composto 6-Dehydrogingerdione é capaz de estimular a secreção do inibidor tecidual da metaloproteinase-1 (TIMP-1) e consequentemente reduzir a expressão proteica de MMP-1.

Um composto amplamente utilizado na indústria cosmética, e encontrado no extrato de *Malus domestica* é a floretina, um flavonoide com características antioxidantes e anti-inflamatórias que, quando avaliado em modelo *in vitro* com fibroblastos dermais humanos, apresenta significativa capacidade de inibição da

produção de MMP-1 e elastase (Leu e cols., 2006; Habtemariam, 2023). Estudos *ex vivo* realizados em fragmentos de pele humana provenientes de cirurgias plásticas eletivas demonstram que CMZ possui capacidade de modular positivamente a síntese de colágeno tipo 1, assim como evidenciando no presente trabalho (Chemyunion, 2023). O ativo alvo em questão foi comparado aos ativos clássicos e observou-se efeito estatisticamente superior do CMZ 2% em relação ao grupo *Ginkgo Biloba* 2%. Visto a variabilidade dos resultados obtidos e a limitação do grupo amostral, não foi possível identificar modulação estatisticamente significativa entre os demais grupos, no entanto não se exclui tal possibilidade de diferenciação caso tais formulações fossem avaliadas em estudo clínico com maior grupo de voluntários.

O ativo CMZ foi formulado em associação ao ativo Pal-GQPR/Pal-GHK. A mistura de peptídeos Pal-GQPR/Pal-GHK aplicada a 3% em base placebo obteve as maiores modulações positivas sobre síntese de colágeno tipo 1 no modelo de análise realizada. O ativo em questão é resultado da combinação de dois miméticos de matriquinas, Pal-GQPR e peptídeo GHK. O Pal-GQPR (palmitoyl tetrapeptide 7) apresenta capacidade de modulação sobre a síntese de colágeno tipo 1 e contribui para a redução da liberação de IL-6 em cultura de queratinócitos e fibroblastos humano (Lintner, 2010). O peptídeo GHK está diretamente relacionado ao processo de cicatrização e remodelação dérmica, uma vez que atua sobre a síntese e quebra de proteínas como colágeno e glicosaminoglicanos, além de modular a atividade de metaloproteinases e seus inibidores TIMP-1 e TIMP-2 (Pickart; Vasquez-Soltero; Margolina, 2015). O GHK é uma substância naturalmente presente no organismo, e a alteração dos seus níveis no plasma ganha especial atenção, uma vez que o nível de GHK é de cerca de 200 ng/mL aos 20 anos, mas diminui para 80 ng/mL aos 60 anos (Pickart; Vasquez-Soltero; Margolina, 2015). Apesar de extensas pesquisas sobre peptídeos derivados de colágeno e matriquinas, o exato mecanismo de atuação de tais compostos não é completamente elucidado, porém seus efeitos na matriz extracelular são notáveis (Jariwala et al., 2022). A associação do peptídeo Pal-GQPR ao Pal-GHK apresenta-se como uma combinação sinérgica, com capacidade de modular significativamente a síntese de colágeno tipo 1, fibronectina e ácido hialurônico em cultura de fibroblastos humanos (Lintner, 2005). Devido ao pequeno tamanho molecular, as matriquinas oferecem a possibilidade exercer boa permeação na pele, favorecendo sua atuação como mensageiro da reestruturação e reparação

cutânea (Aldag; Teixeira; Leventhal, 2016; Ledwoń e cols., 2021; Mortazavi e Moghimi, 2022). Um estudo similar, porém, comparando a performance do peptídeo GHK-Cu com tretinoína tópica, ácido ascórbico e melatonina demonstrou que o peptídeo foi capaz de modular positivamente a síntese de pró-colágeno em 7 dos 10 voluntários avaliados, enquanto os demais ativos promoveram alteração em apenas 4 ou 5 voluntários, corroborando com a superior eficácia do peptídeo em relação aos demais ativos, encontrada no presente trabalho (Abdulghani, 1998).

No entanto, quando o ativo Pal-GQPR/Pal-GHK compôs formulação em associação ao ativo CMZ, a eficácia sobre a síntese de colágeno tipo 1 foi severamente comprometida, sendo que a modulação em relação ao placebo não apresentou diferença estatisticamente significativa e a variação frente aos ativos isolados resultou em diminuição significativa de performance. Um estudo similar, porém, utilizando o ativo Pal-GQPR/Pal-GHK em associação ao extrato de semente de *Lupinus albus*, demonstrou o sinergismo de tal composição na remodelação da pele fotoenvelhecida (Bradley, 2014). Conforme descrito anteriormente, o mecanismo de ação das matriquinas ainda não foi completamente elucidado, porém com o efeito sinérgico da associação descrita acima, pode-se propor que o efeito mais proeminente das matriquinas não esteja associado à diminuição da degradação de colágeno, visto que essa é uma das características destaques do extrato de *Lupinus albus*, gerando assim uma combinação sinérgica dos mecanismos do composto (Gaultier e cols., 2003; Gaultier e cols., 2005; Mota e cols., 2021).

Dessa maneira, observa-se que a associação de diferentes compostos pode resultar em sinergismo ou antagonismo dentro de uma formulação. No presente trabalho observa-se um antagonismo, provavelmente em decorrência da composição química diferencial dos ativos cosméticos. O extrato de semente de *Lupinus albus* possui em sua composição fibras e proteínas, enquanto o CMZ é rico em flavonoides, em especial a floretina (Erbaş; Certel; Uslu, 2005). Dada as respectivas estruturas químicas, não é descartada a possibilidade de interação química entre as moléculas de floretina e os peptídeos Pal-GHK e Pal-GQPR, alterando a estrutura tridimensional e a estabilidade da interação peptídica, e consequentemente sua eficácia. Outra possibilidade é a interação termodinâmica de tais substâncias, pela adição nucleofílica do grupo amino da cadeia lateral da lisina, levando a formação de hidroxilaminas ou, em caso de desidratação, a formação de iminas. Por outro lado, o grupo guanidina

presente na molécula Pal-GQPR pode atuar como base levando a desprotonação dos grupamentos fenólicos levando a formação da sua correspondente quinona. Todas as interações químicas mencionadas carecem de testes adicionais para comprovação, porém são indícios que justificam a queda de eficácia da formulação avaliada no presente trabalho.

De forma oposta ao Pal-GQPR/Pal-GHK, os demais ativos avaliados foram capazes de promover modulação positiva significativa sobre a síntese de colágeno tipo 1 em formulação contendo também o ativo CMZ, em relação ao grupo placebo. Ao comparar as associações frente aos ativos isolados, porém, observa-se diferentes comportamentos entre os ativos.

Sabe-se que o retinol, quando aplicado topicamente, é transformado em retinal, para então estar disponível em sua forma ativa como ácido retinóico, tanto para a derme como para epiderme, onde serão responsáveis pela ligação em receptores específicos como RAR, RXR α e RAR β (Bailly e cols., 1998; Motamedi e cols., 2021). Quando na epiderme, após a interação com o receptor dos queratinócitos, pode influenciar a secreção de fatores de transcrição e crescimento, além de fortalecer a função protetora da epiderme resultando na redução da perda excessiva de água transepidérmica (Zasada; Budzisz, 2019). Já na derme, retinol pode estimular a síntese de colágeno e elastina pelos fibroblastos, estimulando sua atividade e proliferação, além de reduzir metaloproteinases (Jurzak e cols., 2008; Rossetti e cols., 2011). No presente trabalho, a associação contendo retinol não apresentou variação frente ao ativo CMZ isolado, no entanto observou-se queda significativa na eficácia quando comparada ao retinol isolado. Sabe-se que *Zingiber officinale* contém em sua composição uma substância denominada fitol a qual, a partir de um processo de reação enzimática, é transformada em ácido fitânico, um componente agonista ao receptor retinóide X (RXR) (Brink e cols., 2005; Philippe e cols., 2012; Kamal e cols., 2023). Desta forma, uma vez que um dos componentes presentes no ativo CMZ é o extrato de *Zingiber officinale*, ao associá-lo ao ativo retinol, uma possível reação de competição pelo receptor RXR pode ocorrer. Uma reação de competição pelo RXR já foi evidenciada em modelo químico de análise, onde foi avaliado o ácido fitânico e ácido 9-cis retinóico, corroborando com a teoria apresentada (Lemotte; Keidel; Apfel, 1996).

Os ativos ácido glicólico e niacinamida apresentaram comportamentos similares quando em associação, sem promoção de alterações significativas frente ao respectivo ativo isolado ou ao ativo CMZ, conforme Figura 9 e Figura 10. O ácido glicólico é um alfa-hidroxi-ácido (AHA) que atua não somente de forma direta sobre os fibroblastos, estimulando a síntese de colágeno e a proliferação celular, mas também exerce função indireta no processo de renovação estrutural da derme (Kim; Won, 1998; Okano e cols., 2003). O ácido glicólico possui capacidade de estimular a síntese da citocina IL-1 α em queratinócitos, e tal modulação induz a produção de collagenase e do inibidor de collagenase TIMP (inibidor tecidual da metaloproteinase), além de aumentar a liberação de IL-6 pelos fibroblastos, dessa forma entende-se que o ácido glicólico pode atuar na renovação do colágeno na derme por meio da regulação complexa da síntese de colágeno e das vias de degradação de forma orquestrada, além de atuar na proliferação celular (Rakic; Lapière; Nusgens, 2000; Okano e cols., 2003). Um estudo de 2021 avaliou a associação de fitol e ácido glicólico em formulação cosmética, e observou bons resultados, assim como encontrado no presente trabalho, porém os melhores resultados foram observados em tratamento rotacional da formulação completa intercalando com aplicação de retinol, demonstrando que ainda haveria margem para atingir melhores resultados (Dinatale e cols., 2021). Já a niacinamida, possui capacidade de aumentar a expressão de colágeno (tipo I, III e V), elastina e fibrilina (tipo 1 e 2) e reduz a atividade de MMP (tipo 1, 3 e 9) e de elastase quando avaliada em fibroblastos dérmicos (Philips; Chalensouk-Khaosaat; Gonzalez, 2018; Boo, 2021). Adicionalmente, atua no estresse oxidativo e senescência, uma vez que possui capacidade de restaurar expressões de genes e funções mitocondriais de células idosas a níveis de células jovens (Oblong e cols., 2020). Porém, de acordo com as Figura 9 e Figura 10, estes mecanismos citados não apresentaram sinergismo ou antagonismo juntamente ao ativo CMZ.

De forma oposta, observa-se que os ativos com atividades antioxidantes, quando associados ao ativo CMZ, foram capazes de promover modulações positivas estatisticamente significativas frente ao ativo isolado.

Sabe-se que em condições de estresse oxidativo, fibroblastos dermais humanos tendem a aumentar a expressão genica de MMP-1 e 8, e reduzir a expressão genica de colágeno tipo 1 e 4, porém, após tratamento com coenzima Q10, evidencia-se significativa redução das metaloproteinases e aumento de mRNA das proteínas de

colágeno mencionadas, evidenciando que tal componente possui capacidade de atuar no processo antienvhecimento cutâneo (Mine; Takahashi; Okamoto, 2021). De forma complementar e corroborando com os resultados encontrados no presente trabalho, quando avaliado em contato com fibroblastos dermais humanos *in vitro* não induzidos ao estresse, observa-se que o ativo também exerce potencial aumento da expressão genica de colágeno tipos 1, 4 e 7, além do aumento da expressão genica de proteína de choque térmico (HSP74), uma chaperona específica do colágeno essencial para a formação da tripla hélice no retículo endoplasmático (Mine; Takahashi; Okamoto, 2022).

