

CLÁUDIA FERNANDES ANTUNES

**ANTIOXIDANTES EM SISTEMAS DE
VEICULAÇÃO TÓPICOS**

Orientadora: Professora Doutora Tânia Santos de Almeida

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2017

CLÁUDIA FERNANDES ANTUNES

**ANTIOXIDANTES EM SISTEMAS DE
VEICULAÇÃO TÓPICOS**

Dissertação defendida em provas públicas na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 4 de dezembro de 2017, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação nº 396/2017 de 17 de novembro, com a seguinte composição:

Presidente: Professora Dulce Santos

Arguente: Professora Doutora Catarina Rosado

Orientador: Professora Doutora Tânia Almeida

Vogal: Professora Ana Mirco

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2017

*Algo só é impossível até que alguém duvide e
resolva provar o contrário.*

Albert Einstein

Agradecimentos

Finalizada mais uma importante etapa, não posso deixar de reservar uma página dedicada a todos os que me apoiaram em todos os momentos, e que contribuíram para este percurso para sempre recordado.

Um obrigada em especial a todos os que compreenderam a minha falta de tempo e disponibilidade, durante este percurso devido ao curso e às atividades extracurriculares.

Um obrigada enorme aos meus pais! Obrigada por aquilo que sou hoje. Obrigada por serem o meu exemplo de vida. Obrigada pelo reconhecido sacrifício que fizeram ao longo destes anos para que a minha formação fosse possível e por nunca desistirem de me acompanhar em todos os passos da minha vida.

Ao resto da minha família, em especial à minha irmã, aos meus avós, aos meus padrinhos e aos meus primos, por todo o apoio e carinho constante, por todo o incentivo, amizade e paciência demonstrados e ajuda total em todos os obstáculos que foram surgindo ao longo desta caminhada.

Agradeço à Prof. Doutora Tânia Almeida, na condição de orientadora, pela ajuda, dedicação e disponibilidade que teve na realização deste trabalho e pelos conhecimentos que me transmitiu e que tanto me motivaram ao longo do curso.

Obrigada a todos os professores que contribuíram para o meu percurso nesta instituição e que alimentaram o desejo de alcançar com sucesso esta formação.

E sem dúvida, um muito obrigada aos meus colegas e amigos, que me inspiraram sempre e me apoiaram, que tornaram o percurso mais alegre, rico e completo, mesmo com tantos altos e baixos.

Resumo

Os sistemas tópicos têm vindo a demonstrar uma grande importância nos dias de hoje. Estes estão em constante evolução, sobretudo na área de produtos que visem cuidar da pele, não só apostando na manutenção e recuperação de uma pele saudável e com boa aparência, como na prevenção de possíveis alterações nocivas a que a pele está sujeita. Neste âmbito, o uso de antioxidantes em sistemas tópicos é assim uma prática cada vez mais frequente, e apesar da importância dessas vitaminas, existem ainda poucos estudos neste campo.

Neste estudo, serão abordados diferentes aspetos introdutórios, começando pelo envelhecimento cutâneo – tanto na sua vertente intrínseca, como extrínseca – seguidamente abordando os radicais livres e o *stress* oxidativo, de forma a facilitar a compreensão sobre algumas características de antioxidantes específicos, como a vitamina A, E, C.

Por último, serão abordados os sistemas de veiculação tópicos mais convencionais, como é o caso das emulsões, geles, soluções e pomadas, e de seguida as formulações recentemente desenvolvidas, como é o caso dos lipossomas, nanoemulsões e nanopartículas, que são possíveis de utilizar ao nível da pele permitindo assim uma maior eficiência e contornando determinados obstáculos que as formas farmacêuticas convencionais possuem.

Palavras-Chave: Pele; Antioxidantes; *Stress* oxidativo; Sistemas de veiculação tópicos.

Abstract

Topical systems are very important these days. They are constantly evolving, particularly in with respect to skin care products, not only towards skin maintainance and recovery, but also in terms of prevention of possible harmful changes that the skin is subject to. In this sense, the use of antioxidants in topical systems is an increasingly frequent practice, and despite their fundamental importance, there are still few studies.

This study addresses different aspects, such as skin aging - both intrinsically and extrinsically – free radicals and oxidative stress, in order to facilitate understanding about some aspects of some specific antioxidants, namely: vitamin A, E, C.

Lastly, topical delivery systems, such as emulsions, gels, solutions and ointments, and newly developed formulations, such as liposomes, nano-emulsions and nanoparticles, which are possible to use at the level of the skin thus allowing to reach the best objectives and to overcome certain obstacles that the conventional pharmaceutical forms have.

Key Words: Skin; Antioxidants; Oxidative stress; Topical delivery systems.

Lista de Siglas e Abreviaturas

ADN - Ácido Desoxiribonucleico

A/S/A - Água/silicone/água

ERO - Espécies reativas de oxigénio

ERN - Espécies reativas de Nitrogénio

GRAS - ‘Generally Recognized as Safe’

IV - Infravermelha

mm - Milímetros

nm - Nanómetros

NLS - Nanopartículas lipídicas sólidas

NLC - Transportadores Lipídicos Nanoestruturados

O/A - Óleo/água

RUV - Radiação Ultravioleta

P/O/A - Propilenoglicol/óleo/água

SLN - Nanopartículas Lipídicas Sólidas

SOD - Enzima Superóxido Dismutase

UV - Ultravioleta

UVA - Ultravioleta A

UVB - Ultravioleta B

UVC - Ultravioleta C

Índice Geral

1.	Introdução	9
2.	A Pele	12
2.1.	Anatomia e estrutura da pele	12
2.2.	Envelhecimento cutâneo	13
2.2.1.	Envelhecimento intrínseco	15
2.2.2.	Envelhecimento extrínseco	15
2.3.	Prevenção do envelhecimento cutâneo	17
3.	Radicais livres	18
3.1.	<i>Stress</i> oxidativo	19
4.	Antioxidantes	20
4.1.	Antioxidantes em sistemas de veiculação tópicos	20
4.1.1.	Vitamina A	22
4.1.2.	Vitamina E	26
4.1.3.	Vitamina C	29
5.	A pele como via de administração	34
6.	Tipos de Sistemas de Veiculação Tópicos	36
6.1.	Formulações tópicas convencionais	36
6.1.1.	Emulsões	38
6.1.2.	Geles	40
6.1.3.	Pomadas	41
6.1.4.	Antioxidantes nos sistemas convencionais	42
6.2.	Sistemas de veiculação controlada	44
6.2.1.	Nanotecnologia em sistemas de veiculação tópicos (formulações recentemente desenvolvidas)	44
a)	Lipossomas	48
b)	Nanoemulsões	52
c)	Nanopartículas lipídicas	53
d)	Antioxidantes em Nanosistemas	58

Índice de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática da constituição da pele e das camadas da epiderme. .	13
Figura 2 - Estrutura molecular da vitamina A (retinol) na forma <i>trans</i>	23
Figura 3 - Estrutura molecular da vitamina A na forma <i>cis</i>	23
Figura 4 – Estrutura molecular de um derivado da Vitamina A - Retinal ou retinaldeído.	24
Figura 5 - Estrutura molecular de um precursor da Vitamina A - β -caroteno.....	24
Figura 8 - Estrutura molecular do α -tocoferol.....	27
Figura 9 - Estrutura molecular do γ -tocoferol	27
Figura 10 - Estrutura molecular da Vitamina C (ácido ascórbico).....	29
Figura 11 - Estrutura molecular do palmitato de ascorbil	31
Figura 12 - Exemplo de onde se encontram alguns nanosistemas	45
Figura 13 - Alguns nanosistemas usados para aplicação tópica.....	47
Figura 14 A e B – Estrutura de Lipossomas unilamelares (ULVs) e multilamelares (MLVs), respectivamente	48
Figura 15 - Principais funções dos lipossomas.....	50
Figura 16 - Diferenças entre a matriz das SLN e dos NLC.....	53
Figura 17 - Principais diferenças entre SLN e NLC.	55

