UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Aplicação de peptídeos em cosméticos: Desenvolvimento de formulações, estabilidade e eficácia.

Glasiela Lemos Anconi

Ribeirão Preto

2008

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Aplicação de peptídeos em cosméticos: Desenvolvimento de formulações, estabilidade e eficácia.

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientada: Glasiela Lemos Anconi

Orientadora: Profa. Dra. Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos

Ribeirão Preto

2008

RESUMO

Anconi, G.L. **Aplicação de peptídeos em cosméticos: desenvolvimento de formulações, estabilidade e eficácia.** 2008, 196 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

O objetivo desta pesquisa foi o desenvolvimento, avaliação da estabilidade e da eficácia de formulações cosméticas contendo acetil hexapeptídeo-3 (AHP) ou acetil tetrapeptídeo-5 (ATP) ou mistura de di e tripeptídeos (DTP).

Para tal, foram desenvolvidas 6 formulações à base hidroxietilcelulose (HEC), metilfenil polissiloxano (MFP) e álcool batílico e lecitina de soja (ABL) (F1), ou de HEC, MFP, ésteres de polietilenoglicol com cadeia alquílica com 12 a 20 carbonos (EP) (F2), ou de polímero de acrilatos (PA), MFP e ABL (F3) ou de PA, MFP e EP (F4), ou de HEC e MFP (F5) ou de PA e MFP (F6), contendo ou não (veículo) 10% de AHP, ou 10% de ATP ou 4% de DTP, as quais foram submetidas a um estudo de estabilidade física por determinação da reologia e a uma avaliação sensorial. Para o estudo de eficácia dos peptídeos objetos de estudo as formulações foram aplicadas nos antebraços, na face, na região dos olhos e da boca de 60 voluntárias, sendo realizadas medidas do conteúdo aquoso do estrato córneo, da perda de água transepidérmica (TEWL), do micro-relevo cutâneo e das propriedades mecânicas da pele (anisotropia), antes (basal), após 2 horas da aplicação única (efeitos imediatos) e após 15 e 30 dias de uso contínuo (efeitos em longo prazo) das formulações. Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste paramétrico análise de variância.

Nos testes de estabilidade física, as formulações de n^{os} 1, 2 e 5 foram consideradas as mais estáveis e as formulações de nº 5 e 6 foram as que apresentaram melhor sensorial, sendo, portanto, selecionada a formulação de nº 5 como veículo para os estudos de eficácia.

Na avaliação dos efeitos imediatos na pele, observou-se que as formulações estudadas proporcionaram um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo dos antebraços, enquanto que, somente as formulações acrescidas dos peptídeos provocaram um aumento significativo neste conteúdo na face. Em relação ao micro-relevo cutâneo, as formulações contendo ou não os peptídeos provocaram uma redução do parâmetro Se_r (aspereza da pele) e R_t (rugosidade) nos antebraços e a formulação contendo DTP provocou um efeito imediato significativo no parâmetro Se_{sm} (textura da pele).

Na avaliação dos efeitos em longo prazo, as formulações ocasionaram uma diminuição significativa na TEWL e as acrescidas dos peptídeos objetos de estudo proporcionaram um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo na região dos olhos, enquanto que nos antebraços e na região da boca todas as formulações acrescidas ou não dos peptídeos ocasionaram um aumento nesse parâmetro. Em relação ao micro-relevo cutâneo, a aplicação das formulações contendo os peptídeos, na região da boca, provocou um aumento significativo nos valores de Se_{sm}. A aplicação das formulações contendo os peptídeos objeto de estudo, nos antebraços ocasionou uma diminuição significativa da anisotropia da pele.

A formulação nº 5 contendo os peptídeos objeto de estudo, apresentou efeitos imediatos na hidratação, aspereza, rugosidade e textura da pele e, efeitos em longo prazo, na hidratação, textura e anisotropia da pele, mostrando a importância do emprego destes peptídeos em produtos cosméticos com finalidades hidratantes e antienvelhecimento.

Palavras chave: Acetil hexapeptídeo-3, Acetil tetrapeptídeo-5, Di e tripeptídeos, Eficácia, Estabilidade Física.

ABSTRACT

Anconi, G.L. **Application of peptides in cosmetics: development of formulations, stability and efficacy.** 2008, 196 p. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

The aim of this study was the development, evaluation of the stability and the efficacy of cosmetic formulations containing acetyl hexapeptide-3 (AHP), or acetyl tetrapeptide-5 (ATP) or mixture of di- and peptides (DTP).

For this purpose the 6 following formulations (F) were developed: F1- containing hydroxyethyl cellulose (HEC), methylphenyl polysiloxane (MPPS), batyl alcohol, and lecithin (BAL); F2- HEC, MPPS and C12-C20 PEG-8 alkyl ester (AE); F3- acrylate copolymer (AC), MPPS and BAL; F4- AC, MPPS and AE; F5- HEC and MPPS and F6- AC and MPPS, which were supplemented or not (vehicle) with 10% of AHP or 10% of ATP or 4% of DTP and submitted to the evaluation of physical stability by the determination of the rheologic behavior and also to the sensorial analysis.

For clinical efficacy studies, formulations were applied to the volar forearm and to the face skin (eye corner and cheek region), of 60 female volunteers. Skin conditions in terms of skin moisture, transepidermal water loss (TEWL), skin mechanical properties (anisotropy) and skin microrelief, before and after 2 hours (immediate effects) and after 15 and 30-day period of daily application (long term effects). Results obtained were statistically analyzed using the ANOVA parametric test.