Outro importante ativo com propriedades antioxidante é bakuchiol. Este ingrediente costumava ser apresentado como *retinoid-like*, porém, estudos mais recentes demonstram notáveis diferenças entre essas substâncias (Bluemke e cols., 2022). Atentando-se aos mecanismos de ação do bakuchiol frente a capacidade de atuação como produto cosmético antienvhecimento, descobriu-se que ele possui capacidade de modular negativamente a síntese de prostaglandina E2 (PGE₂), fato importante já que a PGE₂ diminui a expressão de colágeno tipo 1 e aumenta a expressão de metaloproteinase 1 em fibroblastos humanos (Shim, 2019). Em relação à capacidade anti-inflamatória, sabe-se que o bakuchiol atua reduzindo o fator de inibição da migração de macrófagos (MIF), e é capaz de suprimir a produção de TNF- α e IL-6 em modelo de indução com lipopolissacarídeo (LPS) (Lim; Kim; Kim; Jeong, 2019) (Bluemke e cols., 2022). Sobre a atuação sobre os fibroblastos dérmicos, tem-se evidências que este ativo é capaz de estimular a síntese de colágeno tipos 1 e 7 e fibronectina (Bluemke e cols., 2022). O composto em questão já foi estudo em associação a outros antioxidantes, e demonstrou que, em formulação associada com melatonina e tetraisopalmitato de ascorbila (derivado de ácido ascórbico), o efeito sobre a síntese de colágeno foi significativamente superior do que a avaliação do bakuchol e tetraisopalmitato de ascorbila isolados, em modelo de análise *ex vivo*, corroborando com o resultado encontrado no presente trabalho, onde a associação de bakuchiol ao composto CMZ resultou em um efeito superior da formulação conjunta em relação a formulação isolada de bakuchiol (NARDA e cols., 2020).

O ácido ascórbico é um dos mais tradicionais ativos cosméticos antienvhecimento com propriedades antioxidantes. Um dos processos no qual o ácido ascórbico está envolvido é a maturação e estabilização da molécula de

colágeno, em que se faz necessária a atuação de enzimas como procolagenprolina dioxigenase e procolágeno-lisina dioxigenase. Nelas, o ácido ascórbico atua como um cofator que auxilia a atividade catalítica reduzindo os íons metálicos no sítio ativo e favorecendo sua atividade (Boo, 2022). Estudos também buscaram elucidar o mecanismo de atuação do ácido ascórbico frente a sua capacidade de estimular a expressão gênica de colágeno, onde observa-se sua atuação no estímulo da transcrição dos genes do colágeno tipo I e III (Geesin e cols., 1988; Chojkier e cols., 1989; Tajima e Pinnell, 1996). Sabe-se que o nível de ácido ascórbico nas células está intimamente associado à integridade quantitativa e estrutural do colágeno dérmico, e sua deficiência pode causar o envelhecimento da pele (Pullar; Carr; Vissers, 2017). A responsividade à modulação positiva da síntese de colágeno proveniente da aplicação tópica de tal substância é mais evidente em usuários com níveis baixos de colágeno e ácido ascórbico endógenos (Boo, 2022).

O extrato de *Ginkgo biloba* é rico em flavonoides e lactonas, e possui atividade proliferativa quando em contato com fibroblastos humanos dérmicos, assim como estimulam a síntese de colágeno e fibronectina nessas células (Kim e cols., 1997; Liu e cols., 2020). Também em justificativa a sua composição química, tal componente possui potente ação antioxidante, inibindo a produção de espécies reativas de oxigênio em cultura celular, além de reduzir a síntese de MMP-1 (Wang e cols., 2020). Ainda sobre a capacidade moduladora do estresse oxidativo, a *Ginkgo biloba* apresenta-se como um ativador do fator NRF2, o qual inicia a sinalização da produção de enzimas antioxidantes e de detoxificação, como superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e heme oxigenase 1 (HO-1), cascata fundamental da defesa antioxidante da pele (Li e cols., 2022)

Nossos resultados demonstraram que a coenzima Q10, o bakuchiol, o ácido ascórbico e *Ginkgo biloba* promoveram, quando em formulação associada, aumentos na síntese de colágeno estatisticamente superiores à formulação com um único ativo. Ácido ascórbico e *Ginkgo biloba*, quando associados ao CMZ, ainda apresentaram resultados significativamente superiores ao CMZ isolado.

Estudos utilizando combinação de antioxidantes em formulações, em especial ácido ascórbico e vitamina E, demonstraram que, em condições apropriadas, as associações de antioxidantes podem melhorar significativamente a eficácia de um cosmético (Darr e cols., 1996; Lin e cols., 2003; Burke, 2007). Em uma pesquisa,

Chan, 1993, demonstrou que uma interação significativa ocorre entre moléculas solúveis em água e lipídios na interface membrana-citosol, e que a vitamina C pode funcionar *in vivo* para reparar a vitamina E oxidada ligada à membrana, sendo uma das justificativas para o sinergismo entre elas. Outro estudo realizado por Oresajo e cols., 2008, avaliou uma mistura de ativos antioxidantes (vitamina C, ácido ferúlico e floretina) na pele humana contra os efeitos nocivos da irradiação UV e demonstrou que a floretina, além de ser um potente antioxidante, pode estabilizar e aumentar a disponibilidade cutânea de vitamina C e ácido ferúlico aplicados topicamente, demonstrando o sinergismo da formulação.

De forma análoga ao grupo de ativos com ação antienvhecimento, os ativos avaliados frente à capacidade de modulação da presença de melanina também foram analisados em fragmentos de pele provenientes de 5 voluntários distintos, mantendo-se o grupo controle e placebo do mesmo voluntário em paralelo.

Em relação à base placebo, algumas substâncias são amplamente utilizadas para tal finalidade, como o álcool cetearílico, uma cera emoliente classificada como álcool graxo, que apresenta em sua composição a mistura de álcool cetílico ($C_{16}H_{34}O$) e álcool estearílico ($C_{18}H_{38}O$) (Iwata, 2017). Essa variação de comprimento de cadeia presente na composição está diretamente relacionada a estabilidade das formulações, sendo tal característica comprovada por simulações computacionais (Hoang e cols., 2021). Em associação ao polisorbato 60, possibilita estabelecer formulações estáveis, e capazes de suportar a adição de grande variedade de ingredientes ativos com características polares ou apolares, podendo resultar em uma cera autoemulsionante de característica não iônica, com capacidade de suportar ampla faixa de pH, e altos níveis de eletrólitos (Iwata, 2017; Hoang e cols., 2021). Emulsionantes não iônicos são considerados relativamente seguros e mais bem tolerados em comparação com os emulsificantes catiônicos e aniônicos, mas também podem apresentar interação com membranas biológicas. Diante deste cenário, Zhang e Lunter, 2018, utilizaram a metodologia de microespectroscopia confocal Raman e observaram que tratamentos com polisorbato 60, álcool cetearílico, assim como sua mistura, não promoveram a perturbação do extrato córneo nem a extração de lipídeos cutâneos em qualquer tratamento, o que ocorreu nos tratamentos realizados com lauril sulfato de sódio (Zhang; Lunter, 2018; Liu; Lunter, 2020). Tal característica apresenta especial importância para avaliação da presença de melanina em fragmentos de pele humana

após tratamento *ex vivo*, uma vez que a descamação da pele e perturbação do extrato córneo pode influenciar nas análises e quantificações. No presente trabalho, a formulação escolhida contendo álcool cetearílico e polisorbato 60 não apresentou interferência no modelo adotado.

Os resultados obtidos demonstram que, assim como preconizado em literatura, todos os ativos estudados apresentaram capacidade estatisticamente significativa de reduzir a presença de melanina nos fragmentos de pele avaliados, em comparação ao grupo placebo, avaliado em paralelo e sob as mesmas condições. Quando comparado o ativo alvo MLA em relação à eficácia promovida pelos ativos clássicos avaliados, não foi possível observar diferença estatisticamente significativa.

Sabe-se que o ativo MLA, alvo de análise do presente estudo, atua inicialmente reduzindo a expressão de TRP-1, resultando na diminuição da síntese de melanina. Além disso, a modulação negativa da produção de adrenomodulina e endotelina tipo I, contribuem para a redução da dendricidade dos melanócitos e do processo de formação de melanossomas. Em um estudo *ex vivo* utilizando a técnica de coloração por Fontana Masson, em fragmentos de pele humana *ex vivo*, foi demonstrado que a capacidade do extrato de galanga na redução da síntese de melanina pode ser próxima a ativos como o ácido kójico e o arbutina. Ademais, quando avaliado clinicamente, o composto aplicado a 0,5% foi capaz de demonstrar significativa eficácia como agente despigmentante (Chemyunion Ltda., 2020).

Os ativos clássicos selecionados foram também formulados em associação ao ativo MLA, e foi possível verificar que os mesmos apresentaram redução nos níveis de melanina de forma estatisticamente significativa ($p > 0,001$) em relação ao grupo placebo. No entanto, quando comparada a associação aos respectivos ativos isolados, nota-se que apenas o ativo AA2G associado ao MLA foi capaz de promover melhora significativa na eficácia cosmética em relação à ambos os ativos.

Não há registros em literatura sobre estudos relativos à síntese de melanina comparando ou utilizando em conjunto o ácido ascórbico e o flavonoide galangina, no qual o ativo MLA está padronizado. Infere-se, porém, que os resultados obtidos estão intimamente relacionados ao mecanismo de atuação de ambos os compostos. O ácido ascórbico, assim como seus derivados, pode interagir com íons de cobre no sítio ativo da tirosinase e inibir sua função enzimática, assim como inibir a conversão da L-DOPA em dopaquinona, além de atuar como um antioxidante (Takenouchi; Aso, 1964; Taira

e cols., 2018; Chen e cols., 2021). O flavonoide galangina, quando avaliada pelo método de eliminação de radicais de DPPH, também apresenta elevada capacidade antioxidante (Abbas e cols., 2023). A associação de compostos flavonoides com ácido ascórbico pode resultar em sinergismo da ação antioxidante, por meio de mecanismo de regeneração das transferências de elétrons, protegendo os flavonoides da degradação oxidativa (Souza; Giovani, 2004). Um exemplo desse comportamento sinérgico foi observado na associação de rutina e ácido ascórbico. A análise do espectro de absorbância dos ativos combinados não demonstrou alterações em relação aos ativos isolados, inferindo que não há alteração estrutural molecular causada pela mistura. Contudo, quando ambo foram combinados, a atividade antioxidante foi duas vezes maior que a observada para o ácido ascórbico ou a rutina isoladamente, e o efeito superior da associação também foi evidenciado em modelos celular queratinócitos e fibroblastos humanos cultivados (Geçotek e cols., 2019).

Os ativos cosméticos N-acetil-glucosamina e glabridina associados ao ativo MLA não apresentaram diferença significativa quando avaliados frente ao próprio ativo isolado, no entanto quando comparados ao ativo MLA isolado, observa-se incremento significativo na eficácia da formulação. A N-acetil-glucosamina, embora não seja um inibidor da tirosinase, atua inibindo sua glicosilação, necessária para conversão da pró-tirosinase humana inativa em tirosinase ativa, e consequentemente interrompe a atividade no processo de produção de melanina (Imokawa; Mishima, 1985; Hwang e cols., 2011). Além desse mecanismo, observa-se em modelo *in vitro* que a N-acetil glucosamina também resulta em modulações de genes envolvidos no processo da melanogênese, como genes de renovação epidérmica (TGM5 - transglutaminase 5) e genes relacionados à atividade antioxidante (genes codificadores catalase e glutathione peroxidase 1, por exemplo), e a regulação negativa de genes do citoesqueleto envolvidos no transporte de melanossomas (DIAPH2, PP1, TTL, TUBB), contudo, segundo os autores, estudos complementares com modelos mais complexos devem ser avaliados para a confirmação de tais mecanismos (Bissett e cols., 2007).