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Alterações cutâneas provocadas por envelhecimento intrínseco e extrínseco. 14

1. Introdução

A pele é vital para a nossa saúde e bem-estar. Sendo a primeira linha de defesa do nosso corpo contra as bactérias e fungos, uma pele saudável mantém o equilíbrio dos fluidos e ajuda a regular a temperatura corporal (Barata, 2002). Esta é um órgão complexo, e é formada por diferentes camadas, que diferem na sua estrutura e composição, tendo assim imensas funções, tais como: barreira protetora dos órgãos internos, regulação da temperatura, perceção sensitiva, entre outras, mas durante o envelhecimento estas funções encontram-se afetadas devido a alterações estruturais da pele. Mais que qualquer outro tecido, a pele encontra-se exposta a agentes químicos (poluição), físicos (radiação UV) e microbiológicos (bactérias e fungos), que podem induzir a formação de alterações, como por exemplo, a formação de espécies reativas de oxigénio (ERO) e de nitrogénio (ERN) (Nkengne & Source, 2012). O estilo de vida e fatores externos, tais como o sol e as mudanças de temperatura como já referido anteriormente, têm impacto nos níveis de colagénio e elastina. À medida que envelhecemos, a nossa produção natural de colagénio e elastina diminui, assim como a capacidade da pele de reter água e portanto esta fica com um aspeto menos tonificado, surgindo assim as rugas (Barata, 2002).

No entanto, o envelhecimento cutâneo pode dever-se por um lado ao envelhecimento cronológico (intrínseco), e por outro lado a fatores externos (extrínseco) (Ndiayea, Philippea, Mukhtara, & Ahmada, 2011). Assim sendo, este tornou-se um elemento de estudo muito importante, pois é um processo biológico que pode ser controlado (Barata, 2002).

Entre os vários fatores responsáveis pelo envelhecimento extrínseco, como por exemplo poluição, tabagismo, *stress*, alimentação, pode considerar-se a exposição a radiação ultravioleta (UV) o principal fator. A radiação UV está dividida em três comprimentos de onda, sendo designada de UVA, UVB e UVC, e têm efeitos distintos ao nível da pele (Evans & Johnson, 2010).

Assim sendo, estas radiações atuam levando à formação de radicais livres, que quando em excesso em relação às defesas antioxidantes próprias do organismo, geram um desequilíbrio

entre a produção e a remoção das espécies reativas prejudiciais para o organismo, dando origem a *stress* oxidativo (Nichols & Katiyar., 2010).

Uma das soluções existentes para evitar o *stress* oxidativo, passa pelo aumento de antioxidantes presentes no organismo. Os antioxidantes podem ser obtidos a partir da alimentação ou ingestão de suplementos alimentares, ou através da sua aplicação tópica. Seja qual for a sua via de administração, estes compostos têm a função de remover as espécies reativas que serão produzidas em excesso, impedindo assim lesões oxidativas e consequentemente *stress* oxidativo, e portanto o consumo adequado de antioxidantes protege o corpo da ação dos radicais livres, protegendo as células de danos na sua estrutura e prevenindo problemas como o envelhecimento como já referido, e também outras doenças tais como: doenças cardiovasculares, cancro, doença de Alzheimer, entre outras, (Farris, 2007). No entanto, no âmbito deste trabalho vamos aprofundar os antioxidantes de uso tópico pois estes têm sido muito estudados e são extensivamente utilizados na prevenção do envelhecimento cutâneo e nas consequências causadas pela radiação UV em curto e longo prazo, como o cancro da pele (Walters, Roberts, & Kenneth, 2008).

Assim sendo, com o passar do tempo tem havido uma aposta bastante elevada no desenvolvimento científico, nomeadamente nas áreas da medicina, farmácia, biotecnologia, entre outras, o que tem resultado no aparecimento de novas moléculas terapêuticas como por exemplo, substâncias com potencial para uso tópico, como o caso dos antioxidantes (Helfrich, Sachs, & Voorhees, 2008). Contudo, muitas destas moléculas apesar de apresentarem um enorme potencial nas suas áreas de aplicação, possuem determinadas características que dificultam a sua atividade, como por exemplo baixa biodisponibilidade.

No sentido de contornar estas limitações, várias estratégias têm sido desenvolvidas e aplicadas com sucesso pois, por exemplo com o aparecimento da nanotecnologia, surgiram sistemas com potencial para contornar todas essas limitações, sem necessidade de recorrer a processos de modificação química das moléculas, ou mesmo à utilização de excipientes com potencial tóxico (Isabel, 2013).

No entanto, para se desenvolverem novos e eficientes sistemas de veiculação tópicos, incluindo os que contêm antioxidantes, é essencial compreender a constituição e as características do órgão alvo, a pele.

2. A Pele

2.1. Anatomia e estrutura da pele

A pele é o maior e mais visível órgão, que reveste a superfície externa do corpo humano (Junqueira & Carneiro, 1999). É elástica, flexível e resistente, com cerca de 1,5 a 3 mm de espessura, e atua como uma barreira de proteção contra as agressões exteriores, portanto, é o que vai mostrar com mais clareza os sinais do processo de envelhecimento (Harris, 2009). Compõe 16% do peso corporal, desempenhando diversas funções tais como (Harris, 2009):

- Proteção mecânica, microbiológica e fisiológica do nosso organismo;
- Regulação da temperatura corporal;
- Receção de estímulos (de calor, frio, tato, pressão, dor);
- Responsável pela produção de vitamina D.

É um órgão dinâmico e em constante mudança, sendo dividida em três camadas, como é ilustrado na **Figura 1**. As três camadas são:

- Epiderme - porção mais externa e fina, constituída por 5 camadas. Esta protege-nos das toxinas, bactérias e perda de líquidos e é formada pelas seguintes camadas: basal, lúcido, espinhosa, granulosa e córnea (Ruivo, 2014), como é mostrado na **Figura 1**;
- Derme - é a camada intermédia, grossa, resistente e elástica, fornecendo resistência física frente a agressões. Os principais componentes da derme são o colagénio e a elastina, que dão força e flexibilidade e são componentes vitais para uma pele jovem e saudável. Estas fibras estão contidas numa substância que tem uma grande capacidade de retenção de água e ajuda a manter o volume da nossa pele (Ribeiro, 2010);
- Hipoderme (ou tecido adiposo) - tem a função de armazenar energia de reserva, é composta principalmente por células gordas (adipócitos), fibras de colagénio especiais e vasos sanguíneos (Junqueira & Carneiro, 1999).

