



ABICH S.r.l.

Analisi Biologiche e Chimiche
Tossicologia, Ricerche e Servizi

Report Code: REL/0530/2015/CLI/SAB

Revision: 00

Page: 1 of 30

DOSSIER FINALE/ FINAL REPORT

**VALUTAZIONE IN VIVO DELL'EFFICACIA DEPIGMENTANTE DI UN
PRODOTTO COSMETICO SU 20 VOLONTARI
(TEST A LUNGO TERMINE)**

**IN VIVO EVALUATION OF THE DEPIGMENTING
EFFICACY OF A COSMETIC PRODUCT ON 20 VOLUNTEERS
(LONG TERM TEST)**

STUDIO N° / STUDY N°	KH751/15-01
COMMITTENTE / SPONSOR	LABORATOIRE DR PAUL ET KARIN HERZOG SA Route de Taillepied, 1 1095 Lutry - SWITZERLAND
CAMPIONE / SAMPLE	Vita-A-Kombi 3 Lotto/Batch: 031 0416
DATA RAPPORTO / REPORT DATE	19/03/2015
RELAZIONE N° / REPORT N°	REL/0530/2015/CLI/SAB

I risultati qui riportati si riferiscono esclusivamente al campione saggiato

Questo dossier non può essere riprodotto né in tutto né in parte, se non dietro espressa autorizzazione scritta del Centro di Saggio Abich

The results reported herein do exclusively refer to the tested sample

This report may not be reproduced, neither entirely nor in part except with an explicitly written authorization from the Study Center



ABICH S.r.l.

Analisi Biologiche e Chimiche
Tossicologia, Ricerche e Servizi

Report Code: REL/0530/2015/CLI/SAB
Revision: 00
Page: 2 of 30

Direttore dello studio / Study Director:

Dr. Samuele Burastero,

Medico specialista in allergologia e immunologia clinica, Ricercatore presso l' Istituto Scientifico Ospedale san Raffaele / *Medical Doctor, Board Certified Specialist in Allergy and Clinical immunology, Researcher at the Scientific Institute San Raffaele Hospital*

Indirizzo/Address: Istituto Scientifico Ospedale san Raffaele
Via Olgettina, 58
20132 – Milano (MI)
Italy

Assicurazione Qualità / Quality Assurance:

Roberta Cattaneo,

Indirizzo/Address: Abich S.r.l.-Clinical and Cosmetological Trials Center
Via Bruno Buozzi, 4
20090 - Vimodrone (MI) - Italy

Direttore del Centro Studi clinici / Clinical Study Center Director:

Dr. Stefano Todeschi,

Biologo e specialista in Patologia Clinica / *Biologist and Specialist in Clinical Pathology*

Indirizzo/Address: Abich S.r.l.-Clinical and Cosmetological Trials Center
Via Bruno Buozzi, 4
20090 - Vimodrone (MI) - Italy

Altre figure professionali coinvolte nello studio / Other professionals involved in the study:

Dr.ssa Giulia Caccia – Biologa / Biologist

Dr. Juri Masuri – Biotecnologo / Biotechnologist

Dr.ssa Erika Giudice – CTF



AUTENTICITA' DEI RISULTATI
AUTHENTICITY OF RESULTS

Dichiaro che lo studio oggetto del presente rapporto è stato condotto sotto la mia responsabilità, in accordo al protocollo sperimentale e al piano della qualità di Abich s.r.l..
Dichiaro inoltre che, dove applicabile, le procedure utilizzate sono in accordo con i principi delle GCP (Good Clinical Practice).

Tutte le osservazioni e i dati registrati durante questo studio sono stati inclusi nel presente dossier.

Certifico la rilettura di questo rapporto e confermo il mio consenso circa il suo contenuto.

I hereby declare that the study concerned by this report was carried out under my responsibility, according to the experimental protocol and the quality plan of Abich S.r.l. I also state that, where applicable, all procedures were compliant with the principles of Good Clinical Practice.

All relevant observations and data recorded during the test are reported in this study report. I certify the re-reading of this report and I do agree with its content.

Il Direttore dello studio / *The Study Director*

Dott. Samuele Burastero



**INDICE/ INDEX**

SOMMARIO/SUMMARY	5
SOSTANZA IN ESAME/ TEST SUBSTANCE	6
VOLONTARI (PANEL)/ PANEL RECRUITMENT	6
<i>Selezione dei soggetti/ Characteristics of the panel</i>	<i>6</i>
<i>Aspetti etici</i>	<i>7</i>
<i>Criteri di esclusione/ Exclusion criteria</i>	<i>8</i>
<i>Criteri di interruzione dello studio/ Criteria for study withdrawal</i>	<i>8</i>
CLAUSOLA DI ESONERO DI RESPONSABILITÀ/ DISCLAIMER	8
ASPETTI REGOLATORI/ REGULATORY ASPECTS	9
ARCHIVIAZIONE/ ARCHIVING	9
1. INTRODUZIONE/INTRODUCTION	10
2. DISEGNO SPERIMENTALE/ EXPERIMENTAL DESIGN	12
2.1 <i>Struttura dello studio/ Structure of the study</i>	<i>12</i>
2.2 <i>Obiettivi/ Aim of the study</i>	<i>12</i>
2.3 <i>Condizioni ambientali/ Environmental conditions</i>	<i>12</i>
2.4 <i>Aree cutanee valutate/ Evaluated skin areas</i>	<i>12</i>
2.5 <i>Modalità di applicazione/ Mode of application</i>	<i>12</i>
3. APPARECCHIATURE E MATERIALI/ INSTRUMENTATION AND MATERIALS	12
4. METODOLOGIA DEL SAGGIO/ ASSAY METHODOLOGY	13
4.1 <i>DURATA DEL TRATTAMENTO/ TREATMENT DURATION</i>	<i>13</i>
4.2 <i>PREPARAZIONE DEL VOLONTARIO/ VOLUNTEERS PREPARATION</i>	<i>13</i>
4.3 <i>MISURAZIONI/ MEASUREMENTS (END-POINT)</i>	<i>13</i>
5. ANALISI STATISTICA/ STATISTICAL ANALYSIS	15
6. RISULTATI/ RESULTS	16
7. RILEVAZIONI FOTOGRAFICHE/ PHOTOGRAPHIC	21
8. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI/ DISCUSSION AND CONCLUSIONS	23
BIBLIOGRAFIA/ REFERENCES	24
ALLEGATI/ ANNEXES	25



ABICH S.r.l.

Analisi Biologiche e Chimiche
Tossicologia, Ricerche e Servizi

Report Code: REL/0530/2015/CLI/SAB
Revision: 00
Page: 5 of 30

SOMMARIO/SUMMARY

Per incarico della Società **LABORATOIRE DR PAUL ET KARIN HERZOG SA**, sul prodotto in esame **Vita-A-Kombi 3 Lotto/Batch: 2883 (26/03/14)** è stato condotto un test *in vivo* per valutarne l'efficacia depigmentante, ovvero schiarente nei confronti di macchie cutanee causate da fenomeni di iperpigmentazione, mediante l'utilizzo di un analizzatore di colore tristimolo (*Minolta Chromameter CR-200*), strumento in grado di determinare il colore cutaneo, e di un Mexameter® MX18, strumento in grado di determinare il contenuto di melanina della cute.

On behalf of LABORATOIRE DR PAUL ET KARIN HERZOG SA, on the test substance Vita-A-Kombi 3 Lotto/Batch: 031 0416 an in vivo test was conducted in order to assess its depigmenting efficacy, ie its lightening efficacy against skin spots caused by phenomena of hyperpigmentation, by means of a tristimulus colour analyzer (Minolta Chromameter CR-200), instrument able to determine the skin colour, and a Mexameter® MX18, instrument able to determine the skin melanin content.

Per questo scopo il prodotto in esame, è stato applicato due volte al giorno per un periodo di 60 giorni da 20 volontari di sesso femminile ed età compresa tra i 35 e 65 anni che presentavano macchie cutanee dovute a fenomeni di ipermelanosi sul viso.

Il prodotto è stato applicato sul viso, in particolare nelle aree con la presenza di macchie cutanee, e le rilevazioni colorimetriche sono state effettuate a livello del viso sia sull'area cutanea selezionata interessata da fenomeni di iperpigmentazione sia su un'area cutanea "normale", senza presenza di iperpigmentazione, prima dell'inizio del trattamento (T0) e dopo 60 giorni (T60) di applicazione bi-quotidiana. Le aree analizzate ai diversi tempi di misura sono state il più possibile sovrapponibili.

Macro fotografie delle aree esaminate sono state effettuate ad ogni tempo di analisi.

Infine al termine dello studio i volontari hanno compilato un questionario relativo a una valutazione soggettiva della gradevolezza cosmetica del prodotto e alle sue caratteristiche organolettiche, alla percezione di efficacia e ad una valutazione generale di soddisfazione del prodotto testato.

For this purpose the product under examination, was applied twice a day for a period of 60 days by 20 female volunteers aged from 18 to 65 who had skin spots due to phenomena of hypermelanosis on the face. The product was applied on the face and colorimetric measurements were performed on the face both on the selected area of the skin that showed phenomena of hyperpigmentation both on a "normal" skin area, without the presence of hyperpigmentation before the first application (T0) and after 60 days (T60) of bi-daily application. The analyzed areas at the different measurement times were as much as possible super-imposable.

