

Benefits of a dermocosmetic formulation with vitamins B3 and a B6 derivative combined with zinc-PCA for mild inflammatory acne and acne-prone skin

Benefícios de uma formulação dermocosmética com vitamina B3 e derivado de vitamina B6 combinados com zinc-PCA para acne inflamatória leve e pele propensa a acne

J. P. Andrade, T. A. L. Wagemaker, D. G. Mercurio, P. M. B. G. Maia Campos

University of São Paulo, Faculty of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, Brazil

Email: pmcampos@usp.br

Abstract

Acne is a chronic inflammatory disorder of the pilosebaceous follicles that affects 80% of the population. As topical agents for acneic skin treatment are often irritants, dermocosmetics, may improve therapy. Thus, we developed cosmetic formulations with nicotinamide (vitamin B3), pyridoxine tris-hexyldecanoate (a vitamin B6 derivative) and zinc- pyrrolidone carboxylic acid (PCA) in association, and evaluated their clinical efficacy, skin compatibility, and sensory properties. The formulation (vehicle) added with vitamin B3, the vitamin B6 derivative and zinc-PCA in combination was applied twice daily for six weeks on the forehead, malar and chin skin regions of sixteen subjects. Before (pre-treatment) and after treatment, these regions were evaluated using biophysical and skin imaging techniques. Inflammatory acne lesions were reduced by 60% after application of the complete formulation. Porphyrine reduction was shown in the majority of volunteers. The results shown an improvement of inflammatory acne lesions based on porphyrine reduction, lesion counts, skin compatibility and comedogenicity testing. The skin barrier function was not impaired by the experimental formulation, which demonstrates its efficacy in acne treatment without undesirable effects. The combination of Zn-PCA and vitamins B3 and B6 vehiculated in an adequate topical formulation can be considered as a safe and effective alternative treatment for mild inflammatory acneic skin.

Keywords: acne, zinc-PCA, vitamin B3, vitamin B6, dermocosmetic formulation, biophysical techniques, clinical study

Resumo

A acne é uma doença inflamatória crônica dos folículos pilosebáceos que afeta 80% da população. Como os agentes tópicos para o tratamento acneico da pele são muitas vezes irritantes, dermocosméticos, podem melhorar a terapia. Assim, desenvolvemos formulações cosméticas com nicotinamida (vitamina B3), tris-hexildecanoate de piridoxina (derivado vitamina B6) e zinc-PCA (zinco – ácido pyrrolidona carboxílico) em associação, e avaliamos eficácia clínica, compatibilidade com a pele e propriedades sensoriais desta. A formulação (veículo) adicionada a combinação de vitamina B3, derivado de vitamina B6 e zinc-PCA foi aplicada duas vezes por dia durante seis semanas nas regiões da testa, malar e queixo de dezesseis indivíduos. Antes (pré-tratamento) e após o tratamento, estas regiões foram avaliadas utilizando técnicas de biofísica e de análise de imagem da pele. As lesões inflamatórias da acne foram reduzidas em 60% após a aplicação da formulação completa. A redução de porfirina foi mostrada na maioria dos indivíduos. Os resultados mostraram uma melhora das lesões inflamatórias da acne com base na redução da porfirina, contagem de lesões, compatibilidade da pele e teste de comedogenicidade. A função barreira da pele não foi prejudicada pela formulação experimental que demonstra sua eficácia no tratamento da acne sem efeitos indesejáveis. A combinação de Zn-PCA e vitaminas B3 e B6 veiculadas em uma formulação tópica adequada pode ser considerada como um tratamento alternativo seguro e efetivo para a pele acneosa inflamatória leve.

Palavras-Chave: acne, zinc-PCA, vitamina B3, vitamina B6, formulação dermocosmética, técnicas de biofísica.

Introduction

Acne has a multifactorial etiology that includes hormonal function, follicular hyperkeratinization, increased sebum production, proliferation of *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*), and various cascades of inflammation¹. However, some topical acne treatments have undesirable effects. They can cause irritative dermatitis which may lead to a low compliance.

Dermocosmetic products contribute to antiacne treatment by providing hygiene products and mitigating the undesirable effects caused by some medications as dryness and irritation. These products can also have therapeutic benefits on inflammation, sebum production, hyperkeratinization and even antibacterial action, either as a single treatment or as adjuvant².

Our research group has been studying some effective active ingredients for acneic skin^{3, 4, 5}. Zinc has been extensively used both topically and systemically for the management of acne vulgaris⁶. Niacinamide (synonyms: nicotinamide, nicotinic acid amide, 3-pyridinecarboxamide, vitamin B3) is part of the vitamin B group⁷. It has antimicrobial, anti-inflammatory and sebostatic effects, affects ceramide synthesis, and inhibits melanosome transfer. This liposoluble vitamin B6 derivative is a novel active ingredient that can maintain the skin homeostasis, mainly when in combination with Zn-PCA⁵. The combination of the active ingredients may have multiple benefits for acne treatment such as: normalization of follicular desquamation, prevention of new microcomedones and reduction of comedones and mild inflammatory lesions. Moreover, a topical vehicle formulation with good cosmetic sensory properties can increase compliance to the treatment and avoid common problems such as skin irritation, erythema and desquamation. Therefore, these active ingredients were used to develop a suitable formulation for acneic skin in terms of stability, compatibility, and patient or consumer acceptability.