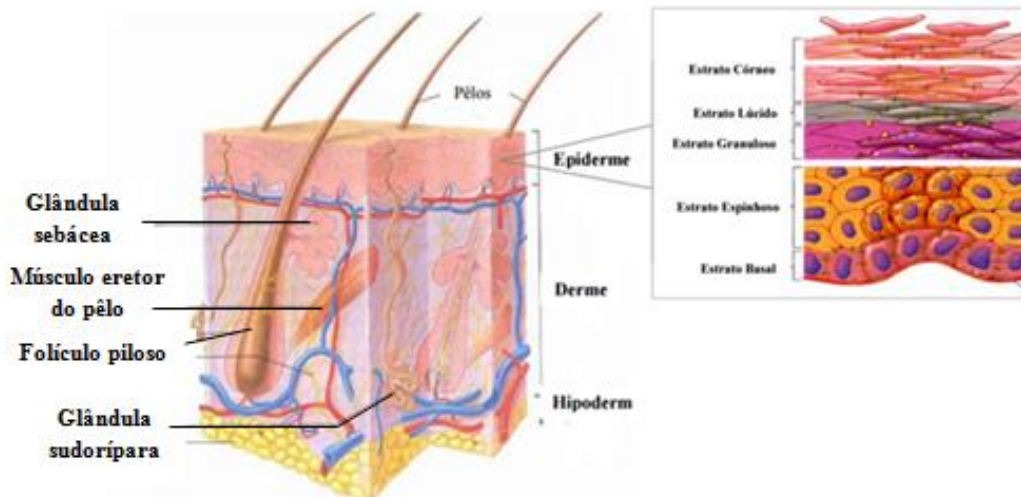


Figura 1 - Representação esquemática da constituição da pele e das camadas da epiderme, adaptado de (Seeley, 2016).

2.2. Envelhecimento cutâneo

A nossa pele é sujeita a agressões diárias que ameaçam o seu equilíbrio, as suas funções e a sua beleza através de produtos químicos, poluição, *stress* e radiação UV, como já referido anteriormente. O envelhecimento da pele corresponde a um fenómeno de deterioração progressiva, irreversível e natural, sendo este o resultado das alterações da derme. Os fibroblastos são responsáveis pelo metabolismo do colagénio, sintetizando colagénio tipo I, importante componente da matriz extracelular. Com a idade, ocorre desorganização no metabolismo do colagénio, diminuindo, assim, a sua produção e aumentando a sua degradação (Nkengne & C.Source., 2012). As espécies reativas de oxigénio, reações inflamatórias e radiação solar são as principais causas da deterioração do tecido cutâneo (Lintner, C. Mondon, & al, 2009). O envelhecimento da pele é manifestado por desidratação, perda de textura e

elasticidade, diminuição da espessura, danos na função de barreira, aparecimento de manchas, e por fim, aparecimento de rugas (Montagner & Costa, 2009).

Assim sendo, o envelhecimento é um processo inevitável, que envolve fatores multifatoriais, ambientais e comportamentais, além da genética (Barata, 2002), podendo-se assim considerar dois tipos de envelhecimento cutâneo, como se pode verificar resumidamente na **Tabela 1**: o envelhecimento intrínseco e o envelhecimento extrínseco (Montagner & Costa, 2009).

Tabela 1 - Alterações cutâneas provocadas por envelhecimento intrínseco e extrínseco, adaptado de (Montagner & Costa, 2009).

	Envelhecimento intrínseco (Cronológico)	Envelhecimento extrínseco (Fotoenvelhecimento)
Rugas	Finas	Profundas
Células displásicas	Poucas	Muitas
Fibras de colagénio	Pequena alteração no tamanho e organização	Grande alteração no tamanho e organização
Fibras elásticas	Reorganizadas	Diminui produção e aumenta degeneração
Folículo	Diminui número	Diminui número e estrutura: perda capilar
Melanócitos	Normal	Diminui número e melanina
Glândulas sebáceas e sudoríparas	Diminui número	Diminui número: pela seca
Junção dermoepidérmica	Leve achatamento	Importante achatamento
Microvasculatura	Área reduzida	Telangiectasias, equimoses

2.2.1. Envelhecimento intrínseco

O envelhecimento intrínseco é progressivo, previsível e inevitável, é originado pelo desgaste natural do organismo, associado às características genéticas do indivíduo sem que ocorra interferência dos agentes externos (Pujol, 2011). Com o passar dos anos, diversos eventos ocorrem naturalmente, a capacidade de divisão celular e a síntese da matriz dérmica diminuem e a produção de radicais livres que causam alterações e danos ao DNA aumenta. Com a diminuição das fibras de colagénio e glucosaminoglicanos (GAGs), os espaços entre as fibras de colagénio e elastina aumentam, gerando perda de água e eletrólitos e, conseqüentemente, há um aumento da desidratação cutânea e da perda da elasticidade cutânea (Ruivo, 2014).

São também sinais e sintomas do envelhecimento intrínseco, o aparecimento de rugas profundas, a epiderme adelgada, translúcida, amarelada, a pigmentação heterogénea, a aparência áspera, seca e baça (Montagner & Costa, 2009). Ocorre também a diminuição da microcirculação sanguínea, a diminuição da capacidade imunológica e as alterações a nível da melanina, pois a exposição solar prolongada e recorrente implica alterações definitivas na quantidade e distribuição de melanina na pele. O efeito solar imediato sobre a pele é a hiperpigmentação cutânea com atraso na formação de nova melanina, sendo este um efeito reversível (Rabe, Mamelak, & et al, 2006).

2.2.2. Envelhecimento extrínseco

O envelhecimento extrínseco engloba um conjunto de fatores externos ao organismo, entre os quais se destacam a poluição ambiental, o tabagismo, o estilo de vida (alimentação inadequada, alcoolismo, exercícios físicos) e o *stress* físico e/ou emocional. Em resultado a

estes fatores a pele apresenta pigmentação irregular, rugas e tendência para o desenvolvimento de hiperpigmentação (Ruivo, 2014).

Ao longo dos anos, os tecidos humanos sofrem alterações fisiológicas, bioquímicas e morfológicas, as quais fazem com que diversos órgãos percam as suas funções gradativamente. O tecido cutâneo é o principal órgão atingido, tornando-se mais vulnerável ao meio ambiente (Pujol, 2011).

O grande responsável pelo envelhecimento extrínseco é o fotoenvelhecimento. Este é um efeito crónico resultante da exposição à radiação ultravioleta e ocorre principalmente pela intervenção da radiação UVA, que penetra mais profundamente na pele. Este fator tem ação cumulativa ao longo dos anos, e depende do grau de exposição solar e da pigmentação cutânea, propiciando um envelhecimento progressivo da pele exposta (Ruivo, 2014).

A radiação UVA possui comprimento de onda mais longa, que atinge a derme e provoca desordem e destruição das fibras de colagénio, perda de elasticidade e formação de radicais livres, podendo, assim, provocar danos ao DNA. A pele fica com aspeto enrugado, pigmentação irregular, flacidez e secura (Mariana, 2014).

Por sua vez, a radiação UVB possui comprimento de onda intermedio. Embora não penetre intensamente no tecido cutâneo, possui energia elevada, provocando danos superficiais, como queimadura e bronzeado. É responsável por causar danos diretos ao DNA, espessamento do estrato córneo e, a longo prazo, fotoenvelhecimento e cancro da pele (Teixeira, 2012).

Finalmente, a radiação UVC possui comprimento de onda mais curta, totalmente prejudicial aos seres humanos; porém, as suas ondas ficam retidas na camada de ozono, não chegando a atingir a pele (Mariana, 2014).

Em suma, o fotoenvelhecimento intensifica o envelhecimento cronológico da pele e as alterações morfológicas resultantes do fotoenvelhecimento são diferentes das observadas no envelhecimento intrínseco. De um modo geral, enquanto que a pele envelhecida cronologicamente apresenta uma textura mais lisa, ligeiramente atrofiada, com rugas discretas e sem manchas, a pele fotoenvelhecida aparenta uma superfície nodular áspera e espessa,

pigmentação irregular, rugas, atrofia, com telangiectasias e lesões pré-malignas (Montagner & Costa, 2009).