Macro-photographs of the examined areas have been made at each measurement time.

At the end of this period the participants to the study, filled in a questionnaire relative to a subjective evaluation of the cosmetic pleasantness, of the organoleptic characteristics, of the perception of efficacy and to a general satisfaction of the product.

La sperimentazione è stata eseguita presso il Centro di saggio Abich, in Via Buozzi, 4, 20090-Vimodrone (MI).

La sperimentazione è iniziata il giorno 22/12/2014 ed è terminata il giorno 13/03/2015.

The study was performed at the Abich Cosmetic Lab. in Via Bruno Buozzi, 4 – 20090 – Vimodrone (Milan), Italy.

The experimentation started the 22th December, 2014 and ended the 13th March, 2015.

**SOSTANZA IN ESAME/ TEST SUBSTANCE**

<u>Nome/Name:</u>	Vita-A-Kombi 3
<u>Lotto/Batch:</u>	031 0416
<u>Aspetto/Aspect:</u>	crema bianca/white cream
<u>Codice campione Abich:</u> <u>Abich sample code:</u>	7927/14-01
<u>Composizione INCI</u> <u>INCI Composition:</u>	vedi allegato / see annex
<u>Pao / data di scadenza</u> <u>Pao / expiration date:</u>	5M
<u>Condizioni di conservazione</u> <u>Storage conditions:</u>	temperatura ambiente / room temperature

La caratterizzazione della sostanza in esame è sotto la responsabilità del committente.

The characterization of the test substance is under responsibility of the Sponsor.

VOLONTARI (PANEL)/ PANEL RECRUITMENT**Selezione dei soggetti/ Characteristics of the panel**

Lo studio è stato effettuato su 20 volontari di sesso femminile ed età compresa tra i 35 e 65 anni, che sono stati identificati a partire dal database dei volontari del Centro di Saggio Abich.

Prima dell'inizio dello studio ciascun volontario ha letto e firmato un documento illustrativo circa le caratteristiche dello studio (consenso informato, C.I.). Al volontario è stato illustrato lo scopo dello studio e i possibili rischi correlati ad esso. Ogni volontario ha inoltre avuto l'opportunità di porre qualsiasi tipo di domanda riguardo lo studio alla quale è stata data risposta esaustiva.

Solo dopo la firma del consenso informato è stato concesso l'accesso allo studio. Solo soggetti in buone condizioni generali di salute sono stati inclusi nello studio.

Le copie originali di tali documenti sono archiviate presso il Centro di Saggio Abich. Tutti i partecipanti hanno contestualmente firmato un modulo che permette il trattamento dei dati personali, secondo la legge italiana sulla "privacy" (Testo unico sulla privacy. D.Lgs 196/2003).

The study was performed on 20 female volunteers aged from 18 to 65, who were identified from the database of volunteers of the Abich Test Centre, and who were evaluated as appropriate for participation in the study and not suffering from diseases to the skin areas to treat.

Before the beginning of the study each volunteer has read and signed an informative form (informed consent form, C.I.). Each volunteers has had the opportunity to ask any kind of questions regarding the study to which was given an exhaustive answer. The volunteer was explained the aim of the test, the procedure and the possible risks related.

Only after signature of the informed consent the participation in the study was permitted.

Only volunteers in good general health conditions were included in the study.



Volontari/Volunteer Panel

N°	CODICE/ CODE	SESSO/ SEX	ETA'/ AGE
1	CRIQUAT14	F	55
2	ROVA262	F	52
3	ELIV342	F	55
4	ANIR531	F	31
5	CLBE483	F	40
6	GEAC545	F	59
7	MADE135	F	60
8	MACA64	F	45
9	ROTE181	F	62
10	LOTU144	F	57
11	GEST178	F	63
12	MORE267	F	50
13	FRMA177	F	61
14	ROCA405	F	46
15	GIGR222	F	49
16	LUBEL22	F	56
17	ANPAN13	F	49
18	LALOM4	F	64
19	SAPO213	M	56
20	PAMU518	F	51

Aspetti etici

Per ottemperare ai requisiti etici imposti dagli studi su umani, sono stati applicati i seguenti criteri:

- I volontari sono stati selezionati secondo i criteri di inclusione ed esclusione;
- Tutti i volontari sono stati informati dello scopo e del tipo di studio, ed hanno firmato liberamente un consenso informato prima dell'inizio dello stesso;
- Prima che i volontari fossero esposti al prodotto, sono state richieste informazioni al Committente circa il profilo di sicurezza dello stesso (vedi clausola di responsabilità);
- Sono state prese tutte le precauzioni necessarie ad evitare eccessive reazioni cutanee o altri effetti negativi sulla salute del soggetto;
- Ogni volontario è stato invitato a comunicare l'eventuale decisione di interrompere la partecipazione allo studio con almeno 48 ore di anticipo.

In order to comply with the ethical requirements requested for studies on humans, the following criteria were applied:

- *The volunteers were selected according to defined inclusion and exclusion criteria;*
- *All volunteers were informed regarding the aim of the study and freely signed an informed consent prior to study start;*
- *Before any volunteer was exposed to the product, the customer was asked to provide a pertinent safety profile (see disclaimer);*
- *Each volunteer was invited to communicate an eventual decision to interrupt its participation in the study with at least 48 hours notice.*



Criteri di esclusione/Exclusion criteria

Sono stati applicati i seguenti criteri di esclusione:

- gravidanza o puerperio;
- terapia farmacologiche locali o sistemiche che possano influenzare la risposta cutanea;
- segni di irritazione al sito di applicazione;
- qualunque patologia in atto che potesse interferire con gli obiettivi del presente saggio;
- partecipazione simultanea ad altri studi che potrebbero interferire con la valutazione del test;

The following exclusion criteria were applied:

- *Women pregnancy or nursing condition;*
- *medication (local and/or systemic) which may affect skin response;*
- *signs of irritated skin on test site(s);*
- *any active skin disease which may interfere with the aim(s) of the present study;*
- *Participation in other simultaneous studies which that might interfere with the test evaluation or participation in a previous study without an appropriate rest period between studies.*

Criteri di Interruzione dello studio/ Criteria for study withdrawal

Dopo l'inizio dello studio, i seguenti criteri di interruzione sono stati applicati:

- volontari che non hanno seguito le condizioni illustrate nel documento informativo;
- volontari ai quali è subentrata una patologia di qualunque natura o che abbiano sviluppato delle condizioni che possano interferire con l'esito dello studio;
- volontari che hanno deciso di cessare la partecipazione allo studio.

After study start, the following withdrawal criteria were applied:

- *volunteers who did not follow the conditions as described in the Study Information Sheet;*
- *volunteers who suffered any illness or accident or developed any condition which could affect the outcome of the study;*
- *volunteers who did not longer wish to participate in the study.*

Per tutta la durata dello studio è stato chiesto ai volontari di astenersi dall'uso di altri prodotti ad azione simile sull'area in esame.

For all the duration of the study the volunteers were asked to refrain from using other products with similar action on the analyzed area.

DEVIAZIONI/DEVIATIONS

Lo studio non ha avuto deviazioni dal programma di studio.

No deviations occurred during the present study.

CLAUSOLA DI ESONERO DI RESPONSABILITÀ/ DISCLAIMER

In accordo con le linee guida COLIPA, il saggio è stato effettuato con l'assunzione che lo Sponsor, sotto la sua responsabilità, ha fornito al personale del Centro di saggio Abich informazioni veritiere su qualunque ingrediente del prodotto di potenziale rilievo tossicologico. Sulla base di tali informazioni sono stati preliminarmente e favorevolmente considerati sia il profilo tossicologico del prodotto che implicazioni etiche circa suo utilizzo nel presente saggio.

According to COLIPA guidelines, the test was performed with the assumption that the Sponsor under its responsibility provided to the personnel of Abich Cosmetic Lab. truthful information on any ingredient of the test product endowed with potential toxicological relevance.

On the basis of such information, a general assessment of the toxicological information concerning the product was preliminarily carried out and ethical implications as to its use during the present study have been considered.



ASPETTI REGOLATORI/ REGULATORY ASPECTS

Il test è stato condotto in accordo con i principi della dichiarazione di Helsinki (Principi etici per la ricerca medica che coinvolge soggetti umani, 64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2013) ed in accordo con le linee guida COLIPA per la valutazione dell'efficacia di prodotti cosmetici (maggio 2008).

This study has been carried out in compliance with the most recent recommendations of the World Medical Association Declaration of Helsinki- ethical principles for medical research involving human subjects (Helsinki Declaration 64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2013) and according to the Colipa Guidelines for the evaluation of the efficacy of cosmetic products.

ARCHIVIAZIONE/ ARCHIVING

Il protocollo dello studio clinico, i relativi dati grezzi e la relazione finale dello studio sono conservati presso il Centro di saggio Abich, in Via Buoizzi, 4, 20090-Vimodrone (MI) sia in forma informatica che in forma cartacea ridotta per un periodo di 10 anni.