Thus, the aim of this study was to develop and evaluate the sensorial characteristics and the clinical efficacy of a cream gel formulation with vitamin B3, a vitamin B6 derivative and zinc-PCA in combination for acne skin treatment.

Material and methods

Formulations

The experimental formulations contained Xanthan Gum (Keltrol[®], CP Kelco), Tribehenin Esters PEG-20 (Emulium[®]22, Gatefossé), Propylene Glycol (Mapric),

Introdução

A acne possui uma etiologia multifatorial que inclui função hormonal, hiperqueratinização folicular, aumento da produção de sebo, proliferação de *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) e várias cascatas de inflamação¹.

No entanto, alguns tratamentos tópicos para acne apresentam efeitos indesejados. Estes podem causar dermatites irritativas que podem levar a uma baixa adesão.

Dermocosméticos são adjuvantes no tratamento da acne e ajudam a controlar a pele propensa à acne, fornecendo produtos de higiene e mitigando os efeitos indesejáveis causados por alguns medicamentos como a secura e a irritação. Esses produtos também podem ter benefícios terapêuticos sobre inflamação, produção de sebo, hiperqueratinização e até mesmo ação antibacteriana, seja como um único tratamento ou como adjuvante².

Nosso grupo de estudos^{3, 4, 5} está a estudar alguns ingredientes eficazes para a pele acneica^{3, 4, 5}. O zinco tem sido amplamente utilizado tanto tópica como sistemicamente para o manejo da acne vulgar⁶. A Niacinamida (sinónimos: nicotinamida, amida de ácido nicotínico, 3-piridinacarboxamida, vitamina B3) é parte do grupo de vitamina B⁷. Esta apresenta efeitos antimicrobianos, antiinflamatórios e sebostáticos, afeta a síntese de ceramida e inibe a transferência do melanossomo. O derivado lipossolúvel da vitamina B6 é um novo ingrediente ativo que pode manter a homeostase da pele, principalmente quando em combinação com Zn-PCA⁵.

A combinação dos ingredientes ativos pode ter múltiplos benefícios para o tratamento da acne, tais como: normalização da desquamação folicular, prevenção de novos microcomedões, redução de comedonas e lesões inflamatórias moderadas. Além disso, uma formulação de veículo tópico com boas propriedades sensoriais cosméticas pode aumentar a adesão ao tratamento e evitar problemas comuns como irritação da pele, eritema e desquamação.

Desse modo, o objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar as características sensoriais e a eficácia clínica no tratamento da acne de uma formulação cosmética em creme gel com uma combinação de vitamina B3, um derivado de vitamina B6 e PCA de zinco.

Material e Métodos

Formulações

As formulações experimentais continham Xanthan Gum (Keltrol[®], CP Kelco), Tribehenin Esters PEG-20 (Emulium[®]22, Gatefossé), Propylene Glycol (Mapric),

Butylene Glycol (Mapric), Octyldodecyl Myristate (MOD[®], Gatefossé), PEG - 10 Sorbitan (Tween[®] 20, Mapric), Cyclopentasiloxane (DC[®] 245, Dow Corning), Polypropylene Wax (, Butylated hydroxytoluene (BHT, Mapric), Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben and Butylparaben, (Chemynol[®], Chemyunion). The formulation was added or not (vehicle) with the active ingredients 1% zinc PCA (Ajidew[®] ZN 100, Ajinomoto), 4% vitamin B3 (Niacinamide PC[®], DSM), and 3% pyridoxine tris-hexyldecanoate (VB6IP[®], Nikko Chemicals).

Preliminary stability tests

The vehicle and the formulation containing zinc-PCA and vitamins were submitted to preliminary stability tests by centrifugation (Excelsa Baby II, 206-R, Fanem), pH determination (DM 20, Digimed), and visual evaluation of the organoleptic characteristics for 28 days.

Subjects

All participants signed the consent form after approval by the University of São Paulo Ethical Committee (CEP/FCFRP 248), and the study protocol was conducted according to the principles of Declaration of Helsinki.

Three different groups of female subjects were enrolled: Group 1. Fifteen subjects 18 – 30 years with untreated mild acne according to Pochi et al. classification⁸ were enrolled for the clinical efficacy assessment of the formulation containing the active ingredients;

Group 2. Thirty subjects 18- 40 years were enrolled for the skin compatibility and comedogenicity tests; and

Group 3. Twenty-one subjects were 18 – 30 years enrolled for the sensory evaluation.

The exclusion criteria were presence of any dermatitis and/or other skin diseases, smoking, and previous treatment of the skin of the face with cosmetic formulations such as moisturizers, sunscreens, or anti-ageing cosmetics 12 hours before treatment measurements and during all the period of study. The participants were instructed not to use any facial skin care products 12 hours before and during the study.

Study design

The subjects from Group 1 received portions of 1.0 mL of a topical cream gel formulation containing zinc PCA, niacinamide (vitamin B3) and pyridoxine tris-hexyldecanoate (the vitamin B6 derivative) or vehicle. They were instructed to use the test formulation on entire face twice a day for 6 weeks.