No entanto, estes fatores podem ser moderados adaptando outro estilo de vida e tendo alguns cuidados preventivos.

2.3. Prevenção do envelhecimento cutâneo

O envelhecimento cutâneo é resultante de uma acumulação de variações que ocorrem ao longo do tempo, e, portanto, é importante preveni-lo, para isso existem diversas formas de atenuar essas marcas que foram adquiridas com o tempo (Pujol, 2011).

A prevenção do envelhecimento prematuro da pele deve ser feita atendendo a dois objetivos: minimizar a produção de radicais livres e manter uma boa hidratação e regeneração da pele. Para isso, é importante a fotoproteção solar durante todo o ano, evitando, portanto, a exposição solar excessiva. É importante também manter um estilo de vida saudável que inclua exercício físico regular, uma boa ingestão hídrica e uma alimentação rica em antioxidantes, inibindo, assim, a ação de radicais livres (Silva & Mejia, 2013).

Por outro lado, é importante fornecer à pele componentes importantes para a sua manutenção e preservação, nomeadamente através do uso de formulações tópicas (Barata, 2002) que tenham propriedades hidratantes, nutritivas (Evans & Johnson, 2010), reparadoras e que possuam antioxidantes capazes de minimizar a produção de radicais livres (Mitsui, 1998).

3. Radicais livres

Nas últimas décadas, foram realizadas inúmeras pesquisas para esclarecer o papel dos radicais livres no nosso organismo. A teoria de que o envelhecimento é resultado de danos causados por radicais livres foi apresentada por Denham Harman em 1956, afirmando que a acumulação de radicais livres contribuía para as alterações observadas com o envelhecimento (Ferreira & Matsubara, 1997). Hoje em dia, se por um lado se sabe que os radicais livres estão envolvidos em processos vitais biológicos, tal como na produção de energia, na fagocitose, na regulação do crescimento celular, entre outros, sabe-se também que quando em excesso estão relacionados com processos nocivos para o organismo (Barreiros & David, 2006).

Desta forma, conseguiu-se compreender a influência dos radicais livres no envelhecimento, e em outros processos fisiopatológicos tais como, doenças degenerativas, como o cancro, doenças cardiovasculares, cataratas, aterosclerose, inflamação, declínio do sistema imunitário, entre outros (Ferreira & Matsubara, 1997).

Radicais livres são átomos ou moléculas que apresentam um eletrão desemparelhado, tornando-o num composto muito instável e reativo. Podem então ceder o eletrão desemparelhado, oxidando-se, ou receber outro, reduzindo-se, ocorrendo reações de oxidação-redução (Ferreira & Matsubara, 1997). A estrutura incompleta do radical livre, confere-lhe assim a capacidade de se ligar inespecificamente a outras moléculas, completas e estáveis, promovendo reações em cadeia, capazes de causar danos em diferentes componentes celulares. Os radicais livres estão então envolvidos na peroxidação dos lípidos da membrana citoplasmática, na agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, e ainda na fotocarcinogénese e fotoenvelhecimento (Chen, Hu, & Wang, 2012).

Os radicais livres podem ser produzidos de diversas formas, nomeadamente através da atividade biológica própria do organismo, ou por ação de alguns alimentos e medicamentos, que podem ser absorvidos pelo organismo em forma de substâncias químicas tóxicas, causando, assim, inúmeros danos à saúde. Quando ocorre a formação de radicais livres em excesso

provoca um desequilíbrio no balanço entre o processo oxidativo e o antioxidativo natural, ocorrendo assim o *stress* oxidativo (Farris, 2007).

3.1. *Stress* oxidativo

O *stress* oxidativo é definido como um desequilíbrio entre a capacidade de ação de antioxidantes e das EROs, que, quando em excesso, fazem parte do mecanismo intermediário de várias doenças, como já referido anteriormente. O desequilíbrio entre os oxidantes e os antioxidantes a favor dos oxidantes, pode resultar dos antioxidantes produzidos pelo corpo serem insuficientes para combater os radicais livres produzidos pelo organismo, e isto tem sido sugerido como sendo uma das causas do envelhecimento e do aparecimento de várias doenças no Homem (Oliveira & Koury, 2007).

O organismo apresenta entre as suas funções imunológicas uma proteção contra esses danos, tais como enzimas, vitaminas e agentes quelantes de iões metálicos; porém, sozinho não é totalmente eficiente, tornando-se necessária a ingestão de fontes antioxidantes (Jaski & Lotério, 2014) e a sua inclusão em formulações (Farris, 2007), auxiliando os mecanismos de defesa do organismo.

4. Antioxidantes

O termo antioxidante, significa que impede a oxidação de outras substâncias químicas, que ocorrem nas reações metabólicas ou por fatores exógenos (Namiki, 1990). Mais concretamente, os antioxidantes são substâncias que são capazes de prevenir ou reduzir o processo de oxidação provocada pelos radicais livres. Estes podem neutralizar radicais livres doando os seus próprios eletrões, convertendo-se em espécies radicalares pouco reativas (Farris, 2007).

Segundo Leite e Sarni (2003), os antioxidantes são constituídos por ácidos gordos polinsaturados de cadeia longa, substâncias hidrossolúveis e/ou enzimas, que têm como característica diminuir ou bloquear as reações de oxidação incutidas pelos radicais livres (Manela-Azulay & Bagatin, 2009) (Jaski & Lotério, 2014). Consequentemente, a aplicação destas substâncias na área da prevenção do fotoenvelhecimento, nomeadamente em sistemas de veiculação tópicos, tem sido vasta (Oludemi, González-Paramás, & Barreiro, 2017) (Kwak, Lee, & Choi, 2011).

4.1. Antioxidantes em sistemas de veiculação tópicos

Tal como já foi dito, a pele possui a maior área exposta de superfície do corpo humano, sendo assim, é o principal alvo de danos provocados pelos radicais livres. Com função de proteger a pele destes danos oxidativos são vários e diversificados os mecanismos dos antioxidantes, tanto de natureza enzimática como não-enzimática (Campos & Frasson, 2011).

Estes antioxidantes podem ser de origem endógena ou exógena. Entre os antioxidantes de origem endógena destacam-se o superóxido dismutase (SOD), o ácido úrico e a cataláse (Larson, 1997). O organismo humano é dotado de mecanismos para garantir a quantidade suficiente destes compostos, mantendo-o assim, protegido. Porém, quando há um desequilíbrio devido a patologias ou exposição à radiação UV, ocorre o chamado *stress* oxidativo, sendo

assim tão importante uma quantidade adequada de antioxidantes exógenos e/ou provenientes da dieta, para que estes consigam auxiliar na proteção apropriada (Jaski & Lotério, 2014). Neste último caso, temos o exemplo dos carotenoides, do α -tocoferol, do ácido ascórbico e dos compostos fenólicos, entre outros, que na maioria das vezes são encontrados nos vegetais (Oliveira & Koury, 2007).

Como referido anteriormente, o sistema de defesa antioxidante tem a função de inibir ou diminuir os danos causados pela ação lesiva dos radicais livres (Jaski & Lotério, 2014) e como tal, o uso de antioxidantes tem vindo a aumentar, sendo também cada vez mais aconselhados por dermatologistas como complemento de tratamentos, tanto na sua vertente tópica, como em suplementação alimentar, de forma individual ou em associação, e usados unicamente ou combinados (Barbosa, et al., 2010).