I controcampioni e gli eventuali materiali di riferimento specifici sono tenuti per 3 mesi salvo diversa richiesta da parte del cliente.

The clinical study protocol, the corresponding raw data and the final report are kept in the archives of Abich Testing Centre, in Via Buoizzi, 4, 20090-Vimodrone (MI), both in electronic format and in reduced paper format for a period of 10 years from the issue of the final report. The control samples of the test substance and eventual specific reference material will be kept at last for 3 month, or more, if requested by the Sponsor.



1. INTRODUZIONE/INTRODUCTION

Le condizioni alla base dell'insorgenza di iperpigmentazione cutanea in aree localizzate, e dei relativi inestetismi, sono assai numerose e di patogenesi eterogenea. Una prima distinzione generale deve essere fatta tra iper-pigmentazioni dovute ad accumulo di melanina (o melanosì) e iper-pigmentazioni dovute ad accumulo di altri pigmenti o sostanze in grado di modificare il colore della pelle (ad esempio carotene nella ipervitaminosi A, o arsenico, piombo e ferro nelle rispettive intossicazioni). Consideriamo qui brevemente le iper-pigmentazioni da melanosì.

La quantità di melanina può essere influenzata sia dal numero che dall'attività melano-genetica dei melanociti (Simon et al., 2009). Nell'ambito delle melanosì si distinguono rare e clinicamente severe condizioni su base genetica, quali la dermatopatia pigmentosa reticolare, la discromia simmetrica ereditaria, la discromatosi ereditaria ed altre condizioni non geneticamente determinate, come il morbo di Addison. Tuttavia, le condizioni di gran lunga prevalenti, e meno severe (Stulberg et al., 2003), sono:

A) la cosiddetta "iperpigmentazione post-infiammatoria", alla cui insorgenza contribuiscono lesioni infiammatorie cutanee di varie natura e, tra queste, in modo di gran lunga prevalente, l'acne volgare (Taylor et al., 2009);

B) le iperpigmentazioni dovute all'esposizione a radiazioni solari.

Come noto, l'esposizione alle radiazioni solari determina nella maggior parte dei casi una iperpigmentazione omogenea. Tuttavia in soggetti predisposti può essere anche causa di macchie di iperpigmentazione, localizzata e disomogenea (discromie). In questo ambito, si distinguono le efelidi e le lentiggini. Le efelidi sono macchie multiple di colore tendente al rossastro o marrone chiaro, di dimensioni relativamente limitate (diametro 1-3 mm) che compaiono in aree esposte al sole dall'infanzia fino all'età adulta. Le efelidi non sono correlate a squilibri ormonali e la loro presenza aumenta per numero e livello di pigmentazione a seguito dell'esposizione a radiazioni solari. Le lentiggini propriamente dette sono macchie di colore tendenzialmente marrone scuro, a volte tendenti al nero, di dimensioni variabili ma più estese rispetto alle efelidi (diametro 2-20 mm) che aumentano in aree esposte alla luce. Sia le efelidi che le lentiggini insorgono in soggetti con una predisposizione genetica, e precisamente in presenza di un variante del recettore di tipo 1 per la melanocortina (MC1R) (Rouzaud et al., 2005).

Vanno ancora considerate tra le più comuni lesioni discromiche di natura benigna gli esiti delle reazioni foto-allergiche, caratterizzate da diffusa pigmentazione in aree precedentemente soggette ad esposizione solare contestualmente all'assunzione o all'applicazione locale di farmaci (ad esempio tetracicline) o di preparati erboristici o sostanze chimiche (per lo più di utilizzo cosmetico) ad effetto fotosensibilizzante (Kerr and Ferguson).

Un altro disturbo dell'iperpigmentazione non ben compreso è il melasma (Lee et al., 2006). Esso si presenta in genere come lesioni simmetriche sul viso, principalmente su soggetti di sesso femminile e carnagione scura durante la pubertà o più tardi. L'esposizione alla luce solare è probabilmente un fattore stimolante nello sviluppo di melasma, quando si verifica sul viso (area del corpo esposta al sole) e quando la condizione peggiora in estate. La maggior parte dei soggetti che presentano melasma ha una ipersensibilità alle radiazioni UV, cioè, mostra una minima dose eritematogena bassa, e anche esposizioni di breve durata alla luce solare possono stimolare l'iperpigmentazione. Esiste anche una componente ormonale, probabilmente legata al progesterone, quando episodi di melasma sono associati alla gravidanza e all'uso di contraccettivi ormonali. Le aree cutanee affette da melasma, presentano un eccesso di melanina sia nell'epidermide che nel derma superiore (associata a macrofagi extravascolari). Quando c'è solamente un leggero aumento del numero di melanociti, l'anormalità sembra essere in funzione delle cellule cutanee, in particolare c'è una maggiore espressione di un ormone stimolante gli α -melanociti nei cheratinociti e una sovraespressione del fattore delle cellule staminali nei fibroblasti e del loro recettore C-kit nei melanociti della cute coinvolta (Imokawa, 2004, 2006; Kang et al, 2006). A differenza dell'iperpigmentazione post infiammatoria, non vi è alcuna fase apparente infiammatoria coinvolta nel suo sviluppo. Inoltre, esiste una componente genetica che predispone gli individui al melasma, anche se la base genetica specifica per esso non è definita.



The basic conditions of the development of skin hyperpigmentation in localized areas with their relative aesthetic problems, are rather numerous and of heterogeneous pathogenesis. A first general distinction has to be made between hyper-pigmentation due to the accumulation of melanin (or melanosis) and hyper-pigmentation due to the accumulation of other pigments or substances able to modifying the color of the skin (for example carotenes in hypervitaminosis A, or arsenic, lead and iron in case of poisoning). We hereby briefly consider hyper-pigmentation due to melanosis.

The quantity of melanin may be influenced either by the number or by the melano-genetic activity of the melanocytes (Simon et al., 2009). In the context of melanosis some rare and clinically severe conditions with a genetic base can be distinguished, such as the reticular dermopathy pigmentosa, the hereditary symmetrical dyschromia, the hereditary dyschromatosis as well as other non-genetically determined situations, such as Addison's disease. However, the conditions that are by far prevalent and less severe (Stulberg et al., 2003), are:

*A) the so-called "post-inflammatory hyper-pigmentation" following skin inflammatory lesions of various nature and prevalently acne vulgaris (Taylor et al., 2009);
B) the hyper-pigmentation due to exposure of solar irradiations.*

Notably, exposure to solar radiations determines in the majority of the cases a homogeneous hyper-pigmentation. However in predisposed subjects this can also cause localized and non-homogenous hyper-pigmentation marks (dyschromia). In this context, it can be distinguished between ephelides and freckles. Ephelides are multiple marks of reddish or clear brownish color, sized 1-3 mm diameter, in areas physiologically exposed to the sun. Ephelides are not correlated to hormonal unbalances and their presence increases in number and level of pigmentation following solar irradiation.

Freckles are colour marks ranging from dark brown to black, with variable dimensions but more extended as compared to ephelides (2-10 mm diameter) and more frequent in areas exposed to light. Both ephelides and freckles develop in subjects with a genetic predisposition, namely in the presence of a variant of type 1 receptor for melanocortin (MCR1) (Rouzaud et al., 2005).

Among the more common dyschromatic lesions of benign nature are also to be considered the outcomes of photo-allergic reactions. The latter are characterized by diffused pigmentation in areas previously subject to solar exposure along with the absorption or local application of pharmaceuticals (for example tetracycline) or herbal preparations or chemical substances (mostly of cosmetic use) endowed with photosensitizing effect (Kerr and Ferguson).

Another hyperpigmentary disorder not well understood is the melasma (Lee et al., 2006). It occurs typically as symmetrical lesions on the face, primarily in darker skin type females at puberty or later in life. Sunlight exposure is probably a factor in the development of melasma, as it occurs on the face (a sun exposed body site) and as the condition worsens in the summer. Most melasma sufferers have a hypersensitivity to UV radiation, that is, they display a lower minimum erythematous dose, and even brief exposures to sunlight can stimulate hyperpigmentation. There is also a hormonal component, likely progesterone, as episodes of melasma are often associated with pregnancy and the use of hormonal birth control. In melasma lesions, there is excess melanin present in both the epidermis and upper dermis (associated with extravascular macrophages). As there is only a slight increase in number of melanocytes, the abnormality appears to be in function of the skin cells, in particular increased expression of α -melanocyte-stimulating hormone in keratinocytes and overexpression of stem cell factor in fibroblasts and its receptor C-kit in melanocytes of the involved skin (Imokawa, 2004, 2006; Kang et al., 2006). In contrast to PIH, there is no apparent inflammatory phase involved in its development. Additionally, there is more likely a genetic component that predisposes individuals to melasma, although the specific genetic basis for it is not defined.



2. DISEGNO SPERIMENTALE/ EXPERIMENTAL DESIGN

2.1 Struttura dello studio/ Structure of the study

Lo studio è stato effettuato con modalità osservazionale in aperto.

The study has been executed with an open observational design.

