



Utilização de Peptídeos em Cosmecêuticos

Gabriella Neves Ricarte

Monografia

Orientador

Prof. Bernardo Dias Ribeiro, Dsc

Agosto de 2017

Utilização de Peptídeos em Cosmecêuticos

Gabriella Neves Ricarte

Monografia de Final de Curso submetida ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Engenheiro de Bioprocessos

Aprovado por:

Prof. Daniel Weingart Barreto, D.Sc

Prof. Ivaldo Itabaiana Júnior, D.Sc

Vanessa da Silva Saab Liberato, M.Sc

Orientado por:

Prof. Bernardo Dias Ribeiro, Dsc

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Agosto de 2017

Ricarte, G.N.

Utilização de peptídeos no setor de cosméticos/

Gabriella Neves Ricarte.

Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2017.

vii, 41 p.; il.

(Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2017.

Orientador: Prof Bernardo Dias Ribeiro.

1. Peptídeos. 2. Cosméticos. 3. Hidrólise. 4. Monografia.

(Graduação – UFRJ/EQ). 5. Prof. Bernardo Dias Ribeiro I. D.Sc.

“No meio da dificuldade encontra-se a oportunidade.”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado forças para concluir este trabalho, agradeço ao meu orientador Bernardo Dias Ribeiro por todo o suporte que sempre me deu, agradeço a minha mãe que investiu desde sempre na minha educação e também agradeço aos meus amigos e familiares pelo apoio.

Resumo do Projeto Final apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenheiro de Bioprocessos.

Utilização de Peptídeos no Setor de Cosmecêuticos

Gabriella Neves Ricarte

Agosto, 2017

Orientador: Prof. Bernardo Dias Ribeiro, D.Sc.

Os cosmecêuticos são tipos de cosméticos com princípios ativos capazes de modificar a fisiologia cutânea, conferindo algum benefício na aplicação. Um dos princípios ativos utilizados em cosmecêuticos são os peptídeos, que são biomoléculas envolvidas na modulação de diversos processos cutâneos, como o de proliferação celular, migração celular, inflamação e síntese de proteínas. Peptídeos podem ser utilizados para diversos tipos de tratamentos, tais como de acne, rosácea, lesões na pele e também tratamentos antienvelhecimento. Os peptídeos podem ser obtidos a partir de síntese ou hidrólise de proteínas. A hidrólise enzimática possui vantagens, tais como a especificidade, menor quantidade de sal no hidrolisado e operação com condições brandas de pH e temperatura. Os peptídeos oriundos de extratos naturais, obtidos por hidrólise, possuem maior segurança toxicológica, alto espectro de atividade e menores chances de efeitos colaterais. Este trabalho tem por objetivo apresentar diferentes tipos de peptídeos utilizados em cosmecêuticos, métodos de produção e tendências no mercado de cosmecêuticos. A proposta apresentada para etapa de desenvolvimento de processos é a utilização de hidrólise enzimática para obtenção de peptídeos bioativos, devido à possibilidade de reutilização de resíduos da indústria alimentícia, obtendo-se um produto natural de alto valor agregado, e às vantagens da utilização do extrato natural de peptídeos. A partir dos dados coletados concluiu-se que: vale a pena investir em cosmecêuticos, pois é um mercado em crescimento; os peptídeos são tendências atuais e futuras; o método de hidrólise enzimática para a produção de peptídeos é uma boa alternativa para o reaproveitamento de matéria-prima.

Abstract of a Final Project presented to Escola de Química/UFRJ as partial fulfillment of the requirements for the degree of Bioprocess Engineer.

Use of Peptides in the Cosmetics Sector.

Gabriella Neves Ricarte

August, 2017

Supervisor: Prof. Bernardo Dias Ribeiro, D.Sc.

Cosmeceuticals are types of cosmetics with active properties capable of modifying the cutaneous physiology, conferring some benefit in the application. One of the active properties used in cosmeceuticals is the peptides, which are biomolecules involved in the modulation of various cutaneous processes, such as cell proliferation, cell migration, inflammation and protein synthesis. Peptides can be used for various types of treatments, such as acne, rosacea, skin lesions and also antiaging treatments. Peptides can be obtained from the synthesis or hydrolysis of proteins. Enzymatic hydrolysis has advantages, such as specificity, less salt content in the hydrolyzate and operation with mild pH and temperature conditions. Peptides derived from natural extracts, obtained by hydrolysis, have a higher toxicological safety, a high activity spectrum and lower chances of side effects. The aim of this work is present different types of peptides used in cosmeceuticals, production methods and trends in the cosmeceuticals market. The proposal presented for process development stage is the use of enzymatic hydrolysis to obtain bioactive peptides, due to the possibility of reuse of food industry waste, obtaining a natural product with high value, and the advantages of using the natural extract of peptide. From the collected data it was concluded that: it is worth investing in cosmeceuticals, since it is a growing market; the peptides are current and future trends; the enzymatic hydrolysis method for the production of peptides is a good alternative for the reutilization of raw material.

ÍNDICE

Capítulo 1-Introdução	1
Capítulo 2 – Objetivos Gerais e Específicos.....	2
Capítulo 3 - Revisão Bibliográfica:	3
3.1 - Peptídeos – Definições	3
3.2 – Usos em Cosméticos.....	3
3.2.1 - Acetil Hexapeptídeo-3	5
3.2.2 - Peptídeos-Matriquinas	11
3.2.3 - Palmitoil Oligopeptídeo	12
3.2.4 - Palmitoil Tetrapeptídeo-7	12
3.2.5 - Oligopeptídeo -10.....	14
3.2.6 - Extrato de Peptídeos Oriundos do Lupino-Branco (<i>Lupinus albus</i>).....	16
3.3 - Métodos de Produção	18
3.3.1 - Obtenção de Peptídeos a Partir de Síntese:.....	19
3.3.1.1 - Síntese Química:	19
3.3.1.2 - Síntese Enzimática.....	21
3.3.1.3 - Síntese Via Tecnologia de DNA Recombinante:	21
3.3.2 - Obtenção de Peptídeos Bioativos a Partir de Hidrólise de Proteínas:.....	22
3.3.2.1 - Hidrólise química (alcalina ou ácida):	22
3.3.2.2 Hidrólise enzimática:	22
3.3.3 – Purificação de Peptídeos	23
Capítulo 4 – Estudo Mercadológico.....	24
4.1- Estudo Mercadológico da Indústria de Cosméticos.	24
4.2- Estudo Mercadológico da Indústria de Cosmecêuticos	28
Capítulo 5- Desenvolvimento de Processos	32
Capítulo 6 - Conclusão:	35
Capítulo 7 - Bibliografia	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Mecanismo de liberação da acetilcolina. Fonte: Sposito, 2009.....	6
Figura 2- Mecanismo de ação da toxina botulínica. Fonte: Sposito, 2009.....	6
Figura 3- Aminoácidos que compõem o Argireline®. Fonte: Galena, 2011	7
Figura 4- Toxina botulínica vs Argireline® Fonte: Galena, 2011	8
Figura 5-Efeito do Argireline® no aumento de fibroblastos, em um período de incubação de cinco dias, em diferentes concentrações. Fonte: Galena, 2011.	9
Figura 6- Observação em microscopia eletrônica das fibras de fibroblastos tratados com Argireline®. Incubação feita em um período de cinco dias. Fonte: Galena, 2011.....	9
Figura 7- Resultado da análise topográfica da pele localizada na região dos olhos de uma voluntária de 38 anos, nos períodos de quinze e trinta dias de utilização do Argireline®. Fonte: Galena, 2011.....	10
Figura 8- resultado da análise topográfica da pele localizada na região dos olhos de uma voluntária de 45 anos para a avaliação da eficácia do Argireline® no período de 15 dias. Fonte: Galena, 2011.....	10
Figura 9- Ação das matriquinas. Fonte: Sederma, 2017	11
Figura 10-Estrutura do palmitoil oligopeptídeo, onde neste caso R1 é o aminoácido glicina, R2 histidina e R3 lisina. Fonte: Cosmetic Ingredients Review, 2012.	12
Figura 11-Teste realizado com diferentes concentrações de Matrixyl™ 3000 na presença de células de fibroblastos para verificação da síntese de compostos da matriz extracelular. Fonte: Sederma, 2017.	13
Figura 12- Comparação entre o Matrixyl™3000, Matrixyl™ e placebo no aumento da elasticidade e tônus da pele. Fonte: Sederma, 2017.	14
Figura 13- Fotografias comparativas para avaliação do efeito do Matrixyl™ 3000 e Matrixyl™ em To e T56. Fonte: Sederma, 2017.	14
Figura 14- Oligopeptídeo-10. Fonte: PubChem, 2017	15
Figura 15- Cascata inflamatória induzida por LTA. Fonte: Zhang. et al., 2017.	15
Figura 16- Teste feito utilizando marcadores de imunofluorescência de Laminina 5. A esquerda se encontra o teste feito com o explante de pele humana sem a adição do ACTIMP® Powder (controle) e a direita com a adição de 0,2% ACTIMP® Powder. Fonte: EXPANSCIENCE, 2017.	17

Figura 17- Teste feito utilizando marcadores de imunofluorescência de colágeno IV. A esquerda se encontra o teste feito com o explante de pele humana sem a adição do ACTIMP® Powder (controle) e a direita com a adição de 0,2% ACTIMP® Powder. Fonte: EXPANSCIENCE, 2017.	17
Figura 18- Teste feito utilizando marcadores de imunofluorescência de colágeno I. A esquerda se encontra o teste feito com o explante de pele humana sem a adição do ACTIMP® Powder (controle) e a direita com a adição de 0,2% ACTIMP® Powder. Fonte: EXPANSCIENCE, 2017.	18
Figura 19- Teste feito utilizando marcadores de imunofluorescência de colágeno I.. A esquerda se encontra o teste feito com o explante de pele humana sem a adição do ACTIMP® Powder (controle) e a direita com a adição de 0,2% ACTIMP® Powder. Fonte: EXPANSCIENCE, 2017.	18
Figura 20- Modalidades e estratégias da síntese química. Fonte: Machado et al., 2004.....	19
Figura 21- Crescimento mundial do mercado de cosméticos. Adaptado de L'Oréal, 2017.	24
Figura 22- Vendas em 2016 dos cinco principais players da indústria mundial de cosméticos. Adaptado de L'Oréal, 2017.....	25
Figura 23- Repartição do mercado de cosméticos por categoria. Adaptado de L'Oréal, 2017	26
Figura 24- Maiores consumidores de HPPC em 2016. Adaptado de ABIHPEC, 2017....	26
Figura 25- representatividade do mercado de HPPC na América Latina FONTE: ABIHPEC, 2017	27
Figura 26- Representatividade da América Latina no mercado de HPPC Fonte: Euromonitor, 2016 apud ABIHPEC, 2017.....	27
Figura 27- Participação continental no mercado de cosmecêuticos. Fonte: RNCOS, 2015	28
Figura 28- Repartição do mercado de cosmecêuticos por categoria. Fonte: RNCOS, 2015	30
Figura 29- Porcentagem de participação das categorias de cuidados para a pele. Fonte: RNCOS, 2015	30
Figura 30- Aplicações de peptídeos de colágeno. Adaptado de Technavio, 2017.	32
Figura 31- Fluxograma geral simplificado do processo de extração de peptídeo, no qual ocorrem a extração proteica e a hidrólise enzimática. A etapa de centrifugação tem como	

objetivo a separação de fibras e outras matérias insolúveis, enquanto a ultrafiltração separa os peptídeos e hidrolisados de interesse..... 34

ÍNDICE DE TABELAS

<i>Tabela 1- Exemplos de peptídeos utilizados como ingredientes ativos em cosméticos.</i>	<i>5</i>
<i>Tabela 2- Diferenças entre a síntese clássica e síntese em fase sólida. Fonte: Machado et al., 2004, Nakaie, 2017.....</i>	<i>19</i>

Capítulo 1-Introdução

A Lei Federal de Alimentos, Medicamentos e Cosméticos dos Estados Unidos (FD & C Act) define cosméticos como artigos destinados a serem aplicados ao corpo humano para limpeza, embelezamento, promoção de atratividade ou alteração da aparência (U.S. FDA, 2017). Já no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define cosméticos como produtos de uso externo, usados para proteção ou embelezamento de diferentes partes do corpo, tais como, maquiagem, protetores solares, loções, dentre outros (ANVISA, 2000).

A utilização de cosméticos é algo que se pode observar desde a pré-história, onde os humanos já faziam pinturas no corpo e tatuagens utilizando cascas de árvores, terra, orvalho e seiva de folhas esmagadas. Existem indícios de que o uso de cosméticos em larga escala se iniciou no Egito, cremes e incensos foram encontrados no sarcófago de Tutankamon, a rainha Cleópatra se banhava com leite de cabra para deixar sua pele macia e os faraós utilizavam pinturas no corpo. Na Grécia antiga, os cosméticos passaram a ser desvinculados da ideia de práticas religiosas e começaram a ser vistos como ciência. Por volta de 400 A.C. foram encontrados os manuscritos de Hipócrates, que continham orientações sobre procedimentos estéticos e higiene. Na idade média houve um grande período de repressão religiosa na Europa e colônias europeias e a prática do uso de cosméticos foi deixada de lado nestas localidades. Durante a idade moderna, com o Renascimento e o Humanismo, a beleza voltou a ser valorizada, sendo a França e a Itália os principais produtores. Em Paris, na Rua Saint Honoré eram vendidos vários tipos de cosméticos, como sabonetes, perfumes e depilatórios. Na idade contemporânea, no século XIX ainda era comum a preparação caseira de cosméticos, porém no século XX iniciou-se a industrialização destes produtos. O filtro solar e cremes antirrugas ganharam importância no cenário e em 1995 a nanotecnologia revolucionou a indústria da beleza e as empresas passaram a investir na pesquisa desta tecnologia. No século XXI, com os avanços na medicina, a população está vivendo muito mais, e a procura por cosméticos e procedimentos estéticos que garantem uma aparência mais jovem e saudável está cada vez mais em evidência. (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA de COSMETOLOGIA, 2017; TREVISAN, 2011).

Atualmente, com a maior facilidade de acesso a internet, os consumidores estão pesquisando mais sobre a eficácia e qualidade dos produtos. A tendência que se pode observar

é que muitos estão dispostos a pagar mais caro por um cosmético de melhor qualidade e funcionalidade, então as empresas estão se esforçando para apresentar novidades, fornecer a informação dos seus princípios ativos e convencer o consumidor de que o seu produto é melhor que o da concorrência. (ESTATISTA, 2017)

Atendendo a esta demanda crescente por produtos funcionais, dentro do mercado de produtos de beleza se encontram os cosmecêuticos. O termo em inglês “cosmeceutic” foi criado em 1990 da junção das palavras “cosmetic” e “pharmaceutic”. Os cosmecêuticos são tipos de cosméticos que apresentam atividade biológica e seus princípios ativos são capazes de penetrar na pele e modificar a fisiologia da mesma trazendo algum benefício na aplicação (ZHANG e FALLA, 2009).

Os principais ativos cosmecêuticos, e suas propriedades, atualmente disponíveis no mercado são: fotoprotetores, retinóides, hidratantes, antioxidantes, hidroxiácidos, agentes clareadores, extratos de plantas, fatores de crescimento, **peptídeos/proteínas** e vitaminas/minerais (BASAVARAJ et al., 2017).

Sequências específicas de peptídeos bioativos podem ser utilizadas para aplicações no ramo farmacêutico e de cosméticos para cuidados da pele (FIELDS et al., 2009). O objeto de estudo deste trabalho são os peptídeos utilizados em cosmecêuticos.

Capítulo 2 – Objetivos Gerais e Específicos

Para alcançar um maior entendimento das atribuições dos peptídeos no mercado de cosméticos, funcionalidade e métodos de obtenção, foram feitas as seguintes pesquisas:

- Análise mercadológica da indústria de cosméticos, com informações sobre o histórico do setor, maiores *players* do momento, oportunidades de mercado e tendências atuais e futuras dos cosméticos e a aceitação do uso de peptídeos no mercado;
- Definições, aplicações de peptídeos e levantamento sobre alguns peptídeos utilizados na indústria atualmente, com informações sobre suas respectivas funções e utilizações como princípios ativos;

- Estudo tecnológico: Métodos de obtenção de peptídeos bioativos;
- Desenvolvimento de processos: Operações envolvidas na extração de peptídeos por hidrólise enzimática;

Capítulo 3 - Revisão Bibliográfica:

3.1 - Peptídeos – Definições

Peptídeos são biomoléculas formadas por ligações covalentes entre dois ou mais aminoácidos. De maneira geral são considerados peptídeos cadeias flexíveis que contenham até 50 aminoácidos (TERMO FISHER, 2017). Os peptídeos estão envolvidos na modulação de diversos processos cutâneos, como o de proliferação celular, migração celular, inflamação e síntese de proteínas. (FIELDS et al., 2009).