Em suma, podem ser diversas as fontes de antioxidantes exógenos, que além de provirem da alimentação, poderão também advir da ingestão de suplementos, que vão atuar a um nível interno, ou também a nível tópico, através da sua incorporação em formulações aplicadas diretamente na pele (Farris P. , 2005). Seja qual for a fonte destas substâncias, o objetivo geral é o mesmo: evitar o *stress* oxidativo, prevenindo a ocorrência de lesões inerentes a este, ou reparando danos já existentes (Stamford, 2012).

É importante salientar, que a administração destes compostos desde cedo, é crucial no sentido de prevenir as lesões (Chen, Hu, & Wang, 2012), concedendo à pele os nutrientes necessários para esta se tornar mais resistente, sem nunca haver um défice destes (Walters, Roberts, & Kenneth, 2008). Usados regularmente, podem exercer efeitos benéficos, sendo esta a razão pela qual são cada vez mais usados, nomeadamente em produtos para cuidados cutâneos (Barata, 2002), como por exemplo para prevenção e tratamento das rugas, e também quando existem danos na pele causados pela radiação UV (Baumann, 2004).

Apesar de existirem centenas de antioxidantes que são de origem natural, a grande maioria utilizada em sistemas de veiculação tópicos, é a rede de antioxidantes que incluem as vitaminas tópicas A, C e E, sendo que estas são de fácil uso e são moléculas antioxidantes de

baixo peso molecular, que adiam a fase de iniciação de formação dos radicais livres (Ribeiro, 2010). As duas últimas, trabalham sinergicamente para regenerar e aumentar a potência uma da outra (Nichols & Katiya, 2010), portanto a sua administração em associação parece ser uma estratégia de tratamento mais efetivo (Glase, 2004) pois o seu efeito sinérgico potencializa os seus efeitos (Farris P. , 2005).

No âmbito deste trabalho pretende-se aprofundar o conhecimento destas vitaminas de uso tópico pois são as que se destacam mais, são extensivamente utilizadas na prevenção do envelhecimento cutâneo e têm consequentemente uma grande relevância para a indústria.

4.1.1. Vitamina A

A vitamina A, o seu precursor o β -caroteno, e os seus derivados tanto os de origem natural, como os sintéticos formam a classe dos retinoides. A vitamina A ou retinol, foi a primeira vitamina lipossolúvel descoberta (Chen, Hu, & Wang, 2012), é termoestável e resistente à ação oxidativa do O_2 . Esta é essencial ao nosso organismo e atua a dois níveis no organismo (Gutierrez, Theodosiou, & Schubert, 2011):

- Primeiramente na retina, participando no ciclo visual;
- Em segundo lugar, em todos os tecidos do corpo, onde participa no crescimento e na manutenção da integridade celular.

Portanto, esta vitamina é muito importante para a pele, sendo mesmo considerada uma molécula essencial para o normal crescimento, diferenciação e manutenção de importantes células cutâneas, ajuda portanto na regeneração da pele, combatendo os sinais comuns do envelhecimento e a formação de radicais livres. Com o tempo, a pele vai perdendo colagénio e a sua capacidade de manter a flexibilidade, elasticidade e firmeza naturais. Mas a vitamina A ajuda a pele a reter água e a recuperar, normalizando a pele seca, ficando assim com uma aparência melhor (Conaway, Henning, & Lerner, 2013).

A vitamina A atua por ligação a recetores nucleares específicos, influenciando vários processos celulares, tais como, reparação do DNA, expressão de genes, estímulo do crescimento e diferenciação de queratinócitos (Elewa & Zouboulis Ch, 2011), melanócitos, células de *Langerhans* e fibroblastos, assim como produção da matriz extracelular pelos fibroblastos (Bagatin, 2008). O défice de vitamina A, leva a uma menor produção de glucosaminoglicanos pelos fibroblastos (Barata, 2002) repercutindo-se em secura da pele, rugas e aspereza ao tato (Walters, Roberts, & Kenneth, 2008).

Quando administrada, a vitamina A não possui ação, pois é extremamente oxidável perdendo facilmente a sua eficácia terapêutica. Existem, contudo, compostos biologicamente ativos e derivados da vitamina A, forma natural, que possuem uma atividade forte, podendo estes ser usados na clínica - os retinoides. (Elewa & Zouboulis Ch, 2011).

Existem, portanto, 5 formas derivadas desta vitamina, sendo que a primeira e mais importante é a sua forma alcoólica – o retinol - que se apresenta na forma *trans* participando em todas as funções da vitamina A e na forma *cis* participando apenas no ciclo da visão – são mostradas as estruturas moleculares na **Figura 2** e **3**, respetivamente. Este álcool, ao sofrer modificações químicas, pode dar origem a uma série de outros compostos (Piccardi & Manissier, 2009).

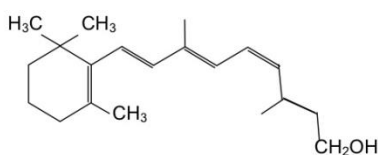


Figura 2 - Estrutura molecular da vitamina A (retinol) na forma *trans*, adaptado de (Montagner & Costa, 2009).

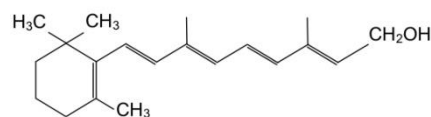


Figura 3 - Estrutura molecular da vitamina A na forma *cis*, adaptado de (Montagner & Costa, 2009) .

Os ésteres de retinol consistem na vitamina A ligada a um ácido gordo, sendo esta a forma em que a vitamina A é ingerida através dos alimentos de origem animal. A forma oxidada desta vitamina é denominada de retinal ou retinaldeído cuja estrutura molecular é demonstrada

na **Figura 4**. Já o ácido retinóico ou tretinoína, é o ácido da vitamina A, quando esta se oxida e é usado sob orientação médica, por exemplo em dermatites.

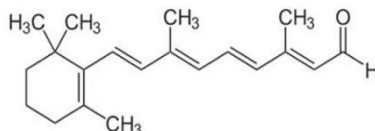


Figura 4 – Estrutura molecular de um derivado da Vitamina A - Retinal ou retinaldeído, adaptado de (Montagner & Costa, 2009).

Por último, existe ainda um precursor da vitamina A, a pro-vitamina A ou carotenoide - de onde se destaca o β -caroteno - sendo esta forma encontrada nos alimentos de origem vegetal (Piccardi & Manissier, 2009) e a sua estrutura molecular mostrada na **Figura 5**.

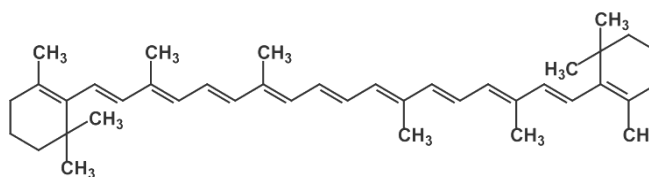


Figura 5 - Estrutura molecular de um precursor da Vitamina A - β -caroteno, adaptado de (Montagner & Costa, 2009).

Contudo o retinol deteriora-se quando é mantido sob temperaturas elevadas e exposto à radiação UV, principalmente raios ultravioleta (UVA). A forma ácida do retinol, o ácido retinóico ou tretinoína (**Figura 6**), não pode ser utilizada em formulações cosméticas e o palmitato de retinol (**Figura 7**) é um dos derivados de retinol mais utilizados em cosméticos (Evans & Johnson, 2010).