2.2 Obiettivi/ Aim of the study

Questo test *in vivo* a lungo termine permette di valutare strumentalmente la capacità del prodotto in esame di schiarire il colore delle macchie cutanee causate da iperpigmentazione, attraverso un metodo non invasivo che permette la valutazione oggettiva di variazioni anche minime del colore di superfici.

The described in vivo long-term test allows to evaluate instrumentally the capacity of the product under examination to brighten up the color of the skin spot due to hyper-pigmentation, through a non-invasive method that allows to objectively assess even small changes in color of surfaces.

2.3 Condizioni ambientali/ Environmental conditions

Lo studio è stato effettuato in condizioni ambientali standard, per ogni tempo di lettura, monitorando e mantenendo costanti la temperatura, l'umidità e l'illuminazione ambientali.

The study has been carried out in standard environmental conditions, for each measurement time point, by monitoring and maintaining constant the environmental temperature, humidity and ambiental lightening.

2.4 Aree cutanee valutate/ Evaluated skin areas

Le misurazioni sono state rilevate prima (T0) e dopo 60 (T60) giorni di applicazione bi-quotidiana del prodotto sia su un'area cutanea selezionata interessata da fenomeni di iperpigmentazione sia su un'area cutanea "normale", senza presenza di iperpigmentazione.

Measurements were performed before (T0) and after 60 (T60) days of bi-daily application of the product on a selected area of the face skin that showed phenomena of hyperpigmentation both on a "normal" skin area without the presence of hyperpigmentation.

2.5 Modalità di applicazione/ Mode of application

Il prodotto è stato applicato da ogni volontaria due volte al giorno sulle aree interessate da iperpigmentazione massaggiando fino a completo assorbimento.

The product was applied by each volunteers twice a day on the areas with hyper-pigmentation, massaging until completely absorbed.

3. APPARECCHIATURE E MATERIALI/ INSTRUMENTATION AND MATERIALS

Sono state utilizzate le seguenti apparecchiature e materiali:

- **Minolta Chromameter CR-200:** colorimetro tristimolo compatto per l'analisi del colore e della luminosità di superfici. Il colorimetro registra il colore in uno spazio colorimetrico espresso dalle coordinate $L^*a^*b^*$ (CIE 1976).
- **Mexameter® MX18 (Courage-Khazaka GmbH - Germany):** sonda inclusa nel sistema Multiprobe Adapter Systems MPA® per le misurazioni delle due componenti maggiormente responsabili del colore della pelle: melanina (M) ed emoglobina (eritema - E).
- **Termoigrometro ambientale (Courage-Khazaka GmbH - Germania).**
- **Canon EOS350D MACRO®:** macchina fotografica reflex digitale dotata di macro-obiettivo e flash anulare (Canon Italia, Milano).



The following instrumentation and materials were used:

- **Minolta Chromameter CR-200:** compact tristimulus color analyzer for measuring reflective color and surface. Colorimetry was expressed in $L^*a^*b^*$ (CIE 1976) values.
- **Mexameter® MX18** (Courage-Khazaka GmbH - Germany): probe included in the Multiprobe Adapter Systems MPA® for the instrumental measurement of the two components mainly responsible for the color of the skin: melanin (M) and hemoglobin (erythema -E).
- **Canon EOS350D MACRO®:** digital reflex camera equipped with macro objective (Canon Italia, Milano).
- **Environmental Thermohygrometer** (Courage-Khazaka GmbH - Germany).

4. METODOLOGIA DEL SAGGIO/ASSAY METHODOLOGY

4.1 Durata del trattamento/ Treatment duration

Il trattamento ha avuto una durata complessiva di 60 giorni consecutivi per ciascun soggetto.

The treatment has been carried out for 60 consecutive days for each subjects.

4.2 Preparazione del volontario/ Volunteers preparation

Prima di ogni rilevazione il volontario è stato fatto rilassare ca. 20 minuti in camera climatizzata per evitare campionamenti anomali dovuti a eccessiva sudorazione o stress.

Before each measurement each volunteer was allow to relax for approximately 20 minutes in an air-conditioned room to avoid anomalous sampling due to excessive sweating or stress.

4.3 Misurazioni/Measurements (End-point)

MISURAZIONI COLORIMETRICHE/COLORIMETRIC MEASUREMENTS

Il colorimetro è uno strumento che permette una valutazione precisa ed obiettiva del colore di superfici; i dati forniti dallo strumento in forma di coordinate di colore L^* , a^* , b^* vengono utilizzati per differenti studi inerenti al colore della pelle. Le tre coordinate appartengono a uno spazio tridimensionale designato $L^*a^*b^*$ del sistema CIELAB e rappresentano la luminosità del colore ($L^*=0$ indica nero $L^* = 100$ indica bianco diffuso), la sua posizione tra il rosso/magenta e verde (a^* , i valori negativi indicano verde, mentre valori positivi indicano magenta) e la sua posizione tra il giallo e il blu (b^* , i valori negativi indicano blu e i valori positivi indicano giallo).

Dai descrittori colorimetrici L^* , a^* , b^* si può ottenere il valore di ITA° (Individual Typology Angle), che esprime il livello di pigmentazione cutaneo o indice di melanina, che viene calcolato dai parametri L^* e b^* secondo la seguente formula:

The Chromameter is a tool that allows an accurate and objective assessment of color surfaces; data output in the form of the L^ , a^* and b^* color coordinate system are used for different studies pertaining to skin color. The three coordinates of **CIE 1976 (L^* , a^* , b^*) color space** (also called CIELAB color space) represent the color lightness ($L^* = 0$ yields black and $L^* = 100$ indicates diffuse white), its position between red/magenta and green (a^* , negative values indicate green while positive values indicate magenta) and its position between yellow and blue (b^* , negative values indicate blue and positive values indicate yellow).*

The ITA° value (Individual Typology Angle) can be obtained from the colorimetric descriptors L^ , a^* , b^* . This parameter indicates the skin pigmentation level or melanin index and it can be calculated from the parameters L^* and b^* according to the following formula:*

$$ITA^\circ = [\arctg((L^*-50)/b^*)] \times 180/3.1416$$



E' possibile correlare il valore di ITA° al colore della pelle; il valore di ITA° è inversamente proporzionale all'intensità di pigmentazione come rappresentato nella seguente tabella:

The correlation between the cutaneous phototype, the color of the skin, and the ITA° value is represented in the following table:

Fototipo/ Skin Phototype	Descrizione/ Description	Valore ITA°/ ITA° Value
I	MOLTO CHIARO/VERY LIGHT	>55°
II	CHIARO/LIGHT	>41 to 55°
III	MEDIO/INTERMEDIATE	>28 to 41°
IV	ABBRONZATO/TANNED (or MATT)	>10 to 28°
V	MARRONE/BROWN	>-30 to 10°
VI	NERO/BLACK	≤-30°

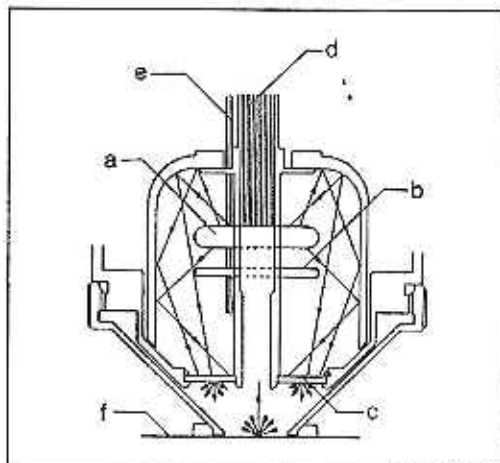
Il sistema ottico della testa misuratrice del modello CR-200 è mostrato nella Figura 1. La testa misuratrice utilizza un'illuminazione diffusa, con un angolo di visione di 0° (componente speculare inclusa) per la misurazione del colore di una grande varietà di superfici. La sorgente luminosa di luce pulsata a lampada allo xenon posta all'interno di una camera di miscelazione offre un'illuminazione diffusa, anche oltre la superficie di misurazione di 8 millimetri di diametro. Solo la luce riflessa perpendicolarmente alla superficie viene raccolta dal cavo in fibra ottica per l'analisi del colore.

Il valore di ITA° preso in considerazione nel presente studio è stato valutato a T0 (prima del trattamento), e dopo 60 giorni di applicazione del prodotto sulle aree del viso definite.

*The optical system of the measuring head for the CR-200 is shown in Figure 1. The measuring head uses diffuse illumination, 0° viewing angle geometry (specular component included) for color measurements of a wide variety of surfaces. A pulsed xenon arc (PXA) lamp inside a mixing chamber provides diffuse, even lighting over 8mm-diameter measuring area. Only the light reflected perpendicularly to the surface is collected by the optical-fiber cable for color analysis. **The ITA° values analyzed in the present study, have been evaluated at T0 (before the treatment), and after 60 days of product application on the defined face skin area.***

Figura 1/ Figure 1

CR-200



- a. Pulsed xenon arc lamp
- b. Baffle
- c. Diffuser plate
- d. Optical-fiber cable for measuring sample
- e. Optical-fiber cable for monitoring illumination
- f. Sample

**MISURAZIONI DEL CONTENUTO DI MELANINA/ MEASUREMENT OF THE MELANIN VALUE**

La misurazione del valore di melanina M tramite Mexameter® MX18 si basa sul principio dell'assorbimento della luce da parte della cute. La speciale sonda del Mexameter® MX18 (Figura 2) emette luce a tre diverse lunghezze d'onda ed un ricevitore misura la luce riflessa dalla pelle. La posizione della sorgente e del rilevatore assicura che solo la luce diffusa e riflessa venga misurata e poiché la quantità di luce emessa è nota, può essere calcolata per differenza la quantità assorbita dalla pelle.