Em relação à funcionalidade, podem atuar como hormônios (ou fatores liberadores dos mesmos), neurotransmissores, neuropeptídios, toxinas, antibióticos naturais, substratos de proteases ou adoçantes. Estas biomoléculas são versáteis e possuem uma variedade de aplicações, tais como, no setor alimentício, farmacêutico, métodos analíticos para diagnósticos, nutracêutico e cosmético (MACHADO et al., 2004).

3.2 – Usos em Cosméticos

O ramo de utilização de peptídeos em cosméticos vem se expandindo devido a sua variedade de aplicações, já que estão envolvidos em todos os aspectos da homeostase da pele. Outro fator que estimula a aplicação destas moléculas em formulações cosméticas é o fato de elas serem capazes de modificação para se ajustar às necessidades de cada tipo de pele em diferentes condições (FIELDS et al., 2009). Os peptídeos são utilizados em dermocosméticos para tratamento de acne, rosácea, regeneração celular em tratamento de feridas e para a atenuação dos sinais de envelhecimento (HELIX BIOMEDIX, 2017).

Os ingredientes ativos contendo peptídeos que estão, atualmente, mais difundidos no setor da indústria cosmética são aqueles que estimulam a síntese de colágeno, como o Matrixyl® (Sederma), e os que atenuam as rugas de forma similar ao Botox®, como o Argireline® (Lipotec), ou seja, ativos utilizados em cosméticos para tratamento de sinais de

envelhecimento (FIELDS et al., 2009). A busca por uma aparência mais jovem e saudável tem se tornado mais intensa, e este é um fator que impulsiona a indústria de cosméticos anti-envelhecimento. O envelhecimento cutâneo é um processo natural, conforme o avanço da idade a síntese de colágeno e elastina diminui no organismo, mas fatores extrínsecos como estilo de vida agitado, poluição e consumo de cigarros e bebidas alcoólicas podem acelerar este processo (RAMOS-E-SILVA et al, 2013).

Existem disponíveis no mercado de cosméticos com diferentes tipos de peptídeos:

Peptídeos carreadores, peptídeos sinal (Ex: Matrixyl®), Neurotransmissores (Ex: Argireline®) Moduladores enzimáticos (Ex: proteínas de soja e arroz) (RAMOS-E-SILVA et al, 2013). Abaixo se encontram as definições segundo Gorouhi e Maibach (2009).

Peptídeos Carreadores: Se ligam a uma substância e facilitam o transporte para o sítio ativo. O primeiro peptídeo disponível no mercado foi um peptídeo carreador, cujo nome é GHK-Cu, composto por glicina, histidina e lisina ligada a cobre. Este peptídeo foi isolado do plasma humano e engenheirado sinteticamente. Foi originalmente designado para o transporte de cobre, com o objetivo de tratar feridas. Posteriormente o peptídeo foi adicionado a cosméticos para tratamento de rugas e marcas de expressão.

Peptídeos sinal: São os peptídeos mais utilizados em dermocosméticos. Eles possuem a capacidade de estimular a síntese de colágeno, elastina, fibronectina, proteoglicanos e glicosaminoglicanos, e desta maneira, podem ajudar a reparar os danos cutâneos causados pela idade. Um dos peptídeos sinais mais conhecidos é o palmitoil pentapeptídeo (Pal-KTTS), de nome comercial Matrixyl®, cuja função é induzir a produção de macromoléculas da matriz extracelular, e desta maneira proporcionar uma aparência mais jovem. Este peptídeo é composto pelos aminoácidos lisina, treonina e serina.

Peptídeos neurotransmissores: Inibem a liberação da acetilcolina na junção neuromuscular. O acetil hexapeptídeo-3, de nome comercial Argireline®, o pentapeptídeo-3, de nome comercial Vialox®, são exemplos de peptídeos neurotransmissores. O acetil hexapeptídeo-3 imita a parte N-terminal da proteína SNAP-25, inibindo a formação do complexo SNARE, que é o responsável pela liberação da acetilcolina que causa a contração muscular. Desta maneira ocorre o relaxamento muscular facial e consequentemente atenuação nas marcas de expressão. O pentapeptídeo-3 compete de maneira antagonista com a acetilcolina no seu receptor. Desta maneira reduz a contração muscular e a profundidade das rugas na face.

Peptídeos moduladores enzimáticos: Inibem a funcionalidade de enzimas chave em certos processos metabólicos. Alguns são extraídos de extratos botânicos e posteriormente engenheirados, como os peptídeos de proteína de arroz que inibem a atividade da metaloproteases (MMP). Estes peptídeos podem ser combinados com os outros tipos citados acima.

Na tabela 1 se encontram exemplos de peptídeos utilizados como ingrediente ativo na formulação de cosméticos e suas respectivas funções.

Tabela 1- Exemplos de peptídeos utilizados como ingredientes ativos em cosméticos.

Companhia	Nome	Atividade	Nome comercial	Fonte	Tipo
Lipotec	Acetil hexapeptídeo 3	Efeito Botox via inibição do complexo SNARE	Argireline®	Sintético	Neurotransmissor
Sederma	Palmitoil Oligopeptídeo	Síntese de colágeno via sinalização	Matrixyl™ 3000	Sintético	Sinal
Sederma	Palmitoil Tetrapeptídeo-7	Aumento da elasticidade da pele via redução de IL6	Matrixyl™ 3000, Rigin™	Sintético	Sinal
Grant Indust.	Oligopeptídeo 10	Proteção da derme	Granactive	Sintético	Carreador
Expanscience	*	Inibição de metaloprotease	Actimp	Vegetal (<i>Lupinus Albus</i>)	Modulador enzimático

Fontes: Expanscience, 2017, L.Zhang e T.J. Falla, 2009.

* não possui um nome específico, pois se trata de um extrato de peptídeos.

3.2.1 - Acetil Hexapeptídeo-3

O **acetil hexapeptídeo-3** (acetil- EEMQRR) é um peptídeo antirrugas inibidor de liberação de neurotransmissor, que tem a capacidade de relaxar o músculo de forma similar ao Botox®. Ele é um composto ativo de nome comercial Argireline® (Lipotec) utilizado em cosméticos com a finalidade de atenuar as marcas de expressão (KUMAR e GHIRNIKAR, 2006).

As marcas de expressão são causadas pelo esforço repetitivo do músculo ao longo dos anos. Elas ocorrem principalmente na testa, no canto dos olhos e ao redor da boca. O músculo, devido ao esforço repetitivo, fica hipertrofiado e com o tônus aumentado, e esta tensão muscular arrasta a pele para dentro (GALENA, 2011). A contração do músculo é consequência da liberação do neurotransmissor acetilcolina na terminação nervosa (COLHADO, BOEING e ORTEGA, 2009; SPOSITO, 2009) (figura 11).

O mecanismo envolvido na liberação dos neurotransmissores responsáveis pelas marcas de expressão é o complexo SNARE (BLANES-MIRA et al., 2002). Existem moléculas que agem no complexo SNARE que são capazes de relaxar o músculo que se encontra tensionado, e, portanto, são capazes de eliminar as marcas de expressão.

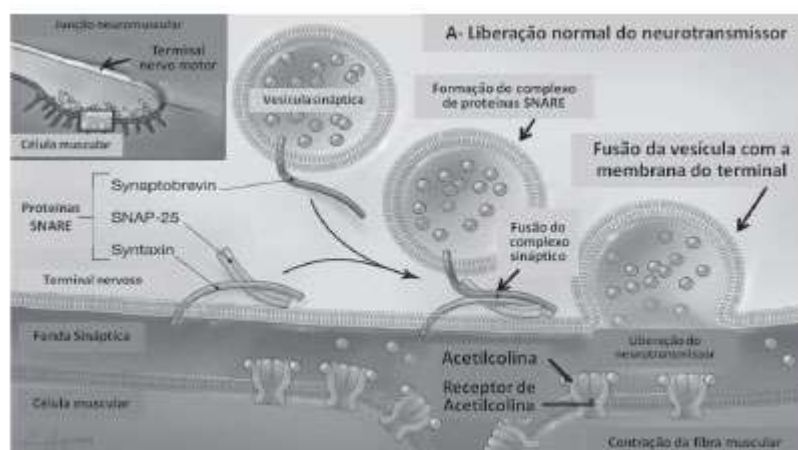


Figura 1- Mecanismo de liberação da acetilcolina. Fonte: Sposito, 2009.

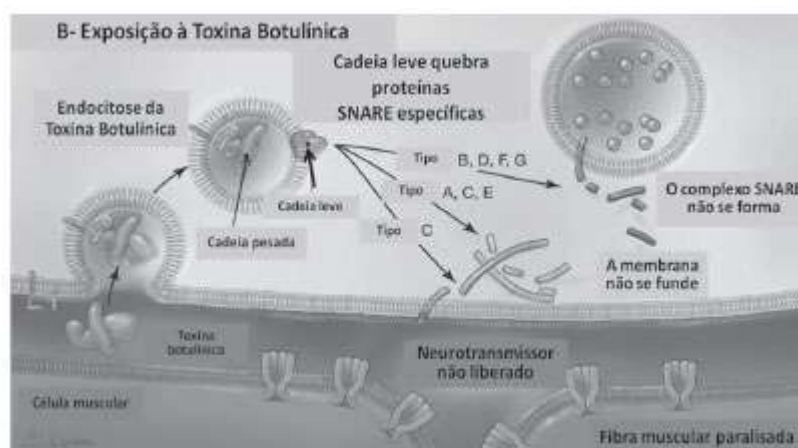


Figura 2- Mecanismo de ação da toxina botulínica. Fonte: Sposito, 2009.

A toxina botulínica (BoNT) é amplamente utilizada no tratamento antirrugas. Esta substância atua de maneira efetiva nas marcas de expressão. A BoNT age no complexo

SNARE, quando esta substância entra no organismo hospedeiro, é clivada em dois fragmentos. O mais leve dos fragmentos cliva uma proteína alvo, impedindo a formação do complexo, e, portanto, a liberação de neurotransmissores contidos na vesícula sináptica, que são responsáveis pela contração muscular. O fragmento mais pesado se liga a neurônios motores, fazendo com que aconteça a paralisia muscular. Nessas condições o músculo fica na forma relaxada, e a pele fica aparentemente mais jovem (figura 12) (COLHADO, BOEING e ORTEGA, 2009; SPOSITO, 2009).

Apesar dos efeitos satisfatórios, o tratamento com esta toxina necessita de rígido acompanhamento por conferir toxicidade na concentração testada (BLANES-MIRA et al., 2002). O acetil hexapeptídeo-3 é um potencial substituto, pois possui efeitos antirrugas semelhantes aos da toxina botulínica, e não confere toxicidade. Este peptídeo tensor imita a extremidade N-terminal da proteína SNAP-25, competindo com a proteína natural para uma posição no complexo SNARE. Desta maneira, o complexo não é formado e portanto não acontece a contração muscular responsável pela formação das rugas (BLANES-MIRA et al., 2002). Este peptídeo é composto de três aminoácidos, ácido glutâmico, arginina e metionina (figura 13).

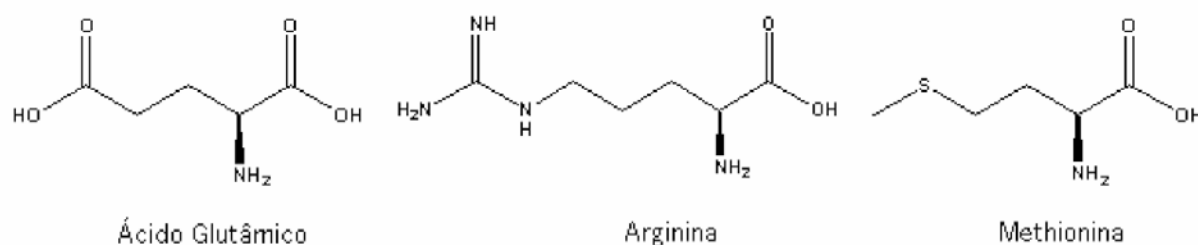


Figura 3- Aminoácidos que compõem o Argireline®. Fonte: Galena, 2011

O composto ativo Argireline®, além possuir efeito antirrugas, também a propriedade de estimular a produção de fibroblastos, que retarda o envelhecimento cutâneo (GALENA, 2011).

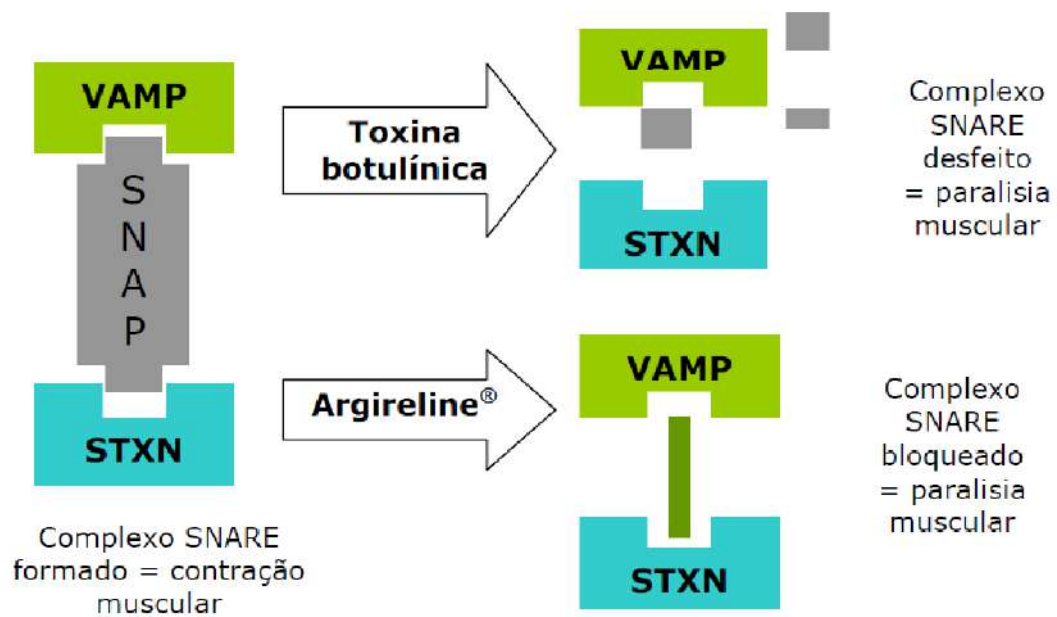


Figura 4- Toxina botulínica vs Argireline® Fonte: Galena, 2011

Testes de comprovação de eficácia do Argireline:

- **Testes *in vitro*:**

Avaliação da vitalidade e morfologia de culturas de fibroblastos tratadas com Argireline®.

Este foi um dos testes *in vitro* realizado. Culturas de célula humana foram feitas em conjunto com o Argireline®, em um período de cinco dias em diferentes concentrações. De acordo com o resultado mostrado na figura 15, pode-se concluir que houve a estimulação de fibroblastos, que são as células responsáveis pela síntese de compostos fibrilares (colágeno e elastina) e não fibrilares (glicosaminoglicanos e proteoglicanos) da matriz extracelular. Quanto maior a concentração do produto maior a estimulação.