Já a glabridina exerce função de inibição na atividade da enzima tirosinase, e supõem-se que tal efeito derive da presença de grupos hidroxilas na estrutura química do componente (Yokota e cols., 1998). Tal suposição foi investigada por simulações computacionais, as quais demonstraram que a glabridina se liga a tirosinase em um sitio ativo diferente da ligação exercida por L-DOPA, evidenciando que o mecanismo

de inibição não é por competição, e reafirmando que tal efeito deve-se às ligações de hidrogênio criadas pelas hidroxilas presente na posição 2 e 4 da molécula de glabridina, as quais podem criar um bloqueio estereoespecífico ou influenciar a conformação flexível do domínio central (Chen; Yu; Huang, 2016). Pan e cols., 2023, sugerem ainda que a glabridina pode influenciar em outras moléculas e etapas da cascata, como uma possível ligação com o fator de transcrição associado à microftalmia (MITF), e supressão de duas vias de sinalização da melanogenese.

Dentro da cascata da melanogenese, observa-se que N-acetil-glucosamina e glabridina atuam em momentos anteriores aos descritos como mecanismo de atuação do ativo MLA, dessa forma sugere-se a complementariedade de efeitos. Além disso, a galangina, um componente do ativo MLA, demonstrou capacidade de regular negativamente o MITF, embora de forma moderada (Matsuda e col., 2009). Esse mesmo efeito é sugerido para a glabridina, indicando a possibilidade de uma ação complementar entre os dois compostos.

Resultados similares eram esperados para os ativos ácido kójico, 4 butil resorcinol e ácido elágico, uma vez que atuam sobre as etapas iniciais do processo de síntese de melanina, de forma especial sobre a enzima tirosinase (He e cols., 2021, Kim e cols., 2005, Shimogaki e cols., 2000).

A enzima tirosinase possui duas atividades catalíticas distintas no mesmo sítio ativo, inicialmente convertendo L-Tirosina em L-DOPA, e em seguida na oxidação de L-DOPA para dopaquinona, porém nem todas as substâncias atuantes na inibição da tirosinase possuem atuação nos dois momentos, sendo essa uma potencialidade do ácido kójico (Miranda, 2015; Wang e cols., 2022). Esses dois processos, denominados de atividade monofenolase e atividade difenolase respectivamente, são inibidos por mecanismos diferentes pelo ácido kójico, sendo a primeira uma reação de competição e a segunda um misto de inibição competitiva e não competitiva, com a substância interagindo com a enzima livre e com o complexo enzima-substrato (He e cols., 2021; Wang e cols., 2022). Em adição, o ácido kójico apresenta-se como um potente modulador de NF-kb quando avaliado em modelo *in vitro*, sugerindo potencialidade anti-inflamatória e possibilitando ampliação de sua utilização no mercado cosmético (Moon e cols., 2001).

O ativo 4- butil-resorcinol também atua sobre a tirosinase e, quando comparado a substâncias classicamente reconhecidas por essa ação, como ácido kójico, arbutina

e hidroquinona, se sobressai em relação à sua potência (Kolbe e cols., 2012). Porém, diferente do evidenciado com outros ativos cosméticos, o 4-butil-resorcinol não apresenta modulação em outros pontos da cascata melanogênica, evidenciado que sua eficácia resulta da inibição direta da tirosinase, atuando como substrato desta enzima (Kim e cols., 2005; Garcia-Jimenez e cols., 2016).

Em relação ao ácido elágico, sabe-se que, dada sua estrutura, atua inibindo a atividade da tirosinase devido à sua capacidade quelante de íons cobre presentes no centro ativo da tirosinase, resultantes em alterações estruturais que tornam a enzima inativa (Shimogaki e cols., 2000; Tanaka, 2001). Porém, mais recentemente propôs-se que o ácido elágico ativa vias de sinalização autofágica e, também como potente agente antioxidante, podendo inibir o processo de melanogênese (Yoshimura e cols., 2005; Yang e cols., 2021).

No presente estudo, no entanto, não foi possível observar variações estaticamente significativas entre os grupos ácido kójico, 4-butil-resorcinol e ácido elágico associados ao ativo MLA, resultado diferente do esperado. O ácido kójico por exemplo, foi avaliado em modelo clínico para avaliação de sinergismo com o ativo MLA, e essa combinação se mostrou superior ao uso do ativo isolado, reduzindo a hiperpigmentação cutânea em 61% dos voluntários avaliados (Chemyunion, 2023). Da mesma forma, os ativos niacinamida e ácido tranexâmico também não apresentaram variações significativas frente aos ativos isolados, ainda que seus mecanismos sejam distintos aos anteriormente apresentados.

Niacinamida apresenta eficácia como agente hipopigmentante, porém não é capaz de modular a síntese de melanina ou exercer influência sobre a tirosinase, visto que seu mecanismo de ação é baseado na inibição da transferência de melanossomas dos melanócitos para os queratinócitos (Hakozaki e cols., 2002; Greatens e cols., 2005). A interação entre queratinócitos e melanócitos é essencial para a modulação da pigmentação, sendo exemplificado pelo receptor ativado por protease 2 (PAR-2), um modulador da transferência do melanossoma exclusivamente produzido pelos queratinócitos (Boo, 2021). Observa-se que PAR-2 é positivamente modulado em condições de exposição a UV e estresse oxidativo, resultando em aumento da liberação de PGE2 e estimulando a transferência de melanossomas (Scott e cols., 2001; Scott e cols., 2004; Tang e cols., 2012). Utilizando a metodologia de cultura de melanócitos in vitro em contato com a niacinamida, não há resultados

concretos sobre a modulação da melanina, porém quando o ativo é aplicado em modelos que contam com a presença de melanócitos e queratinócitos, observa-se modulação negativa de melanina de forma consistente, sugerindo que a niacinamida exerça ação sobre a melanogênese de forma indireta, atuando principalmente sobre os queratinócitos, porém os mecanismos específicos ainda precisam ser elucidados (Hakozaki e cols., 2002; Greatens e cols., 2005).

De maneira similar, o ácido tranexâmico também não é capaz de modular os melanócitos pelas vias comuns da síntese de melanina, porém atua na sua inibição por interferir na interação de melanócitos e queratinócitos através da inibição do sistema plasminogênio/plasmina (Maeda; Tomita, 2007). O plasminogênio está presente nas células basais epidérmicas humanas, e dois ativadores fisiológicos do plasminogênio são conhecidos: o ativador do plasminogênio do tipo tecidual (t-PA, “tissue-type plasminogen activator”) e o ativador do plasminogênio do tipo uroquinase (u-PA, “urokinase-type plasminogen activator”). Sabe-se que queratinócitos humanos possuem os dois tipos, porém secretam apenas uPA de cadeia simples (sc-uPA), já os melanócitos humanos produzem principalmente tPA, mas raramente produzem uPA (Maeda; Tomita, 2007; Poojary; Minni, 2015). Dentro deste cenário, observa-se que o sc-uPA produzido pelos queratinócitos atua como estimulador da atividade da tirosinase e aumentando o tamanho celular dos melanócitos, e o ácido tranexâmico atua bloqueando esta sinalização e impedindo a melanogênese (Maeda; Tomita, 2007; Poojary; Minni, 2015).

Além disso, a ativação do sistema de autofagia mediado pelo ácido tranexâmico é outro mecanismo de atuação dessa substância, em que a regulação positiva de proteínas relacionadas à autofagia resulta na inibição da melanogênese (Cho e cols., 2017). Outro fator de interesse do ácido tranexâmico é sua capacidade modulatória sobre a síntese de PGE2. Uma vez que a PGE2 derivada de queratinócitos estimula a formação de dendritos nos melanócitos e ativa a atividade dos melanócitos e da tirosinase, sua modulação negativa resulta em menor atividade dos melanócitos (Desai e cols., 2019).

Avaliando os resultados de quantificação de melanina no presente estudo, observa-se que os tratamentos com ativos moduladores da pigmentação da pele foram capazes de promover redução na presença de melanina até um limite técnico considerável. Quando avaliada a mediana das análises realizadas, nota-se que a

variação de 65% em relação ao placebo foi a modulação mais expressiva encontrada. Ao realizar um levantamento bibliográfico sobre estudos em modelo *ex vivo* ou utilizando pele humana reconstruída e subsequente avaliação de melanina pela técnica de Fontana Masson, observa-se que os tratamentos tópicos são capazes de modular a presença de melanina, porém não a extinguem (Park e cols., 2020; Goncalves e cols., 2022; Kim e cols., 2022). Desta forma, observa-se um limite técnico de avaliação biológica utilizando esse modelo, dificultando a avaliação de sinergismo entre moléculas, uma vez que as substâncias isoladas já apresentam resultados expressivos. Dados mais robustos e com maior possibilidade de avaliação significativa em avaliação de sinergismo podem ser esperados com o uso de modelos clínicos. A avaliação clínica, usualmente, considera tempos de tratamento maiores, como 30 a 90 dias por exemplo, e avaliação mais abrangente do perfil colorimétrico da pele, diferentemente do modelo *ex vivo* que se limita ao tempo de viabilidade e a área do material após extraído do sistema natural. No presente trabalho, a melhora significativa na eficácia da formulação foi observada apenas na avaliação do ativo AA2G, o qual isoladamente constatou menor modulação na quantidade de melanina e, conseqüentemente, mais distante do limite técnico da metodologia. Isso, associado ao mecanismo de ação do composto, possivelmente resultou na possibilidade de comprovação da atividade sinérgica. No entanto, não se exclui a possibilidade de outros ativos moduladores da hiperpigmentação cutânea também possuírem tal eficácia sinérgica com o ativo MLA, ainda que não constatada no presente trabalho.

6. CONCLUSÃO

Com a elaboração do presente trabalho, foi possível observar resultados variados entre as diferentes associações avaliadas frente aos ensaios de eficácia executados. O ativo cosmético CMZ possui grande capacidade moduladora da síntese de colágeno tipo 1, evidenciado quando avaliado em fragmentos de pele humana provenientes de cirurgia plástica, e pode ter seu efeito incrementado quando em associação a ativos antioxidantes, em especial ácido ascórbico e extrato de *Ginkgo biloba*. No entanto, observa-se significativa redução de eficácia quando associado ao peptídeo Pal-GQPR/Pal-GHK.

Em relação ao ativo cosmético (MLA), com propriedades moduladoras da melanogênese, a avaliação da pigmentação da pele realizada por meio da técnica de Fontana Masson, corroborou com dados de literatura e reafirmou a eficácia do ativo. Em associações, apenas o ácido ascórbico 2-glicosídeo, a N-acetil-glucosamina e a glabridina foram capazes de exercer efeitos positivos de forma significativa sobre a eficácia da mistura, em relação ao ativo MLA isolado e apenas o ácido ascórbico 2-glicosídeo apresentou efeito sinérgico com o MLA, apresentando efeitos superiores a cada um dos dois ativos isolados.

Finalmente é importante salientar que a metodologia delineada para o presente trabalho se apresenta como um importante modelo de análise e, com base nos resultados obtidos, vê-se viável para aplicações em demais análises e comparações de formulações cosméticas, tornando-se uma valiosa ferramenta de estudo pré-clínico, ainda que limitações técnicas precisem ser consideradas.

7. REFERENCIAS

ABBAS, Zainab e *co/s*. Antioxidant Properties of Galangin with β -cyclodextrin: an in vitro and in vivo. **Journal Of Applied Sciences And Nanotechnology**, [S.L.], v. 3, n. 1, p. 80-89, 1 fev. 2023.

ABDULGHANI. Effects of topical creams containing vitamin C, a copper-binding peptide cream and melatonin compared with tretinoin on the ultrastructure of normal skin— A pilot clinical, histologic, and ultrastructural study. **Disease Management And Clinical Outcomes**, [S.L.], v. 1, p. 136, 1998

ALDAG, Caroline; TEIXEIRA, Diana Nogueira; LEVENTHAL, Phillip s. Skin rejuvenation using cosmetic products containing growth factors, cytokines, and matrikines: a review of the literature. **Clinical, Cosmetic And Investigational Dermatology**, [S.L.], v. 9, p. 411-419, nov. 2016.