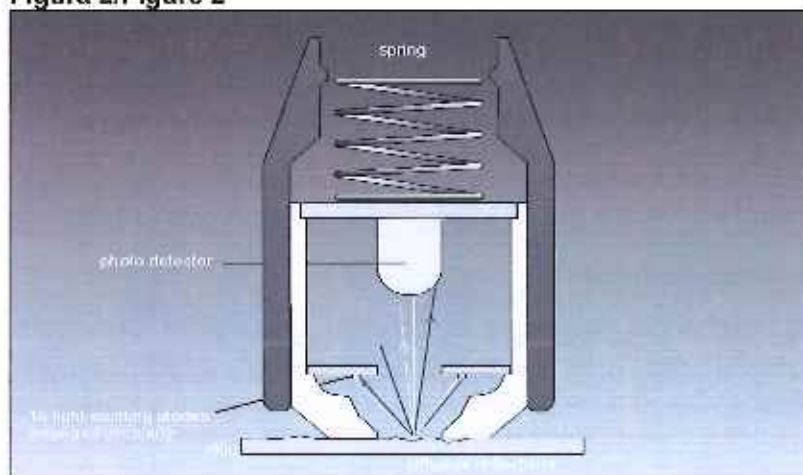
Per la misura della melanina sono utilizzate due differenti lunghezze d'onda scelte per poter acquisire i differenti gradi di assorbimento dei pigmenti melaninici.

I risultati ottenuti sono mostrati su un display digitale su una scala da 0 a 999 ed espressi con il parametro M (melanina). La sonda è molto sensibile se confrontata con l'osservazione visiva e mostra un'ampia scala di valori di melanina (0-999), il che consente di monitorare accuratamente anche lievissime variazioni di colore.

The measurement of the melanin value M through Mexameter® MX18 is based on the principle of light absorption/reflection by the skin. The special probe of the Mexameter® MX18 (Figure 2) emits light at three different wavelengths while a detector simultaneously measures the light reflected by the skin. The relative positions of the source and the detector ensures that only diffused and scattered light is measured. Since the quantity of emitted light is defined, the quantity of light absorbed by the skin can be calculated.

For the measurement of melanin two different wavelengths are used; these wavelengths are chosen in order to acquire the different adsorbment degrees of melaninic pigments.

The results of measurements are shown on a digital display on a scale from 0 to 999 and expressed with the parameter M (melanin). The probe is very sensitive as compared with visual observation and shows a wide scale of values of melanin (0-999), which allows to accurately monitor extremely little variations in the color of interest.

Figura 2/ Figure 2**5. ANALISI STATISTICA/STATISTICAL ANALYSIS**

I valori relativi ai parametri analizzati (ITA° ed M) ottenuti nelle misurazioni ai diversi tempi sperimentali sono stati confrontati con analisi intra-gruppo (T60 versus T0) mediante test di Student. Valori di $p < 0.05$ sono stati considerati significativi.

The values relative to analyzed parameters (ITA° and M) obtained during the measurements at the various experimental times were compared with intra-group analysis (T60 versus T0) using Student's t test. P values < 0.05 were considered significant



6. RISULTATI/RESULTS

Nelle condizioni sperimentali adottate, il prodotto in esame

In the adopted experimental conditions, the product under examination

Vita-A-Kombi 3 Lotto/Batch: 031 0416

si è dimostrato efficace nel ridurre le macchie cutanee a livello delle zone trattate dopo 60 giorni di trattamento.

demonstrated an efficacy to reduce the skin dark-spot at the level of the treated zone after 60 days of treatment.

In particolare il prodotto in esame, nei soggetti sottoposti allo studio, ha determinato un incremento del valore ITA° dell'area cutanea trattata interessata da iperpigmentazione di un valore medio pari a 11,18% dopo 60 giorni di applicazione bi-quotidiana del prodotto. La variazione è risultata statisticamente significativa.

L'aumento di questo parametro è indice di una riduzione della pigmentazione cutanea dell'area trattata.

Nell'area di controllo invece, è stata osservata una riduzione del valore ITA° rispettivamente di un valore medio pari a 1,65% dopo 60 giorni.

Tale variazione non è risultata statisticamente significativa.

La tabella 1 riporta i valori medi di ITA° ai diversi tempi sperimentali.

La tabella 2 riporta i valori medi di variazione % dello stesso parametro calcolati come media delle singole variazioni % di ogni volontario e i valori P del test di Student ai diversi tempi di osservazione. I valori medi di ITA° ai diversi tempi di analisi sono rappresentati graficamente nelle figure 3, 4 e 5.

In particular, the product under examination, on the subjects that undergone the test, has determine an increase of the ITA° value of the treated skin area which presented hyperpigmentation of a mean value equal to 11,18% after 60 days of bi-daily application. The variation resulted statistically significant.

The increase of this parameter indicates a reduction of the skin pigmentation of the treated area.

In the control area, it was observed a decrease of ITA° value of a mean value equal to 1,65% after 60 days.

The variation didn't result statistically significant.

Table 1 reports the mean values of ITA° at the different experimental times.

Table 2 reports the mean % variation values of the same parameter calculated as the mean of the single variations of each volunteer and p values of Student's test at the different experimental times. The mean ITA° values at each experimental time are moreover represented in form of graphs in the figures 3, 4 and 5.

Tabella 1/ Table 1

Valori medi di ITA° / Mean values of ITA°.

TIME	VALORI MEDI DI ITA°/ ITA° MEAN VALUES	
	Macchia cutanea/ Skin spot	Pelle normale*/ Normal skin*
T0	35,21	45,13
T60	38,69	45,87

*Pelle normale si riferisce a una zona del viso senza presenza di iperpigmentazione.

*Normal skin refers to an area of the face without skin spot.



Tabella 2/ Table 2

Variazioni % di ITA° e valori p/ Mean % variations of ITA° and p values.

TIME	Variazione % media/ mean % variations		Valori p/ p-value	
	Macchia cutanea/ Skin spot	Pelle normale/ Normal skin	Macchia cutanea/ Skin spot	Pelle normale/ Normal skin
T60 VS T0	11,18%	1,65%	p<0,0001*	0,0703

* Valori p riferito a variazioni statisticamente significative/ p values considered statistically significant.