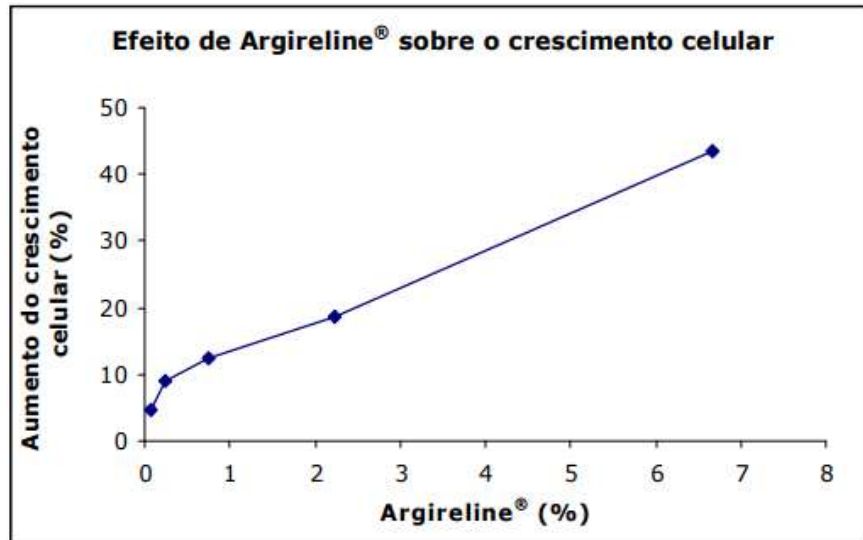


Figura 5-Efeito do Argireline® no aumento de fibroblastos, em um período de incubação de cinco dias, em diferentes concentrações. Fonte: Galena, 2011.

É possível observar na figura 16 que a coloração das células tratadas com Argireline® está mais intensa do que as células do controle e com melhor formação. A partir desta observação conclui-se que com o uso do composto ativo houve maior proliferação do número de fibroblastos.



Figura 6- Observação em microscopia eletrônica das fibras de fibroblastos tratados com Argireline®. Incubação feita em um período de cinco dias. Fonte: Galena, 2011.

- **Testes *in vivo*:**

Foi feito um teste do efeito antirrugas em 10 voluntárias saudáveis. Para isto foi aplicada uma emulsão O/A contendo 10% de Argireline® na região ao redor dos olhos por um período de 30 dias, duas vezes ao dia. Uma análise topográfica da pele foi feita para avaliar a eficácia do produto. A partir das figuras 17 e 18 é possível observar a diminuição da profundidade das rugas de uma voluntária de 38 anos nos períodos de 15 e 30 dias de uma voluntária de 45 anos no período de 15 dias, respectivamente. Na publicação realizada pela GALENA (2011) foi relatado que em todas as voluntárias houve redução de até 27% de rugas no período de 30 dias.

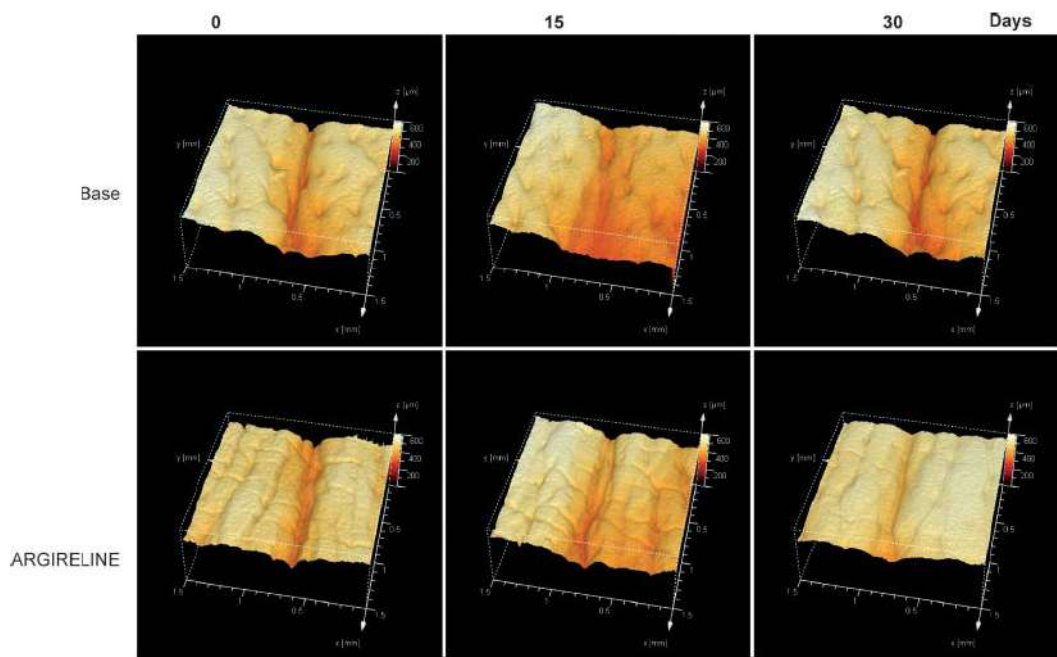


Figura 7- Resultado da análise topográfica da pele localizada na região dos olhos de uma voluntária de 38 anos, nos períodos de quinze e trinta dias de utilização do Argireline®. Fonte: Galena, 2011.

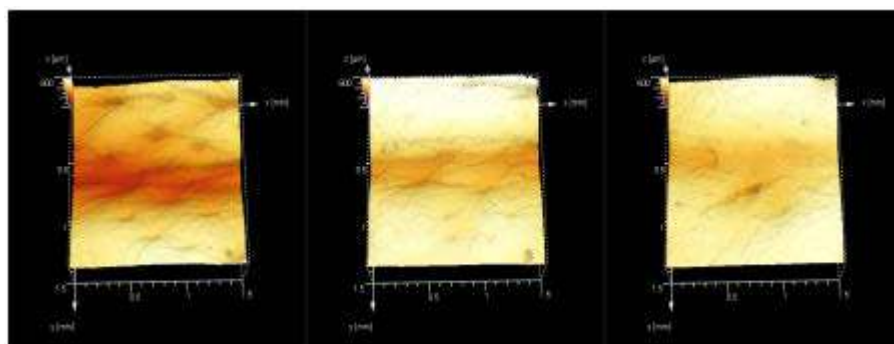


Figura 8- resultado da análise topográfica da pele localizada na região dos olhos de uma voluntária de 45 anos para a avaliação da eficácia do Argireline® no período de 15 dias. Fonte: Galena, 2011.

3.2.2 - Peptídeos-Matriquinas

As matriquinas são peptídeos mensageiros originados de fragmentos de proteínas da matriz extracelular (figura 19). As matriquinas regulam a atividade celular quando ligados a receptores celulares específicos, para ativar genes envolvidos no processo de cicatrização. Dentre as atividades reguladas se destacam o recrutamento de fibroblastos, localização e ancoragem de queratinócitos, síntese da matriz extracelular e proliferação celular. Uma das possíveis utilizações das matriquinas é o uso em cosméticos de rejuvenescimento e em lesões na pele (SEDERMA, 2017; WELLS, GAGGAR e BLALOCK, 2015).

Com o avanço da idade, a síntese de proteínas como colágeno e elastina diminuem na derme. A produção de compostos fibrilares da junção dermo-epidérmica, que é responsável pela ancoragem da epiderme com a derme, também é afetada pela exposição ao sol e avanço da idade. Com o passar dos anos acontece a atrofia dessa junção, enfraquecendo a coesão da derme e epiderme, então a pele fica pregueada, mostrando os sinais de envelhecimento cutâneo (EXPANSCIENCE, 2017; MONDON et al., 2015).

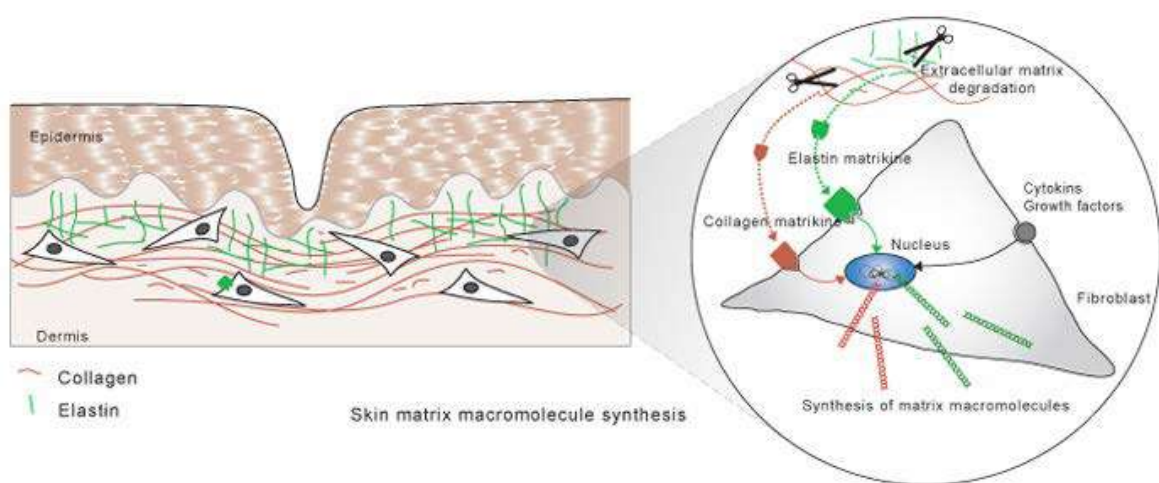


Figura 9- Ação das matriquinas. Fonte: Sederma, 2017

O palmitoil tetrapeptídeo e o palmitoil oligopeptídeo são exemplos de peptídeos-matriquinas. O **Matrixyl™ 3000** é um composto ativo comercializado na indústria que contém o palmitoil tetrapeptídeo-7 e o palmitoil oligopeptídeo, que agem sinergicamente para reparar os danos do envelhecimento cutâneo, regulando a expressão dos marcadores de senescência SA β -galactosidase e progerina e estimulando a síntese das proteínas Colágeno-I, -IV, -VII, -XVII e Nidógeno-I, que são proteínas encontradas na derme e na junção dermo-epidermal (SEDERMA, 2017).

3.2.3 - Palmitoil Oligopeptídeo

O palmitoil oligopeptídeo (Pal- GHK), mostrado na figura 10, é formado através da reação do ácido palmítico com o peptídeo sintético GHK (fragmento do colágeno tipo 1), que contém os aminoácidos glicina, histidina, lisina. Este peptídeo estimula a síntese de colágeno e glicosaminoglicanos via sinalização (COSMETIC INGREDIENTS REVIEW, 2012).

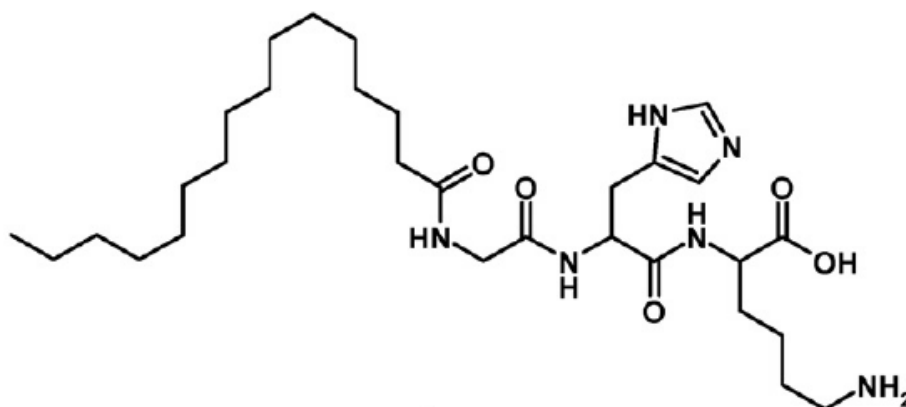


Figura 10-Estrutura do palmitoil oligopeptídeo. Fonte: Chirita et al., 2009.

3.2.4 - Palmitoil Tetrapeptídeo-7

O palmitoil tetrapeptídeo, mostrado na figura 11, é formado pela reação da cadeia de aminoácidos composta por glicina-glutamina-prolina-arginina (conhecida como peptídeo GQPR), com o ácido palmítico. A parte relativa ao tetrapeptídeo é um fragmento natural da imunoglobulina IgG. Este peptídeo aumenta a elasticidade da pele via redução de IL6. (COSMETIC INGREDIENTS REVIEW, 2012).

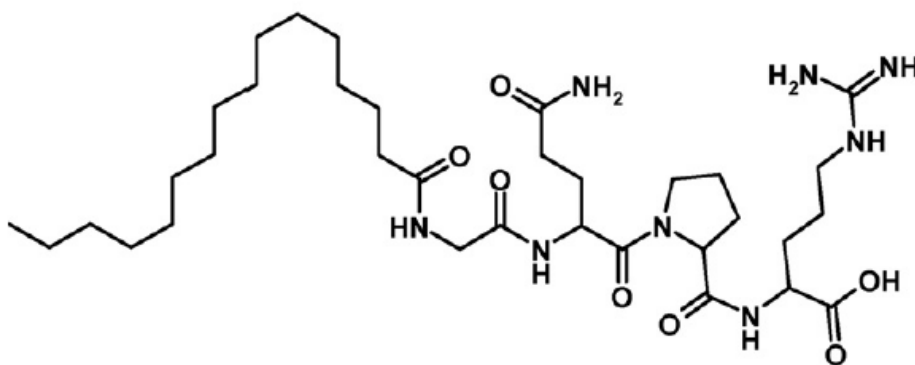


Figura 11- Estrutura do palmitoil tetrapeptídeo-7. Fonte: Chirita et al., 2009.

Testes de Eficácia do Matrixyl® 3000: Alguns testes foram feitos pelo fabricante para mostrar a eficácia do produto. Os mecanismos de ação do produto apresentados neste trabalho não são de fontes independentes, ou seja, são dados que foram divulgados pela própria empresa fabricante do produto.

- **Testes *in vitro*:** Síntese das macromoléculas da matriz extracelular:

Este foi um dos testes *in vitro* realizados pela empresa (figura 12). Para a realização deste estudo, o composto Matrixyl® 3000 ficou encubado por 72h sendo testado em concentrações de 1%, 3% e 5% na presença de fibroblastos. A partir da análise da figura é possível observar que houve o aumento na síntese de colágeno 1, fibronectina e ácido hialurônico, que são compostos essenciais para a manutenção de uma pele jovem e saudável.



Figura 12-Teste realizado com diferentes concentrações de Matrixyl® 3000 na presença de células de fibroblastos para verificação da síntese de compostos da matriz extracelular. Fonte: Sederma (e).

- **Testes *in vivo*:** Eficácia antirrugas:

Para este estudo foram selecionadas 23 voluntárias com idades entre 39 e 74 anos, onde fizeram a aplicação de um creme com a composição de 3% de Matrixyl® 3000 ou 3% de Matrixyl®, duas vezes ao dia em metade da face, para fazer comparação com placebo (figura 13). O Matrixyl® é outro composto ativo a base de peptídeos bioativos comercializado pela Sederma. Após o período de dois meses foi feita a avaliação da eficácia do produto em relação à atenuação dos sinais de envelhecimento, por meio de profilometria e fotografias, comparando com o T0 (figura 14).

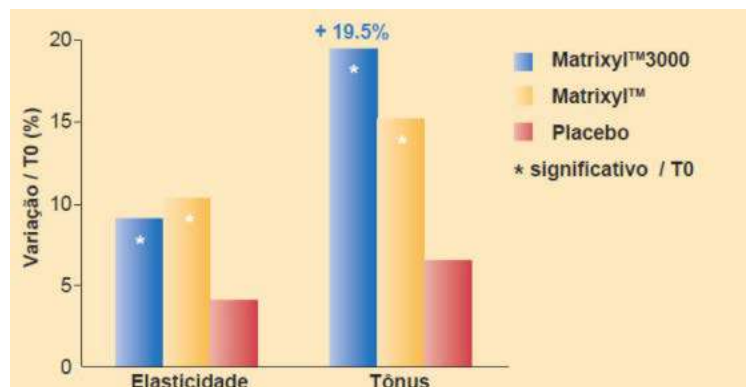


Figura 13- Comparação entre o Matrixyl ® 3000, Matrixyl® e placebo no aumento da elasticidade e tônus da pele. Fonte: Sederma (e).



Figura 14- Fotografias comparativas para avaliação do efeito do Matrixyl™ 3000 em T0 e T56. Fonte: Sederma (d).