Butylene Glycol (Mapric), Octyldodecyl Myristate (MOD[®], Gatefossé), PEG - 10 Sorbitan (Tween[®] 20, Mapric), Cyclopentasiloxane (DC[®] 245, Dow Corning), Polypropylene Wax (, Butylated hydroxytoluene (BHT, Mapric), Phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben and Butylparaben, (Chemynol[®], Chemyunion). As formulações foram adicionadas ou não (veículo) com os ingredientes ativos 1% de zinc PCA (Ajidew[®] ZN 100, Ajinomoto), 4% de vitamina B3 (Niacinamide PC[®], DSM) and, 3% de derivado lipossolúvel de vitamina B6 (Pyridoxine Tris-Hexyldecanoate, VB6IP[®], Nikko Chemicals).

Testes preliminares de estabilidade

O veículo e a formulação contendo zinc-PCA e vitaminas foram submetidos a testes de estabilidade preliminares por centrifugação (Excelsa Baby II, 206-R, Fanem), determinação do pH (DM 20, Digimed) e avaliação visual das características organolépticas por 28 dias.

Participantes

Todos os participantes assinaram o formulário de consentimento após aprovação pelo Comitê de Ética da Universidade de São Paulo (CEP / FCFRP 248) e o protocolo do estudo foi conduzido de acordo com os princípios da Declaração de Helsinque.

Três grupos diferentes de mulheres, com idade entre 18 a 30 anos, participaram do estudo:

Grupo 1. Quinze indivíduos com acne leve não tratada de acordo com classificação de Pochi et al.⁸ participaram da avaliação de eficácia clínica da formulação contendo os ingredientes ativos;

Grupo 2. Trinta participaram dos testes de compatibilidade com a pele e de comedogenicidade.

Grupo 3. Vinte e um participaram da avaliação sensorial.

O critério de exclusão foi a presença de qualquer dermatite e/ou outras doenças da pele e fumantes e tratamento prévio da pele do rosto com formulações cosméticas tais como hidratantes, protetores solares ou cosméticos antienvhecimento 12 horas de medições de pré-tratamento e durante todo o período de estudo.

Desenho do estudo

As participantes do grupo 1 receberam porções de 1,0 mL de uma formulação de creme gel tópico contendo zinc-PCA, Niacinamida (vitamina B3) e Tris-Hexyldecanoate de piridoxina (derivado de vitamina B6) ou veículo. Elas foram orientadas a usar a formulação teste em rosto inteiro duas vezes ao dia, durante 6 semanas. As participantes do grupo 2 usaram a formulação veí-

The subjects from Group 2 used the vehicle formulation once a day on the face for 28 days. Afterwards the comedones and inflammatory acne lesions were counted for the comedogenicity test. The presence of irritation was also evaluated for the skin compatibility test. The subjects from Group 3 were instructed to not use moisturizers, body lotions, soap or other occlusive cosmetic preparations on the tested area for 12 hours prior to the test. An amount of 50 µL of the test formulation was applied with one finger, in 20 rubs, on a delimited area of 5 cm² in the internal side of the forearm. During the application the subjects were asked to evaluate the oiliness, stickiness, smoothness, ease of spreadability and speed of absorbance. Five minutes after application, oily residue, skin softness, and skin moisture were evaluated. The subjects were instructed to mark only the parameters that they considered appropriate to describe a formulation⁹.

Efficacy assessments

Prior to all measurements, pre-treatment and after 6 weeks, the subjects of study were left in a controlled room for at least 30 minutes in order to allow full skin's adaptation to room temperature ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) and humidity (45–60%). Biophysical and skin imaging techniques were used for analysis of the skin conditions before (pre-treatment measurements) and after 6 weeks of daily application of the formulations on the face.

Instrumentation

The stratum corneum water content was determined by a skin capacitance method (Corneometer CM 825, Courage & Khazaka, Germany). The averaged values of five measurements were used for subsequent calculations¹⁰. Transepidermal water loss (TEWL) was determined by an evaporimeter (Tewameter TM3000, Courage & Khazaka, Germany) and the values registered were expressed as $\text{gm}^2 \text{h}^{-1}$.

Porphyrin measurements were performed using fluorescent analysis (Visiopor® PP34, Courage & Khazaka, Germany). The equipment correlates the *P. acnes* density and the presence of porphyrines, which is determined by an orange-red fluorescence in follicles observed by using an appropriate ultraviolet-A light.

Skin imaging techniques (Visioface®, Courage & Khazaka, Germany) used to evaluate papules, pustules and excoriated lesions¹⁰ before and after 6 weeks of applications of the formulation containing the combination of vitamin B3, the vitamin B6 derivative and zinc-PCA.

culo uma vez ao dia no rosto, durante 28 dias. Depois, os comedões e lesões inflamatórias da acne foram contados para o teste de comedogenicidade. A presença de irritação também foi avaliada para o teste de compatibilidade cutânea.

As participantes do grupo 3 foram instruídas a não usar hidratantes, loções para o corpo, sabão ou outras preparações cosméticas oclusivas na área testada durante 12 h antes do teste. Uma quantidade de 50 µL da formulação teste foi aplicada com um dedo, em 20 esfregões, em uma área delimitada de 5 cm² na parte interna do antebraço. Durante a aplicação, os sujeitos foram solicitados a avaliar a oleosidade, a viscosidade, a suavidade, a facilidade de espalhamento e a rapidez da absorção. Cinco minutos após a aplicação, o resíduo oleoso, a suavidade da pele e a umidade da pele também foram avaliados. As participantes foram instruídas a marcar apenas os parâmetros que consideravam apropriados para descrever a formulação⁹.