ALDAG, Caroline; TEIXEIRA, Diana Nogueira; LEVENTHAL, Phillip s. Skin rejuvenation using cosmetic products containing growth factors, cytokines, and matrikines: a review of the literature. **Clinical, Cosmetic And Investigational Dermatology**, [S.L.], v. 9, p. 411-419, nov. 2016.

ANDO, Hideya; MATSUI, Mary S.; ICHIHASHI, Masamitsu. Addendum: quasi-drugs developed in japan for the prevention or treatment of hyperpigmentary disorders. *int. j. mol. sci.* 2010, 11, 2566-2575. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 11, n. 7, p. 2699-2700, 12 jul. 2010.

AVOSKIN: Your Skin Bae Glow Concentrate Treatment. Disponível em: <https://incidecoder.com/products/avoskin-your-skin-bae-glow-concentrate-treatment-1-tranexamic-acid-multi-probiome-pineapple>. Acesso em: 26 jun. 2024.

AZAMBUJA, Roberto Doglia. The need of dermatologists, psychiatrists and psychologists joint care in psychodermatology. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 92, n. 1, p. 63-71, fev. 2017.

BAILLY, J. e *co/s*. In vitro metabolism by human skin and fibroblasts of retinol, retinal and retinoic acid. **Experimental Dermatology**, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 27-34, fev. 1998.

BE Minimalist: Vitamin C (Ethyl Ascorbic Acid) 10% + Acetyl Glucosamine 1%. Disponível em: <https://incidecoder.com/products/be-minimalist-vitamin-c-ethyl-ascorbic-acid-10-acetyl-glucosamine-1>. Acesso em: 26 jun. 2024.

BERARDESCA, Enzo; MAIBACH, Howard. Racial differences in skin pathophysiology. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 34, n. 4, p. 667-672, abr. 1996.

BERNSTEIN, Eric F. e co/s. Glycolic Acid Treatment Increases Type I Collagen mRNA and Hyaluronic Acid Content of Human Skin. **Dermatologic Surgery**, [S.L.], v. 27, n. 5, p. 429-433, maio 2001.

BISSETT, Donald L e co/s. Genomic expression changes induced by topical N-acetyl glucosamine in skin equivalent cultures in vitro. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], v. 6, n. 4, p. 232-238, 30 nov. 2007.

BISSETT, Donald L. Glucosamine: an ingredient with skin and other benefits. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], v. 5, n. 4, p. 309-315, dez. 2006.

BLUEMKE, Anika e co/s. Multidirectional activity of bakuchiol against cellular mechanisms of facial ageing - Experimental evidence for a holistic treatment approach. **International Journal Of Cosmetic Science**, [S.L.], v. 44, n. 3, p. 377-393, jun. 2022.

BLUME-PEYTAVI e cols. Age-associated skin conditions and diseases: current perspectives and future options. **Gerontol.** 2016; 56:S230-S242.

BOO, Yong Chool. Ascorbic Acid (Vitamin C) as a Cosmeceutical to Increase Dermal Collagen for Skin Antiaging Purposes: emerging combination therapies. **Antioxidants**, [S.L.], v. 11, n. 9, p. 1663, 26 ago. 2022.

BOO, Yong Chool. Mechanistic Basis and Clinical Evidence for the Applications of Nicotinamide (Niacinamide) to Control Skin Aging and Pigmentation. **Antioxidants**, [S.L.], v. 10, n. 8, p. 1315, 21 ago. 2021.

BOSSCHE, Karolien van Den; NAEYAERT, Jean-Marie; LAMBERT, Jo. The Quest for the Mechanism of Melanin Transfer. **Traffic**, [S.L.], v. 7, n. 7, p. 769-778, 18 maio 2006.

BOTICÁRIO: Gel Creme Redutor de Rugas Botik Retinol Puro 30g. Disponível em: <https://www.boticario.com.br/gel-creme-redutor-de-rugas-botik-retinol-puro-30g/>. Acesso em: 16 abr. 2025.

BRADLEY, Eleanor Jane. **Can an over-the-counter ‘anti-ageing’ formulation repair the extracellular matrix architecture of photoaged skin?** 2014. 192 f. Tese (Doutorado) - Doctor Of Philosophy In The Faculty Of Medical And Human Sciences, University Of Manchester, Manchester, 2014

BRINK, Daan M. van Den e *co/s*. Characterization of the Final Step in the Conversion of Phytol into Phytanic Acid. **Journal Of Biological Chemistry**, [S.L.], v. 280, n. 29, p. 26838-26844, jul. 2005.

BURKE, Karen e. Interaction of vitamins C and E as better cosmeceuticals. **Dermatologic Therapy**, [S.L.], v. 20, n. 5, p. 314-321, 28 nov. 2007.
CHAN, Alvin C.. Partners in defense, vitamin E and vitamin C. **Canadian Journal Of Physiology And Pharmacology**, [S.L.], v. 71, n. 9, p. 725-731, 1 set. 1993.

CHAUDHURI, R. K.; BOJANOWSKI, K.. Bakuchiol: a retinol-like functional compound revealed by gene expression profiling and clinically proven to have anti-aging effects. **International Journal Of Cosmetic Science**, [s.l.], v. 36, n. 3, p.221-230, 6 mar. 2014.

CHEMYUNION. **Agen**: Bioestimulador de colágeno I, III e IV. Disponível em: https://www.i9magistralshop.com.br/index.php?route=product/product/download&pdf=6684&document_id=2611. Acesso em: 21 dez. 2023.

CHEMYUNION. **Biolumitá**. Disponível em: https://www.i9magistralshop.com.br/index.php?route=product/product/download&pdf=6596&document_id=1292. Acesso em: 21 dez. 2023.

CHEMYUNION. **Uniox C**. Disponível em: <https://chemyunion.com/cuidados-para-pele/uniox-c>. Acesso em: 09 maio 2023.

CHEN, Chung-Yi e *co/s*. Enhancements of Skin Cell Proliferations and Migrations via 6-Dehydrogingerdione. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 61, n. 6, p. 1349-1356, 31 jan. 2013.

CHEN, Jianmin; YU, Xiaojing; HUANG, Yufeng. Inhibitory mechanisms of glabridin on tyrosinase. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, [S.L.], v. 168, p. 111-117, nov. 2016.

CHEN, Juanjuan e *co/s*. Oxidative stress in the skin: impact and related protection. **International Journal Of Cosmetic Science**, [S.L.], v. 43, n. 5, p. 495-509, 28 ago. 2021.

CHEN, Tengfei e *co/s*. System-level Study on Synergism and Antagonism of Active Ingredients in Traditional Chinese Medicine by Using Molecular Imprinting Technology. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 1-10, 24 nov. 2014.

CHO, Yeong Hee e *co/s*. Tranexamic acid inhibits melanogenesis by activating the autophagy system in cultured melanoma cells. **Journal Of Dermatological Science**, [S.L.], v. 88, n. 1, p. 96-102, out. 2017.

CHOJKIER, M. e *co/s*. Stimulation of collagen gene expression by ascorbic acid in cultured human fibroblasts.: a role for lipid peroxidation?. **The Journal Of Biological Chemistry**, [s. /], v. 28, n. 264, p. 16957-16962, 27 abr. 1989.

CHUNG, Jin Ho e *co/s*. Modulation of Skin Collagen Metabolism in Aged and Photoaged Human Skin *In Vivo*. **Journal Of Investigative Dermatology**, [s.l.], v. 117, n. 5, p.1218-1224, nov. 2001.

CICHOREK, Mirosława e *co/s*. Heterogeneity of neural crest-derived melanocytes. **Open Life Sciences**, [S.L.], v. 8, n. 4, p. 315-330, 1 abr. 2013.

CORRÊA, Marco Antônio. **Cosmetologia: Ciência e Técnica**. São Paulo: Livraria e Editora Medfarma, 2012. 492 p.

COSMÉTICO. **MICHAELIS Dicionário Brasileiro da Língua Portuguesa**. São Paulo: Editora Melhoramentos, 2015. Disponível em: <https://michaelis.uol.com.br/moderno-portugues/busca/portugues-brasileiro/Cosm%C3%A9tico/>. Acesso em: 2 fev. 2020.

DARR, D. e *co/s*. Effectiveness of antioxidants (vitamin C and E) with and without sunscreens as topical photoprotectants. **Acta Derm Venereol**, -, p. 264-268, jul. 1996.

DESAI, Seemal e *co/s*. Effect of a Tranexamic Acid, Kojic Acid, and Niacinamide Containing Serum on Facial Dyschromia: A Clinical Evaluation. **Journal Of Drugs In Dermatology**, [s. /], p. 454-459, 2019.

DERMATECH: DermaTech Glycolic Cream® 5%. Disponível em: <https://www.dermatech.co.nz/Products/Treat/Glycolic-Cream-5/>. Acesso em: 16 abr. 2025.

DERMDOC: 4% Niacinamide Face Toner. 4% Disponível em: <https://incidecoder.com/products/dermdoc-4-niacinamide-face-toner>. Acesso em: 16 abr. 2025.

DINATALE, Lisa *et al*. Novel Rotational Combination Regimen of Skin Topicals Improves Facial Photoaging: efficacy demonstrated in double-blinded clinical trials and laboratory validation. **Frontiers In Medicine**, [S.L.], v. 8, p. 1-17, 17 set. 2021.

ELEWA, Rana; ZOUBOULIS, Christos C.. Molecular mechanisms of action of topical antiaging compounds. **Journal Of The Egyptian Women's Dermatologic Society**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 73-78, maio 2014.

ELLISON, Lauren E.. **It's Not Just "Skin Deep"**: social anxiety and anxiety sensitivity in adults with psychodermatological disorders. 2019. 54 f. *Honor Thesis*, University Of Mississippi, Oxford, 2019.

ERBAŞ, M.; CERTEL, M.; USLU, M.K.. Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.). **Food Chemistry**, [S.L.], v. 89, n. 3, p. 341-345, fev. 2005.

FEITOSA, Pedro Walisson Gomes Feitosa Gomes e cols. Endogenous Synthesis of Collagen and its Relation to Aging: a systematic review / síntese endógena do colágeno e sua relação com o envelhecimento. **Id On Line. Revista de Psicologia**, [S.L.], v. 16, n. 60, p. 495-514, 30 maio 2022. Lepidus Tecnologia.

FISHER, Gary J. e cols. Mechanisms of Photoaging and Chronological Skin Aging. **Archives Of Dermatology**, [s.l.], v. 138, n. 11, p.1-10, 1 nov. 2002

FIUME, Monice M. e cols. Safety Assessment of Alkyl PEG Ethers as Used in Cosmetics. **International Journal Of Toxicology**, [S.L.], v. 31, n. 5, p. 169-244, set. 2012.

FLATT, P.M.. **Biochemistry – Defining Life at the Molecular Level**: chapter 2: protein structure. Monmouth: Western Oregon University, 2019. Disponível em: <https://wou.edu/chemistry/courses/online-chemistry-textbooks/ch450-and-ch451-biochemistry-defining-life-at-the-molecular-level/>. Acesso em: 05 mar. 2023.

FLEISCHER, Alan B. e cols. The combination of 2% 4-hydroxyanisole (Mequinol) and 0.01% tretinoin is effective in improving the appearance of solar lentigines and related hyperpigmented lesions in two double-blind multicenter clinical studies. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 42, n. 3, p. 459-467, mar. 2000.

FREIBERGER, Harley e cols. Procollagen I Synthesis in Human Skin Fibroblasts: Effect of Culture Conditions on Biosynthesis. **Journal Of Investigative Dermatology**, [s.l.], v. 75, n. 5, p.425-430, nov. 1980.

GANCEVICIENE, Ruta e cols. Skin anti-aging strategies. **Dermato-Endocrinology**, [S.L.], v. 4, n. 3, p. 308-319, jul. 2012.

GARCIA-JIMENEZ, Antonio e cols. 4-n-butylresorcinol, a depigmenting agent used in cosmetics, reacts with tyrosinase. **Iubmb Life**, [S.L.], v. 68, n. 8, p. 663-672, 24 jun. 2016.