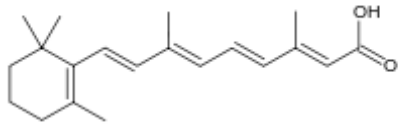


Figura 6 - Estrutura molecular da forma ácida do retinol - Ácido retinóico ou tretinoína, adaptado de (Montagner & Costa, 2009).

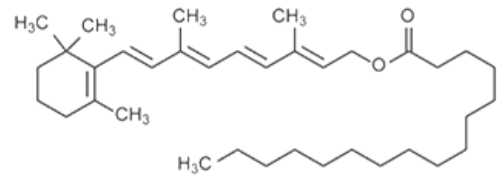


Figura 7 - Estrutura molecular de um derivado da Vitamina A - Palmitato de retinol, adaptado de (Montagner & Costa, 2009).

Como referido anteriormente, a vitamina A também é importante no aumento da elasticidade cutânea, em evitar a peroxidação dos lípidos, e a reduzir a rugosidade da pele após exposição a radiação UV. Segundo Walters e Roberts (2008), Cluver foi um pioneiro no reconhecimento de que a vitamina A tem um papel crucial na defesa da pele contra os danos da radiação UV, demonstrando que sempre que nos expomos ao sol, há degradação da molécula de vitamina A, não só na pele como no sangue. Portanto para a sua reposição, é mais eficaz a aplicação de uma formulação rica em vitamina A, do que a ingestão desta vitamina pela dieta, uma vez que por aplicação tópica, os níveis de vitamina A na pele são repostos em horas (Lupo, 2001), enquanto que por via oral, este restabelecimento demora alguns dias (Walters, Roberts, & Kenneth, 2008).

Relativamente à administração desta vitamina por via tópica em relação ao envelhecimento prematuro da pele, esta pode ser efetuada através de aplicações regulares de ácido retinóico a 0,1% (vitamina A ácida ou tretinoína), para este ser minimizado (Cho, Choi, & Cheong, 2012). Foram realizados muitos estudos para comprovar isto e ainda que muito eficaz, o ácido retinóico é usado em tratamentos dermatológicos e não cosméticos, gerando muitas vezes irritação cutânea, pelo que a nível cosmetológico, usa-se o retinol, que é melhor tolerado pela pele e demonstrou ser bastante eficaz. Tendo sido comprovado que a sua aplicação tópica aumenta a produção de colagénio e aumenta a espessura da epiderme (Lee, Lee, & Sin, 2006) (Zussman, Ahdout, & Kim, 2010) (Chen, Hu, & Wang, 2012).

Num estudo *in vivo* efetuado por Kafi *et al.*, (2007), foi aplicada uma formulação de retinol a 0,4% ou apenas o seu veículo (controlo), 3 vezes ao dia durante 24 semanas a um total 36 idosos (divididos em 2 grupos: um ao qual era administrado retinol, o outro só o veículo). Este estudo demonstrou que o grupo tratado com retinol apresentou uma maior expressão de glucosaminoglicanos e consequentemente a aplicação tópica de retinol melhorou as rugas associadas ao envelhecimento cutâneo (Kafi & Kang, 2007).

Já em outros estudos em que se avaliou a administração oral, ou seja, toma de β -caroteno (percursor da vitamina A), foram mínimas as evidências de que este teria efeito no tratamento dos vários sinais de fotoenvelhecimento e não demonstraram ainda qualquer efeito na proteção contra o aparecimento de eritema provocado pelo sol (Zussman, Ahdout, & Kim, 2010).

4.1.2. Vitamina E

A vitamina E ou tocoferol, é também uma vitamina lipossolúvel e o principal antioxidante não enzimático existente no organismo humano, acumula-se sobretudo nas membranas celulares protegendo-as do dano provocado pelos radicais livres (Chen, Hu, & Wang, 2012). Os tocoferóis transformam radicais livres em espécies mais estáveis por meio da doação de um átomo de hidrogénio, originando produtos eletricamente estáveis ou menos reativos (Catania, Siqueira, & Barros, 2009).

A existência desta vitamina, foi descrita por Evans e Bishop há cerca de 100 anos (Joshi YB, 2012). Esta é constituída por quatro formas de tocoferóis e quatro formas de tocotrienóis, tais como: α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol, δ -tocoferol, α -tocotrienol, β -tocotrienol, γ -tocotrienol e δ -tocotrienol (Kadoma, Ishihara, Okada, & Fujisawa, 2006).

A forma biologicamente mais ativa, mais concentrada ao nível cutâneo e a mais estudada até ao momento é o α -tocoferol cuja estrutura molecular é mostrada na **Figura 8**,

conseguindo encontrar-se em concentrações 5 a 10 vezes superiores à de γ -tocoferol (Mangialasche, Xu, Kivipelto, & al., 2012).

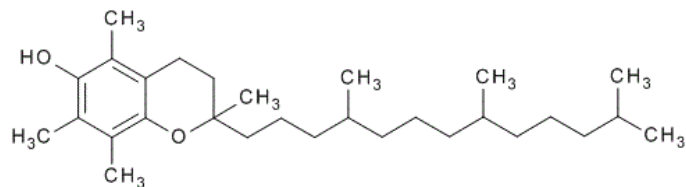


Figura 8 - Estrutura molecular do α -tocoferol, adaptado de (Burke, 2007).

O γ -tocoferol, cuja estrutura molecular é apresentada na **Figura 9**, é o composto mais abundante na dieta, porém os seus níveis plasmáticos são muito baixos em relação aos do α -tocoferol (Joshi YB, 2012). As principais fontes desta vitamina são os óleos vegetais, nozes, sementes (por exemplo as de girassol) e frutas (Wallert, Schmolz, & Galli, 2014). A refinação dos óleos, exposição destes e das restantes fontes alimentares ao calor e luz solar determinam perdas substanciais desta vitamina (Usono & Mousa, 2010).

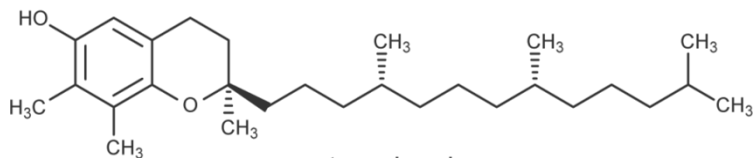


Figura 9 - Estrutura molecular do γ -tocoferol, adaptado de (Joshi YB, 2012).

Esta vitamina tem capacidade de prevenir eritemas solares (reduzindo o processo inflamatório e o aumento da permeabilidade vascular), assim como a formação de manchas cutâneas, ou seja, atua por prevenção da peroxidação lipídica, funcionando como anti-inflamatório (Burke, 2007).

Tanto o éster de α -tocoferol como a sua forma ativa são usados principalmente como antioxidantes de lípidos, doando elétrons diretamente para os radicais livres, estabilizando as

membranas biológicas, e em peles envelhecidas pode diminuir rugas e a formação do tumor cutâneo (Traber & Tkinson, 2007).

Por todas estas razões o tocoferol também é muito utilizado na prevenção de fotoenvelhecimento cutâneo e veiculada quer em suplementos orais, como em produtos de uso tópico, tendo já sido demonstrado que a sua aplicação tópica entre 5% a 8%, pode melhorar esses sinais (Moslemi & Tavanbakhsh, 2011).

Apesar de muitas formulações conterem esta vitamina na sua composição, muitas mostram-se ineficazes, podendo este facto ser explicado por diversas razões, tais como (Walters, Roberts, & Kenneth, 2008):

- A formulação ter uma concentração insuficiente de vitamina;
- A molécula ser bastante instável, sendo facilmente oxidada quando exposta ao ar ou à luz, convertendo-se na sua forma inativa;
- A forma da molécula de vitamina E, não ter uma absorção e metabolização eficaz.