In the rheological study, the formulations number 1, 2, and 5 were considered more stable than the others. Moreover, the formulations number 5 and 6 showed the best sensorial attributes, and for this reason the formulation number 5 was selected for the efficacy study.

The evaluation of immediate effects of formulations showed that the application of the formulations studied in the volar forearm increased the water content of the stratum corneum, while only the formulations containing the peptides provoked an increased in this content, when face skin was analyzed. When the volar forearm skin microrelief was analyzed, the application of all the formulations studied provoked a significant decrease in skin roughness (Se_r) and depth of roughness (R_t), furthermore only the formulation supplemented with the DTP showed a significant increase in the skin smoothness (Se_{sm}).

In the evaluation of long term effects, all formulations provoked a significant reduction in TEWL values and the formulations containing the peptides studied provoked a significant increase in the water content of the stratum corneum of eye corner; when the volar forearms and the cheek region were analyzed, all the formulations containing or not the peptides studied, provoked an increase in this parameter. When the skin microrelief was analyzed, only the formulation supplemented with AHP or ATP or DTP, provoked a significant increase in the skin smoothness (Sesm), when applied in the cheek region. The application of formulations containing the peptides studied in the volar forearms provoked a significant decrease in the skin anisotropy.

The formulation nº 5 (F5) containing the peptides studied, showed immediate effects on skin hydration, roughness and smoothness, and also long-term effects on skin hydration, smoothness and mechanical properties, which demonstrated the importance of the use of these peptides in cosmetic formulations with hydration and anti-aging purposes.

Keywords: Acetyl hexapeptide-3, Acetyl tetrapeptide-5, Di- and tripeptides, Efficacy, Physical Stability.

INTRODUÇÃO

A busca constante da manutenção de uma aparência jovem e saudável tem favorecido cada vez mais o crescimento da indústria cosmética, pois ao lado de uma vida equilibrada e com bons hábitos alimentares e cotidianos, os cosméticos têm participado como grande aliado para prevenir, retardar e até mesmo tratar o envelhecimento cutâneo precoce ou o fotoenvelhecimento (MAIA CAMPOS; SILVA, 2002).

O processo de envelhecimento ocorre tanto por causas genéticas, mudanças hormonais associadas à menopausa (envelhecimento intrínseco), quanto por influências ambientais, como luz solar, vento, umidade, doenças dermatológicas, fumo, álcool, alimentação, etc (fatores extrínsecos) (MARZULLI; MAIBACH, 1996).

Em geral, as alterações cutâneas decorrentes do envelhecimento são evidenciadas por meio de um ressecamento progressivo, alteração do micro-relevo cutâneo e do padrão de pigmentação, além da redução da firmeza e da elasticidade, com o aparecimento de rugas.

Assim, a pele cronoenvelhecida tem como características: formação de rugas finas, diminuição da renovação celular na epiderme, decréscimo de tecido elástico e perda de colágeno na derme, e, no caso do fotoenvelhecimento, ocorre hiperqueratinização, crescimento freqüente de células pré-cancerosas, produção de tecido elástico anormal e perda pronunciada e degradação dos feixes de colágeno (PINNEL, 2003).

Embora com um estilo de vida saudável, a pele sofre agressões com as condições ambientais (sol, ar condicionado, poluição, clima), assim, o uso de produtos cosméticos ou dermatológicos vêm tendo um papel fundamental na tentativa de minimizar as conseqüências do envelhecimento da pele mantendo-a com uma aparência jovem e saudável ou melhorando o seu aspecto.

Assim, destacam-se as formulações cosméticas e/ou dermatológicas com alto potencial de hidratação cutânea, à base de potentes agentes umectantes e emolientes que protegem a função barreira da pele, os fotoprotetores e os produtos para prevenção e até mesmo reversão de alterações cutâneas relacionadas ao envelhecimento.

Uma vez que o setor cosmético é caracterizado por apresentar grandes investimentos em inovação tecnológica, observa-se que o cada ano surge novos produtos contendo substâncias ativas decorrentes de projetos de pesquisa envolvendo equipes multidisciplinares de universidades e de centros de Pesquisa & Desenvolvimento de empresas cosméticas. Dentre estes novos ativos, proteínas e peptídeos estão sendo amplamente utilizados em produtos cosméticos com finalidades hidratantes e antienvelhecimento, sendo que se

destacam o acetil hexapeptídeo-3, o acetil tetrapeptídeo-5 e a mistura de di e tripeptídeos (proteína hidrolisada do arroz) (PUIG A.; CEBRIAN J.; ALMINÃNA N.).

Um dos maiores sucessos dentre os procedimentos cirúrgicos realizados para atenuação de rugas faciais é a injeção intradérmica da toxina botulínica tipo A, sendo o Botox® o mais conhecido desses produtos, porém seu uso tem sido limitado em função de sua alta neurotoxicidade (PUIG, 2004). Assim, o acetil hexapeptídeo-3, foi resultado de um programa de desenvolvimento de novos peptídeos na tentativa mimetizar a ação da toxina botulínica do tipo A, apresentando efeito, *in vitro*, na inibição da liberação de neurotransmissores da junção neuromuscular e efeitos *in vivo,* atuando na diminuição da profundidade das rugas na face quando avaliado por análise topográfica da pele. (BLANES-MIRA et al., 2002).