Investigação de eficácia

Antes de todas as medidas, pré-tratamento e após 6 semanas, as participantes do estudo foram acomodadas em uma sala controlada com temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade (45-60%) por pelo menos 30 minutos para permitir a adaptação da pele completa. As técnicas biofísicas e de imagem da pele foram utilizadas para análise das condições da pele antes (medidas de pré-tratamento) e após 6 semanas de aplicação diária das formulações no rosto.

Instrumentação

O teor de água do estrato córneo foi determinado por um método de capacitância da pele (Corneómetro CM 825, Courage & Khazaka, Alemanha). Os valores médios de cinco medidas foram utilizados para os cálculos¹⁰. A perda de água transepidermica (PTEA) foi determinada por um evaporímetro (Tewameter TM3000, Courage & Khazaka, Alemanha) e os valores registrados foram expressos em $\text{gm}^2 \text{h}^{-1}$.

As medidas de porfirina foram realizadas utilizando-se análise fluorescente (Visiopor® PP34, Courage & Khazaka, Alemanha). O equipamento correlaciona a densidade de *P. acnes* e a presença de porfirinas, que é determinada por uma fluorescência laranja-vermelha em folículos observados usando uma luz ultravioleta-A apropriada.

Técnicas de imagem da pele (Visioface®, Courage & Khazaka, Alemanha) foram utilizadas para avaliar pápulas, pústulas e lesões excoriadas¹⁰ antes e após 6 semanas de aplicação da formulação contendo a combi-

Sebum content on the skin was measured using Sebumeter® (Courage & Khazaka, Germany)¹¹. Skin pH measured with a flat glass electrode (PH 900 PC skin pH meter; Courage & Khazaka, Germany). The test site was moistened with deionized water, and the flat head of the electrode was applied to the moist surface. The average of three measurements per site was used for calculations¹².

The efficacy perception was investigated by asking the subjects' opinion about efficacy after the use of the formulation with zinc-PCA and vitamins, during the 6 week period.

Statistical analysis

Non-parametric tests were selected for statistical analysis of the clinical efficacy tests experimental data points, as they showed non-Gaussian distribution. Wilcoxon test was used for comparison of measured data points using software OriginPro 8 (OriginLab® Corp.). For comedogenicity test, a parametric Student's T test was used.

Results

Centrifugation and preliminary stability tests

Organoleptic characteristics did not show any significant difference after 28 days under heat stress at 37°C and 45°C, with controlled humidity and photoperiod. Centrifugation of the experimental formulation did not produce phase separations. The pH measurements did not show significant changes, as it was maintained between 5.03 and 5.58. An ideal range for active ingredients and skin is between 4.6 and 5.8¹².

Clinical efficacy

Fluorescent spectroscopy analysis revealed significant reduction in fluorescence, suggesting control of the bacterial metabolite porphyrin after 6 weeks of use of the study formulation (Figures 1 and 2).

No significant differences were found in stratum corneum water content, transepidermal water loss and sebum (data not shown).

There was a significant decrease in the number of papules, pustules and excoriate lesions ($p < 0.05$) (Figure 3). Reductions were 60% on average (Figure 4).

nação de vitamina B3, derivado de vitamina B6 e zinc-PCA.

O conteúdo de sebo na pele foi medido usando Sebumeter® (Courage & Khazaka, Alemanha)¹¹. E o pH da pele medido com um eletrodo de vidro transparente (pH 900 pHP pH, Courage & Khazaka, Alemanha). O local de teste foi umedecido com água deionizada, e a cabeça do eletrodo foi aplicada na superfície úmida. A média de três medidas por área foi utilizada para cálculos¹². A percepção de eficácia foi investigada através da opinião as participantes sobre a eficácia após o uso da formulação com zinco-PCA e vitaminas, durante 6 semanas.

Análise estatística

Os testes não-paramétricos foram selecionados para análise estatística dos dados experimentais obtidos com os testes de eficácia clínica, pois mostraram distribuição não gaussiana. O teste de Wilcoxon foi utilizado para comparação dos dados medidos usando o software OriginPro 8 (OriginLab® Corp.). Para o teste de comedogenicidade, utilizou-se o teste T de Student.

Resultados

Testes de centrifugação e estabilidade preliminar

As características organolépticas não mostraram diferença significativa após 28 dias sob estresse de calor a 37 ° C e 45 ° C, com umidade e fotoperíodo controlados.

A centrifugação da formulação experimental não produziu separações de fase. As medidas de pH não mostraram alterações significativas, pois foram mantidas entre 5,03 e 5,58, considerando que uma gama ideal para ingredientes ativos e pele está entre 4,6 e 5,8¹².

Eficácia clínica

A análise da espectroscopia fluorescente revelou redução significativa na fluorescência, sugerindo o controle do metabólito bacteriano porfirina após 6 semanas de uso da formulação do estudo (Figuras 1 e 2).

Não foram encontradas diferenças significativas no teor de água do estrato córneo, perda de água transepidermica e sebo (dados não apresentados).

Houve uma diminuição significativa no número de pápulas, pústulas e lesões excoriadas ($p < 0,05$) (Figura 3). As reduções foram de 60% em média (Figura 4).