Contudo, quando se consegue que uma formulação estável, liberte uma alta concentração de vitamina E não esterificada, esta vitamina tem de facto a propriedade de inibir o eritema provocado pela exposição aguda à radiação UV, o edema, as queimaduras solares, o fotoenvelhecimento cutâneo, a imunossupressão induzida por radiação solar e até mesmo cancro da pele (Walters, Roberts, & Kenneth, 2008).

Esta vitamina está também descrita como sendo um despigmentante, atuando ao nível das manchas cutâneas. A vitamina E é muito utilizada em produtos pós-sol porque reduz os danos induzidos pelos raios UV, diminui o eritema e a sensibilidade da pele após a exposição da luz UV, como referido anteriormente e além disso, ela também está presente em cremes para assaduras de bebés, pós-barbas e hidratantes para mãos e pés devido às suas propriedades anti-inflamatórias, calmantes e cicatrizantes (Azulay & Bagatin, 2009).

Foi verificado em vários estudos, que pacientes que aplicaram vitamina E topicamente, ficaram com menos queimaduras solares e com um bronzado mais ténue (Burke, 2007).

Adicionalmente, alguns estudos em humanos e animais, demonstraram a redução da peroxidação lipídica, do fotoenvelhecimento, da imunossupressão e da fotocarcinogénese, após a aplicação tópica de vitamina E (Chen, Hu, & Wang, 2012).

A vitamina E é também muitas vezes associada ao β -caroteno, uma vez que este se mostra mais eficaz quando interage com as espécies reativas de oxigénio em tecidos com baixas tensões de O_2 , enquanto que a vitamina E se mostra mais eficiente quando há altas tensões de O_2 no meio (Kadoma, Ishihara, Okada, & Fujisawa, 2006) (Burke, 2007) (Gomes, 2007).

Como a vitamina E oxidada é regenerada pela vitamina C, tem-se verificado a realização de estudos que avaliam a junção destas duas vitaminas na composição de várias formulações, pois este efeito sinérgico existente entre elas, poderá potenciar a eficácia da formulação em si, como referido anteriormente (Burke, 2007).

4.1.3. Vitamina C

A vitamina C, cuja estrutura molecular é apresentada na **Figura 10**, foi isolada e caracterizada primeiramente por Szent-Gyorgyi em 1928. Em 1933, Hirst e Haworth, anunciaram a estrutura química da vitamina C e sugeriram, em conjunto com Szent-Gyorgyi, a mudança do nome para ácido ascórbico (Shapiro & Saliou, 2001).

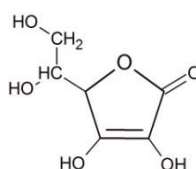


Figura 10 - Estrutura molecular da Vitamina C (ácido ascórbico), adaptado de (Keller & Fenske, 2012).

A vitamina C é hidrossolúvel e termolábil (F'guyer, Afaq, & Mukhtar, 2003), a nível celular atua como cofator em diversas reações enzimáticas, tendo um papel fundamental nas reações de oxidação-redução, sendo deste modo considerada um potente antioxidante, reagindo fortemente com os diversos radicais, eliminando-os e nutrindo as células, protegendo-as de danos causados pelos oxidantes, da mesma forma que o α -tocoferol (Pereira & Vidal, 2009) e portanto também auxilia o retardamento do envelhecimento extrínseco (Ochiai, Kaburagi, Obayashi, & al., 2006) (Barata, 2002).

Esta vitamina confere então fotoproteção no que respeita à radiação UVA e UVB, inibindo as lesões provocadas por estas radiações, podendo ser utilizada como um produto biológico fotoprotetor de largo espectro (Burke, 2007). Para além disto, a vitamina C tem outras propriedades, tais como (Walters, Roberts, & Kenneth, 2008) (Stamford, 2012) (Burke, 2007) (Farris P. , 2005) (Phillips, Combs, & Pinnell, 1994):

- Clarear a hiperpigmentação - promovendo a redução da produção de melanina através da inibição da tirosinase;
- Melhorar uma grande variedade de dermatoses inflamatórias;
- Promover a síntese de colagénio, ativando cerca de 4 genes responsáveis pela ativação de colagénio, melhorando assim a elasticidade e firmeza da pele.

A sua aplicação em produtos cosméticos é vantajosa, uma vez que possibilita níveis que não seriam possíveis alcançar com a ingestão de frutas ou suplementação oral (Pinnell, Yang, Omar, & al., 2001) (Chorilli & Ribeiro, Efeito de emulsão contendo extrato seco de guaraná sobre os vasos sanguíneos da derme papilar de ratos, 2004), contudo esta precisa de ter alguns requisitos para ter uma aplicação tópica efetiva, tais como por (Burke, 2007) (Pinnell, Yang, Omar, & al., 2001) (Mao, Roy, Troung-Le, Janes, & al., 2001):

- Concentração suficiente;
- Ser estável - Uma maneira de aumentar a estabilidade da vitamina C é modificar quimicamente a sua estrutura, esterificando os grupos hidroxilo com ácidos orgânicos ou

inorgânicos de cadeia longa; outro método é encapsular dentro de nanopartículas que protegem o composto sensível da degradação química e enzimática durante o armazenamento.

É um dos componentes vitamínicos melhor estudados até ao presente, no entanto é muito sensível à oxidação, sendo destruída quando exposta ao meio ambiente (Griffiths & Lunec, 2001), devido a essa instabilidade. Neste âmbito, vários derivados foram criados para que se conseguisse uma maior estabilidade para o seu uso tópico (WEBER et al., 2009).

As preparações tópicas de vitamina C são populares e o ácido ascórbico pode ser formulado em formas solúveis em água ou lípidos (Silva & Mejia, 2013). O palmitato de ascorbil (**Figura 11**) tópico, uma forma lipídica, não causa irritação e é comprovadamente fotoprotetor e anti-inflamatório. Porém algumas das preparações tópicas disponíveis são incapazes de penetrar no estrato córneo, sendo assim, inúteis (Colven & Pinnell, 1996).

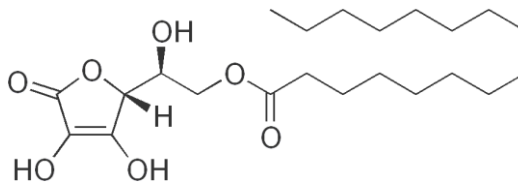


Figura 11 - Estrutura molecular do palmitato de ascorbil, adaptado de (Darr, Colven, & Pinnell, 1997).

Os primeiros estudos do uso tópico da vitamina C, foram efetuados primeiramente em animais, em 1967, utilizando creme de fosfato de ácido ascórbico a 3% e assistiram então à sua absorção através da epiderme até a camada basal. Além dessa observação, os autores notaram que os níveis da vitamina nos locais de aplicação tópica, em comparação com os relativos à vitamina utilizada por via oral, foram mais elevados (Aranha, Gonçalves, & Barros, 2000).

Outro estudo mais recente, efetuado por *Kashara e Kawashima (2013)*, revelou que o tratamento com vitamina C tópica, reduz o eritema induzido pelas radiações UVB, conferindo aos cosméticos uma ação profilática de fotoproteção. Ainda dois outros estudos realizados a voluntários que aplicaram vitamina C tópica a 5% durante seis meses, comparada com placebo, demonstraram uma melhoria clínica, histológica e estrutural significativas (Riscuta, 2016).