GAULTIER, F. e cols. Effects of a vegetable extract from *Lupinus albus* (LU105) on the production of matrix metalloproteinases (MMP1, MMP2, MMP9) and tissue

inhibitor of metalloproteinases (TIMP1, TIMP2) by human gingival fibroblasts in culture. **Clinical Oral Investigations**, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 198-205, 7 jun. 2003.

GAULTIER, Frédérick e cols. Lupinus albus, A Novel Vegetable Extract With Metalloproteinase Inhibitory Properties: a potential periodontal therapy. **Journal Of Periodontology**, [S.L.], v. 76, n. 8, p. 1329-1338, ago. 2005.

GEESIN, Jeffrey C. e cols. Ascorbic Acid Specifically Increases Type I and Type III Procollagen Messenger RNA Levels in Human Skin Fibroblasts. **Journal Of Investigative Dermatology**, [S.L.], v. 90, n. 4, p. 420-424, abr. 1988.

GeGOTEK, Agnieszka e cols. Rutin and ascorbic acid cooperation in antioxidant and antiapoptotic effect on human skin keratinocytes and fibroblasts exposed to UVA and UVB radiation. **Archives Of Dermatological Research**, [S.L.], v. 311, n. 3, p. 203-219, 19 fev. 2019.

GONCALVES, Kirsty e cols. Investigation into the effect of skin tone modulators and exogenous stress on skin pigmentation utilizing a novel bioengineered skin equivalent. **Bioengineering & Translational Medicine**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 1-14, 26 set. 2022.

GOULD, Bernard S.; WOESSNER, J. Frederick. Biosynthesis of collagen: The influence of ascorbic acid on the proline, hydroxyproline, glycine and collagen content of regeneration guinea pig skin. **J. Biol. Chem.**, Massachusetts, v. 226, n. 1, p.289-300, out. 1957.

GRAGNANI, Alfredo e cols. Review of Major Theories of Skin Aging. **Advances In Aging Research**, [s.l.], v. 03, n. 04, p.265-284, 2014.

GRAND VIEW RESEARCH (Estados Unidos). Grand View Research. **Natural Skin Care Products Market Size**,. Share & Trends Analysis Report By Type (Mass, Premium), By Product (Facial Care, Body Care), By End-use (Men, Women), By Distribution Channel, By Region, And Segment Forecasts, 2022 - 2030. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/natural-skin-care-products-market>. Acesso em: 06 maio 2023.

GREATENS, Amanda e cols. Effective inhibition of melanosome transfer to keratinocytes by lectins and niacinamide is reversible. **Experimental Dermatology**, [S.L.], v. 14, n. 7, p. 498-508, jul. 2005

HABTEMARIAM, Solomon. The Molecular Pharmacology of Phloretin: anti-inflammatory mechanisms of action. **Biomedicines**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 143, 6 jan. 2023.

HAKOZAKI, T. e *co/s*. The effect of niacinamide on reducing cutaneous pigmentation and suppression of melanosome transfer. **British Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 147, n. 1, p. 20-31, jul. 2002

HARRIS, Maria Inês. **Pele: do Nascimento À Maturidade**. São Paulo: Senac, 2016. 302 p.

HE, Min e *co/s*. Design, synthesis, molecular modeling, and biological evaluation of novel kojic acid derivatives containing bioactive heterocycle moiety as inhibitors of tyrosinase and antibrowning agents. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 362, p. 130241, nov. 2021.

HEGYI, Juraj; SCHWARTZ, Robert A.; HEGYI, Vladimir. Pellagra: dermatitis, dementia, and diarrhea. **International Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 43, n. 1, p. 1-5, jan. 2004.

HOANG, Vu Dang e *co/s*. Influence of fatty alcohol mixing ratios on physicochemical properties of stearyl–cetyl–polysorbate 60–water ternary system: insights from experiments and computer simulations. **Colloid And Polymer Science**, [S.L.], v. 299, n. 12, p. 1885-1900, 13 out. 2021.

HUBNER, Alexandra e *co/s*. The Synergistic Behavior of Antioxidant Phenolic Compounds Obtained from Winemaking Waste's Valorization, Increased the Efficacy of a Sunscreen System. **Antioxidants**, [S.L.], v. 8, n. 11, p. 530, 7 nov. 2019.

HWANG, Jae Sung e *co/s*. Disruption of tyrosinase glycosylation by N-acetylglucosamine and its depigmenting effects in guinea pig skin and in human skin. **Journal Of Dermatological Science**, [S.L.], v. 63, n. 3, p. 199-201, set. 2011.

IMOKAWA, Genji; MISHIMA, Yutaka. Analysis of Tyrosinases as Asparagin-Linked Oligosaccharides by Concanavalin A Lectin Chromatography: appearance of new segment of tyrosinases in melanoma cells following interrupted melanogenesis induced by glycosylation inhibitors. **Journal Of Investigative Dermatology**, [S.L.], v. 85, n. 2, p. 165-168, ago. 1985.

INUI, M. e *co/s*. Mechanisms of inhibitory effects of CoQ10 on UVB-induced wrinkle formation *in vitro* and *in vivo*. **Biofactors**, [s.l.], v. 32, n. 1-4, p.237-243, 2008.

IWATA, Toshiyuki. Stabilization of Emulsions by α -Gel. **T. Pharm Tech Japan**, v. 1, n. 33, p. 75-82, jan. 2017.

JAMES, William D.; ELSTON, Dirk M.; BERGER, Timothy G.. **Andrews' Diseases of the Skin: Clinical Dermatology**. 12. ed. Philadelphia: Elsevier, 2016. 1083 p.

JARIWALA, Nathan *et al.* Matrikines as mediators of tissue remodeling. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 185, p. 114240, jun. 2022

JURZAK, M. *e cols.* Influence of retinoids on skin fibroblasts metabolism in vitro. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, [s. l], v. 65, n. 1, p. 85-91, 2008

KAMAL, Ghulam Mustafa *e cols.* Yield and Chemical Composition of Ginger Essential Oils as Affected by Inter-Varietal Variation and Drying Treatments of Rhizome. **Separations**, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 186, 8 mar. 2023.

KHALIL, Samar *e cols.* Retinoids: a journey from the molecular structures and mechanisms of action to clinical uses in dermatology and adverse effects. **Journal Of Dermatological Treatment**, [S.L.], v. 28, n. 8, p. 684-696, 2 abr. 2017.

KIM, Dong-Seok *e cols.* Inhibitory Effects of 4-n-Butylresorcinol on Tyrosinase Activity and Melanin Synthesis. **Biological And Pharmaceutical Bulletin**, [S.L.], v. 28, n. 12, p. 2216-2219, 2005.

KIM, Hyoung Moon *e cols.* A Mixture of Topical Forms of Polydeoxyribonucleotide, Vitamin C, and Niacinamide Attenuated Skin Pigmentation and Increased Skin Elasticity by Modulating Nuclear Factor Erythroid 2-like 2. **Molecules**, [S.L.], v. 27, n. 4, p. 1276, 14 fev. 2022.

KIM, S J; WON, Y H. The effect of glycolic acid on cultured human skin fibroblasts: cell proliferative effect and increased collagen synthesis. **Journal Of Dermatology**, [s. l], v. 2, n. 25, p. 85-89, fev. 1998.

KIM, Seong-Jin *e cols.* Effects of Flavonoids of Ginkgo biloba on Proliferation of Human Skin Fibroblast. **Skin Pharmacology And Physiology**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 200-205, 1997.

KOLBE, L. *e cols.* 4-n-butylresorcinol, a highly effective tyrosinase inhibitor for the topical treatment of hyperpigmentation. **Journal Of The European Academy Of Dermatology And Venereology**, [S.L.], v. 27, p. 19-23, 3 dez. 2012

KOLMAR, Chris. **24 Powerful Cosmetics Industry Statistics**: What's trending in the beauty business?. 2023. Disponível em: <https://www.zippia.com/advice/cosmetics-industry-statistics/>. Acesso em: 24 mar. 2023.

KOUKI, Murakami e cols. Comparison of ascorbic acid and ascorbic acid 2-O- α -glucoside on the cytotoxicity and bioavailability to low density cultures of fibroblasts. **Biochemical Pharmacology**, [S.L.], v. 44, n. 11, p. 2191-2197, dez. 1992.

KUMANO, Yoshimaru e cols. *In Vitro* and *In Vivo* Prolonged Biological Activities of Novel Vitamin C Derivative, 2-O-.ALPHA.-D-Glucopyranosyl-L-Ascorbic Acid (AA-2G), in Cosmetic Fields. **Journal Of Nutritional Science And Vitaminology**, v. 44, n. 3, p.345-359, 1998.

KWAK, Seon-Yeong; SEO, Hyo-Suk; LEE, Yoon-Sik. Synergistic antioxidative activities of hydroxycinnamoyl-peptides. **Journal Of Peptide Science**, [S.L.], v. 15, n. 10, p. 634-641, 29 jul. 2009.

LAROCHE: Pure Vitamin C10 Sérum. 2025. Disponível em: <https://www.larocheposay.com.br/vitamin-c/pure-vitamin-c10>. Acesso em: 16 abr. 2025.

LEDWOŃ, Patrycja e cols. Peptides as Active Ingredients: a challenge for cosmeceutical industry. **Chemistry & Biodiversity**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 1-15, 22 jan. 2021.

LEE, Rosalind C.; FEINBAUM, Rhonda L.; AMBROS, Victor. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. **Cell**, [S.L.], v. 75, n. 5, p. 843-854, dez. 1993.

LEMOTTE, Peter K.; KEIDEL, Siegfried; APFEL, Christian M.. Phytanic Acid is a Retinoid X Receptor Ligand. **European Journal Of Biochemistry**, [S.L.], v. 236, n. 1, p. 328-333, fev. 1996.

LEU, Sy Jye e cols. Phenolic Constituents of *Malus doumeri* var. *formosana* in the Field of Skin Care. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, [S.L.], v. 29, n. 4, p. 740-745, 2006.

LI, Hsiao-Hui e cols. Based on machine learning for personalized skin care products recommendation engine. **2020 International Symposium On Computer, Consumer And Control (Is3C)**, [S.L.], p. 460-462, nov. 2020.

LI, Tong e cols. The comparison of microRNA profile of the dermis between the young and elderly. **Journal Of Dermatological Science**, [S.L.], v. 82, n. 2, p. 75-83, maio 2016.

LI, Yong e cols. Age-Associated Increase in Skin Fibroblast-Derived Prostaglandin E 2 Contributes to Reduced Collagen Levels in Elderly Human Skin. **Journal Of Investigative Dermatology**, [S.L.], v. 135, n. 9, p. 2181-2188, set. 2015.

LI, Yue e *co/s*. The potential of Ginkgo biloba in the treatment of human diseases and the relationship to Nrf2-mediated antioxidant protection. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, [S.L.], v. 74, n. 12, p. 1689-1699, 29 set. 2022.

LIM, Hye-Sun; KIM, Yu Jin; KIM, Bu-Yeo; JEONG, Soo-Jin. Bakuchiol Suppresses Inflammatory Responses Via the Downregulation of the p38 MAPK/ERK Signaling Pathway. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 14, p. 3574, 22 jul. 2019.

LIN, Jing-Yi e *co/s*. UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 48, n. 6, p. 866-874, jun. 2003.

LINTNER, Karl. **Chapter 36: Peptides and proteins**. 2010. Disponível em: <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=5e078e3de9513a9c8254f547f7891d5b5adc9a61>. Acesso em: 05 mar. 2023.

LINTNER, Karl. **Compositions containing mixtures of tetrapeptides and tripeptides**. Titular: World Intellectual Property Organization. FR n. WO 2005/048968 A1. Depósito: 17 nov. 2003. Concessão: 02 jun. 2005.

LIU, Yali; LUNTER, Dominique Jasmin. Systematic Investigation of the Effect of Non-Ionic Emulsifiers on Skin by Confocal Raman Spectroscopy - A Comprehensive Lipid Analysis. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 223, 2 mar. 2020.