Figura 3/ Figure 3

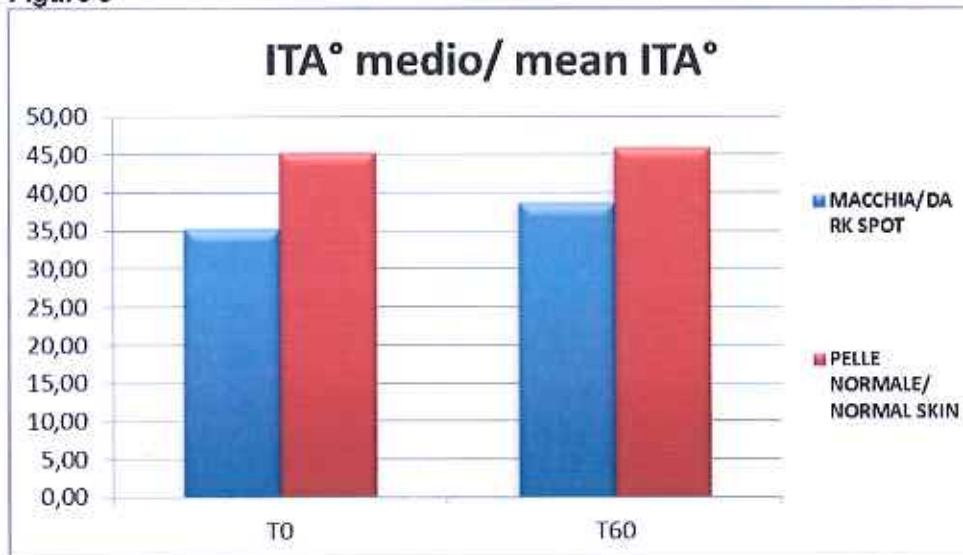
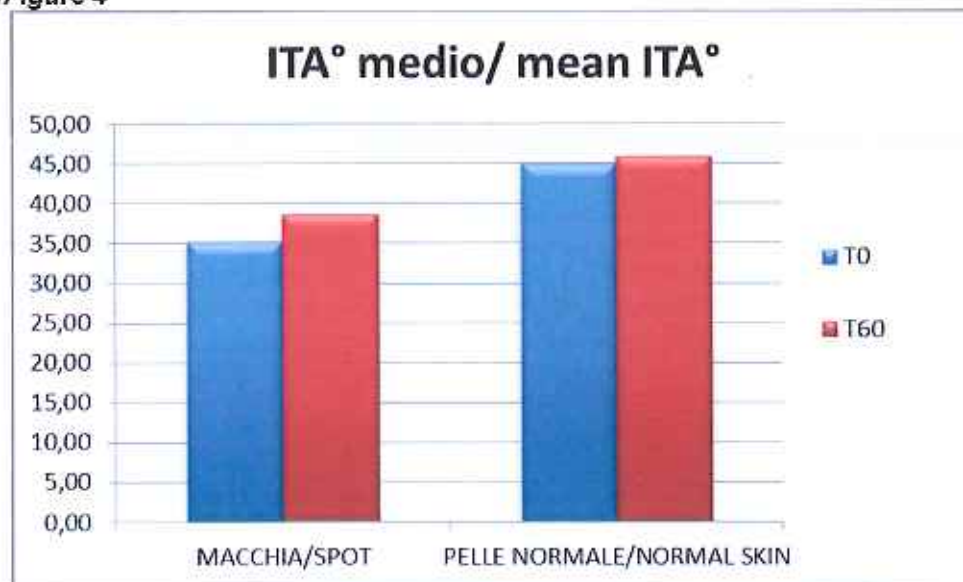
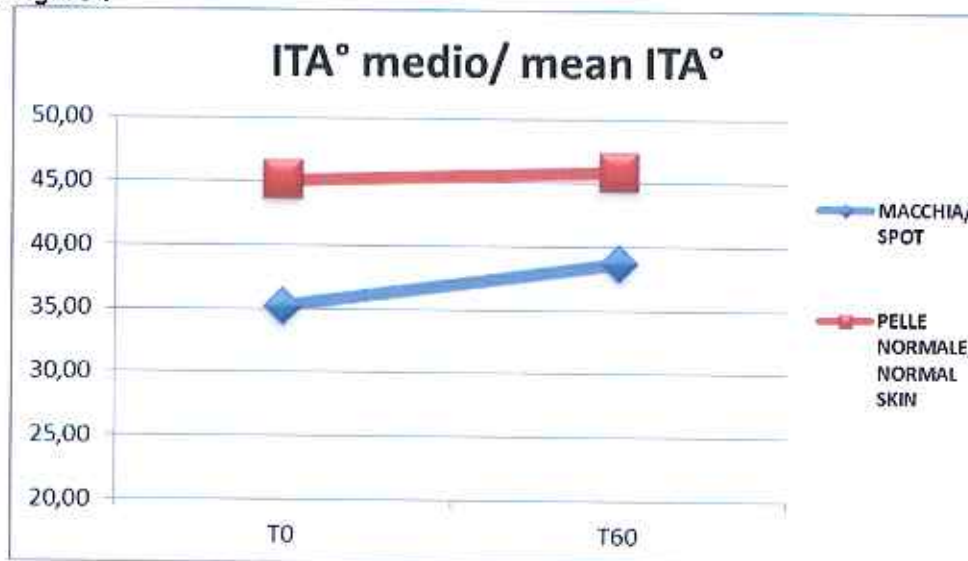


Figura 4/ Figure 4



**Figura 5/ Figure 5**

Inoltre il prodotto in esame, nei soggetti sottoposti allo studio, ha determinato una riduzione del contenuto di melanina dell'area cutanea trattata interessata da iperpigmentazione di un valore pari a 13.19% dopo 60 giorni di applicazione bi-quotidiana del prodotto. La variazione è risultata statisticamente significativa ($p < 0,05$).

Nell'area di controllo invece, è stato osservato un aumento del contenuto di melanina di un valore medio pari a 0.73% dopo 60 giorni (variazione non statisticamente significativa $p > 0,05$).

La tabella 3 riporta i valori medi di melanina ai diversi tempi sperimentali.

La tabella 4 riporta i valori medi di variazione % dello stesso parametro calcolati come media delle singole variazioni % di ogni volontario e i valori P del test di Student ai diversi tempi di osservazione. I valori medi del contenuto di melanina ai diversi tempi di analisi sono rappresentati graficamente nelle figure 6, 7 e 8.

Moreover, the product under examination, on the subjects that undergone the test, has determine a decrease of the melanin content value of the treated skin area which presented hyperpigmentation of a value equal to 13.19% after 60 days of bi-daily application. The variation resulted statistically significant.

In the control area, it was observed an increase of melanin content of a mean value equal to 0.73% after 60 days (not statistically significant variation $p > 0,05$).

Table 3 reports the mean values of melanin at the different experimental times.

Table 4 reports the mean % variation values of the same parameter calculated as the mean of the single variations of each volunteer and p values of Student's test at the different experimental times. The mean melanin content values at each experimental time are moreover represented in form of graphs in the figures 6, 7 and 8.

**Tabella 3/ Table 3**

Valori medi del contenuto di melanina (M) / Mean values of melanin content (M).

TIME	VALORI MEDI DI M/ M MEAN VALUES	
	Macchia cutanea/ Skin spot	Pelle normale*/ Normal skin*
T0	192,15	131,90
T60	166,80	132,86

*Pelle normale si riferisce a una zona del viso senza presenza di iperpigmentazione.

*Normal skin refers to an area of the face without skin spot.

Tabella 4/ Table 4

Variazioni % di melanina (M) e valori p/ Mean % variations of melanin (M) and p values.

TIME	Variazione % media/ mean % variations		Valori p/ p-value	
	Macchia cutanea/ Skin spot	Pelle normale/ Normal skin	Macchia cutanea/ Skin spot	Pelle normale/ Normal skin
T60 VS T0	-13,19%	0,73%	p<0,0001*	0,0623

* Valori p riferito a variazioni statisticamente significative/ p values considered statistically significant.