3.2.5 - Oligopeptídeo -10

O oligopeptídeo-10 (figura 15) possui propriedade antimicrobiana, devido à atividade contra a *Propionibacterium acnes*, que é uma bactéria causadora da acne, sendo eficaz no tratamento desta condição. Ele causa a morte celular deste micro-organismo se ligando à elementos negativamente carregados da superfície da bactéria, permitindo o acesso a membrana citoplasmática causando desequilíbrio osmótico letal. Além disto, o peptídeo também age neutralizando componentes inflamatórios liberados por bactérias, reduzindo a vermelhidão, pois se liga ao ácido lipoteicoico (LTA), que é uma toxina pró-inflamatória liberada por bactérias Gram-positivas (figura 16) (FIELDS et al.,2009). O oligopeptídeo-10 é derivado de aminoácidos presentes em plantas que possuem sinergia com o ácido salicílico e possuem ação contra outros tipos de micro-organismos. Estudos clínicos realizados pela empresa mostraram que este peptídeo reduz a vermelhidão da pele causada pela acne e

desobstrui os poros (HELIX BIOMEDIX, 2017). Estudos também mostraram que este peptídeo possui ação no tratamento de rosácea, que é uma condição da pele em que o indivíduo apresenta vermelhidão e algumas vezes inchaço (ZHANG et al., 2011). Um ativo que contém o oligopeptídeo-10 é o Granactive™ ACNE, que combina este peptídeo com ácido salicílico e o Grant's Invisiskin™ que é um produto usado para aumentar a transferência de compostos bioativos (HELIX BIOMEDIX, 2006).

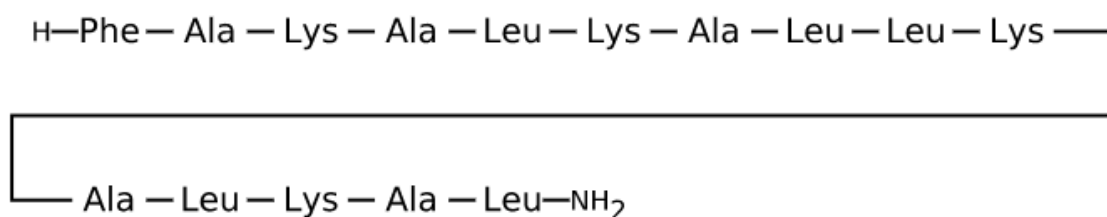


Figura 15- Oligopeptídeo-10. Fonte: PubChem, 2017

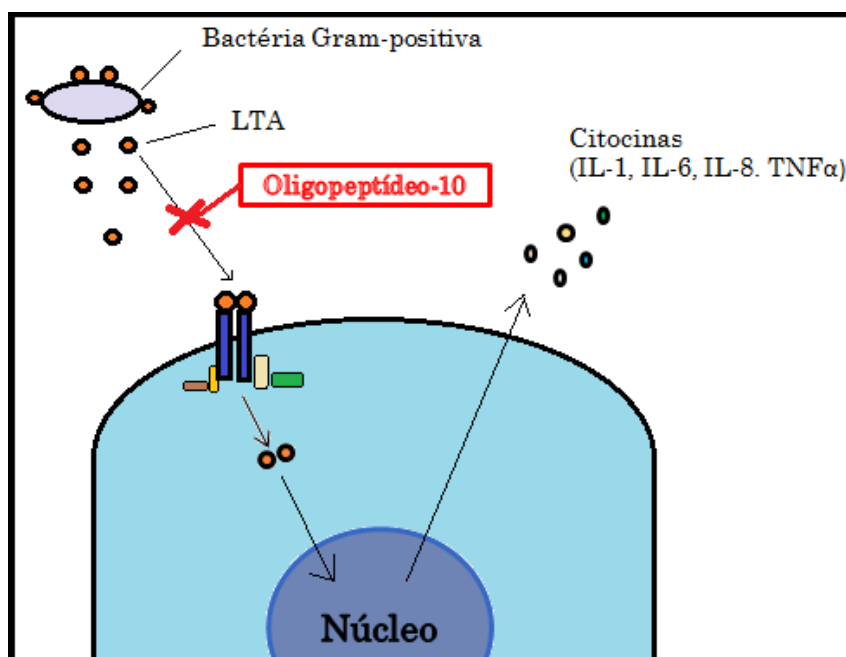


Figura 16- Cascata inflamatória induzida por LTA. Fonte: Zhang. et al., 2011.

- **Teste de Eficácia do Produto:** Alguns testes foram feitos pelo fabricante para mostrar a eficácia do produto. Os mecanismos de ação do produto apresentados neste trabalho não são de fontes independentes, ou seja, são dados que foram divulgados pela própria empresa.

Cinco testes de painel humano foram conduzidos, tendo como voluntárias pessoas com estado moderado e grave condições de acne. Para isto foi feita a comparação dos resultados obtidos de aplicações de emulsão na pele contendo na formulação benzoil peróxido, que é uma substância usada para tratar pele com acne, e aplicações de emulsão a base de Granactive™. O produto contendo o Granactive™ se mostrou mais eficaz na redução dos comedões (popularmente conhecidos como cravos). O estudo obteve como resultado e diminuições dos comedões em sete dias de tratamento, sendo os dois produtos obtiveram resultados similares, porém o Granactive™ mostrou uma melhora mais rápida (SCIENCE LETTER, 2006). Em três dias de tratamento com o Granactive™ houve redução de lesões inflamatórias e não inflamatórias da pele (HELIX BIOMEDIX, 2017).

3.2.6 - Extrato de Peptídeos Oriundos do Lupino-Branco (*Lupinus albus*)

O lupino-branco, popularmente conhecido como tremço-branco, é uma leguminosa oriunda da Europa, cujas sementes são ricas em proteínas. O extrato de peptídeos desta planta possui propriedades antimetaloprotease. As metaloproteases são uma família de endopeptidases que estão envolvidas em processos como de degradação de tecidos conectivos da matriz extracelular, como colágeno, proteoglicanos e fibronectinas. No organismo estas metaloproteinasas participam da cicatrização, eliminando os tecidos danificados, porém podem estar relacionadas a condições patológicas quando há uma disfunção na produção dessas enzimas, como no caso de doenças inflamatórias como a artrose e também aumento no excesso de degradação do colágeno, o que acelera o envelhecimento. A inserção do extrato de peptídeos do lupino, cujo nome comercial é Actimp®, em cosméticos tem por objetivo restaurar a elasticidade da pele e reforçar a junção da derme e epiderme, para preservar a firmeza e a tonicidade da pele. O Actimp® age inibindo as metaloproteases, estimulando a síntese de compostos da junção dermal-epidermal, como o colágeno IV e a laminina-5, e aumentando a expressão de componentes-chave da matriz extracelular, como o colágeno I e III. (EXPANSCIENCE, 2017).

- **Testes de Eficácia do Produto:** Alguns testes foram feitos pelo fabricante para mostrar a eficácia do produto. Os mecanismos de ação do produto apresentados neste trabalho não são de fontes independentes, ou seja, são dados que foram divulgados pela própria empresa fabricante do produto.

Foram feitos testes utilizando explantes de células humanas com aplicação tópica de 0.2% de ACTIMP® Powder com 7 a 10 dias de duração.

- Verificação da expressão de compostos-chave da junção dermo-epidermal:

Observando as figuras 17 e 18 é possível aferir que houve um aumento de 31% na expressão da Laminina 5 e um aumento de 219% do colágeno IV, que são compostos de suma importância para o fortalecimento da junção dermo-epidermal.

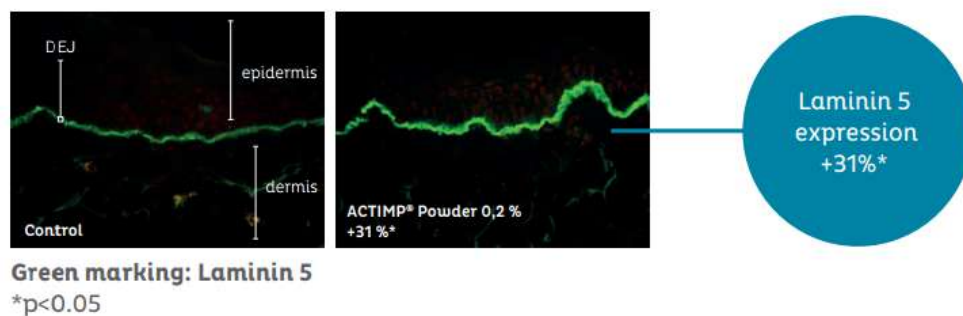


Figura 17- Teste feito utilizando marcadores de imunofluorescência de Laminina 5. A esquerda se encontra o teste feito com o explante de pele humana sem a adição do ACTIMP® Powder (controle) e a direita com a adição de 0,2% ACTIMP® Powder. Fonte: EXPANSCIENCE, 2017.

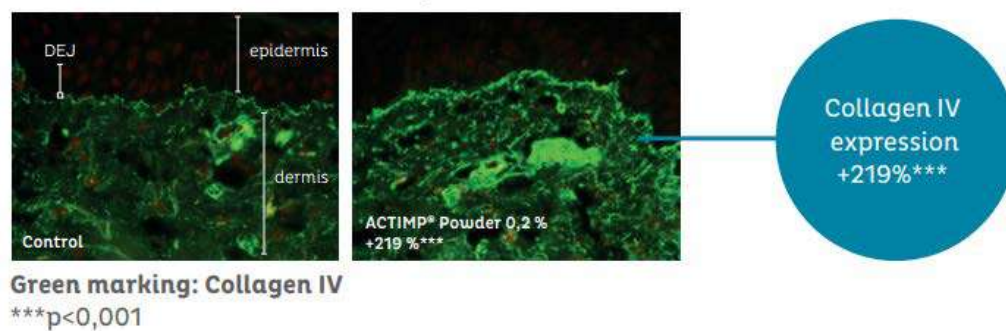


Figura 18- Teste feito utilizando marcadores de imunofluorescência de colágeno IV. A esquerda se encontra o teste feito com o explante de pele humana sem a adição do ACTIMP® Powder (controle) e a direita com a adição de 0,2% ACTIMP® Powder. Fonte: EXPANSCIENCE, 2017.

- Verificação da expressão de compostos essenciais da derme:

Observando as figuras 19 e 20 é possível aferir que houve um aumento de 102% na expressão de colágeno I e um aumento de 76% do colágeno IV, que são compostos de suma importância para a manutenção da derme.

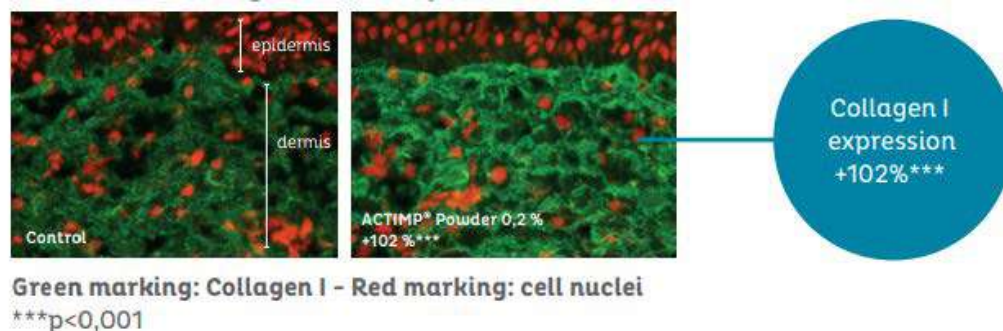


Figura 19- Teste feito utilizando marcadores de imunofluorescência de colágeno I. A esquerda se encontra o teste feito com o explante de pele humana sem a adição do ACTIMP® Powder (controle) e a direita com a adição de 0,2% ACTIMP® Powder. Fonte: EXPANSCIENCE, 2017.

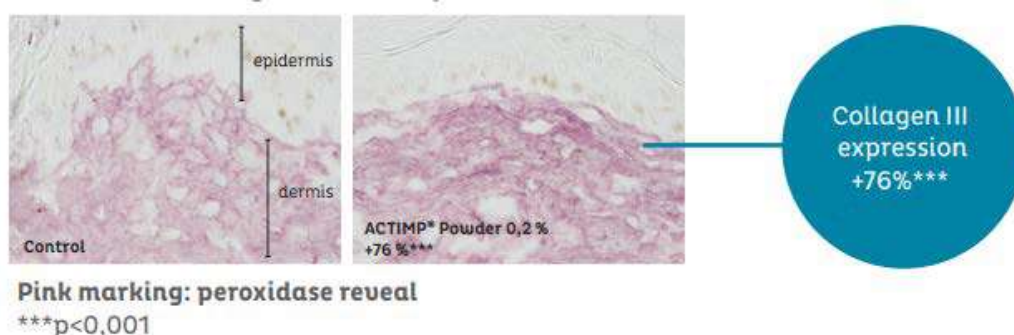


Figura 20- Teste feito utilizando marcadores de imunofluorescência de colágeno I. A esquerda se encontra o teste feito com o explante de pele humana sem a adição do ACTIMP® Powder (controle) e a direita com a adição de 0,2% ACTIMP® Powder. Fonte: EXPANSCIENCE, 2017.

- Verificação da inibição das metaloproteases:

Foram feitos ensaios para verificar a liberação de metaloproteases na irradiação de UVA sobre os fibroblastos. Foram utilizadas células de fibroblatos tratadas com 0,2% de ACTIMP® Powder e células não tratadas (controle). Em comparação com o controle, as células tratadas com o princípio ativo mostraram a redução de 97% da metaloprotease 1 (colagenase), que causa danos no colágeno I e III, 98% de redução da metaloprotease 3, que danifica glicoproteínas e proteoglicanos da matriz extracelular e 100% de redução na metaloprotease 9 (gelatinase), que causa danos ao colágeno IV (EXPANSCIENCE, 2017).

3.3 - Métodos de Produção

Os peptídeos mais utilizados em cosméticos geralmente são obtidos a partir de **síntese**, principalmente síntese química, como no caso do Argireline® e Matrixyl™, ou da **hidrólise**

de proteínas de origem animal (proteínas do leite e de músculo) ou vegetal. como no exemplo das proteínas de soja e do lupino. (APONE et al., 2010; ZAMBROWICZ et al., 2012).

3.3.1 - Obtenção de Peptídeos a Partir de Síntese:

A síntese de peptídeos se dá pela ligação peptídica entre aminoácidos. Ela permite o uso da criatividade para se gerar peptídeos otimizados com funções biológicas de interesse (TERMO FISHER, 2017). A síntese de peptídeos pode ser através de síntese química, síntese enzimática ou síntese via tecnologia de DNA recombinante, conforme mostrada abaixo.

3.3.1.1 - Síntese Química:

No método da síntese química a ligação peptídica é mediada por um reagente químico, onde o grupo α -amino de um aminoácido ou fragmento peptídico faz um ataque nucleofílico para ativar o ácido carboxílico em outro N^α -acil-fragmento peptídico ou N^α -acil-aminoácido. A síntese pode acontecer em solução ou em fase sólida (figura 21). A síntese em fase sólida é preferida na indústria devido à maior praticidade (MACHADO et al., 2004). As diferenças entre a síntese clássica e a síntese em fase sólida estão mostradas na tabela 2.



Figura 21- Modalidades e estratégias da síntese química. Fonte: Machado et al., 2004

Tabela 2- Diferenças entre a síntese clássica e síntese em fase sólida. Fonte: Machado et al., 2004, Nakaie, 2017

Síntese Clássica	Síntese em Fase Sólida
A α -carboxila do receptor de acila é esterificada ou amidada.	A α -carboxila do receptor de acila se liga covalentemente a uma resina ou suporte polimérico.

O crescimento da cadeia de peptídeos ocorre em qualquer direção ($N \rightarrow C$ -terminal ou $C \rightarrow N$ -terminal).	A adição de aminoácidos ocorre na maioria das vezes na direção $C \rightarrow N$ -terminal.
É mais trabalhosa, necessita de um grupo protetor para a extremidade carboxila e requer purificação em cada etapa.	Em vez de um grupo protetor, a extremidade C terminal é acoplada a um suporte ativo (geralmente de poliacrilamida ou poliestireno). O suporte age como um grupo protetor e ao mesmo tempo facilita a separação do peptídeo formado do restante do substrato, cujos resíduos são eliminados por filtração.

- **Síntese Clássica de Peptídeos:**

Estratégia t-Boc

A proteção do grupo α -amino dos doadores de acila é feita com a substância chamada t-butiloxicarbonila, que é instável na presença de ácido trifluoroacético (TFA). As cadeias laterais reativas dos doadores de acila são então bloqueadas por grupos estáveis ao TFA e instáveis a ácidos inorgânicos ou hidrogenólise (MACHADO et al., 2004). Após o acoplamento entre aminoácidos as cadeias laterais são desprotegidas.