Dentre os peptídeos amplamente utilizados em produtos cosméticos, ainda temos a mistura de di e tripeptídeos extraídos do arroz (*Orysza sativa*), que devido a sua estrutura otimizada, são rapidamente assimiláveis e capazes de estimular as funções metabólicas das células da pele, bem como estimular a proliferação de fibroblastos e a síntese de colágeno (tipos III e VII), de fibronectina e integrinas responsáveis pela adesão celular (MOREAU et al., 2003).

Além dos di, tri e hexapeptídeos, os quais apresentam efeitos na redução dos sinais do envelhecimento cutâneo, o acetil tetrapeptídeo-5 têm sido indicado, ainda, para a redução de "bolsas" da região periocular decorrentes do acúmulo de líquidos, devido às suas propriedades descongestionante e antiedematosa (GARCÍA-ANTON; PEREZ; PUIG, 2005), uma vez que apresentam atividade inibitória *in vitro* da enzima conversora de angiostensina (ECA), responsável pela produção de angiostensina II, substância responsável pelo aumento da pressão arterial e formação de edema.

Para o desenvolvimento de uma formulação cosmética estável, segura e eficaz, é obrigatório a escolha adequada das matérias-primas que farão parte da sua composição, ou seja, estas devem ser compatíveis entre si e com as substâncias ativas selecionadas para atender a indicação de uso do produto.

Assim quando da Pesquisa & Desenvolvimento de formulações cosméticas contendo os peptídeos acima mencionados, vários estudos devem ser realizados visando a obtenção de produtos estáveis, seguros e eficazes, considerando que, na literatura ainda há muito poucos estudos que comprovem a eficácia de tais peptídeos nas reais condições de uso, pois com exceção do acetil hexapeptídeo-3, os demais, acetil tetrapeptídeo-5 e a mistura de di e tripeptídeos têm mostrado apenas eficácia comprovada *in vitro*. Além disso, os estudos de

estabilidade (pH, aparência, odor, consistência) são de grande importância para que sejam mantidas as características iniciais exigidas para uma formulação considerada de qualidade durante todo o seu prazo de validade, sabendo-se que, para que um produto seja eficaz este deverá ser estável. Estudos de estabilidade acelerados podem fornecer informações sobre a estabilidade física da formulação, ou seja, podem verificar se esta apresentará reações de oxidação, hidrólise, entre outras, ao longo de sua vida de prateleira e também podem predizer a performance no momento do uso (GASPAR; MAIA CAMPOS, 2003; GUARATINI; GIANETI; MAIA CAMPOS; 2003).

Uma vez que a adição de proteínas e peptídeos em formulações cosméticas pode causar instabilidade a estas, tais como diminuição da viscosidade e alteração das características reológicas das mesmas, sendo que a extensão destas alterações depende de vários fatores, dentre os testes de estabilidade física, a reologia tem tido grande e crescente interesse nas indústrias cosmética e farmacêutica, tendo em vista que a consistência e o espalhamento dos produtos devem ser reproduzidos de lote para lote, assegurando a qualidade tecnológica do produto acabado (BONACUCINA; PALMIERI; CRAIG, 2005; DI MAMBRO; MAIA CAMPOS; FONSECA, 2004; D'LEÓN, 2001; MAIA CAMPOS; SILVA, 2000).

Considerando que o desempenho sensorial de um produto cosmético é um fator importante que interfere na aceitação do produto pelo consumidor e conseqüentemente no seu potencial de venda (WORTEL; WIECHERS, 2000), a avaliação da aceitação do produto cosmético em termos de aplicação na pele, bem como em termos de percepção de eficácia pelo usuário deve ser realizada visando o desenvolvimento de um produto com grande aceitação pelo mercado consumidor.

Além da determinação da estabilidade física e da performance sensorial, quando a um produto é atribuído um benefício, este deve ser comprovado, para fins de registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Assim, para a avaliação da eficácia de produtos cosméticos, dentre as metodologias *in vivo* disponíveis atualmente, estão os ensaios biológicos em animais (pré-clínicos) e em humanos (clínicos), sendo estes últimos realizados na maioria das vezes por métodos não invasivos, por meio do uso de equipamentos especialmente desenvolvidos para este propósito (LEONARDI; GASPAR; MAIA CAMPOS et al., 2002; PIÉRARD, 2002).

Assim, este trabalho se propõe a avaliar a estabilidade física, as características sensoriais e os efeitos de formulações cosméticas contendo diferentes peptídeos.

CONCLUSAO

Nas condições experimentais desse trabalho, foi possível concluir que:

- No estudo de estabilidade física, as formulações de n^{os} 1, 2 e 5 foram, consideradas as mais estáveis, enquanto que na avaliação sensorial, as formulações de n^{os} 5 e 6, foram as que apresentaram melhor performance, sendo portanto a formulação de n^{o} 5 selecionada para os testes de eficácia.

- Na avaliação da eficácia em curto prazo todas as formulações estudadas, contendo ou não peptídeos objeto de estudo, proporcionaram um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo dos antebraços, quando comparadas com os valores basais, enquanto que, na face, somente as formulações acrescidas dos peptídeos objeto de estudo ocasionaram um aumento significativo deste conteúdo.

- Nenhuma das formulações mostrou efeito imediato na perda de água transepidérmica após aplicação nos antebraços e na face, quando comparado aos valores basais.