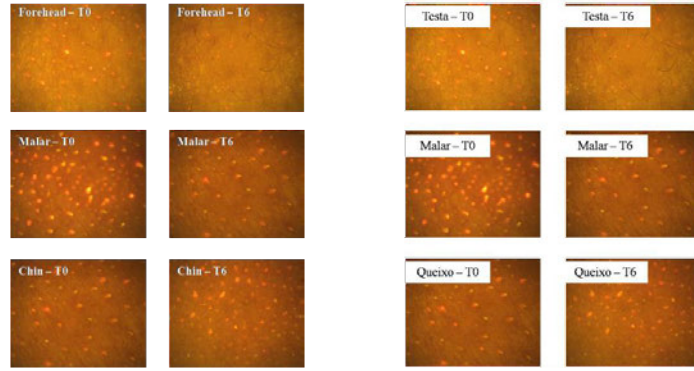


Figure 1/ Figura 1 - Porphyrine reduction on forehead skin (A), cheeks (B) and chin (C) after 6 weeks of treatment with the formulation containing vitamins B3, the B6 derivative, and zinc-PCA/ Porifina na pele da testa (A), bochechas (B) e queixo (C) após 6 semanas de tratamento com a formulação contendo vitamina B3 e derivado de vitamina B6 e zinc-PCA

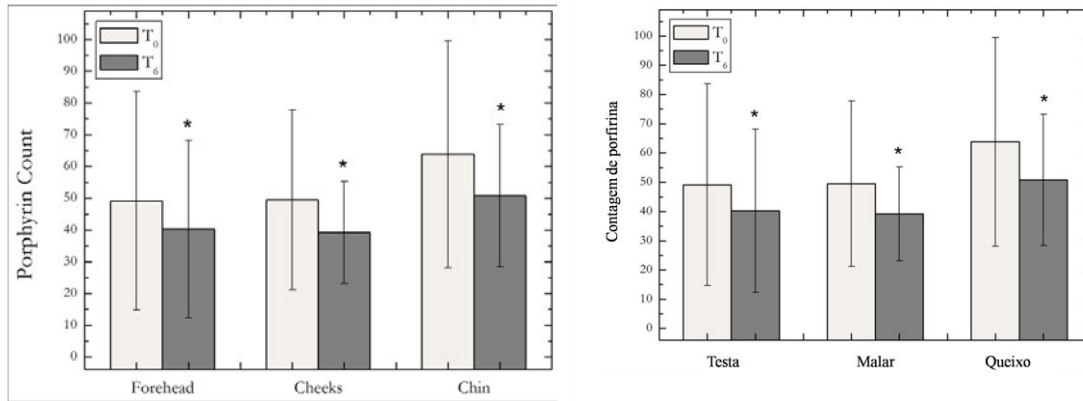


Figure 2/ Figura 2 - Porphyrin count before (T0) and after (T6) 6 weeks of treatment with the formulation containing vitamins B3, the B6 derivative, and zinc PCA in forehead, cheeks and chin. * Significantly lower compared to pre-treatment ($p < 0.05$) / Contagem de porfirina antes (T0) e após (T6) 6 semanas de tratamento com a formulação contendo vitamina B3 e derivado de vitamina B6 derivadas e Zinc-PCA na testa, bochechas e queixo. * Significativamente menor comparado ao pré-tratamento (T0) ($p < 0,05$)

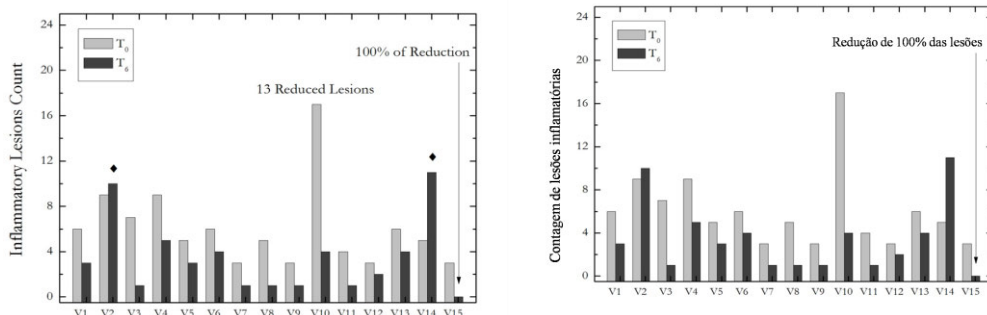


Figure 3/ Figura 3 - Inflammatory lesions count of each subject (V) before (T0) and after (T6) 6 weeks of treatment with the formulation containing vitamins B3, the B6 derivative, and zinc PCA. * Subjects that showed increase in inflammatory lesion count/ Contagem de lesões inflamatórias antes (T0) e após (T6) 6 semanas de tratamento com a formulação contendo vitamina B3 e derivado de vitamina B6 derivadas e zinc-PCA de cada participante (V). • Participantes que mostraram aumento da contagem de lesões inflamatórias



Figure 4/ Figura 4 – Example Reduction of skin inflammatory lesions (arrows) after 6 weeks use of the experimental formulation/ Redução das lesões inflamatórias da pele (setas) após 6 semanas de uso da formulação experimental

Perception of efficacy

All subjects related the improvement of the skin due to the reduction of oiliness and the inflammatory lesions.