Estratégia Fmoc

A proteção do grupo α -amino dos doadores de acila é feita com a substância chamada 9-fluorenilmetoxicarbonila que é estável ao TFA e instável a bases orgânicas. As cadeias laterais reativas dos doadores de acila são então bloqueadas por grupos estáveis à base orgânica escolhida e instáveis ao TFA (MACHADO et al., 2004). Após o acoplamento entre aminoácidos as cadeias laterais são desprotegidas.

- **Síntese de Peptídeos em Fase Sólida:**

Estratégia t-Boc:

A clivagem do peptídeo acoplado a resina e a remoção dos grupos protetores de cadeia lateral são feitas com ácido fluorídrico anidro ou ácido trifluorometanosulfônico (TFMSA) com ácido trifluoroacético (TFA), na presença de supressores de reações colaterais, como o-cresol. As ligações entre o suporte e a sequência de peptídeos são estáveis na presença de TFA e instáveis na presença de ácidos inorgânicos. A resina é então lavada e a cadeia de peptídeos extraída com solução ácida. Posteriormente é feita a liofilização para concentrar os peptídeos (MACHADO et al., 2004, NAKAIE, 2017).

Estratégia Fmoc:

Utiliza-se espaçador químico entre o peptídeo e o suporte, permitindo o uso de ácidos mais fracos para a clivagem, como o TFA. As ligações entre o suporte e a sequência de peptídeos são instáveis na presença de TFA e estáveis na presença de bases orgânicas. A resina é lavada e o extrato contendo peptídeos é extraído com éter etílico, onde a solução ácida é evaporada e dissolvida novamente em meio ácido mais fraco e posteriormente é liofilizada (MACHADO et al., 2004, NAKAIE, 2017).

3.3.1.2 - Síntese Enzimática:

Neste método a ligação peptídica ocorre mediante a presença de uma enzima livre ou imobilizada, oferecendo vantagens em comparação com a síntese química, tais como, maior seletividade, ausência de racemização e possibilidade de emprego de reatores para produção em larga escala (MACHADO et al., 2004).

3.3.1.3 - Síntese Via Tecnologia de DNA Recombinante:

De maneira geral, utilizam-se micro-organismos modificados como sistemas de expressão gênica e métodos de clonagem para a produção de peptídeos recombinantes, sendo possível a produção em larga-escala (MACHADO et al., 2004). Pode ser utilizada como alternativa à produção de peptídeos bioativos por hidrólise de proteínas de origem alimentícia, que possuem o teor proteico como fator limitante (ZAMBROWICZ et al., 2012).

- **Estratégia de Criação de Peptídeos: Design Racional:**

Os domínios funcionais identificados de proteínas nativas servem como modelos potenciais para o desenho de peptídeos. O design racional de peptídeos envolvendo sequências de domínio funcional nativo é uma abordagem promissora para o desenvolvimento de biomateriais funcionais (HUANG e SUN, 2010). Design racional é a estratégia de criar novas moléculas com certa funcionalidade, com base na capacidade de prever como a estrutura da molécula afetará seu comportamento através de modelos físicos. Isso pode ser feito a partir do zero ou fazendo variações calculadas em uma estrutura conhecida, e geralmente é contrastado com a evolução direcionada. Um exemplo de peptídeo que utilizou as técnicas do design racional é o acetil hexapeptídeo-3, que foi desenhado com base na proteína SNAP-25 do complexo SNARE.

3.3.2 - Obtenção de Peptídeos Bioativos a Partir de Hidrólise de Proteínas:

Os peptídeos bioativos quando presentes na cadeia proteica se encontram na forma inativa e passam a apresentar atividade quando são liberados na hidrólise de proteínas (BERNARDINI et al., 2011 apud LUNA-VITAL et al., 2015). Os compostos hidrolisados proteicos são na sua maioria oriundos de hidrólise alcalina, hidrólise ácida ou hidrólise enzimática (HIJAZIN, SIMÕES e SILVEIRA, 2010).

3.3.2.1 - Hidrólise química (alcalina ou ácida):

Nas hidrólises alcalina e ácida pode ocorrer a degradação parcial de certos aminoácidos e digestão das ligações de amida da asparagina e glutamina, além de estes métodos necessitarem de posterior neutralização, o que aumenta a quantidade de sais em solução (ROSSI, 2007). Outra desvantagem é a dificuldade do controle de qualidade do produto obtido. As vantagens deste tipo de hidrólise são a rapidez, alta recuperação proteica e baixo custo (FIRMINO, 2013).

3.3.2.2 Hidrólise enzimática:

A hidrólise enzimática possui vantagens em relação aos outros tipos de hidrólise, como a especificidade, produção de hidrolisados mais homogêneos, menor quantidade de sal no hidrolisado e operação com condições brandas (HIJAZIN, SIMÕES e SILVEIRA, 2010).

A vantagem em relação aos peptídeos sintéticos é a maior segurança toxicológica, alto espectro de atividade e menores chances de efeitos colaterais (ZAMBROWICZ et al., 2012).

Por outro lado, comparando com os métodos de síntese, possui a desvantagem da dificuldade operação em larga-escala, devido à falta de tecnologia e altos custos de purificação (ZAMBROWICZ et al., 2012). Outro fator observado é que algumas fontes produzem quantidades muito pequenas de peptídeos, sendo necessária grande quantidade de matéria-prima (MACHADO et al., 2004). O ideal para este método são matérias-primas com alto teor proteico e baixo custo, e também a utilização de uma fonte enzimática barata. Zambrowicz e colaboradores (2012) sugeriram a utilização de enzimas imobilizadas, para possibilitar a reciclagem das mesmas, reduzindo assim os custos e também sugeriu a utilização de processo contínuo em vez da batelada convencional. Outra abordagem sugerida é a utilização de matérias-primas residuais da indústria de alimentos para a geração de peptídeos bioativos, sendo uma boa alternativa para reaproveitamento dos resíduos, além de diminuir os custos de produção (ZAMBROWICZ, 2012).

Diferentes tipos de proteases podem ser utilizadas para a geração de peptídeos bioativos, como a Alcalase®, papaína, tripsina, dentre outras (LUNA-VITAL et.al., 2015). Existem fatores que influenciam o resultado da geração de peptídeos por hidrólise enzimática, como condições de extração, pré-tratamento e especificidade da enzima escolhida (LUNA-VITAL et.al., 2015).

3.3.3 – Purificação de Peptídeos

Dentre as técnicas de purificação mais utilizadas para peptídeos, se destacam a cromatografia em gel, cromatografia de troca iônica e cromatografia líquida de alta eficiência por fase reversa (CLAE-FR). A CLAE-FR é uma técnica cara, sendo aconselhável para uma produção em larga-escala realizar um procedimento cromatográfico com custo inferior, como troca iônica, sendo possível combinar mais de um procedimento cromatográfico (ANDERSSON, 2000). Para obtenção de frações com alto grau de pureza e com maior atividade, como no caso de peptídeos para fármacos, utiliza-se a cromatografia por exclusão molecular (FIRMINO, 2013). Outro método de purificação utilizado é o de ultrafiltração, podendo ser considerado para concentrar os peptídeos antes do procedimento da liofilização (ANDERSSON, 2000). Para a identificação de peptídeos pode-se utilizar espectrômetro de massa associado ao HPLC (FIRMINO, 2013).

Capítulo 4 – Estudo Mercadológico

4.1- Estudo Mercadológico da Indústria de Cosméticos

A indústria de cosméticos é um setor promissor para se investir, visto que apresenta crescimento mesmo em épocas de crises econômicas (figura 22). Nos anos compreendidos entre 2008 e 2009 houve uma forte crise financeira mundial, que teve início nos Estados Unidos, desencadeada pela desvalorização dos ativos *subprime* (hipotecas de alto risco) e apesar da brusca queda de crescimento, não houve déficit de crescimento no setor (CINTRA, 2016). Nos anos compreendidos entre 2011 e 2012 a taxa de crescimento permaneceu constante, e nos anos 2013 e 2014 houve novamente uma queda. Isto pode ser explicado pela crise europeia que se iniciou em 2011, que foi se agravando, atingindo o restante do mundo, sendo que o mundo ainda estava sofrendo os efeitos da crise de 2008 (LENZNER, 2011). Segundo Mantega, ex-ministro da fazenda, o ano de 2013 foi considerado o segundo pior ano para a economia mundial depois de 2008 (AMORA e BORBA, 2013). Em 2015 houve aumento na taxa de crescimento em relação ao ano anterior, que pode ser visto como reflexo da recuperação das principais economias mundiais. Em 2016 o mercado global de cosméticos cresceu 4% em relação ao ano anterior, alcançando um valor de mercado estimado em 205 bilhões de euros (L'ORÉAL, 2017).

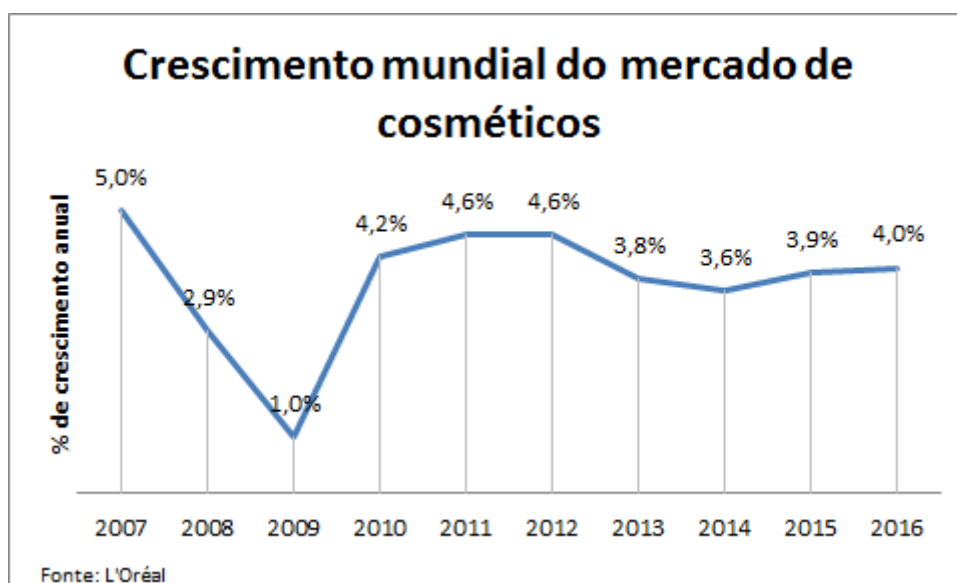


Figura 22- Crescimento mundial do mercado de cosméticos. Adaptado de: L'Oréal, 2017.

Na atualidade a L'Oreal é a maior *player* mundial no mercado de cosméticos, atrás dela vêm a Unilever, Procter & Gamble, Estée Lauder e a Shiseido. O faturamento das vendas mundiais de cada uma destas companhias no ano de 2016 pode ser visto na figura 23.

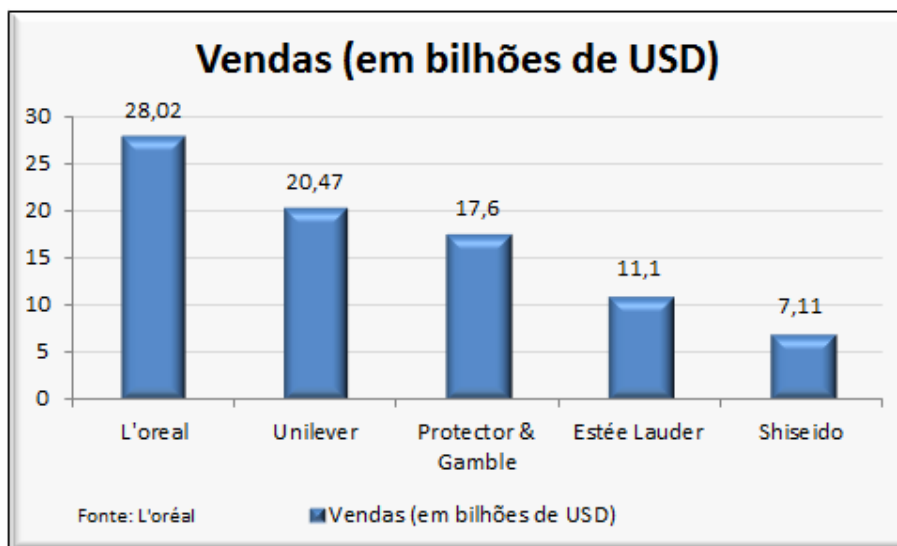


Figura 23- Vendas em 2016 dos cinco principais players da indústria mundial de cosméticos. Adaptado de: L'Oréal, 2017.

Em relação aos fornecedores, os 10 principais ocupam 40% do valor total do mercado global de cuidados pessoais. Dentre eles se destacam a BASF, Dow Corning, Croda e Asland (IN-COSMETICS, 2016).

Os segmentos de maior importância do mercado mundial de beleza são: Maquiagem, cuidados para cabelos, cuidados para pele, fragrâncias e artigos de higiene pessoal. A categoria de **cuidados para a pele** foi a que liderou o ranking de produtos mais vendidos, ocupando 36% do mercado global (figura 24), sendo também considerada a mais lucrativa. O crescimento projetado de valor de mercado é avaliado em 20,1 bilhões de dólares entre 2014 e 2019. Os produtos que vêm recebendo forte expectativa de crescimento no mercado são os protetores solares e cosméticos antienvelhecimento, devido à conscientização por parte dos consumidores sobre os danos causados pela exposição do sol e a preocupação com uma aparência mais jovem e saudável (STATISTA, 2017). Os cosméticos multifuncionais também estão ganhando espaço no setor. Estes produtos podem conter ação hidratante, antienvelhecimento, proteção solar, pigmentação e outros benefícios ao mesmo tempo (IN-COSMETICS, 2016). Um exemplo disto são os *BBcreams* que possuem ação hidratante, proteção solar e pigmentação.

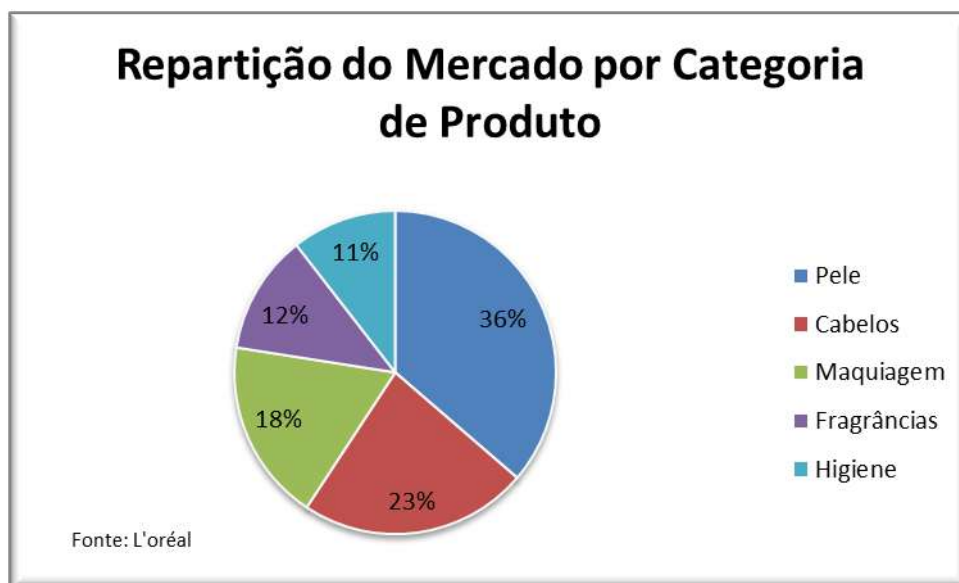


Figura 24- Repartição do mercado de cosméticos por categoria. Adaptado de: L'Oréal, 2017

Os países que obtiveram a maior porcentagem de consumo mundial em higiene pessoal, perfumaria e cosméticos (HPPC) foram os EUA, China, Japão e Brasil no ano de 2016 (figura 25). O Brasil obteve 6,6% de participação no mercado de HPPC e é responsável por cerca de 2,8% da população mundial, o que mostra o tamanho da importância do país neste segmento. Segundo o IBGE o setor de HPPC é responsável por 1,8% do PIB brasileiro. (ABIHPEC, 2017).