- Em relação ao micro-relevo cutâneo todas as formulações estudadas provocaram uma redução do parâmetro Se_r (aspereza da pele) e R_t (rugosidade), após 2 horas de uma única aplicação nos antebraços. Por outro lado, na face nenhuma alteração significativa nesses parâmetros foi observada. Nenhuma das formulações estudadas mostrou alterações nos valores de Se_w (nº de rugas) tanto após aplicação nos antebraços, quanto na face. A aplicação da formulação contendo mistura de di e tripeptídeos, nos antebraços das voluntárias, provocou um efeito imediato significativo no parâmetro Se_{sm} (textura da pele), enquanto que na face nenhuma alteração foi observada nesse parâmetro.

- A aplicação de todas as formulações em estudo nos antebraços e na face das voluntárias não proporcionou efeitos imediatos nas propriedades mecânicas da pele (anisotropia).

- Na avaliação em longo prazo da eficácia, as formulações acrescidas dos peptídeos objetos de estudo proporcionaram um aumento significativo no conteúdo aquoso do estrato córneo na região dos olhos, enquanto que nos antebraços e na região da boca todas as formulações acrescidas ou não dos peptídeos ocasionaram um aumento nesse parâmetro

.- Na avaliação dos efeitos em longo prazo, todas as formulações ocasionaram uma diminuição significativa na TEWL nos antebraços, enquanto que nenhuma alteração foi observada nesse parâmetro após aplicação na face.

- Em relação ao micro-relevo cutâneo nenhuma das formulações estudadas mostrou efeitos em longo prazo nas regiões estudadas, nos parâmetros Se_r, R_t e $Se_{w,}$ exceto para o parâmetro Se_{sm} que, após a aplicação das formulações contendo os peptídeos em estudo provocaram um aumento significativo deste na região da boca.

- Em relação às propriedades mecânicas da pele, observou-se uma diminuição significativa na anisotropia da pele, após 15 e 30 dias da aplicação das formulações contendo somente os peptídeos objeto de estudo nos antebraços das voluntárias. A aplicação de todas as formulações na face das voluntárias não provocou alterações em longo prazo nestas propriedades.

- A formulação de nº 5 selecionada nesse estudo, acrescida dos peptídeos objeto de estudo apresentou estabilidade adequada e eficácia comprovada por meio de ensaios clínicos, mostrando efeitos imediatos, na melhora da hidratação, textura, rugosidade e aspereza da pele, bem como efeitos em longo prazo na hidratação, na textura e nas propriedades mecânicas da pele, mostrando a importância do emprego destes peptídeos em produtos cosméticos com finalidades protetoras, hidratantes e antienvelhecimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I.F.; BAHIA,M.F.. Reologia: interesse e aplicação na área cosmético-farmacêutica. **Cosmetics & Toiletries** (Edição em Português), São Paulo, 15(3), p.96-100, 2003.

ANCONI, G. L.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G. Aplicação de peptídeos em cosméticos: desenvolvimento de formulações, sensorial e eficácia. **Cosmetics & Toiletries** (Edição em Português), São Paulo, v. 20, n. 3, p.116-117, 2008.

ANDRE-FREI, V.; PERRIER, E. A comparison of biological activities of a new soya biopeptide studied in an in vitro skin equivalent model and human volunteers. **Inter J Cosmet Sci.**, n. 21, p. 299–311, 1999.

BARBA, S.M.; RODDICK-LANZILOTTA A.; KELLY, R.; PARRA, J.L.; CODERCH, L. Cosmetic effectiveness of topically applied hydrolysed keratin peptides and lipids derived from wool. **Skin Res Technol,** v.14, p.243-248, 2008.

BARNES, H.A., Thixotropy – a review. **J. Non-Newton. Fluid**, Amsterdam v.70, n.1-2, p. 1-33, 1997.

BARNES, H.A., Rheology of enulsions-a review. **Colloids Surfaces A: Physicochen. Eng. Aspects**, Amsterdam, v.91, p.89-95, 1994.

BATT, M.D.; FAIRHURST, E. Hydration of the stratum corneum. **Inter J Cosmet Sci.**,v. 8, p. 253-264, 1986.

BAUTISTA, F.; DE SANTOS, J.M.; PUIG, J.M.; MANERO, O. Understanding thixotropic and antithixotropic behavior of viscoelastic micellar solutions and liquid crystalline dispersions. **I. The model. J. Non-Newton Fluid Mech**, Cambridge, v.80, p. 93-113, 1999.

BECHELLI, L. M.; CURBAN, G. V. **Compêndio de dermatologia**. São Paulo: Atheneu, p.19, 1975.

BENCH; BEYOND. Peptides in the Peptiline for Antiaging. **Cosmetic & Toiletries,** v.121, n.11, p.20-24, 2006.

BERARDESCA, E.M.D.; CAMELI, N.M.D.; PRIMAVERA, G.M.D.; CARRERA, M.M.D. Clinical and instrumental evaluation of skin improvement after treatment with a new 50% pyruvic acid peel. **Dermatologic Surgery**, v.32, p.526-531, 2006.

BLANES-MIRA, C.; CLEMENT, J.; JODAS, G.; GIL, A.; BALLESTER, F. G.; PONSATI, B.; GUTIERREZ, L.; PÉRZ, P.E.; MONTIEL, F.A. A synthetic hexapeptide (Argireline) with antiwrinkle activity**. Inter J Cosmet Sci.**, n.24, p.303-310, 2002.