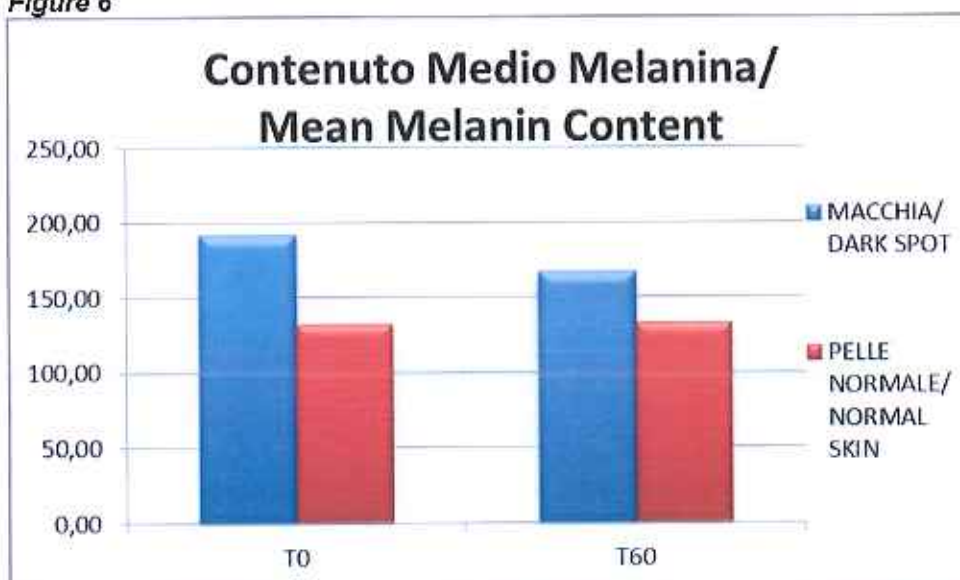
Figura 6/ Figure 6



Figura 7/ Figure 7

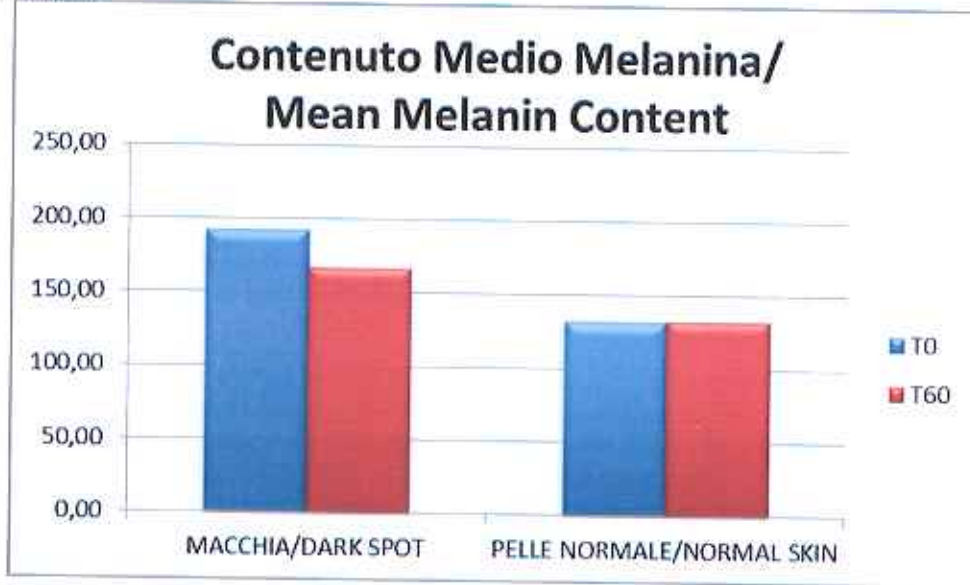
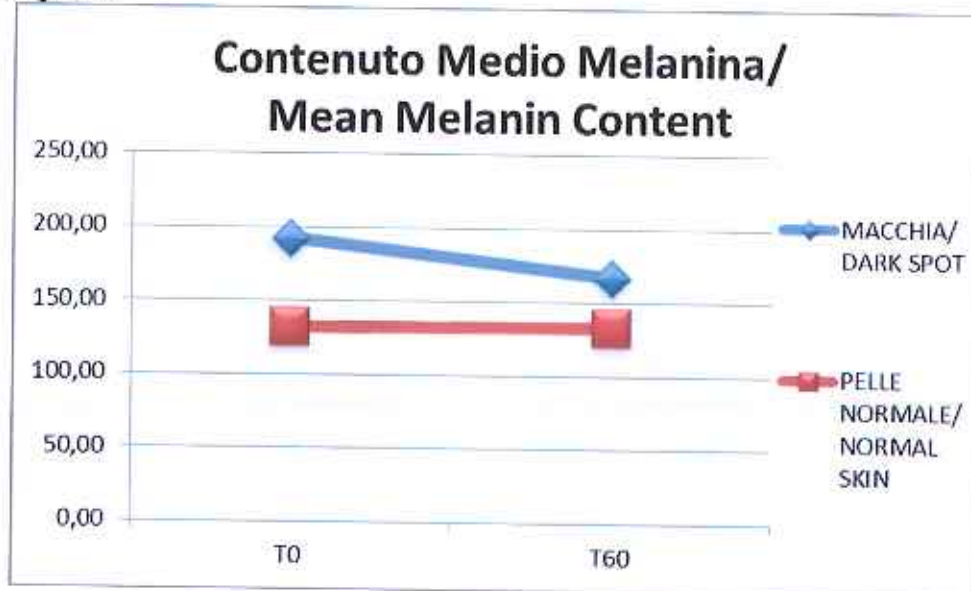


Figura 8/ Figure 8





ABICH S.r.l.

Analisi Biologiche e Chimiche
Tossicologia, Ricerche e Servizi

Report Code: REL/0530/2015/CLI/SAB
Revision: 00
Page: 21 of 30

7. RILEVAZIONI FOTOGRAFICHE/ PHOTOGRAPHIC

Immagini rappresentative degli effetti del prodotto sulle aree cutanee trattate.

Representative images of the product effect on the treated skin areas.

MACA64 T0



MACA64 T60



ANIR531 T0



ANIR531 T60





MADE135 T0



MADE135 T60





8. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI/ DISCUSSION AND CONCLUSIONS

Sulla base dei risultati ottenuti con la procedura sperimentale adottata, si può concludere che il prodotto in esame

On the basis of the results obtained with the adopted experimental procedure, it can be concluded that the test substance

Vita-A-Kombi 3 Lotto/Batch: 031 0416

si è dimostrato efficace nel ridurre la pigmentazione delle macchie cutanee a livello delle zone trattate dopo 60 giorni di trattamento.

demonstrated an efficacy to reduce the pigmentation of the skin dark-spot at the level of the treated zone after 60 days of treatment.

In particolare il prodotto in esame, nei soggetti sottoposti allo studio, ha determinato un incremento del valore ITA° dell'area cutanea trattata interessata da iperpigmentazione di un valore medio pari a 11,18% dopo 60 giorni di applicazione bi-quotidiana del prodotto. La variazione è risultata statisticamente significativa.

L'aumento di questo parametro è indice di una riduzione della pigmentazione cutanea dell'area trattata.

In particular, the product under examination, on the subjects that undergo the test, has determined an increase of the ITA° value of the treated skin area which presented hyperpigmentation of a mean value equal to 11.18% after 60 days of bi-daily application.

The variation was statistically significant.

The increase of this parameter indicates a reduction of the skin pigmentation of the treated area.

Inoltre il prodotto in esame, nei soggetti sottoposti allo studio, ha determinato una riduzione del contenuto di melanina dell'area cutanea trattata interessata da iperpigmentazione di un valore pari a 13,19% dopo 60 giorni di applicazione bi-quotidiana del prodotto. La variazione è risultata statisticamente significativa ($p < 0,05$).

Moreover, the product under examination, on the subjects that undergo the test, has determined a decrease of the melanin content value of the treated skin area which presented hyperpigmentation of a value equal to 13.19% after 60 days of bi-daily application. The variation was statistically significant ($p < 0,05$).



BIBLIOGRAFIA/ REFERENCES

"The evaluation of depigmenting efficacy in the skin for the development of new whitening agents in Korea" K. H. Son and M. Y. Heo

*Cosmetics Evaluation Division, Korea Food and Drug Administration, Osong Health Technology Administration Complex, 187 Osongsaengmyeong 2(i)-ro, Osong-eup, Cheongwon-gun Chungcheongbuk-do, 363-700, Korea and †College of Pharmacy, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

"Latest Insights into Skin Hyperpigmentation" Jean-Paul Ortonne¹ and Donald L. Bissett²

S. Dikstein, Instrumental Analysis in Individual Cosmetic Consultation, *Cosmetics & Toiletries*, Vol. 98, Nov. 1983.

S. Dikstein, The normal range of the skin's parameters, *Cosmetics & Toiletries*, Vol. 98, Nov. 1983.

Stanton A. Glantz, *Statistica per discipline Biomediche*, Quinta edizione, McGrawHill, 2003.

"Cosmetology – Theory and Practice" Volume I, Karlheinz Schrader, Andreas Domsch, 2005.

P. Elsner, H.F.Merk, H.I. Maibach. "COSMETICS Controlled Efficacy Studies and Regulation", Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1999.

http://www.iss.it/binary/coet/cont/D_Elsinki_ita.1130333765.pdf: testo della Dichiarazione di Helsinki, 1964-1975-1989-1996-2000-2008-2013.

Consensus documents Number 4.

OECD SERIES ON PRINCIPALES OF GLP AND COMPLIANCE MONITORING
"Quality assurance and GLP" 26 Oct. 1999.

Consensus documents Number 5.

OECD SERIES ON PRINCIPALES OF GLP AND COMPLIANCE MONITORING
"Compliance of laboratory suppliers with GLP principles" 30 Sept. 2000.

Consensus documents Number 7.

OECD SERIES ON PRINCIPALES OF GLP AND COMPLIANCE MONITORING
"The application of to GLP principles to short term studies" 15 Sept. 1999.

Consensus documents Number 8.

OECD SERIES ON PRINCIPALES OF GLP AND COMPLIANCE MONITORING
"The role and responsibility of the Study Director in the GLP studies" 15 Sept. 1999.



ABICH S.r.l.

Analisi Biologiche e Chimiche
Tossicologia, Ricerche e Servizi

Report Code: REL/0530/2015/CLI/SAB
Revision: 00
Page: 25 of 30

ALLEGATI/ANNEXES

ALLEGATO 1/ANNEX 1

INCI COMPOSITION:

Ingredients/Ingredientes:

Aqua, Petrolatum, Glyceril stearate,
Paraffinum liquidum, 3% Hydrogen
peroxide, Tocopheryl acetate,
Polysorbate 80, Stearyl alcohol, Cetyl
alcohol, Salicylic acid, Retinol.
Certi+, 14 rue Godefroy Cavaignac,
75011 Paris, France



ALLEGATO 2/ANNEX 2

Misurazioni di ITA° /ITA° measurement

Misurazioni del contenuto di melanina /Melanin content measurements

N°	COD VOL	T0		T60		% variations T60-T0	
		MACCHIA DARK SPOT	PELLE NORMALE NORMAL SKIN	MACCHIA DARK SPOT	PELLE NORMALE NORMAL SKIN	MACCHIA DARK SPOT	PELLE NORMALE NORMAL SKIN
1	CRIQUAT14	30,85	51,88	37,93	51,91	22,96%	0,06%
2	ROVA262	45,96	50,86	46,84	48,49	1,91%	-4,65%
3	ELIV342	26,89	43,97	33,01	45,62	22,77%	3,74%
4	ANIR531	37,94	43,48	38,57	45,30	1,67%	4,19%
5	CLBE483	53,10	51,22	58,23	50,94	9,66%	-0,53%
6	GEAC545	30,85	50,42	33,49	48,11	8,57%	-4,58%
7	MADE135	33,15	40,52	38,46	42,01	16,01%	3,70%
8	MACA64	27,78	44,39	35,31	45,00	27,10%	1,38%
9	ROTE181	38,88	49,12	39,44	48,81	1,45%	-0,64%
10	LOTU144	41,50	49,03	50,57	51,70	21,86%	5,44%
11	GEST178	52,04	51,90	52,49	53,38	0,86%	2,85%
12	MORE267	18,74	46,30	20,28	48,61	8,23%	5,00%
13	FRMA177	39,24	39,68	39,28	41,64	0,10%	4,92%
14	ROCA405	36,15	49,38	37,76	51,97	4,47%	5,23%
15	GIGR222	41,86	49,03	42,49	48,49	1,50%	-1,09%
16	LUBEL22	22,34	34,47	26,35	36,49	17,96%	5,86%
17	ANPAN13	16,29	30,25	19,73	32,49	21,07%	7,40%
18	LALOM4	29,98	48,12	34,70	45,02	15,77%	-6,44%
19	SAPO213	44,17	35,70	49,21	37,38	11,43%	4,70%
20	PAMU518	36,56	42,81	39,58	44,03	8,27%	2,85%
MEDIA/MEAN		35,21	45,13	38,89	45,87	11,18%	1,65%