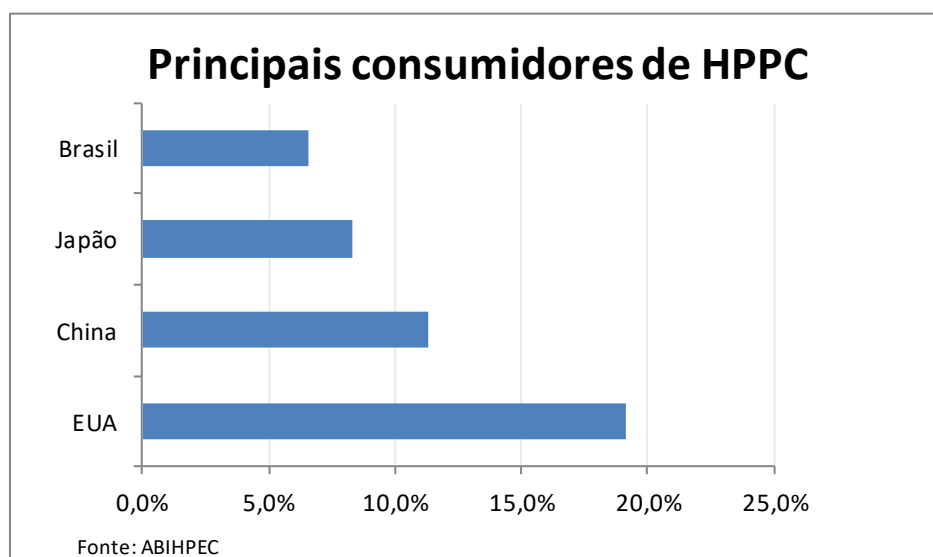


Figura 25- Maiores consumidores de HPPC em 2016. Adaptado de: ABIHPEC, 2017

Em 2015 houve uma queda de 9% no crescimento do mercado brasileiro. A queda pode ser explicada pela forte crise que o país estava atravessando, aliada ao aumento de impostos e desemprego. Em 2016 houve sinal de recuperação no setor, que fechou o ano com 6% de queda (figura 26).

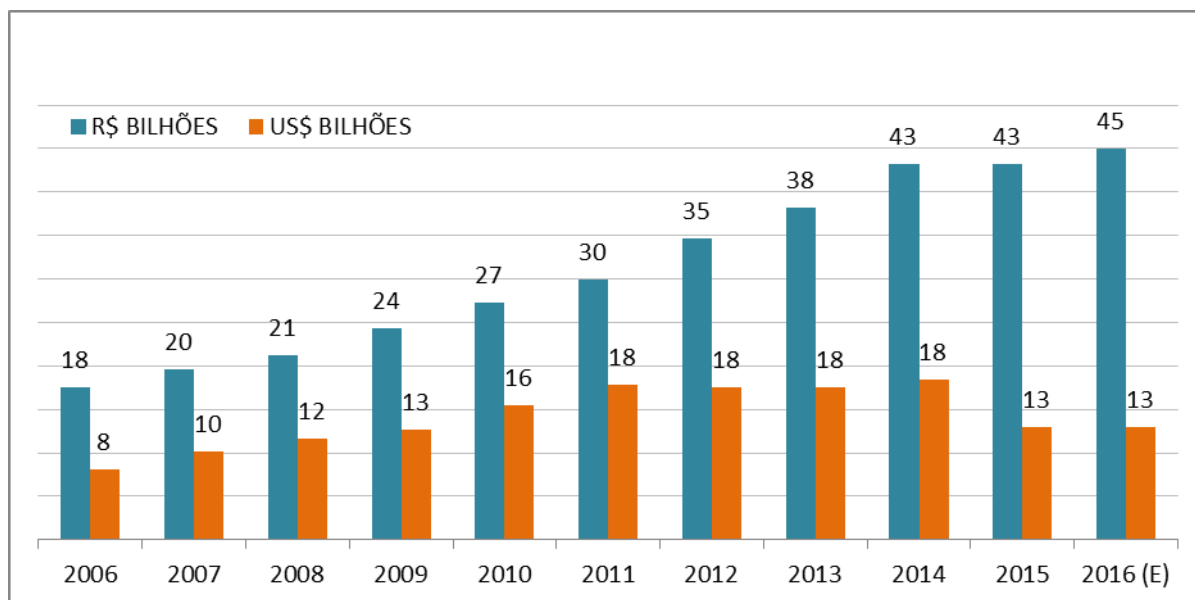


Figura 26- representatividade do mercado de HPPC na América Latina. Adaptado de: ABIHPEC, 2017

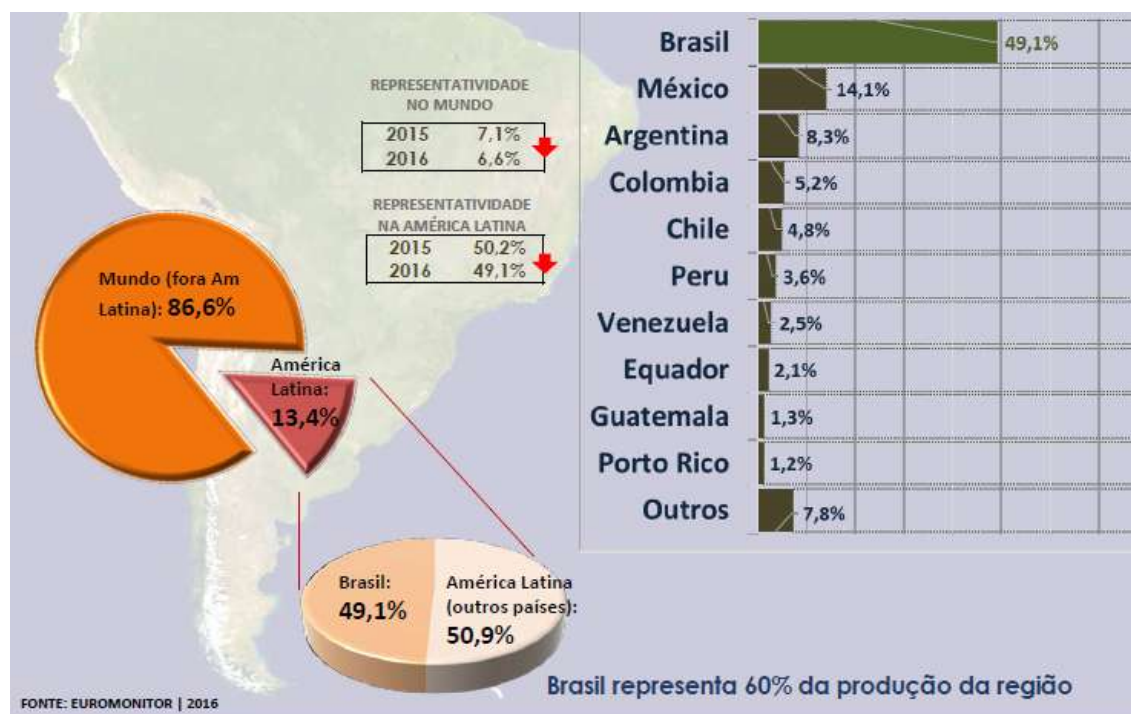


Figura 27- Representatividade da América Latina no mercado de HPPC Fonte: Euromonitor, 2016 apud ABIHPEC, 2017.

Na figura 27 é possível observar a alta representatividade que o Brasil tem na América latina, sendo responsável por 49,1% do mercado de HPPC na região.

Segundo pesquisa realizada pela Euromonitor, no Brasil a campeã de vendas é a Unilever, que ocupa 12,6% do mercado e em segundo lugar se encontra a empresa brasileira Natura, responsável por 11,4% de vendas neste setor, O Boticário segue em terceiro, com 10,6% e a L'Oréal ocupa o quarto lugar no ranking com 7,3% (BORTOLOZI, 2016).

4.2- Estudo Mercadológico da Indústria de Cosmecêuticos

Dentro da fatia de mercado dos cosméticos se encontram os cosmecêuticos. Estes são produtos intermediários entre cosméticos e farmacêuticos por conterem propriedades medicinais ou farmacológicas (U.S. FDA, 2016). Eles são muito utilizados para tratar problemas na pele, como eczema, psoríase, acne e no combate a sinais de envelhecimento. Além de aplicações na pele, existem cosmecêuticos para cabelos, injetáveis (como o Botox®), pasta de dentes, dentre outros.

Segundo estudo realizado pela RNCOS, em 2015 os cosmecêuticos foram responsáveis por 13% do mercado mundial de cosméticos e a expectativa é de que ocupe 17% do mercado até 2020 (cerca de 30% de crescimento). Um estudo feito pela mesma empresa mostra que a região da Ásia-Pacífico obteve a maior participação no setor em 2015 (figura 28).

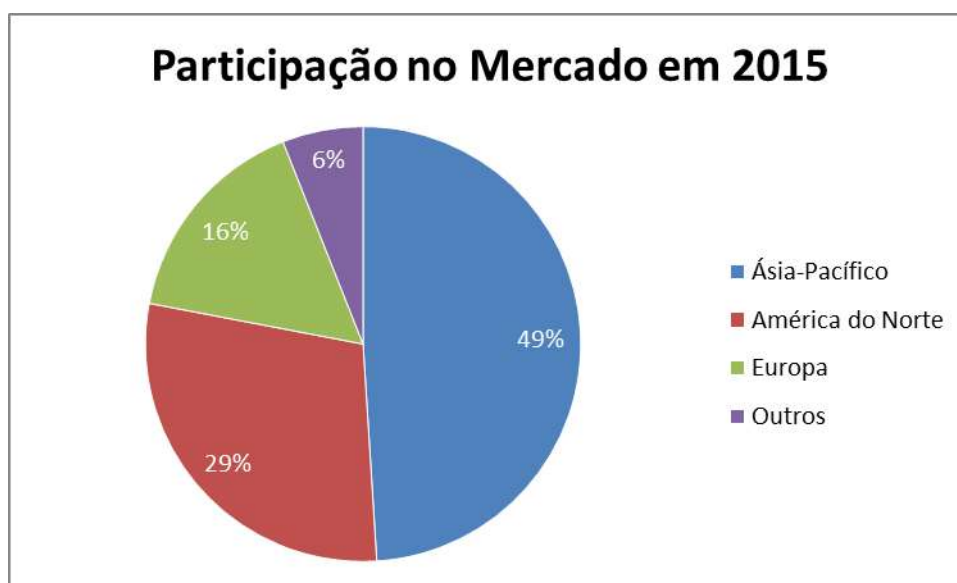


Figura 28- Participação continental no mercado de cosmecêuticos. Fonte: RNCOS, 2015

O mercado global de cosmeceúticos foi estimado em 31,84 bilhões de dólares americanos em 2016 (PAI, BHANDARI e SHUKLA, 2017). Na região da Europa este mercado é mais desenvolvido no oeste europeu, em países como França, Itália, Alemanha e Espanha. No ano de 2015 este mercado faturou 6,95 bilhões de euros na Europa, 3,9% a mais do que no ano anterior (IN-COSMETICS, 2016).

De acordo com a empresa de pesquisas mercadológicas TechNavio (2017), os principais *players* da indústria de cosmeceúticos são: Beiersdorf, L'Oréal, P&G, Shiseido, e Unilever. A L'Oréal é a principal player, em 2016 obteve um aumento de 5,7% nas vendas de cosméticos ativos em relação ao ano anterior e a rentabilidade deste setor da empresa foi avaliada em 23,2% .

Assim como nos cosméticos em geral, os campeões de venda na categoria dos cosmeceúticos também são os produtos de cuidados para a pele. Esta categoria no ano de 2015 ocupou a fatia de 60% deste mercado, o que mostra a importância de investimento neste setor (figura 29).

Dentro da categoria de cuidados para a pele, os produtos antienvelhecimento foram os mais vendidos no ano de 2015, responsáveis 41% das vendas (Figura 30) (RNCOS, 2015). De acordo com Nikola Matic, diretor da Kline, o setor de cuidados para a pele vem permanecendo como tendência durante anos no mercado global de cosméticos e vai continuar em alta com a imersão de novos tipos de produtos antienvelhecimento no mercado, como os neurocosméticos. Outra tendência do futuro são os cosméticos antipoluição, que possuem ação antienvelhecimento, com princípios ativos que geram uma proteção do DNA contra o estresse do ambiente e também possuem a propriedade de firmar a pele (I MATTHEWS, 2017).

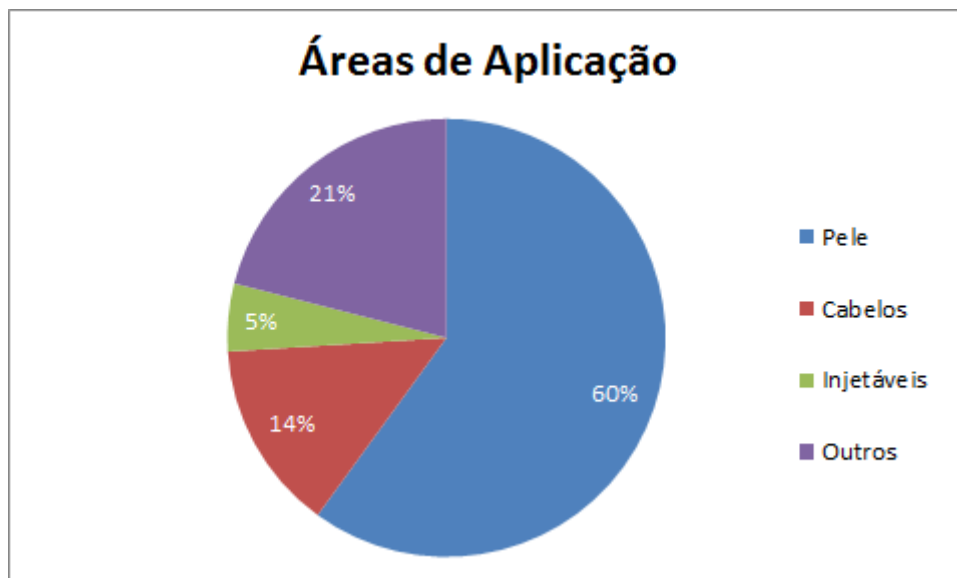


Figura 29- Repartição do mercado de cosmecêuticos por categoria. Fonte: RNCOS, 2015

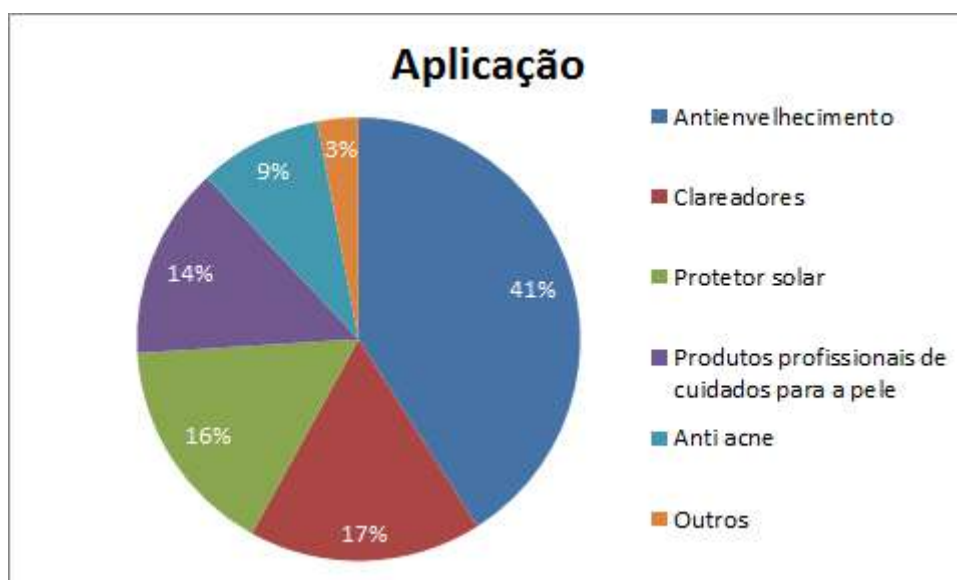


Figura 30- Porcentagem de participação das categorias de cuidados para a pele. Fonte: RNCOS, 2015

Dentre os tratamentos de antienvelhecimento que já são utilizados, se destacam os retinóides, os alfa hidroxiácidos (AHA), antioxidantes (vitamina C, vitamina E, etc) e **peptídeos** (RAMOS-E-SILVA et al.,2013).