BONACUCINA, G.; PALMIERI, G.F.; CRAIG, D. Rheological and dielectric characterization of monoolein/water mesophases in the presence of a peptide drug. **J Pharm Sci.**, v.94, n.11, November, 2005.

BRANDÃO, L. **Índex ABC:Ingredientes para a indústria de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes**. 2.ed. São Paulo, SRC, 1070p, 2000.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n^{o} 335, de 22 de julho de 1999. Estabelece normas e procedimentos para Notificação de produtos Grau Risco I. **Diário Oficial da União, Brasília**, DF, 23 jul. 1999.

BRUMER, R,; GODERSKY, S. Rheological studies to objectify sensations occurring when cosmetic emulsions are applied to the skin. **Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects**, Amsterdam, v.152, p.89-94, 1999.

BUDTOVA, T.; BEL'NIKEVICH; ZOOLSHOEV, Z. Anomalous behavior of ultrahigh molecular weight poly(methyl metacrylate) in the converging and shear flows. **Europ Pol J**, Conventry v.37, p.2231-2237, 2001.

CALLEGOS, C.; FRANCO,J.M. Rheology of food, cosmetics and pharmaceuticals. **Current Opinions in Colloids & Interface Science**, London, v.4, p.288-293, 1999.

CHALONER N.I.; CAHAL S.P.; JONES Y.R.T., Proteínas cosméticas para el cuidado de la piel, **Cosméticos Nuevos**, p. 33-42, 1998.

CHVAPIL, M.;ECKMAYER, Z. Role of proteins in cosmetics. **Inter J Cosmet Sci**., n.7, p.41–49,1985.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE - Resolução 196/96 do Ministério da Saúde. Diário Oficial, 16/10/1996.

CURDY, C.; NAIK, A.; KALIA, Y.N.; ALBERTI, I., GUY, R.H. Non-invasive assessment of the effect of formulation excipients on stratum corneum barrier function in vivo. **Int J Pharm**., v.271, n.1-2, p.251-256, 2004.

DAHMS, G. H. Rheology-ita effect on physical SPFs. **Soap Perfum. Cosm**., p.23-25, 1996.

DAL'BELO, S.E.; GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques. **Skin Res Technol**, v. 12, n. 2, p. 241-246, 2006.

D'LEÓN, L. F. P. Estudo de Estabilidade de Produtos Cosméticos. **Cosmetics & Toiletries** (Edição em Português) Jul./Ago, p.54-60, 2001.

DE PAEPE, K.; LAGARDE, J.M.; GALL, Y.; ROSEEUW, D.; ROGIERS, V. Microrelief of the skin using a light transmission method. **Arch Dermatol Res.,** v.292, p.500–510, 2000.

DI MAMBRO, V.M.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G; FONSECA, M. J. Physical and chemical stability of different formulations with superoxide dismutase**. Pharmazie**, v. 59, n.10, p.786-90, 2004.

DOBREV, H.P. Use of Cutometer to assess epidermal hydration. **Skin Res Technol**., v.6, n.4, p.239-244, 2000.

EDWARDS, C.; MARKS, R. Evaluation of biomechanical properties of human skin. **Clin Dermatol**, New York, v.13, p.375-380, 1995.

EGAWA, M.; OGURI, M.; HIRAO, T.; MIYKAWA, M. The evaluation of skin friction using a frictional feel analyzer. **Skin Res Technol**., v. 8, n. 1, p. 41-51, 2002.

ENJELKE, M.; JENSEN, J.M.; EKANAYAKE-MUDIYANSELAGE, S.; PROKSCH, E. Effects of xerosis and ageing on epidermal proliferation and differentitation. **British Journal of Dermatology**, v.137, p.219-225, 1997.

FERNANDEZ-MONTES, E. A. Técnicas y procedimiéntos em formulación magistral dermatológica. Madrid: Ed. E. Aliá, p. 85-87, 2005.

FISCHER, W.T.; WIGGER-ALBERTI W.; ELSNER P. Direct and no-direct measurements techniques for analysis of skin surface topography. **Skin Pharcol Appl Skin Physiol**, n.12, v.1, p. 1-11, 1999.

FREI, V.; PERRIER, E.; ORLY, I.; HUC, A. Activation of fibroblast metabolism in a dermal and skin equivalent model: a screening test for activity of peptides. **Inter J Cosmet Sci**., n.20, p.159-173, 1998.

FOSTER, a.h.; HERRIMGTON, T.M. Rheoloy of two commercially avaiable cosmetic oil in water emulsions. **Inter J Cosmet Sci**., v.20, p.317-326, 1998.

FUJIMURA, T.; TSUKAHARA, K.; MORIWAKI, S.; KITAHARA, T.; SANO, T.; TAKEMA, Y. Treatment of human skin with an extract of Fucus vesiculosus changes its thickness and mechanical properties. **J Cosmet Sci.**, v.53, n.1, p.1-9, 2002.

GARCÍA-ANTON, J.M.; PEREZ, R.; PUIG A.; Peptides as active ingredients in cosmetics. **Personal Care**. p.39-42, 2005.

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

GASPAR, L.R; GONÇALVES, G.M.S.; PEREIRA, L.H.T.R.; LEONARDI, G.R., MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Aplicação e padronização de metodologias não-invasivas para

avaliação de eficácia. **Cosmetic & Toiletries** (Edição em Português), v.13, Set/Out, p.68-73, 2001.