Skin compatibility and comedogenicity test

The vehicle formulation showed very good skin compatibility and no comedogenicity.

Sensory analysis

The study formulation was considered as having easy spreadability by 90.44% of the subjects, rapid absorbance by 57.12% and smoothness by 57.12%. The skin sensation after 5 minutes of application were considered smoothed by 71.40% of the subjects and hydrated by 85.68%.

Discussion

A stable cream gel formulation was developed containing a unique combination for the control of acne and acne-prone skin. After 6 weeks of daily use, it was possible to observe a significant improvement on mild inflammatory acne.

The ideal vehicle for topical application products should be easy to apply and spread, nontoxic, non irritant, non-allergenic, physically and chemically stable, and cosmetically acceptable¹³. Thus, prior to clinical efficacy assessments, the vehicle formulation should be evaluated for skin compatibility and comedogenicity. In this study the vehicle was considered adequate in both tests. In a previous review, Walocko et al¹⁴. summarized the relevant literature on the role of vitamin B3 in acne vulgaris. They found that six of eight studies using topical nicotinamide led to a significant reduction in acne compared with the patient's baseline or performed similarly to another standard acne treatment. Zinc has been studied for its antibacterial and anti-inflammatory effects. It also decreased sebum production in clinical studies¹⁵.

Percepção de eficácia

Todas as participantes relataram a melhoria da pele devido à redução de oleosidade e lesões inflamatórias.

Teste de compatibilidade e comedogenicidade cutânea

A formulação do veículo mostrou uma compatibilidade com a pele muito boa e nenhuma comedogenicidade.

Análise sensorial

A formulação do estudo foi considerada como sendo fácil de espalhar por 90,44% das participantes, absorção rápida por 57,12% e suavidade por 57,12%. A sensação de pele após 5 minutos de aplicação foi considerada suave por 71.40% das participantes e hidratada por 85.68%.

Discussão

Uma formulação estável de creme gel foi desenvolvida contendo uma combinação única para controle de acne e pele propensa a acne. Após 6 semanas de uso, foi possível observar uma melhora significativa na acne inflamatória leve.

O veículo ideal para produtos de aplicação tópica deve ser fácil de aplicar e espalhar, não tóxico, não irritante, não alergênico, fisicamente e quimicamente estável e cosmeticamente aceitável¹³. Assim, antes das avaliações de eficácia clínica, a formulação do veículo deve ser investigada quanto à compatibilidade com a pele e comedogenicidade. Neste estudo, o veículo foi considerado adequado em ambos os testes.

Em sua revisão Walocko e colaboradores¹⁴ resumiram a literatura relevante do papel da vitamina B3 na acne. Eles encontraram que seis de cada oito estudos que usaram a nicotinamida topicamente levaram a uma redução da acne comparada com as medidas basais ou performance similar a outros tratamentos para a acne¹⁵. O zinco tem sido estudado por seus efeitos antibacteria-

The vitamin B6 derivative tested in this study promotes filaggrin synthesis to increase amino acid content in the skin. Clinical tests have also proven its beneficial effect on skin hydration¹⁶.

In recent studies carried out by our research group, topical application of the formulation with vitamin B3 reduced sebum content and porphyrins count³. In addition, a Zn-PCA based formulation also reduced sebum content. However, it increased transepidermal water loss (TEWL)⁴. On the other hand, the topical application of a formulation with this vitamin B6 derivative showed significant improvement of the skin barrier function. This formulation reduced TEWL in oily skin after 30 days of daily application⁵. Thus, considering that vitamin B3, Zn-PCA and the vitamin B6 derivative can act in different factors of acne and oily skin, the observed benefits of these active ingredients lead to the interest of a combination of them in a unique formulation. In this study, the use of vehicle in combination with the active ingredients Zn-PCA, vitamin B3, and a derivative of vitamin B6 significantly reduced the number of acne lesions. In addition, skin hydration and pH balance did not suffer any changes. Maintenance of the skin's acid mantle, barrier functionality, and moisture balance are considered necessary for the control of acne lesions. The inflammation is considered the major etiopathogenic factor in acne, even when it is subclinical. The *Propionibacterium acnes* colonization is particularly relevant as a trigger for inflammation. Porphyrin is one of the main metabolites of *P. acnes*. It can be determined when excited with the blue light to produce fluorescence in the red region of light spectrum¹⁵. The vitamins and zinc-PCA-based formulation reduced the porphyrin content, which highlights its benefit for *P. acnes* control.

Among topical preparations, a combination of several ingredients with synergistic effects is especially popular as they can benefit the skin in different ways. The efficacy and good tolerability of a combination of antioxidants as a dermocosmetic were demonstrated¹⁶. Other studies have found synergistic effects of vitamin and other active ingredients. The moisturizing properties of a formulation containing vitamins C and E were evaluated and an improvement in skin hydration and reduction of transepidermal water loss were observed¹⁷. Better sensory properties and skin hydration were found after 4 weeks use of a chamomile extract-based formulation as compared to the same formulation containing isolated apigenin¹⁸.

The cosmetic formulation developed in this study combines the anti-inflammatory and sebostatic effects of B3 vitamin, the antiseborreic activity of zinc, and the improvement in the percutaneous absorption and stimu-

nos e anti-inflamatórios. Ele também reduziu a produção de sebo em estudos clínicos¹⁶.