Os **peptídeos** são ingredientes ativos eficazes que podem ser utilizados em cosméticos antirrugas. Eles são atraentes para este mercado devido à sua capacidade de estimular funções celulares como cicatrização de feridas e redução de rugas e linhas finas.

Em estudo apoiado pela Euromonitor International, divulgado pela in-cosmetics, foram mostradas quatro tendências futuras de ativos para os cosméticos de

antienvelhecimento: Uso de sirtuínas (enzimas que retardam o envelhecimento celular), cosméticos antipoluição, **peptídeos** e extratos naturais. Um grande crescimento é esperado para os peptídeos, pois são produtos de alto desempenho e confiabilidade. Novos peptídeos estão sendo alvo de estudos e também se observa lançamentos destes produtos no mercado e novas patentes (IN-COSMETCS, 2016).

Coronado Robles, enxerga grande potencial de entrada de ingredientes como vitaminas, extratos botânicos e **peptídeos** no mercado de dermocosméticos do oeste europeu, que é um dos maiores do mundo da categoria (I MATTHEWS, 2017).

Além do uso em cosméticos, há uma grande demanda de peptídeos para uso na indústria farmacêutica e alimentícia (Figura 31):

- Os peptídeos terapêuticos são moléculas sintetizadas ou encontradas na natureza capazes de tratar alguma doença, e por isso são muito utilizados na indústria farmacêutica. O mercado mundial de peptídeos terapêuticos alcançou 21,3 bilhões de dólares americanos em 2015, e a expectativa é de que chegue a 46,6 bilhões de dólares até 2024, com a taxa de crescimento de 9,10%. A maior demanda desses peptídeos é a o tratamento de câncer. Os principais *players* são Sanofi, Eli Lilly, Novo Nordisk, and Teva, que juntos detém 75% do mercado (TRANSPARENCY MARKET RESEARCH, 2017).
- Um exemplo de peptídeo amplamente utilizado na indústria de alimentos é o peptídeo de colágeno (figura 10). Segundo um estudo realizado pela Technavio, o mercado de peptídeos de colágeno foi avaliado em 0,75 bilhões de dólares americanos em 2015, com CAGR 8%. No setor de cuidados pessoais estes peptídeos são utilizados em shampoos, condicionadores, cremes, dentre outros produtos devido a propriedades como controle de viscosidade e estabilização. Além disso, ajudam a firmar a pele e ajudam no crescimento de unhas e cabelos dando força, brilho e maleabilidade aos fios capilares (BUSINESS WIRE, 2017).

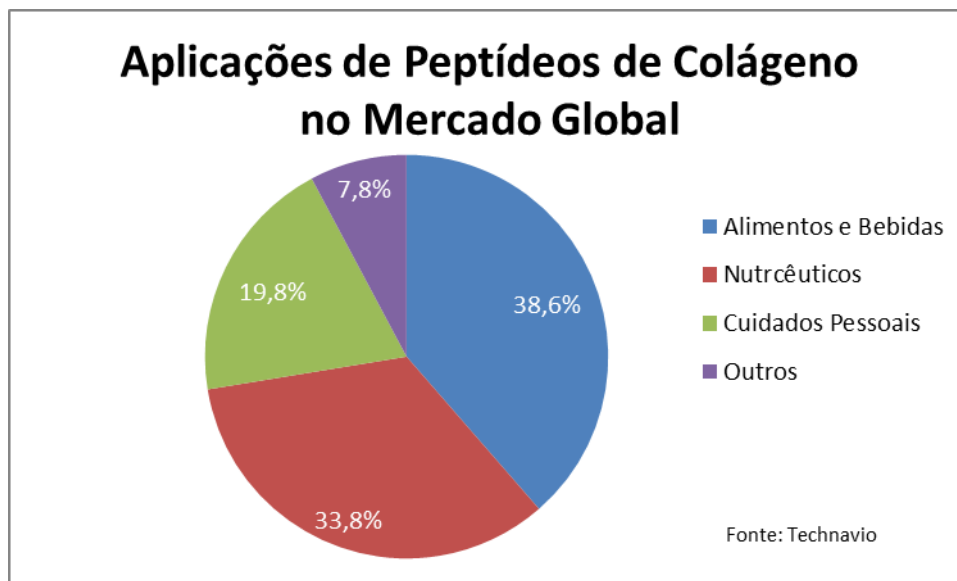


Figura 31- Aplicações de peptídeos de colágeno em 2016. Adaptado de: Business Wire, 2017.

A partir de todo exposto, podemos concluir que o setor de cosméticos é um setor promissor para investir, pois ao longo dos últimos anos obteve crescimento apesar das crises financeiras. O setor de cosmecêuticos, que é o setor onde se enquadram os cosméticos que contém peptídeos, também possui tendência de crescimento, cerca de 30% até 2020, aumentando a parcela de ocupação no mercado de cosméticos (RNCOS, 2016). Os produtos de cuidados para a pele são os mais vendidos na categoria do setor de cosméticos e também no de cosmecêuticos. Também foi visto que os peptídeos já possuem aceitação e significância na indústria de alimentos e farmacêutica, mostrando a credibilidade de utilização dos mesmos. Os peptídeos já são tendência na utilização de cosméticos antienvelhecimento, que é o setor mais promissor dos cosmecêuticos, e os estudos feitos pela Euromonitor International indicam tendência futura do uso destes compostos, com a inserção de novos peptídeos em cosméticos antienvelhecimento.

Capítulo 5- Desenvolvimento de Processos

O método proposto neste trabalho tem por objetivo mostrar as etapas necessárias para obtenção de extratos de peptídeos extraídos de plantas, utilizando a hidrólise enzimática (figuras 32 e 33). As plantas produzem substâncias que induzem resposta de defesa, em decorrência de estresse ambiental, como **peptídeos**, hidroxiprolina, dentre outros aminoácidos. As substâncias produzidas por plantas exercem também efeitos de proteção

similares nas células humanas, devido ao mecanismo de transdução de sinais básicos que são conservativos em células eucarióticas (APONE et al, 2010).

Foi tomado como base o caso do extrato de peptídeos de lupino, conforme descrito na patente registrada pelo Laboratoires Expanscience (2009), no trabalho de Neves (2010), também nos trabalhos de Soares (2013) e Eitel (2015) sobre extração de peptídeos da soja, cuja principal diferença no trabalho apresentado por Eitel foi a aplicação da hidrólise enzimática junto da etapa de extração.

Esta metodologia foi escolhida para apresentação devido a maior facilidade de execução, além de ser possível obter um produto final com alta funcionalidade. Na literatura foi possível achar mais de um trabalho sobre extração de peptídeos de sementes desengorduradas, sendo assim, plausível de ser reproduzido para a extração de peptídeos de outros tipos de sementes. O Brasil é um país cuja biodiversidade é muito grande, sendo possível produzir de óleos de sementes, como o óleo de soja, girassol, uva, abóbora, abacate, castanha-do-pará, amêndoas-doces dentre outros. Quantidades maiores de estudos podem ser feitos nesse campo para aproveitar todo o potencial das sementes, extraindo óleos e peptídeos, gerando riqueza.

Foi visto na etapa de estudo mercadológico que os peptídeos e os extratos botânicos são tendências do futuro dos cosmeceuticos. Fazendo a extração de peptídeos a partir de extratos botânicos estaremos apresentando um produto natural com baixo risco para a saúde, tendo como possibilidade o maior aproveitamento da planta como no caso do lupino, onde o óleo e os peptídeos oriundos da semente podem ser aproveitados para uso cosmético.

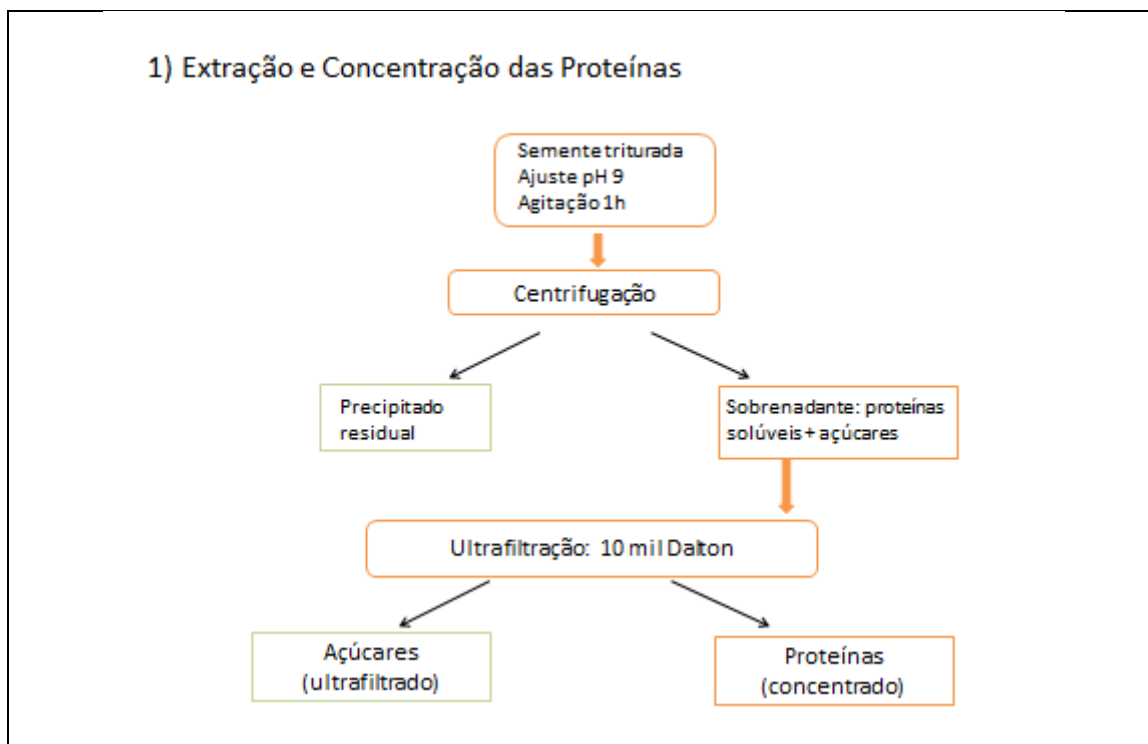


Figura 32- Fluxograma geral simplificado do processo de extração e concentração de proteínas. A etapa de centrifugação tem como objetivo a separação de fibras e outras matérias insolúveis, enquanto a ultrafiltração separa as proteínas dos açúcares.

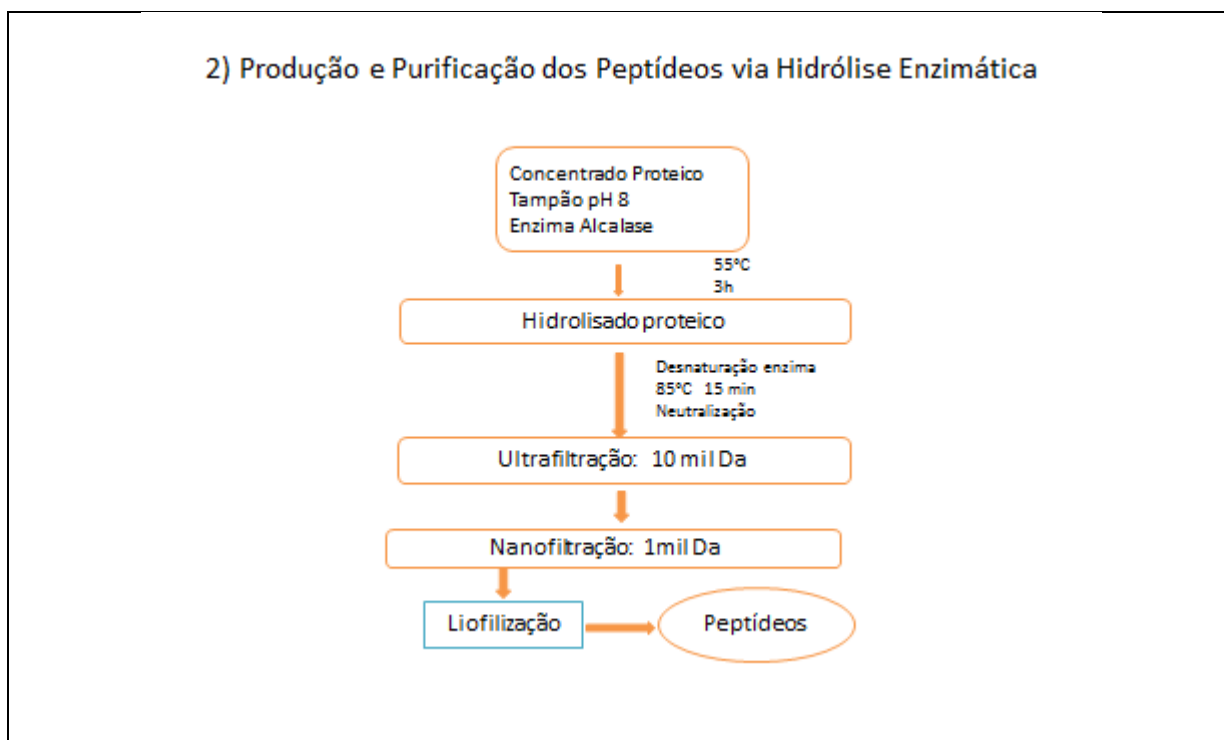


Figura 33- Fluxograma geral simplificado do processo de produção de peptídeo, no qual ocorre a extração a hidrólise enzimática.

Metodologia de Obtenção de Peptídeos do Lupino

- 1) As proteínas das sementes trituradas são extraídas com pH alcalino, ajustado com hidróxido de sódio na proporção de 1/10 (p/p), durante uma hora em temperatura ambiente. O pH alcalino foi escolhido pois favoreceu a solubilização das proteínas de interesse. Posteriormente utiliza-se a centrifugação para separar a parte das proteínas solubilizadas da torta residual. A parte contendo as proteínas solúveis é diafiltrada, em um módulo de ultrafiltração com massa molar de corte 10kDa. As proteínas ficam retidas enquanto os açúcares ficam na parte do ultrafiltrado.
- 2) Adicionou-se ao concentrado proteico uma solução tampão pH 8 e a enzima Alcalase®, a 55°C durante 5 horas. A temperatura ótima da Alcalase® está na faixa de 55°C a 70°C, e o pH na faixa de 6,5 a 8,5, dependendo do substrato. As condições escolhidas foram baseadas em ensaios, que determinaram a temperatura ótima para a ação da enzima Alcalase na digestão das proteínas do lupino. Após isto a enzima é desnaturada com temperatura de 85°C por 15 min. A solução é diafiltrada, em um módulo de ultrafiltração com massa molar de corte 10kDa, visto que os peptídeos bioativos de interesse possuem esta massa molar de corte. Após isto a solução resultante é nanofiltrada, para concentrar os peptídeos, e liofilizada. Após a obtenção dos peptídeos, alguns testes são feitos para avaliar quantitativamente e qualitativamente os mesmos.

Capítulo 6 - Conclusão:

Na etapa de estudo mercadológico foi visto que peptídeos são uma tendência de mercado, destacando-se o setor farmacêutico, alimentício e cosmético. Foi visto também a influência do setor de cuidados para pele no mercado de cosméticos, como a indústria de cosmeceúticos vem crescendo dentro da indústria de cosméticos e as tendências atuais e futuras, das quais se destaca o uso de peptídeos.

Na revisão bibliográfica foram dados exemplos de peptídeos bioativos e seus respectivos testes de eficácia, que mostraram resultados positivos segundo as publicações dos fabricantes. Com este trabalho pode-se concluir que o mercado de peptídeos para uso cosmético é promissor, apesar de ainda ter um vasto caminho para ser explorado. A possibilidade de criação, descoberta e otimização de novos peptídeos é muito grande, porém

necessita de uma tecnologia de ponta, tanto para criar quanto para testar e otimizar os mesmos. Os produtos lançados contendo peptídeos precisam ser testados para averiguar a segurança e eficácia no uso visto que são compostos bioativos mensageiros que desencadeiam mudanças fisiológicas no organismo.