GIACOMONI, P.U.; D'ALESSIO, P. Open questions in photobiology. IV. Photoaging of the skin. **J Photochem and Photobiol**, v.33, p.267-272, 1996.

GIANETI, M.D.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de formulações cosméticas contendo extratos protéicos de trigo e/ou soja. **Cosmetic & Toiletries** (edição em português), v.18, p.52, 2006.

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

GOLDSMITH, L. A My organ is bigger than your organ. **Arch. Dermatol**., Chicago, v.126, p.301-302, 1990.

GOMES, A. L.; LANGER, C.M.; OLIVEIRA, E. C.; VAIROLETTO, L. Diferentes tipos de pele: diferentes necessidades cosméticas. **In: Congresso Nacional de Cosmetologia, 12**, São Paulo, 1998. Anais. São Paulo, Associação Brasileira de Cosmetologia, p.220-231, 1998.

GUARATINI, T.; GIANETI, M.D.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Influence of storage conditions in cosmetic stability testing by rheological studies**. Braz J Pharm Sci**., v.39, p.97, 2003.

GUTTE, B. Peptides: synthesis, structure, and applications. Academic Press: New York, 1995.

HARRIS, M.I.N.C. Pele: estrutura, propriedades e envelhecimento. 2ª edição, Editora Senac, São Paulo, 2005.

HASHIMOTO-KUMASAKA, K.; TAKAHASHI, K.; TAGAMI, H. Electrical measurement of the water content of the stratum corneum in vivo and in vitro under various conditions:

comparison between skin surface Hygrometer and Corneometer in evaluation of the skin surface hydration state. **Acta Derm Venereol Suppl**. (Stockh.), v.73, p.335-339, 1993.

HALLER, P. H. Aplicações de lipídeos e fosfolipídeos em cosméticos. **Cosmetics & Toiletries**, Carol stream, V.1, n.4, p.33-40, 1989.

HELYES Z.; PINTER E.; NÉMETH J.; KÉRI G.; THÁN M.; OROSZI G.; HORVÁTH A.; SZOLCSÁNYI J. Anti-inflammatory effect of synthetic somatostatin analogues in the rat", **Br J Pharmacol**., v.134, p.1571-1579, 2001.

HERMANNS-LÊ, T.; JONLET, F.; SCHEEN, A.; PIÉRARD G.E. Age and body mass index-related changes in cutaneous shear wave velocity. **Exp Gerontol**, v.36, p.363-372, 2001.

HERMITTE, R. Aged skin, retinoids and alpha hydroxy acids. **Cosmetics & Toiletries**, v.107, n.7, p.63-67, 1992.

HOLBROOK, K.A.; WOLFF, K. The structure and development of skin. In: FITZPATRICK, T.B.; EISEN, A.Z.; WOLF, K. **Dermatology in general medicine**, 4th ed., New York: McGraw-Hill, , cap.16, p.241-253, 1993.

IDSON,B. Vitamins and Skin. **Cosmetics & Toiletries**., v.108, n.2, p.79-94, 1993.

JABOBI, U.; CHEN, M.; FRANKOWSKI, G.; SINKGRAVEN, R.; HUND, M.; RZANY, B.; STERRY, W.; LADERMANN, J. *In vivo* determination of skin surface topography using an optical 3D device. **Skin Res Technol**, v.10, p.207-214, 2004.

KAMPF, G.; ENNEN, J. Regular use of a hand cream can attenuate skin dryness and roughness caused by frequent hand washing. **BMC Dermatol**., v.13, n.6, p.1-5, 2006.

KLEIN, K. Formulators forum. **Cosmetics & Toiletries**, New York, v.114, n.15, p.42-45, 1999.

KOH, J.S.; KANG, H.; CHOI, S.W.; KIM, H.O. Cigarette smoking associated with premature facial wrinkling: image analysis of facial skin replicas. **Int J Dermatol**., v.41, n.1, p.21-27, 2002.

LABA, D. Rheological Properties of Cosmetics and toiletries. New York. Marcel Dekker, p.09-33, 1993.

LEE, K.K; CHOI, J.D. The effects of Areca cathechu L extract on anti-aging. **Inter J Cosmet Sci.**, n.21, p.285-295, 1999.

LEONARDI, G.R**. Cosmetologia Aplicada**. Medfarma, 1°ed., p.92-93,2004.

LEONARDI, G.R.; GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M. Application of a non-invasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. **J Cosmet Sci**., v.53, n.5, p.263-268, 2002.

LI F.; CONROY E.; VISSCHER M. WICKETT R.R. The ability of electrical measurements to predict skin moisturization. I. Effects of NaCl and glycerin on short term measurements. **J Cosmet Sci.**, v. 52, p. 13-22, 2001.

LI G. Y., FUKUNAGA S., TAKENOUCHI K. AND NAKAMURA F. International Comparative study of the physiological properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate as cosmetic materials**. J Cosmet Sci.**, v.27, p.101–106, 2005.

LI LI; MAC-MARRY, S.; MARSAUT, D.; SANTHILLIER, J.M.; NOUVEAU, S.; GHARBI, T.; LACHARRIERE, O.; HUMBERT, P. Age-related changes in skin topography and microcirculation. **Arch Dermatol Res**, v.294, p.412-416, 2006.