LIU, Yanfei e *co/s*. Network Pharmacology-Based Strategy to Investigate the Pharmacological Mechanisms of Ginkgo biloba Extract for Aging. **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2020, p. 1-10, 27 jul. 2020.

LYKO: AA Skin Boost Q10 Concentrate 5% 30 ml. 2025. Disponível em: <https://lyko.com/en/aa/aa-q10-concentrate-5--30-ml>. Acesso em: 16 abr. 2025.

MAEDA, Kazuhisa; TOMITA, Yasushi. Mechanism of the Inhibitory Effect of Tranexamic Acid on Melanogenesis in Cultured Human Melanocytes in the Presence of Keratinocyte-conditioned Medium. **Journal Of Health Science**, [S.L.], v. 53, n. 4, p. 389-396, 2007.

MARCHEGGIANI, Fabio e *co/s*. Modulation of Coenzyme Q10 content and oxidative status in human dermal fibroblasts using HMG-CoA reductase inhibitor over a broad range of concentrations. From mitohormesis to mitochondrial dysfunction and accelerated aging. **Aging**, [s.l.], v. 11, n. 9, p.2565-2582, 10 maio 2019.

MARKIEWICZ, Ewa; IDOWU, Olusola. Personalized skincare: from molecular basis to clinical and commercial applications. **Clinical, Cosmetic And Investigational Dermatology**, [S.L.], v. 11, p. 161-171, abr. 2018.

MATSUDA, Hisashi *et al.* Melanogenesis inhibitors from the rhizomes of *Alpinia officinarum* in B16 melanoma cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, [S.L.], v. 17, n. 16, p. 6048-6053, ago. 2009.

MENDONÇA, Estela. **Brasil volta ao top 3 do mercado global de higiene e beleza em 2023**. 2024. Disponível em: <https://cosmeticinnovation.com.br/brasil-volta-ao-top-3-do-mercado-global-de-higiene-e-beleza-em-2023/>. Acesso em: 30 mar. 2025.

MINE, Yukitoshi; TAKAHASHI, Takayuki; OKAMOTO, Tadashi. Protective effects of coenzyme Q10 on cell damage induced by hydrogen peroxides in cultured skin fibroblasts. **Journal Of Clinical Biochemistry And Nutrition**, [S.L.], v. 69, n. 3, p. 247-255, 2021.

MINE, Yukitoshi; TAKAHASHI, Takayuki; OKAMOTO, Tadashi. Stimulatory effects of collagen production induced by coenzyme Q10 in cultured skin fibroblasts. **Journal Of Clinical Biochemistry And Nutrition**, [S.L.], v. 71, n. 1, p. 29-33, 2022.

MIRANDA, Andre José Cardoso de. **Estudo da cinética da tirosinase imobilizada em nanopartícula de sílica com obtenção de revestimento de eumelanina**. 2015. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015. doi:10.11606/D.46.2016.tde-05042016-111550. Acesso em: 2023-03-08.

MOHIUDDIN, Abdul Kader. Skin Lightening & Management of Hyperpigmentation. **Pharmaceutical Sciences & Analytical Research Journal**, Bangladesh, v. 2, n. 2, p.1-48, jun. 2019

MONTGOMERY, K. *e cols.* The importance of mindfulness in psychosocial distress and quality of life in dermatology patients. **British Journal of Dermatology**, [S.L.], v. 175, n. 5, p. 930-936, 18 set. 2016.

MONITE: Brightening Serum Glabridin 0,1% + Galactomyces + Ceramides. Disponível em: <https://incidecoder.com/products/monite-brightening-serum-glabridin-0-1-galactomyces-ceramides>. Acesso em: 26 jun. 2024.

MOON, Ki-Young *e cols.* Kojic acid, a potential inhibitor of NF- κ B activation in transfectant human HaCaT and SCC-13 cells. **Archives Of Pharmacal Research**, [S.L.], v. 24, n. 4, p. 307-311, ago. 2001.

MORTAZAVI, Seyedeh Maryam; MOGHIMI, Hamid Reza. Skin permeability, a dismissed necessity for anti-wrinkle peptide performance. **International Journal Of Cosmetic Science**, [S.L.], v. 44, n. 2, p. 232-248, abr. 2022

MOTA, Joana e cols. Lupinus albus Protein Components Inhibit MMP-2 and MMP-9 Gelatinolytic Activity In Vitro and In Vivo. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 22, n. 24, p. 13286, 10 dez. 2021.

MOTAMEDI, Melika e cols. A Clinician's Guide to Topical Retinoids. **Journal Of Cutaneous Medicine And Surgery**, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 71-78, 22 jul. 2021.

MUÑOZ-MUÑOZ, Jose Luis e cols. Ellagic acid: characterization as substrate of polyphenol oxidase. **Iubmb Life**, [S.L.], v. 61, n. 2, p. 171-177, fev. 2009.

NA, J.I. *et al.* Effect of tranexamic acid on melasma: a clinical trial with histological evaluation. **Journal Of The European Academy Of Dermatology And Venereology**, [S.L.], v. 27, n. 8, p. 1035-1039, 13 fev. 2012.

NARDA, Mridvika e cols. Epidermal and Dermal Hallmarks of Photoaging are Prevented by Treatment with Night Serum Containing Melatonin, Bakuchiol, and Ascorbyl Tetraisopalmitate: in vitro and ex vivo studies. **Dermatology And Therapy**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 191-202, 3 jan. 2020.

NUNES, M. Antónia e cols. Influence of Olive Pomace Blending on Antioxidant Activity: additive, synergistic, and antagonistic effects. **Molecules**, [S.L.], v. 26, n. 1, p. 169, 31 dez. 2020.

OBLONG, John E. e cols. Metabolic dysfunction in human skin: restoration of mitochondrial integrity and metabolic output by nicotinamide (niacinamide) in primary dermal fibroblasts from older aged donors. **Aging Cell**, [S.L.], v. 19, n. 10, p. 1-14, 29 set. 2020.

OHBAYASHI, Norihiko; FUKUDA, Mitsunori. Recent advances in understanding the molecular basis of melanogenesis in melanocytes. **F1000Research**, [S.L.], v. 9, p. 608, 15 jun. 2020.

OKANO, Yuri e cols. Biological effects of glycolic acid on dermal matrix metabolism mediated by dermal fibroblasts and epidermal keratinocytes. **Experimental Dermatology**, [S.L.], v. 12, p. 57-63, out. 2003.

ORESAJO, Christian e cols. Protective effects of a topical antioxidant mixture containing vitamin C, ferulic acid, and phloretin against ultraviolet-induced

photodamage in human skin. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], v. 7, n. 4, p. 290-297, dez. 2008.

ORIOLO, Donata; DELLAMBRA, Elena. Epigenetic Regulation of Skin Cells in Natural Aging and Premature Aging Diseases. **Cells**, [S.L.], v. 7, n. 12, p. 268, 12 dez. 2018.

OUMEISH, Youssef. The cultural and philosophical concepts of cosmetics in beauty and art through the medical history of mankind. **Clinics In Dermatology**, [s.l.], v. 19, n. 4, p.375-386, jul. 2001.

OURISMAN, Jessica. **These Will Be the Biggest Skin-Care Trends of 2024**. 2023. Disponível em: <https://www.allure.com/story/biggest-skin-care-trends-2024>. Acesso em: 22 dez. 2023.

PAL, Sangita; TYLER, Jessica K.. Epigenetics and aging. **Science Advances**, [S.L.], v. 2, n. 7, p. 1-19, jul. 2016.

PAN, Chunxing e co/s. The mechanisms of melanogenesis inhibition by glabridin: molecular docking, pka/mitf and mapk/mitf pathways. **Food Science And Human Wellness**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 212-222, jan. 2023.

PARK, Hee-young; YAAR, Mina. Disorders of Melanocytes: Biology of Melanocytes. In: GOLDSMITH, Lowell A. e co/s. **Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine**. 8. ed. New York: The McGraw-hill Companies, 2012. p. 765-781.

PARK, Jisu e co/s. D-tyrosine adds an anti-melanogenic effect to cosmetic peptides. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 1-11, 14 jan. 2020.

PARSONS, M. Mechanical Load Enhances Procollagen Processing in Dermal Fibroblasts by Regulating Levels of Procollagen C-Proteinase. **Experimental Cell Research**, [s.l.], v. 252, n. 2, p.319-331, 1 nov. 1999.

PETRUZZI, Dominique. **Cosmetics industry in the U.S.:** Statistics & facts. 2023. Disponível em: <https://www.statista.com/topics/1008/cosmetics-industry/#topicOverview> Acesso em: 24 mar. 2023.

PHILIPPE, Sessou e co/s. Chemical composition and in vitro antifungal activity of Zingiber officinale essential oil against foodborne pathogens isolated from a traditional cheese wagashi produced in Benin. **International Journal Of Biosciences**, Cotonou, v. 2, n. 9, p. 20-28, ago. 2012.

PHILIPS, Neena; CHALENSOUK-KHAOSAAT, Jovinna; GONZALEZ, Salvador. Simulation of the Elastin and Fibrillin in Non-Irradiated or UVA Radiated Fibroblasts,

and Direct Inhibition of Elastase or Matrix Metalloproteinases Activity by Nicotinamide or Its Derivatives. **Journal Of Cosmetic Science**, [s. l.], v. 1, n. 69, p. 47-56, jan. 2018.

PICKART, Loren; VASQUEZ-SOLTERO, Jessica Michelle; MARGOLINA, Anna. GHK Peptide as a Natural Modulator of Multiple Cellular Pathways in Skin Regeneration. **Biomed Research International**, [S.L.], v. 2015, p. 1-7, 2015.

POOJARY, Shital; MINNI, Khushboo. Tranexamic Acid in Melasma: a review. **Journal Of Pigmentary Disorders**, [S.L.], v. 2, n. 12, p. 1-4, 2015

PRECEDENCE RESEARCH (Canadá). **Natural Extracts Market**: (By Products: Essential Oils, Natural colors, Oleo-resins, Herbal Extracts, Dried Crops; By Application: Personal Care & Cosmetics, Food & Beverage, Animal Feed, Pharmaceuticals, Nutraceuticals, Others; By Source: Plant Source, Tea Extracts; By Techniques: Expression, Absorption, Maceration, Distillation; By End User: Cosmetic, Pharmaceutical, Food Industries, Others; By Type) - Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, Regional Outlook, and Forecast 2022 – 2030. Disponível em: <https://www.precedenceresearch.com/natural-extracts-market>. Acesso em: 06 maio 2023.

PULLAR, Juliet; CARR, Anitra; VISSERS, Margreet. The Roles of Vitamin C in Skin Health. **Nutrients**, [S.L.], v. 9, n. 8, p. 866, 12 ago. 2017.

QI, Xuelian e co/s. Biocatalytic synthesis of 2- O - α -D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid using an extracellular expressed α -glucosidase from *Oryza sativa*. **Biotechnology Journal**, [S.L.], v. 16, n. 11, p. 2100199, set. 2021.

RAKIC, L.; LAPIÈRE, Ch.M.; NUSGENS, B.V.. Comparative Caustic and Biological Activity of Trichloroacetic and Glycolic Acids on Keratinocytes and Fibroblasts in vitro. **Skin Pharmacology And Physiology**, [S.L.], v. 13, n. 1, p. 52-59, 2000.

RESENDE, Diana I. S. P. e co/s. Skin Depigmenting Agents in Anti-Aging Cosmetics: a medicinal perspective on emerging ingredients. **Applied Sciences**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 775, 13 jan. 2022.

RINNERHALER, Mark e co/s. Oxidative Stress in Aging Human Skin. **Biomolecules**, [s.l.], v. 5, n. 2, p.545-589, 21 abr. 2015.

ROSSETTI, D. e co/s. A novel anti-ageing mechanism for retinol: induction of dermal elastin synthesis and elastin fibre formation. **International Journal Of Cosmetic Science**, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 62-69, 18 jan. 2011.