O método de obtenção de peptídeos do lupino por hidrólise enzimática foi escolhido para apresentação devido a maior facilidade de obtenção de peptídeos, grande capacidade padronização para uso do método em outras extrações de sementes desengorduradas, e também devido aos resultados positivos que a literatura vem mostrando em relação à funcionalidade dos extratos de peptídeos naturais obtidos por hidrólise. Apesar dos resultados satisfatórios, esta é uma área que carece de mais pesquisas, técnicas de otimização precisam ser desenvolvidas para facilitar a produção em larga-escala.

Foi observado durante o estudo que o assunto de peptídeos utilizados na indústria de cosméticos não possui uma quantidade alta de dados específicos disponíveis na literatura, principalmente quanto aos mecanismos de ação de certos peptídeos no organismo. Isto mostra que este assunto precisa ser mais pesquisado.

Capítulo 7 - Bibliografia

ABIHPEC (Ed.). **Panorama do Setor 2017**. 2017. Disponível em:

<<https://abihpec.org.br/publicacao/panorama-do-setor-2017/>>. Acesso em: 19 jul. 2017.

ANDERSSON, Lars et al. Large-scale synthesis of peptides. **Biopolymers**, [s.l.], v. 55, n. 3, p.227-250, 2000. Wiley-Blackwell. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-0282\(2000\)55:33.0.co;2-7](http://dx.doi.org/10.1002/1097-0282(2000)55:33.0.co;2-7).

AMORA, Dimmi; BORBA, Julia. Economia mundial teve em 2013 o 2º pior ano desde a crise, diz Mantega. **Folha de S.paulo**. Brasília. 17 out. 2013. Disponível em:

<<http://www1.folha.uol.com.br/mercado/2013/10/1357994-economia-mundial-teve-em-2013-o-2-pior-ano-desde-a-crise-diz-mantega.shtml>>. Acesso em: 10 jul. 2017.

APONE, Fabio et al. A mixture of peptides and sugars derived from plant cell walls increases plant defense responses to stress and attenuates ageing-associated molecular changes in

cultured skin cells. **Journal Of Biotechnology**, [s.l.], v. 145, n. 4, p.367-376, fev. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiotec.2009.11.021>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE COSMETOLOGIA. **A ABC: História da Cosmetologia**. Disponível em: <<http://www.abc-cosmetologia.org.br/a-abc/>>. Acesso em: 08 jul. 2017.

BASAVARAJ K, Nanjwade. DEVELOPMENT OF COSMECEUTICALS. **World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], p.643-691, 1 abr. 2017. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. <http://dx.doi.org/10.20959/wjpps20174-8927>.

BERNARDINI, Roberta di et al. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 124, n. 4, p.1296-1307, fev. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.004>.

BLANES-MIRA, C. et al. A synthetic hexapeptide (Argireline) with antiwrinkle activity. **International Journal Of Cosmetic Science**, [s.l.], v. 24, n. 5, p.303-310, out. 2002. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1467-2494.2002.00153.x>.

BORTOLOZI, Tatiana. Líderes em cosméticos avançam. **Valor Econômico**. São Paulo, p. 1-2. 15 jun. 2016. Disponível em: <<http://www.valor.com.br/empresas/4600813/lideres-em-cosmeticos-avancam>>. Acesso em: 19 jul. 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Medicamentos: Conceitos Técnicos**. 2002. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/conceito.htm>>. Acesso em: 18 jul. 2017.

BUSINESS WIRE. **Global Collagen Peptide Market to Grow at a CAGR of 8% through 2021, Says Technavio**. 2017. Disponível em: <<http://www.businesswire.com/news/home/20170613006301/en/Global-Collagen-Peptide-Market-Grow-CAGR-8>>. Acesso em: 12 jul. 2017.

CARLOS ALBERTO TREVISAN. História dos Cosméticos. **Conselho Regional de Química - IV Região**. 2011. Disponível em: <<http://www.crq4.org.br/historiadoscosmeticosquimicaviva>>. Acesso em: 08 jul. 2017.

CHIRITA, Raluca-ioana et al. Development of a LC–MS/MS method to monitor palmitoyl peptides content in anti-wrinkle cosmetics. **Analytica Chimica Acta**, [s.l.], v. 641, n. 1-2, p.95-100, maio 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2009.03.015>.

CINTRA, Marcos Antonio Macedo. A crise econômica mundial e a quarta Revolução Industrial: Perspectivas para os países em desenvolvimento deterioram-se ainda mais diante das transformações estruturais em curso na economia mundial. **Carta Capital**. [s.l.]. 25 fev. 2016. Disponível em: <<https://www.cartacapital.com.br/blogs/blog-do-grri/a-crise-economica-mundial-e-a-quarta-revolucao-industrial>>. Acesso em: 14 jul. 2017.

COLHADO, Orlando Carlos Gomes; BOEING, Marcelo; ORTEGA, Luciano Bornia. Botulinum Toxin in Pain Treatment. **Brazilian Journal Of Anesthesiology**, [s.l.], v. 59, n. 3, p.366-381, maio 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-70942009000300013>.

COSMETIC INGREDIENT REVIEW. **Safety Assessment of Palmitoyl Oligopeptides as Used in Cosmetics**: Scientific Literature Review. 2012. Disponível em: <<http://www.cir-safety.org/sites/default/files/palmit072012slr.pdf>>. Acesso em: 21 jul. 2017.

EITEL, Natalia Barbosa. **HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO FARELO DE SOJA DESENGORDURADO PARA OBTENÇÃO DE PEPTÍDEOS BIOATIVOS: CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E ATIVIDADE ANTIHIPERTENSIVA**. 2015. 133 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

ESTADOS UNIDOS. U.S. Food & Drug Administration. **Is It a Cosmetic, a Drug, or Both? (Or Is It Soap?)**: How does the law define a cosmetic?. 2016. Disponível em: <<https://www.fda.gov/Cosmetics/GuidanceRegulation/LawsRegulations/ucm074201.htm>>. Acesso em: 18 jul. 2017.

EXPANSCIENCE LABORATOIRES. **ACTIMP®: PREVENTION OF PHOTOAGING AND CHRONOAGING**. Disponível em: <<http://www.expanscience.com/en/cosmetic-active-ingredients/ingredients/actimp>>. Acesso em: 18 jul. 2017.

FIRMINO, Guilherme Oliveira. **PURIFICAÇÃO E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE PEPTÍDEOS OBTIDOS POR HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO RESÍDUO DO PROCESSAMENTO DO CAMARÃO MARINHO *Litopenaeus vannamei***. 2013. 70 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Bioquímica e Fisiologia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

FIELDS, K et al. Bioactive peptides: signaling the future. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.8-13, mar. 2009. Wiley-Blackwell.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1473-2165.2009.00416.x>.

GALENA. **Informe Científico: Argireline**. 2011. Disponível em:
<http://www.pharmakondf.com.br/Pharmakon/arquivos/INSUMOS_FARMACEUTICOS/A/6213_-_IC_-_ARGIRELINE.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2017.

GOROUHI, F.; MAIBACH, H. I.. Role of topical peptides in preventing or treating aged skin. **International Journal Of Cosmetic Science**, [s.l.], v. 31, n. 5, p.327-345, out. 2009. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00490.x>.

HELIX BIOMEDIX. **CONSUMER MARKET PEPTIDES**. 2017. Disponível em:
<<http://www.helixbiomedix.com/consumermarketpeptides.html>>. Acesso em: 21 jul. 2017.

HELIX BIOMEDIX. **Helix BioMedix and Grant Industries Announce Successful Human Panel Test for New Acne Solution**. 2006. Disponível em:
<[http://helixbiomedix.com/pdf/pr/2006/2006-3-20 Helix BioMedix and Grant Industries Announce Succe.pdf](http://helixbiomedix.com/pdf/pr/2006/2006-3-20%20Helix%20BioMedix%20and%20Grant%20Industries%20Announce%20Succe.pdf)>. Acesso em: 21 jul. 2017.

HIJAZIN, Carlos Atalla Hidalgo; SIMÕES, Aline Tonial; SILVEIRA, Diogo Rhoden. Hidrólise ácida, alcalina e enzimática. **Revista Atitude: Faculdade Dom Bosco de Porto Alegre**, Porto Alegre, v. 7, n. , p.89-93, jun. 2010.

HUANG, Hongzhou; SUN, Xiuzhi S.. Rational Design of Responsive Self-Assembling Peptides from Native Protein Sequences†. **Biomacromolecules**, [s.l.], v. 11, n. 12, p.3390-3394, 13 dez. 2010. American Chemical Society (ACS).
<http://dx.doi.org/10.1021/bm100894j>.

I MATTHEWS. In-cosmetics. **In-Cosmetics Marketing Trends presentations 2017**. 2017. Disponível em: <<http://news.in-cosmetics.com/2017/06/08/in-cosmetics-marketing-trends-presentations-2017/>>. Acesso em: 10 jul. 2017.

IN-COSMETICS. **New report reviews the future of anti-ageing products**. 2016. Disponível em: <<http://news.in-cosmetics.com/2016/07/04/new-report-reviews-the-future-of-anti-ageing-products/>>. Acesso em: 20 jun. 2017.

KUMAR, Manoj; GHIRNIKAR, Roopa. Proteins and Peptides in Personal Care. In: RAJ, Lad. **Biotechnology in Personal Care**. Nova York: Taylor & Francis Group, 2006. p. 57-79.

LABORATOIRES EXPANSCIENCE (França). Philippe Msika; Antoine Piccirilli; Francois Paul. **Peptide extract of lupine and pharmaceutical or cosmetic or nutritional composition comprising same**. US nº US7638149 B2, 12 nov. 2004, 29 dez. 2009. USPTO.

LENZNER, Robert. Europe In 2011 A Worse Crisis Than The U.S. In 2008. **Forbes**. [s.l.], p. 1-2. 30 set. 2011. Disponível em: <<https://www.forbes.com/sites/robertlenzner/2011/09/30/europe-in-2011-a-worse-crisis-than-the-u-s-in-2008/#4e515b1f6958>>. Acesso em: 22 jul. 2017.

L'ORÉAL. **Annual Reports 2016**. Disponível em: <<http://www.loreal-finance.com/eng/annual-report>>. Acesso em: 08 jul. 2017.

LUNA-VITAL, Diego A. et al. Biological potential of protein hydrolysates and peptides from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): A review. **Food Research International**, [s.l.], v. 76, p.39-50, out. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.024>.

MACHADO, Alessandra et al. Sínteses química e enzimática de peptídeos: princípios básicos e aplicações. **Química Nova**, [s.l.], v. 27, n. 5, p.781-789, out. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422004000500018>.

MONDON, Philippe et al. Evaluation of dermal extracellular matrix and epidermal-dermal junction modifications using matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric

imaging, in vivo reflectance confocal microscopy, echography, and histology: effect of age and pepti. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [s.l.], v. 14, n. 2, p.152-160, 27 mar. 2015. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/jocd.12135>.

NAKAIE, Clovis Ryuichi et al. PRODUÇÃO 6 DE PEPTÍDEOS: APRIMORAMENTO DA SÍNTESE EM POLÍMEROS ATRAVÉS DO USO DA RESSONÂNCIA PARAMAGNÉTICA ELETRÔNICA (RPE). In: RESENDE, Rodrigo R.. **Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria**. [s.l.]: Blucher, 2017. p. 197-245. Disponível em: <<https://www.blucher.com.br/livro/detalhes/biotecnologia-aplicada-a-agro-amp-industria-vol-4-1247/biotecnologia-174>>. Acesso em: 27 jul. 2017.

NEVES, Valdir Augusto; LOURENÇO, Euclides Joaquim; SILVA, Maraiza Aparecida da. Extração, Isolamento e Fracionamento da Proteína de Tremoço (*Lupinus albus*) var. Multolupa. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, São Paulo, v. 12, n. 1, p.115-130, ago. 2001.

PAI, Varadrajvasant; BHANDARI, Prasana; SHUKLA, Pankaj. Topical peptides as cosmeceuticals. **Indian Journal Of Dermatology, Venereology, And Leprology**, [s.l.], v. 83, n. 1, p.9-18, 2017. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0378-6323.186500>.

PUBCHEM. **Oligopeptide-10**. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/121494113#section=Biologic-Description>>. Acesso em: 27 jul. 2017.

RAMOS-E-SILVA, Marcia et al. Anti-aging cosmetics: Facts and controversies. **Clinics In Dermatology**, [s.l.], v. 31, n. 6, p.750-758, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2013.05.013>.

ROSSI, Daniele Misturini. **Utilização de carne Mecanicamente Separada de Franco para Produção de um Hidrolisado Protéico a Partir de Enzimas Microbianas**. 2007. 112 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SEDERMA. **2011: New in vivo test reveals age gain by 2 years in just 1 month**. Disponível em:

<<http://www.matrixylinside.com/home.aspx?d=content&s=169&r=654&p=6608>>. Acesso em: 21 jul. 2017.

SEDERMA. **Matrixyl: the key to anti-ageing**. Disponível em:

<<http://www.matrixylinside.com/home.aspx?d=content&s=169&r=655>>. Acesso em: 28 maio 2017.

SEDERMA. **Matrixyl® 3000 - New study reconfirms previous findings**. Disponível em:

<<http://www.sederma.com/home.aspx?s=111&r=127&p=6658>>. Acesso em: 28 maio 2017.

SEDERMA. **Matrixyl® 3000**. Disponível em: <[http://www.annalotan-](http://www.annalotan-usa.com/uploadimages/Matrixyl3000_english-v3.pdf)

[usa.com/uploadimages/Matrixyl3000_english-v3.pdf](http://www.annalotan-usa.com/uploadimages/Matrixyl3000_english-v3.pdf)>. Acesso em: 23 jul. 2011.

SEDERMA. **Matrixyl® 3000**. Disponível em:

<<http://www.smartskinicare.com/treatments/topical/Matrixyl3000report.pdf>>. Acesso em: 23 jul. 2011.

SPOSITO, Maria Matilde de Mello. Toxina Botulínica do Tipo A: mecanismo de ação. **Acta Fisiátrica** 2009;16(1):25-37

STATISTA. **Statistics and facts on Cosmetics & Personal Care**. Disponível em:

<<https://www.statista.com/markets/415/topic/467/cosmetics-personal-care/>>. Acesso em: 20 jun. 2017.

SOARES, Natália Boia. **OBTENÇÃO DE HIDROLISADO PROTEICO DE TORTA DE SOJA E AVALIAÇÃO DE SUA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA**. 2013. 88 f.

Dissertação (Mestrado) - Curso de Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

RNCOS. **Cosmeceuticals Trends and Technologies**. [s.l]: Rncos, 2015. 21 slides, color.

THERMO FISHER. **Peptide Synthesis**: Introduction to peptide synthesis. Disponível em:

<<http://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology->

learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/peptide-synthesis.html>. Acesso em: 02 maio 2017.

TRANSPARENCY MARKET RESEARCH. **Global Peptide Therapeutics Market: Increasing Prevalence of Cancer to Create Growth Opportunities, Says TMR**. 2017. Disponível em: <<http://www.transparencymarketresearch.com/pressrelease/peptide-therapeutics-market.htm>>. Acesso em: 12 jul. 2017.

TREVISAN, Carlos Alberto. **História dos Cosméticos**. 2011. Disponível em: <<http://www.crq4.org.br/historiadoscosmeticosquimicaviva>>. Acesso em: 08 jul. 2017.

WELLS, J. Michael; GAGGAR, Amit; BLALOCK, J. Edwin. MMP generated matrikines. **Matrix Biology**, [s.l.], v. 44-46, p.122-129, maio 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.matbio.2015.01.016>.

ZAMBROWICZ, Aleksandra et al. Manufacturing of peptides exhibiting biological activity. **Amino Acids**, [s.l.], v. 44, n. 2, p.315-320, 23 ago. 2012. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-012-1379-7>.

ZHANG et al. **Down-regulation of cathelicidin activity for the management of rosacea-related symptoms and hyperirritable skin**. 2011. Disponível em: <http://www.helixbiomedix.com/pdf/presentations/AAD_2011_Mgmt_of_Rosacea_R-F.pdf>. Acesso em: 22 jul. 2017.

ZHANG, Lijuan; FALLA, Timothy J.. Cosmeceuticals and peptides. **Clinics In Dermatology**, [s.l.], v. 27, n. 5, p.485-494, set. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2009.05.013>.