Em estudos recentes realizados por nosso grupo de pesquisa, a aplicação tópica da formulação com vitamina B3 reduziu o conteúdo de sebo e a contagem de porfirinas³. Além disso, uma formulação baseada em Zn-PCA também reduziu o conteúdo de sebo. No entanto, aumentou a perda de água transepidérmica (TEWL)⁴. Por outro lado, a aplicação tópica de uma formulação com derivado de vitamina B6 mostrou melhora significativa da função de barreira da pele. Esta formulação reduziu a TEWL na pele oleosa após 30 dias de aplicação diária⁵. Assim, considerando que a vitamina B3, o Zn-PCA e o derivado de vitamina B6 podem atuar em diferentes fatores de acne e pele oleosa, os benefícios observados desses princípios ativos levam ao interesse de uma combinação deles em uma formulação única.

No presente estudo, o uso do veículo em combinação com os ingredientes ativos Zn-PCA, vitamina B3 e um derivado da vitamina B6 reduziu significativamente o número de lesões de acne. Além disso, a hidratação da pele e o equilíbrio do pH não sofreram alterações. A manutenção do manto ácido da pele, a funcionalidade de barreira e o equilíbrio de umidade são considerados necessários para o controle de lesões de acne.

A inflamação é considerada o principal fator etiopatogênico na acne, mesmo quando é subclínico. A colonização de *Propionibacterium acnes* é particularmente relevante como um gatilho para a inflamação. A porfirina é um dos principais metabólitos de *P. acnes*. Esta pode ser determinada quando excitada com a luz azul para produzir fluorescência na região vermelha do espectro de luz¹⁵. As vitaminas e a formulação baseada em zinc-PCA reduziram o conteúdo de porfirina, o que destaca seu benefício para o controle de *P. acnes*.

Entre as preparações tópicas, uma combinação de vários ingredientes com efeitos sinérgicos é especialmente popular, pois podem beneficiar a pele de maneiras diferentes. A eficácia e boa tolerabilidade de uma combinação de antioxidantes como dermocosmético foram demonstradas¹⁶. Outros estudos tem mostrado os efeitos sinérgicos entre vitaminas e ingredientes ativos. As propriedades hidratantes de uma formulação contendo vitaminas C e E foram avaliadas e uma melhoria na hidratação da pele e redução da perda de água transepidérmica foram observadas¹⁷. Foram encontradas melhores propriedades sensoriais e hidratação da pele após 4 semanas de uso de uma formulação à base de extrato de camomila em comparação com a mesma formulação contendo apigenina isolada¹⁸.

A formulação cosmética desenvolvida neste estudo alia efeitos sebostáticos da vitamina B3, a atividade antiseborreica do zinco e a melhora da absorção percutânea

lation of natural moisturizing factor (NMF) synthesis in skin of the vitamin B6 derivative. Moreover, the formulation does not show undesirable effects, as are observed (or reported?) with other active ingredients commonly used to treat acneic skin.

In the cosmetic and dermocosmetic field, only a structured research approach can allow the development of new products that answer consumers' needs while integrating the latest technological discoveries¹⁹. Easy spreadability, rapid absorbance, and smoothness are very important sensorial characteristics that can determine the consumer's acceptance and treatment compliance.

In this study it was proposed a combination of active ingredients in a more suitable vehicle for mild inflammatory acne. The developed formulation was well accepted and the tested combination showed the improvement of acneic skin.

The dermocosmetic formulation developed in this study could be able to combine the anti-inflammatory and sebostatic effects of vitamin B3, the antimicrobial activity of zinc, and improvement in the percutaneous absorption and stimulation of natural moisturizing factor (NMF) synthesis in skin related to the vitamin B6 derivative. Moreover, the formulation did not show undesirable effects as do other active ingredients commonly used to treat acne and acne-prone skin.

Conclusion

Under the experimental conditions described, it was possible to conclude that the selected vehicle showed very good skin compatibility and no comedogenicity. In addition, the formulation containing vitamin B3, a vitamin B6 derivative, and zinc-PCA reduced the number of lesions of mild inflammatory acne without impairing the skin barrier. Thus, the combination of effective active ingredients in a single formulation seems to be a promising dermocosmetic product to be used as an adjuvant for the treatment of inflammatory acne as well as for acne-prone skin control.

Acknowledgments

The authors wish to thank Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) for financial support and for scholarship granted to Jirrah Pedro Andrade, and Dr. João Carlos Lopes Simão for the subjects' anamnesis.

e na estimulação do factor natural de umectação na pele pelo derivado de vitamina B6. Além disso, a formulação não mostrou nenhum efeito indesejável como outros ingredientes comumente utilizados para o tratamento da acne.

Na área de cosméticos e dermocosméticos, apenas uma abordagem de pesquisa estruturada pode permitir o desenvolvimento de novos produtos que atendam às necessidades dos consumidores, integrando as últimas descobertas tecnológicas¹⁹. A fácil espalhabilidade, a rápida absorção, e maciez são importante características sensoriais podem determinar a aceitação do consumidor e adesão ao tratamento.

Neste estudo, foi proposta uma combinação de ingrediente ativo em um veículo mais adequado para acne inflamatória leve. A formulação desenvolvida foi bem aceita e a combinação testada mostrou a melhora da pele acneica.