SARUNO, Rinjiro; KATO, Fumio; IKENO, Toru. Kojic Acid, a Tyrosinase Inhibitor from *Aspergillus albus*. **Agricultural And Biological Chemistry**, [S.L.], v. 43, n. 6, p. 1337-1338, jun. 1979.

SATO, Fumiaki e cols. MicroRNAs and epigenetics. **Febs Journal**, [S.L.], v. 278, n. 10, p. 1598-1609, 30 mar. 2011.

SCIENCEDIRECT (org.). **Search**. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/search?qs=natural%20Extract%20cosmetic>. Acesso em: 09 maio 2023.

SCOTT, Glynis e cols. Protease-Activated Receptor 2, a Receptor Involved in Melanosome Transfer, is Upregulated in Human Skin by Ultraviolet Irradiation. **Journal Of Investigative Dermatology**, v. 117, n. 6, p. 1412-1420, dez. 2001.

SCOTT, Glynis e cols. Proteinase-Activated Receptor-2 Stimulates Prostaglandin Production in Keratinocytes: analysis of prostaglandin receptors on human melanocytes and effects of pge2 and pgf2 α on melanocyte dendricity. **Journal Of Investigative Dermatology**, v. 122, n. 5, p. 1214-1224, maio 2004.

SECOLI, Silvia Regina. Interações medicamentosas: fundamentos para a prática clínica da enfermagem. **Revista da Escola de Enfermagem da Usp**, [S.L.], v. 35, n. 1, p. 28-34, mar. 2001.

SEIBERG, M. e cols. The Protease-Activated Receptor 2 Regulates Pigmentation via Keratinocyte-Melanocyte Interactions. **Experimental Cell Research**, [S.L.], v. 254, n. 1, p. 25-32, jan. 2000.

SEO, Yoo Jung; KWON, Ki Han. An application of AR in cosmetological industry after coronavirus disease-19 pandemic. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], v. 21, n. 11, p. 5314-5320, 5 set. 2022

SHIM, Joong Hyun. Prostaglandin E2 Induces Skin Aging via E-Prostanoid 1 in Normal Human Dermal Fibroblasts. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 20, n. 22, p. 5555, 7 nov. 2019.

SHIMOGAKI e cols. *In vitro* and *in vivo* evaluation of ellagic acid on melanogenesis inhibition. **International Journal Of Cosmetic Science**, [S.L.], v. 22, n. 4, p. 291-303, ago. 2000.

SIMMLER, Charlotte; PAULI, Guido F.; CHEN, Shao-Nong. Phytochemistry and biological properties of glabridin. **Fitoterapia**, [S.L.], v. 90, p. 160-184, out. 2013.

SKINREPUBLIC: Matrixyl™ 3000 3% Foil Under Eye Mask. Disponível em: <https://theskinrepublic.com/collections/skin-care-to-combat-pigmentation/products/matrixyl-under-eye-patch-2-pairs>. Acesso em: 16 abr. 2025.

SMIT, Nico; VICANOVA, Jana; PAVEL, Stan. The Hunt for Natural Skin Whitening Agents. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 10, n. 12, p.5326-5349, 10 dez. 2009.

SOUZA, Rubens F.V. de; GIOVANI, Wagner F. de. Antioxidant properties of complexes of flavonoids with metal ions. **Redox Report**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 97-104, abr. 2004.

SULAIMON, Shola S.; KITCHELL, Barbara E.. The biology of melanocytes. **Veterinary Dermatology**, [s.l.], v. 14, n. 2, p.57-65, abr. 2003.

TAIRA, Norihisa e cols. Structural Requirements of Alkylglyceryl-l-Ascorbic Acid Derivatives for Melanogenesis Inhibitory Activity. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 19, n. 4, p. 1144, 10 abr. 2018.

TAJIMA, Shingo; PINNELL, Sheldon R.. Ascorbic acid preferentially enhances type I and III collagen gene transcription in human skin fibroblasts. **Journal Of Dermatological Science**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 250-253, mar. 1996.

TAKENOUCHI, Katsu; ASO, Kazuo. The relation between melanin formation and ascorbic acid. **The Journal Of Vitaminology**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 123-134, 1964.

TANAKA, Yoshimasa. Ellagic Acid: A New Skin-Whitening Active Ingredient. In: BAREL, André O. e cols (ed.). **Handbook of Cosmetic Science and Technology**. New York: Marcel Dekker, Inc, 2001. p. 473-478.

TANG, Luyan e cols. Oxidation Levels Differentially Impact Melanocytes: low versus high concentration of hydrogen peroxide promotes melanin synthesis and melanosome transfer. **Dermatology**, v. 224, n. 2, p. 145-153, 2012.

THEDERMACO: Pore Minimizing Clay Daily Face Wash With 1% Niacinamide & 2% PHA. Disponível em: <https://incidecoder.com/products/the-derma-co-pore-minimizing-clay-daily-face-wash-with-1-niacinamide-2-pa>. Acesso em: 26 jun. 2024.

VARANI, James e cols. Decreased Collagen Production in Chronologically Aged Skin. **The American Journal Of Pathology**, [s.l.], v. 168, n. 6, p.1861-1868, jun. 2006.

VARGA, J e cols. Transforming growth factor β (TGF β) causes a persistent increase in steady-state amounts of type I and type III collagen and fibronectin mRNAs in normal human dermal fibroblasts. **Biochemical Journal**, [S.L.], v. 247, n. 3, p. 597-604, 1 nov. 1987.

WANG, Wei e *co/s*. Kojic Acid Showed Consistent Inhibitory Activity on Tyrosinase from Mushroom and in Cultured B16F10 Cells Compared with Arbutins. **Antioxidants**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 502, 4 mar. 2022.

WANG, Xiaoyue e *co/s*. In vitro anti-aging activities of ginkgo biloba leaf extract and its chemical constituents. **Food Science And Technology**, [S.L.], v. 40, n. 2, p. 476-482, jun. 2020.

WAWRZYK-BOCHENEK, Iga *et al.* Evaluation of the Reduction of Skin Hyperpigmentation Changes under the Influence of a Preparation Containing Kojic Acid Using Hyperspectral Imaging—Preliminary Study. **Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 12, n. 7, p. 2710, 4 abr. 2023.

WESLEY, Naissan O; MAIBACH, Howard I. Racial (Ethnic) Differences in Skin Properties. **American Journal Of Clinical Dermatology**, [S.L.], v. 4, n. 12, p. 843-860, 2003.

WILSON, Samantha L. e *co/s*. The effect of collagen ageing on its structure and cellular behaviour. **Spie Proceedings**, [S.L.], p. 1-12, 9 fev. 2012.

WOHLRAB, Johannes; KREFT, Daniela. Niacinamide - Mechanisms of Action and Its Topical Use in Dermatology. **Skin Pharmacology And Physiology**, [S.L.], v. 27, n. 6, p. 311-315, 2014.

WU, Marlyn; CRONIN, Kelly; CRANE, Jonathan S.. **Biochemistry, Collagen Synthesis**. Treasure Island (FL): Statpearls, 2022. Última atualização: 12 de setembro de 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507709/>. Acesso em: 05 mar. 2023.

YAMAMOTO, I.; MUTO, N.. Bioavailability and Biological Activity of L-Ascorbic Acid 2-O- α -Glucoside. **Journal Of Nutritional Science And Vitaminology**, [S.L.], v. 38, n. , p. 161-164, 1992.

YAMAMOTO, Itaru e *co/s*. Formation of a stable l-ascorbic acid α -glucoside by mammalian α -glucosidase-catalyzed transglucosylation. **Biochimica Et Biophysica Acta (Bba) - General Subjects**, [S.L.], v. 1035, n. 1, p. 44-50, jul. 1990.

YANG, Hsin-Ling e *co/s*. The anti-melanogenic effects of ellagic acid through induction of autophagy in melanocytes and suppression of UVA-activated α -MSH pathways via Nrf2 activation in keratinocytes. **Biochemical Pharmacology**, [S.L.], v. 185, p. 114454, mar. 2021.

YOKOTA, Tomohiro e co/s. The Inhibitory Effect of Glabridin from Licorice Extracts on Melanogenesis and Inflammation. **Pigment Cell Research**, [s.l.], v. 11, n. 6, p.355-361, dez. 1998.

YOSHIMURA, Mineka e co/s. Inhibitory Effect of an Ellagic Acid-Rich Pomegranate Extract on Tyrosinase Activity and Ultraviolet-Induced Pigmentation. **Bioscience, Biotechnology, And Biochemistry**, [S.L.], v. 69, n. 12, p. 2368-2373, jan. 2005.

ZASADA, Malwina; BUDZISZ, Elżbieta. Retinoids: active molecules influencing skin structure formation in cosmetic and dermatological treatments. **Advances In Dermatology And Allergology**, [S.L.], v. 36, n. 4, p. 392-397, 2019.

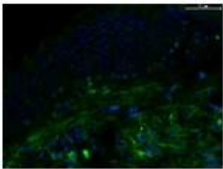
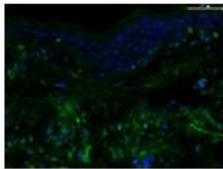
ZHANG, Shoubing; DUAN, Enkui. Fighting against Skin Aging. **Cell Transplantation**, [s.l.], v. 27, n. 5, p.729-738, 25 abr. 2018.

ZHANG, Ziwei; LUNTER, Dominique Jasmin. Confocal Raman microspectroscopy as an alternative to differential scanning calorimetry to detect the impact of emulsifiers and formulations on stratum corneum lipid conformation. **European Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 121, p. 1-8, ago. 2018.

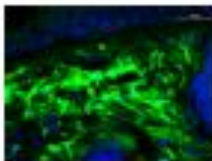
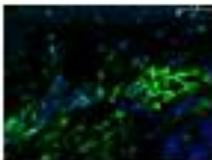
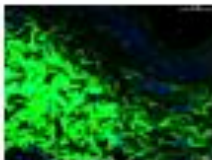
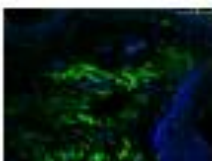
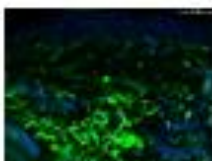
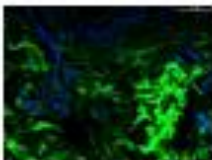
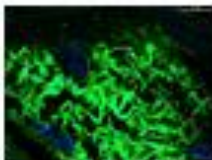
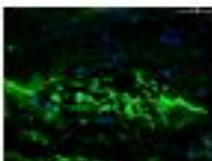
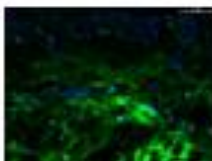
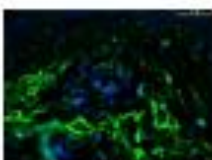
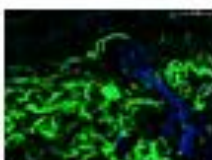
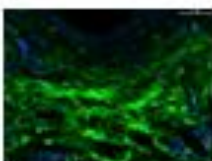
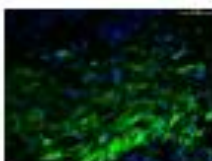
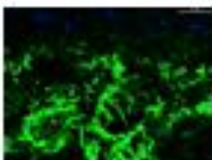
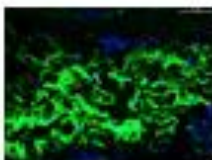
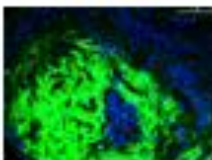
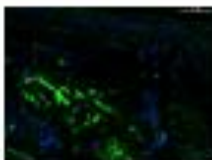
8. ANEXOS

8.1 Anexo I.

- A. Imagens representativas do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1. Marcações em verde relativas à proteína e marcação em azul identificando o núcleo celular. Grupos controles internos.