LINTNER, K.; PESCHARD, O. Biological active peptides: from a laboratory bench curiosity to a functional skin care product. **Inter J Cosmet Sci**., v. 22, n.207, p.207-218, 2000.

LINTNER, K. Peptídeos, aminoácidos e proteínas no tratamento da pele. **Cosmetic & Toiletries**, v. 20, n. 3, p. 42-48, 2008.

Literatura do fornecedor Lipotec, Espanha. Endereço Eletrônico: www.lipotec.com

Literatura do fornecedor Silab, França. Endereço Eletrônico: www.silab.com

LODEN, M. Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorders. **Am J Clin Dermatol**., v.4, n.11, p.771-88, 2003.

LUPO, M.P.; COLE, A. Cosmeceutical peptides. **Dermathol. Therapy**, v. 20, p. 343-349, 2007.

MACHADO A.; LIRIA C.W.; PROTI, P.B.; REMUZGO, C.; MIRANDA, M.T.M. Sínteses química e enzimática de peptídeos: princípios básicos e aplicações. **Química Nova**, v.27, n.5, p.781-789, 2004.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; SILVA, G.M. Desenvolvimento de Produtos Cosméticos. **Cosmetic & Toiletries** (Edição em Português), v. 14, pp. 66-69, 2002.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; SILVA, G.M. Estratégias de formulações de shampoos. **Cosmetics & Toiletries** (Edição em Português), São Paulo, v.12, n.3, p.44-50, 2000.

MAIA CAMPOS, G. G.M.C. Software versão 6.1 Desenvolvido no Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto-USP, 1999.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Bases dermocosméticas. **Revista de Cosmiatria e Madicina Estética**, V.2, n.3, p332-35, 1994.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; BADRA, M.V.L. Estudo da estabilidade física de bases dermocosméticas contendo ésteres fosfóricos. **Aerosol & Cosméticos**, v.79, p.8-11, 1992.

MARRAKCHI, S.; MAIBACH, H.I. Biophysical parameters of ski: map of human face, regional, and age-related differences. **Contact Dermatitis**, v. 57, p. 28-34, 2007.

MARTIN, A.; BUSTAMANTE, P.; CHUN, A.H.C. **Physical Pharmacy**. Philadelphia, Lea & Febiger ,4aed., p. 153-476, 1993.

MARTINI, M. C. Introducion a la dermofarmácia y a la cosmetologia. Zaragoza: Ed. Acribia, p. 329, 2005.

MARZULLI, F.N; MAIBACH, H.I. **Dermatotoxicology**, 5th ed. Washington DC: Taylor and Francis,: v.11,n.12, p.285-86, 1996.

MOREAU, L.; BORDES, S.; JOUANDEAUD, M.; CLOSS, B. Cell adhesion: a new approach to tissue protection. **Cosmetic & Toiletries** (Edição em Português), v.118, n.1, p 75-84, 2003.

MSIKA P. LABORATOIRES PHARMASCIENCE; Cosmetic method for preventing and/or treating skin stretchmarks, and use in dermatology. FR 98 12435, 5 Out, 1998.

NANGIA, A. et al. In vivo measurement of transepidermal water loss: a rapid alternative to tritiated water permeation for assessing skin barrier functions. **Inter. J. Pharma**., Amsterdam, v.170, n.1, p.31-40, 1998.

OBA, A. et al. A non-invasive method for measuring invisible subcutaneous UV damage. **In: IFSCC Congress, 22**., 2002, Edinburgh. Cosmetic Science for a Global Marketplace, Edinburgh, 2002. CD-ROM

OVERGAARD-OLSEN, L.; JEMEC, G.B. The influence of water, glycerin, paraffin oil and ethanol on skin mechanics. **Acta Derm. Venereol.**, v. 73, p. 404-406, 1993.

PATHAK, M. A.; FITZPATRICK, T. B. Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis and skin cancer with sun-protective agents. In: FITZPATRICK, T. B.; EILSEN, A. Z.; WOLFF, K.; FREEDBERG, I. M.; AUSTEN K.F. **4th ed. Dermatology in General Medicine**, 4th ed., New York: McGraw-Hill, cap.137, p.1689-1716, 1993.

PIÉRARD, G.E. Instrumental non-invasive assessments of cosmetic efficacy. **J Cosm Dermatol.**, v.1, p.57-58, 2002.

PIÉRARD, G.E.; UHODA, I.; PIÉRARD-FRANCHIMONT, C. From skin microrelief to wrinkles. An area ripe for investigation. **J Cosm Dermatol**, v. 2, p. 21-28.

PINNAGODA, J.; TUPKER, R. A.; SERUP, J. Guidelines for trasepidermal water loss (TEWL) measurement. **Contact Dermatitis,** v.22 p. 164-178, 1990.

PINNEL, S.R., Cutaneous photodamage, oxidative stress and topical antioxidant protection. **J Am Acad Dermatol.**, St. Louis; v.1, p.1-19, 2003.

PUIG A. Hexapeptídeo: nova alternativa ao combate às rugas. **Cosmetic & Toiletries** (edição em português), v. 16, p.48-50, 2004.

PUIG A. Cosmetic improvements. **Cosmetic & Toiletries**, p. 26-29, 2006.

PUIG, A.; CEBRIAN, J.; ALMINÃNA, N. Peptides as active ingredients in cosmetics. **Cosmetics and Toiletries Manufature Worlwide**, p.121-125.