A formulação dermocosmética desenvolvida neste estudo foi capaz de combinar os efeitos anti-inflamatórios e seboestáticos da vitamina B3, a atividade antimicrobiana do zinco, a melhora na absorção percutânea e a estimulação da síntese do fator natural de hidratação (NMF) na pele relacionada à vitamina Derivado B6. Além disso, a formulação não mostrou efeitos indesejáveis como outros ingredientes ativos comumente usados para tratar a acne e a pele propensa a acne.

Conclusão

Sob as condições experimentais descritas, foi possível concluir que o veículo selecionado mostrou uma boa compatibilidade com a pele e sem comedogenicidade. Além disso, a formulação contendo vitamin B3, um derivado da vitamin B6, e zinc-PCA reduziu o número de lesões de acne inflamatória leve sem prejudicar a barreira da pele. Assim, a combinação de ingredientes ativos efetivos em uma única formulação parece ser um produto dermocosmético promissor a ser usado como um adjuvante para o tratamento da acne inflamatória, bem como para o controle da pele propensa a acne.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro e pela bolsa concedida a Jirrah Pedro Andrade e pelo Dr. João Carlos Lopes Simão pela anamnese das participantes.

Conflict of interest

The authors declare that there is no financial or personal relationship that can be understood as representing a potential conflict of interest.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não existe uma relação financeira ou pessoal que possa ser entendida como a representar um potencial conflito de interesse.

References/Referências

- [1] Eichenfield LF, Del Rosso JQ, Mancini AJ et al. Evolving perspectives on the etiology and pathogenesis of acne vulgaris. *J Drug Dermatol* 2015; 14:263-272.
- [2] Guerreiro D. Dermocosmetic approach to acne by the dermatologist. *Annales de dermatologie*. 2010; 37:29-32.
- [3] Gabarra MAL, Maia Campos PMBG. An effective formulation with vitamin B3 for oily skin. Ribeirão Preto, Brazil: 10th International Congress of Pharmaceutical Sciences; 2015.
- [4] Calixto LS, Maia Campos PMBG. Influence of the vehicle in the clinical efficacy of cosmetic formulations containing Zn-PCA to oily skin. Zurich, Switzerland: 23rd IFSCC Conference; 2015.
- [5] Melo MO, Calixto LS, Andrade JP et al. Eficácia clínica de formulações cosméticas contendo derivado de vitamina B6 na proteção da pele oleosa. São Paulo, Brazil: 27 Congresso Brasileiro de Cosmetologia; 2014.
- [6] Gupta M, Mahajan VK, Mehta KS et al. Zinc therapy in dermatology: a review. *Dermatol Res Pract* 2014; 709152:1-11.
- [7] Wohlrab J, Kreft D. Niacinamide – mechanisms of action and its topical use in dermatology. *Skin Pharm Physiol* 2014; 27:311-315.
- [8] Pochi, Peter E., et al. Report of the consensus conference on acne classification: *J Am Acad Dermatol* 1991; 24: 495-500.
- [9] Wagemaker TAL, Rosado C, Andrade JP. Evaluation of sensory properties of a cosmetic formulation containing green coffee oil. *Biomed Biopharm Res* 2013; 10(1):101-108.
- [10] Wagemaker TAL, Rijo P, Rodrigues LM. Integrated approach in the assessment of skin compatibility of cosmetic formulations with green coffee oil. *Int J Cosm Sci* 2015; 37:506-510.
- [11] Mercúrio DG, Wagemaker TAL, Maia Campos PMBG. Anacardium occidentale L. extract in cosmetic formulations: benefits for oily skin. *Biom Biopharm Res* 2017; 14(1):75-87.
- [12] Mercúrio DG, Segura JH, Demets MBA et al. Clinical scoring and instrumental analysis to evaluate skin types. *Clin Exp Dermatol* 2013; 38:302-309.
- [13] Surber C, Smith EW. The mystical effects of dermatological vehicles. *Dermatol* 2005; 210:157-168.
- [14] Walocko FM, Eber AE, Keri JE et al. The role of nicotinamide in acne treatment. *Dermatol Therapy* 2017; 30: e12481.
- [15] Seo I, Tseng SH, Cula GO et al. Fluorescence spectroscopy for endogenous porphyrins in human facial skin. *Photonic Therapeutics and Diagnostics V*, San Jose, CA, 2009.
- [16] Palmer DM, Kitchin JS. A double-blind, randomized, controlled clinical trial evaluating the efficacy and tolerance of a novel phenolic antioxidant skin care system containing *Coffea arabica* and concentrated fruit and vegetable extracts. *J Drug Dermatol* 2010; 9:1480-1487.
- [17] Capitani RD, Mercúrio DG, Camargo Júnior FB et al. Stability and clinical efficacy of moisturizing cosmetic formulations containing vitamins C and E. *Biomed Biopharm Res* 2012; 9(2):215-224.
- [18] Nóbrega AT, Wagemaker TAL, Maia Campos PMBG. Antioxidant activity of *Matricaria chamomilla* L. extract and clinical efficacy of cosmetic formulations containing this extract and its isolated compounds. *Biomed Biopharm Res*. 2012;10(2):249-261.
- [19] Magazù S. Cosmetics and pharmaceuticals: new trends in biophysical approaches. *Eur Biophys J* 2012;41:359-360.