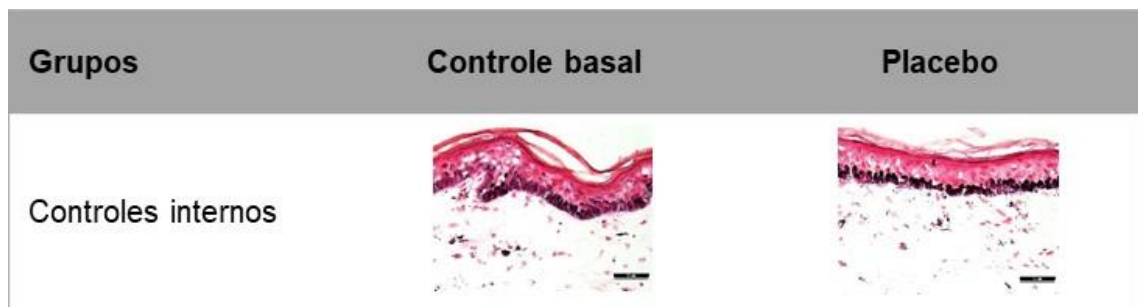
Grupos	Controle Basal	Placebo
Controles internos		

- B. Imagens representativas do ensaio de imunofluorescência de colágeno tipo 1. Marcações em verde relativas à proteína e marcação em azul identificando o núcleo celular. Grupos alvos de estudo.

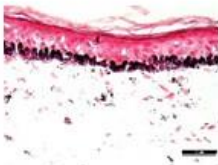
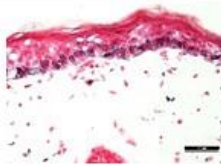
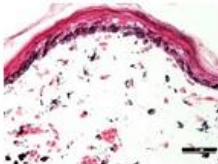
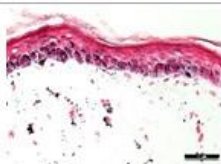
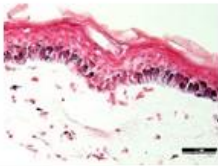
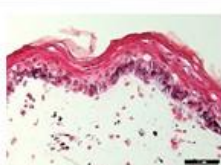
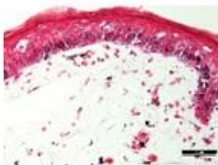
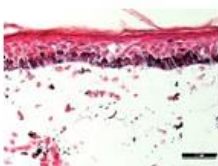
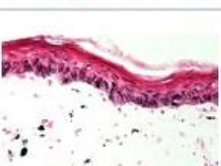
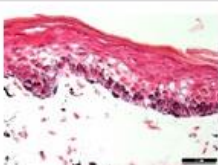
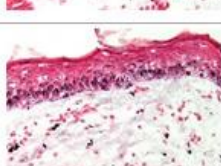
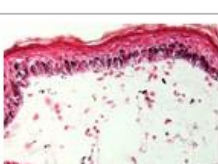
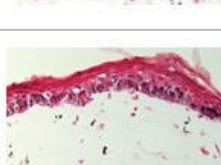
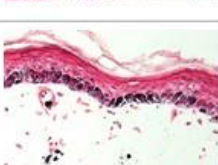
Grupos	Isolado	Associado ao CMZ 2%
Placebo		
<i>Ginkgo biloba</i>		
Coenzima Q10		
Niacinamida		
Ácido Glicólico		
Bakuchiol		
Retinol		
Ácido Ascórbico		
Pal-GQPR/Pal-GHK		

8.2 Anexo II.

A. Imagens representativas do ensaio de Fontana Masson. Grupos controles internos.



B. Imagens representativas do ensaio de Fontana Masson. Grupos alvos de estudo.

Grupos	Isolado	Associado a MLA 0,5%
Placebo		
Ácido Ascórbico 2-Glicosídeo		
N-acetil-glucosamida		
Glabridina		
Ácido Kójico		
4-butil-resorcinol		
Ácido Elágico		
Niacinamida		
Ácido tranexâmico		

DADOS CURRICULARES

Formação:

- Graduação em Engenharia Química (2014 - 2018) pelo Centro Universitário FACENS, Sorocaba -SP. Bolsista da instituição por meio de bolsa mérito em virtude de bom desempenho.
- Curso Técnico em Química (2012-2013) pela Fundação Indaiatubana de Educação e Cultura – FIEC, Indaiatuba – SP.

Experiência profissional

- Chemyunion Ltda. – Departamento de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação – Laboratório de análises *in vitro* e *ex vivo* (2015 até o momento).
 - Coordenadora de testes pré-clínicos – desde junho/2022 (atual)

Disciplinas cursadas durante o doutorado (2021-2024)

Disciplina	Carga Horária	Conceito
Bases e Atualizações em Farmacologia e Biotecnologia (2021)	45	A
Experimentos Clássicos em Biologia Molecular (2021)	30	A
Bases e Atualizações em Farmacologia e Biotecnologia (2021)	45	A
Biologia Celular (2021)	45	A
Conceitos gerais em Estatística aplicada a modelos Biológicos (2021)	30	A
Tópicos Especiais em Biometria: Introdução à Bioestatística no Programa R (2021)	30	A
Tópicos Avançados em Biologia da Reprodução (2022)	75	A
Total	300	

Participação em eventos científicos durante o doutorado (2021-2024)

- 24º Encontro Nacional de Biomedicina, Botucatu – SP, 2021
- 33º Congresso Brasileiro de Cosmetologia. Associação Brasileira de Cosmetologia – ABC, São Paulo – SP, 2021
- Semana da bioestatística computacional – 2021.
- X Simpósio de Farmacologia e Biotecnologia da UNESP, Unesp, Botucatu - SP (2021)
- 1ª edição da WG Week, Botucatu – SP, 2021
- II Congresso Brasileiro de Biotecnologia On-line, Fortaleza – CE, 2022.
- XI Simpósio de Farmacologia e Biotecnologia da UNESP, Unesp, Botucatu - SP (2022)

Publicações:

- Katekawa E, Arruda Brasil MCO, Princival CR, **Padovani G**, Esteves-Pedro NM, Mussi L, Camargo Junior FB, Magalhães WV, Guido RVC, Cilli EM. (2024) Effect of Tripeptide-85 (EVF) on Sebogenesis. Clinical & Experimental Dermatology and Therapies, 2024.
- Biscaro, Rafael C.; Mussi, Lilian; Sufi, Bianca; **Padovani, Giovana**; Camargo Junior, Flavio B.; Magalhães, Wagner V.; Di Stasi, Luiz C. Modulation of autophagy by an innovative phytocosmetic preparation *Myrothamnus flabelifolia* and *Coffea arabica* in human fibroblasts and its effects in a clinical randomized placebo-controlled trial. Journal of Cosmetic Dermatology, 2022.
- Martinez, Renata Miliani; Magalhães, Wagner Vidal; Sufi, Bianca Da Silva; **Padovani, Giovana**; Nazato, Lucas Idacir Sbrugnera; Velasco, Maria Valéria Robles; Lannes, Suzana Caetano Da Silva; Baby, André Rolim. Vitamin E-loaded bigels and emulsions: Physicochemical characterization and potential biological application. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 2021.

- Varela, Marina Themoteo; Ferrarini, Márcio; Mercaldi, Vitória Gallo; Sufi, Bianca Da Silva; **Padovani, Giovana**; Nazato, Lucas Idacir Sbrugnera; Fernandes, João Paulo S.. Coumaric acid derivatives as tyrosinase inhibitors: Efficacy studies through *in silico*, *in vitro* and *ex vivo* approaches. Bioorganic Chemistry, 2020.
- Bíscao, Rafael Carlos; Mussi, Lilian ; Silva, Jeanifer Caverzan da ; Sufi, Bianca Da Silva ; **Padovani, Giovana** ; Nazato, Lucas Idacir Sbrugnera ; Camargo Junior, Flavio Bueno ; Magalhães, Wagner Vidal . Micrornas Do Rejuvenescimento: A Atuação Da Epigenética Na Regulação Fenotípica Do Envelhecimento Cutâneo. Condições Teórico-Práticas das Ciências da Saúde no Brasil 3. 1ed.: Atena Editora, 2020, v. , p. 160-169.
- Caverzan, Jeanifer; Mussi, Lilian; Sufi, Bianca; **Padovani, Giovana**; Nazato, Lucas; Camargo, Flavio B.; Magalhães, Wagner V.; Di Stasi, Luiz C.. A new phytocosmetic preparation from *Thymus vulgaris* stimulates adipogenesis and controls skin aging process: *In vitro* studies and topical effects in a double-blind placebo-controlled clinical trial. Journal of Cosmetic Dermatology, 2020.
- Katekawa, Edson; Caverzan, Jeanifer; Mussi, Lilian; Camargo Junior, Flavio B.; Sufi, Bianca; **Padovani, Giovana**; Nazato, Lucas; Nogueira, Cecilia; Magalhães, Wagner V.; Di Stasi, Luiz C.. Novel topical skin hydration agent containing *Anadenanthera colubrine* polysaccharide-standardized herbal preparation. Journal of Cosmetic Dermatology, 2019.

Sugestões de adequações do trabalho propostos pela banca examinadora da Qualificação

Com objetivo de melhorar ainda mais o manuscrito, seguem abaixo as sugestões discutidas no exame de qualificação, para a avaliação da aluna juntamente com o seu orientador.

1) Avaliadora: Dra. Ana Elisa Valencise Quaglio

- a) Incluir como objetivo do trabalho a utilização do modelo de análise utilizado no trabalho, como ferramenta para a realização de estudos pré-clínicos, para avaliação do potencial sinérgico ou antagônico de ativos cosméticos.
- b) Trocar o termo associação para sinergismo nos objetivos.
- c) Incluir no texto a informação de como as concentrações dos diferentes ativos avaliados foram definidas.
- d) Deixar mais claro, na discussão, quais associações apresentaram efeito sinérgico e enfatizar esse resultado.
- e) Deixar nas conclusões, apenas as combinações que realmente apresentaram efeito sinérgico. No caso do CMZ foram dois ativos e no caso do MLA apenas um.

2) Avaliador: Dr. Flavio Bueno de Camargo Junior

- a) Incluir informações relacionadas a discussão dos resultados da eficácia antienvelhecimento do ativo CMZ em comparação com os ativos referência isolados, conforme descrito nos objetivos do manuscrito.
- b) Incluir informações relacionadas a discussão dos resultados da eficácia despigmentante do ativo MLA em comparação com os ativos referência isolados, conforme descrito nos objetivos do manuscrito.
- c) Incluir como objetivo do trabalho a utilização do modelo de análise utilizado no trabalho, como ferramenta para a realização de estudos pré-clínicos, para avaliação do potencial sinérgico ou antagônico de ativos cosméticos.
- d) Incluir na descrição dos resultados e não nos anexos, exemplos das imagens do estudo de imunofluorescência de colágeno tipo 1 e imagens estudo de Fontana Masson para avaliação de melanina.

- e) Incluir a informação de como as concentrações dos diferentes ativos avaliados foram definidas.

3) Avaliador: Dr. Luiz Domingues de Almeida Junior

- a) O título do trabalho refere-se à avaliação de dois ativos vegetais (CMZ e MLA) associados a produtos comumente utilizados no mercado, porém, a referência aos ativos é na verdade relacionada a dois produtos comerciais que dentro do mercado cosmético são definidos pelo *INCI name*. Sugiro revisar a forma de se referir ao produto avaliado a fim de não dar a entender que se trata de substâncias isoladas, mas sim, de um produto contendo extratos padronizados e já disponibilizado no mercado.
- b) Sugiro deixar mais claro que o grupo controle basal se refere ao fragmento de pele apenas no meio de cultivo enquanto o placebo refere-se ao fragmento que recebeu o veículo base (creme não-iônico)

Adequações realizadas pela aluna:

As sugestões mencionadas pela banca foram de grande valia para o aprimoramento e melhor aproveitamento do trabalho, e foram acatadas em sua totalidade.