RAWLINGS, A.V.; CANESTRARI, D.A.; DOBKOWSKI, B. Moisturizer technology versus clinical performance. **Dermatol Ther**., v.17, n.1, p.49-56, 2004.

RIEGER, M. M. Skin. **In: Harry´s Cosmeticology**. 8ªed. New York: Chemical Publishing Co., cap. 1, p.3-38, 2000.

ROBERT, C.; ROBERT, A. M.; ROBERT, L. Effect of a fucose-rich polysaccharide preparation on the age-dependent evolution of the skin surface micro-relief. **Pathol. Biol**., v.51, n.10, p.586-590, 2003.

ROBINSON, L.R.; FITZGERALD, N.C.; DOUGHTY, D.G.; DAWES, N.C.; BERGE, C.A.; BISSET, D.L.Topical palmitoyl pentapeptide provides improvement in photoaged human skin. **Inter J Cosmet Sci**., n.27, p.155-160, 2005.

RODRIGUES, L. Bioengenharia cutânea: metodologias não invasivas de abordagem da pele. **Ver. Cosmiatr. Med Est**., v.5, n.2, p.26-35, 1997.

ROGIERS V.; EEMCO Group EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. **Skin Pharmacol Appl Skin Physiol**., v.14, n.2, p.117-128, 2001.

ROGIERS, V. Standardized conditions needed for skin surface hydration measurements. **Cosmetic & Toiletries**, v.105, p.76-82, 1990.

RUVOLO, E.C.; STAMATAS, G.N.; KOLLIAS, N. Skin viscoelasticity displays site- and age- dependent angular anisotropy. **Skin Pharmacology and Physiology**, v.20, p.313-321, 2007.

RUVOLO, E.; KOLLIAS, N.; COLE, C. Method of measuring of skin anisotropy. United States Patent 20060052719, 03 Set, 2006.

SATO J.; YANAI, M.; HIRAO, T.; DENDA, M.Water content and thickness of the stratum corneum contribute to skin surface morphology. **Arch Dermatol Res.** v.292, n.8, p. 412-417, 2000.

SAYRE, R.M. et al. Changing the risk spectrum of injury and the performance on sunscreen products throughout the day. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**, v.10, n.4, p.148-153, 1994.

SERUP, J. Bioemgineering and the Skin: From Standar Error to Standard Operating Procedure**. Acta Derm. Venereol**., v.185, p. 5-8, 1994

SORIANO, M.M.J; CONTRERAS, M.J.F.; FLORES, E.S. Proposal and pharmacotechnical study of a modern dermo-pharmaceutical formulation for cold cream. **Bolletino Chimico Farmaceutico**, v.135, n.6, p.364-373, 1996.

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

STEINER, D. Envelhecimento cutâneo. **Cosmetics & Toiletries**, v.7, Jul/Ago, p.29, 1995.

SUMINO, H.; ICHIKAWA, S.; ABE, M.; ENDO, Y.; ISHIKAWA, O.; KURABAYASHI, M. Effects of aging, menopause and hormone replacement therapy on forearm skin elasticity in women. **J. Am. Geriatr. Soc.**,v.52, p.945-949, 2004.

TACHINARDI, F.; SÁ DIAS, T. C.; PICIRILI, C. A. D.; GOMES, A. L.; ARRUDA, R. Avaliação sensorial de produtos cosméticos em pele no. **In: XVII COLAMIQC**, Cusco CD-ROM Cusco, 2005.

TAKEMA Y.; YORIMOTO Y.; KAWAI M.; IMOKAWA G. Age-related changes in the elastic properties and thickness of human facial skin. **Br. J. Dermatol**., v.131, n.5, p.641-648, 1994.

TODD, R.D. Soluble collagen: new protein for cosmetics. **Drug Cosmet Indust**., v.117, p.50–52, 1975.

UHODA, I.; FASKA, N.; ROBERT, C.; CAUWENBERGH, G.; PIERARD. G.E. Split face study on the cutaneous tensile effect of 2-dimethylaminoethanol (deanol) gel. **Skin Res Technol.**, v.8, n.3, p.164-167, 2002.

VERTUANI, S.; ZIOSI, P.; SOLAROLI, N.; BUZZONI, V.; CARLI, M.; LUCCHI, E.; VALGIMIGLI, L.; BARATTO, G.; MANFREDINI, S. Determination of antioxidant efficacy of cosmetic formulations by non-invasive measurements. **Skin Res Technol**., v.9, n.3, p.245-253, 2003.

VEXLER, A.; POLYANSKI, I.; GORODETSKY, R. Evaluation of skin viscoelasticity and anisotropy by measurement of speed of shear propagation with viscoelasticity skin analyzer. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 13, n.5, p.32-739, 1999.

WHEATER, P.R.; BURKITT, H. G. & DANIELS, V.G. **Histologia Funcional**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982.

WORTEL, V.A.L; WIECHERS, J. Skin sensory performance of individual personal care ingredients and market personal care products**. Food Quality and Preference**, v.11, p.121-127, 2000.

YAAR, M.; ELLER, M.S.; GILCHREST, B.A. Fifty Years Skin Aging. **J Invest Dermatol**., v.7, n.1, p.51-58, 2002.

ZIEGLER, H.; HEIDT, M. Biometric tripeptides for improved dermal transport. **Cosmetic & Toiletries**, v.122, n.5, p.59-68, 2007.