Misurazioni del contenuto di melanina /Melanin content measurements

N°	COD VOL	T0		T60		% variations T60-T0	
		MACCHIA DARK SPOT	PELLE NORMALE NORMAL SKIN	MACCHIA DARK SPOT	PELLE NORMALE NORMAL SKIN	MACCHIA DARK SPOT	PELLE NORMALE NORMAL SKIN
1	CRIQUAT14	162,33	104,33	148,33	105,33	-8,62%	0,96%
2	ROVA262	126,33	115,00	125,27	113,00	-0,84%	-1,74%
3	ELIV342	176,67	101,67	144,67	103,16	-18,11%	1,47%
4	ANIR531	152,33	133,33	132,14	134,00	-13,25%	0,50%
5	CLBE483	89,33	81,00	78,00	80,00	-12,68%	-1,23%
6	GEAC545	223,33	109,00	170,00	107,00	-23,88%	-1,83%
7	MADE135	196,67	161,00	176,00	162,00	-10,51%	0,62%
8	MACA64	200,33	119,67	187,33	122,62	-6,49%	2,47%
9	ROTE181	156,00	101,33	148,00	104,00	-5,13%	2,63%
10	LOTU144	165,00	147,33	146,00	148,00	-11,52%	0,45%
11	GEST178	243,00	160,67	231,00	162,00	-4,94%	0,83%
12	MORE267	220,00	149,33	150,00	148,00	-31,82%	-0,89%
13	FRMA177	141,00	100,00	146,00	103,00	3,55%	3,00%
14	ROCA405	145,00	115,00	123,00	111,00	-15,17%	-3,48%
15	GIGR222	239,00	176,00	208,00	181,67	-12,97%	3,22%
16	LUBEL22	275,67	212,25	236,00	214,67	-14,39%	1,14%
17	ANPAN13	277,00	141,00	232,23	142,67	-16,16%	1,18%
18	LALOM4	193,00	123,00	189,33	125,00	-1,90%	1,63%
19	SAPO213	200,00	105,00	149,00	106,67	-25,50%	1,59%
20	PAMU518	261,00	182,00	215,67	183,33	-17,37%	0,73%
MEDIA/MEAN		192,15	131,90	166,80	132,86	-13,19%	0,73%



ALLEGATO 3/ANNEX3

Valutazione sensoriale/psicoreologica

I 20 volontari che hanno partecipato allo studio hanno risposto a un questionario finale relativo a una valutazione soggettiva del prodotto testato. Per la rappresentazione grafica delle risposte è stata calcolata la percentuale di volontari che hanno espresso lo stesso giudizio; le domande e le relative risposte sono rappresentate di seguito sottoforma di grafici.

Sensorial / psychorheological evaluation

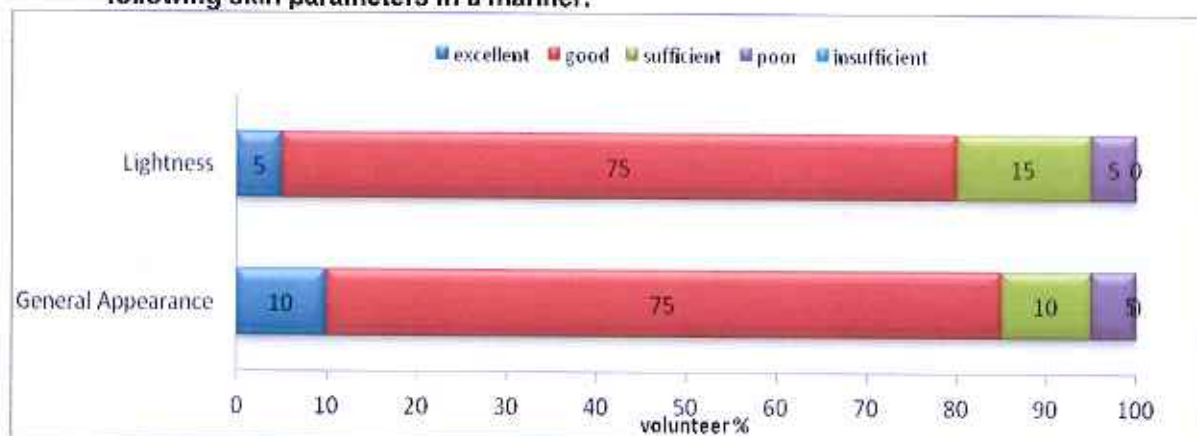
The 20 subjects who took part to the study answered to a questionnaire on a subjective evaluation of the tested product.

For the graphical representation of the multiple choice answers of each question, the percentage of volunteers who expressed the same opinion was calculated.

- **A suo giudizio il prodotto testato, dopo il suo utilizzo, riduce le macchie cutanee, in maniera / In your opinion the tested product, after its use, reduces the dark spots, in a manner:**

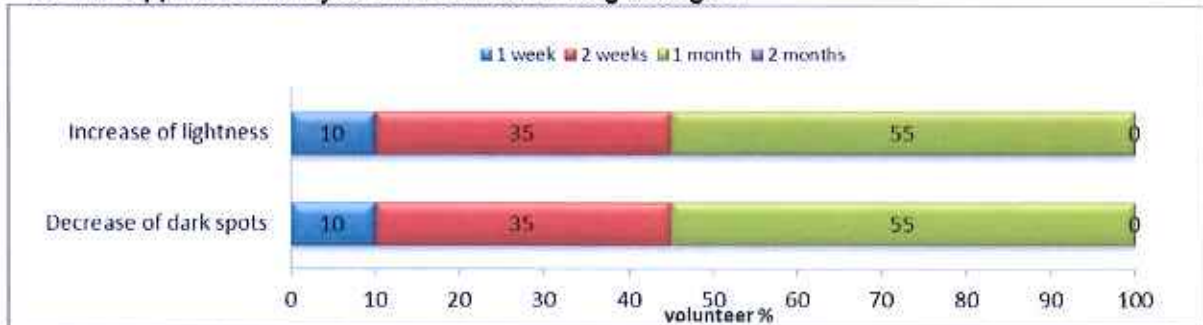


- **A suo giudizio il prodotto testato, dopo il suo utilizzo, migliora i seguenti parametri cutanei in maniera / In your opinion the tested product, after its use, improve the following skin parameters in a manner:**

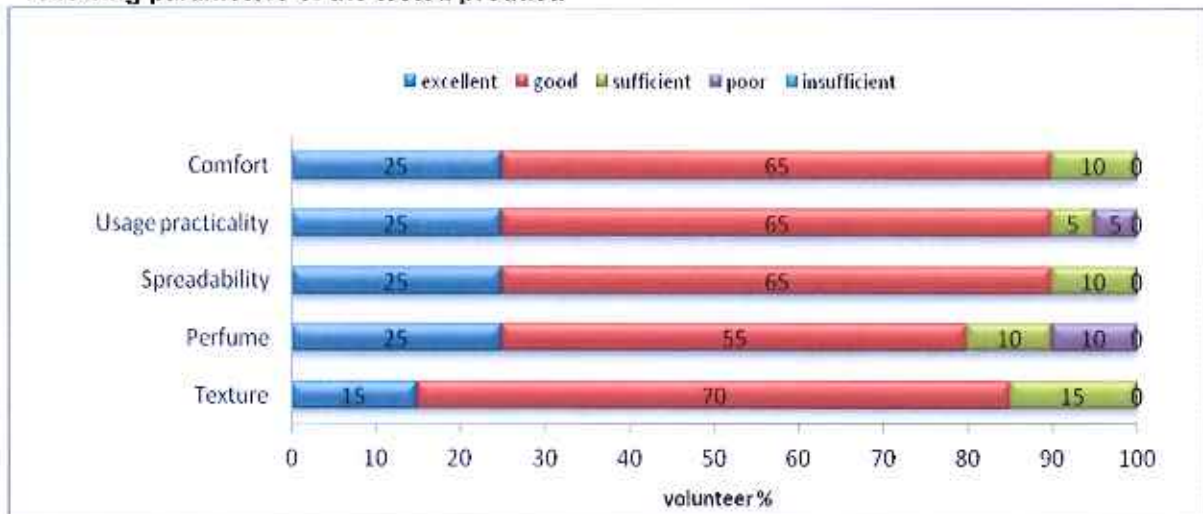




- **Dopo quanto tempo dalla prima applicazione ha notato le seguenti variazioni?/ How long after the first application did you notice the following changes?**



- **Dia un giudizio ai seguenti parametri del prodotto testato / Please give a judgment to the following parameters of the tested product:**



- **Dia un giudizio generale al prodotto testato /Please give a global judgment to the tested product.**