Foi também avaliado o efeito da vitamina C a 10%, aplicando-se na metade da face de 10 voluntários esta vitamina durante 12 semanas, demonstrando melhoria clínica e formação de colagénio no exame histopatológico (Bagatin, 2008). Há ainda evidências de que a aplicação de vitamina C a 3% durante 12 semanas, pode reduzir as rugas faciais (Burke, 2007).

A vitamina C pode também agir sinergicamente com a vitamina E, aumentando a sua potência por doar eletrões a essa e, dessa forma, reciclá-la para a sua forma ativa - antioxidante (Baumann, 2004). Esta vitamina é capaz de neutralizar os radicais livres produzidos pela radiação UV e regenerar a vitamina E oxidada. Portanto a ação sinérgica com esta, torna interessante a sua associação como já referido (Mireles-Rocha, Galindo, & Huerta, 2002).

Os tocoferóis atuam como primeira barreira defensiva contra os radicais lipofílicos, enquanto que o ácido ascórbico, vitamina C, intervém como primeira barreira diante dos radicais hidrofílicos. O sinergismo entre as vitaminas C e E, é comumente referido na literatura, mostrando que a interação dessas vitaminas é efetiva na inibição da peroxidação dos lipídios da membrana, na proteção do DNA e na diminuição da incidência de complicações infecciosas (Wrona, Rozanowska, & Sarna, 2004).

O ácido ascórbico quando administrado isoladamente também atua contra os danos induzidos pela radiação UV, capturando as espécies reativas geradas. Esta vitamina está presente na forma de anião ascorbato em pH fisiológico, sendo que este apresenta menor penetração em comparação à sua forma esterificada (palmitato de ascorbil), que é mais lipossolúvel. Estudos mostram que a de uma formulação contendo ascorbato pode aumentar até em 25 vezes a sua concentração na pele (Darr, Combs, Dunston, & Manning, 1992), em comparação a suplementação oral não mostra efeitos benéficos significativos na pele (Darr, Colven, & Pinnell, 1997).

Parece tornar-se evidente que a aplicação tópica de antioxidantes, nomeadamente das vitaminas acima descritas, pode ser mais vantajosa do que a sua administração por via oral.

Adicionalmente, por vezes não é possível a utilização das vias de administração mais comuns, como é o caso da via oral, uma vez que há fármacos que são sensíveis às

transformações metabólicas que podem ocorrer tanto no trato gastrointestinal como no fígado. Assim torna-se relevante compreender outras vias de administração destes antioxidantes, nomeadamente em tratamentos locais, como no caso das doenças de pele (Benson & Watkinson, 2012), em que se torna determinante compreender melhor a pele como via de administração.

5. A pele como via de administração

A administração de produtos através da pele pode ser obtida através da via tópica, cujo principal objetivo é um efeito local (Kulkarni V. S., 2010).

As grandes vantagens da administração tópica comparativamente com a administração oral são (Singla, 2012) (Moody, 2010):

- Evitar o efeito de primeira passagem;
- Ação direta no sítio alvo ou muito próximo; necessitando assim de uma menor quantidade de substância ativa e como tal, originando menos efeitos secundários;
- Minimizar os efeitos adversos sistémicos;
- Melhorar a adesão do doente;
- Possibilitar a cessação da terapêutica quando necessário;
- Permitir a auto-administração;
- Fácil aplicação;
- Maior eficácia com menos dosagem;
- Menos riscos associados em relação à administração oral ou intravenosa (interações ou infeções).

No entanto, a administração através da pele também apresenta desvantagens, tais como (Moody, 2010) (Singla, 2012):

- Possibilidade de ocorrência de irritações e reações alérgicas na pele;
- Restrições das propriedades físico-químicas dos fármacos.

Visto que a pele, ao contrário dos órgãos internos, é o órgão de fronteira com o exterior uma das suas principais funcionalidades é a sua função barreira (Benson & Watkinson, 2012). E portanto, a pele caracteriza-se por uma capacidade de absorção limitada, existindo assim fatores preponderantes, como é o caso do estado da pele e da idade do indivíduo, por exemplo (Kulkarni V. S., 2010).

Contudo, não são só estes os fatores que podem influenciar a absorção através da pele, existem mais, tais como (Kulkarni V. S., 2010) (Bologna, 2012):

- Superfície corporal – quanto maior a superfície em contato com o produto maior quantidade é absorvida;
- Volume total de água – quanto maior o volume de líquido extra e intracelular, garante maior hidratação da pele e mais fácil se torna a passagem do produto através da pele;
- A pele humidificada por tempo prolongado pode aumentar a hidratação até cinco vezes mais, aumentando, conseqüentemente, a permeabilidade cutânea e facilitando a absorção das substâncias;
- Tamanho molecular da substância ativa - onde as moléculas mais pequenas são mais facilmente absorvidas;

O uso de substâncias para aplicação tópica, tem como objetivo maximizar a concentração das mesmas no tecido alvo. Alguns compostos são indicados para permanecerem na superfície da pele, como por exemplo os contidos em protetores solares ou em cremes barreira, enquanto que outras substâncias se destinam a atingir a epiderme viável ou a derme, como por exemplo os analgésicos locais ou os antifúngicos (Benson & Watkinson, 2012).

A absorção cutânea depende não só da natureza das substâncias que pretendemos introduzir no organismo, como também do suporte em que vão dissolvidas, ou seja, a fórmula molecular do composto, o seu pH, se é solúvel em água ou em lípidos e o veículo que contém o produto. A substância a incorporar é misturada com ingredientes inativos. Dependendo da consistência desses ingredientes, as formulações tópicas mais comuns incluem: pomadas, cremes e geles (Kulkarni V. S., 2010).

6. Tipos de Sistemas de Veiculação Tópicos

6.1. Formulações tópicas convencionais

O desenvolvimento de formulações tópicas iniciou-se há centenas de anos, com o objetivo de tratar determinadas doenças de pele através de moléculas seguras e eficazes, recorrendo-se igualmente a uma relação de custo-efetividade. Há vários fatores necessários a ter em conta no desenvolvimento destes produtos, começando pela seleção das substâncias a incluir nos sistemas desenvolvidos até à seleção da melhor formulação final (Benson & Watkinson, 2012).

As formulações tópicas estão indicadas para uma aplicação direta sobre a pele e este tipo de formulação pode ser otimizada para um determinado local ou para um tipo de condição da pele (Kulkarni V. S., 2010). Em particular, no que diz respeito às formulações tópicas contendo antioxidantes, estas têm uma grande relevância na área da cosmética.

Os produtos cosméticos, estes podem ser definidos como, uma qualquer substância ou preparação destinada a contactar com diversas zonas superficiais do corpo humano, designadamente epiderme, sistemas piloso e capilar, unhas, lábios e órgão genitais externos, ou com os dentes e a mucosas bucais, com a finalidade de os limpar, perfumar, modificar o seu aspeto, proteger, manter em bom estado ou corrigir os odores corporais, sem nunca atingir a corrente sanguínea (Barata, 2002).

Ou seja, os cosméticos são substâncias, misturas ou formulações, que se aplicam na pele com a função de a limpar, corrigir o seu aspeto e protegê-la, não alterando a sua estrutura ou funções (Pinheiro & Pinheiro, 2007). Deste modo, é muito difícil fazer-se uma distinção entre os cosméticos para o embelezamento, como as maquilhagens e os cosméticos destinados ao cuidado pessoal e à obtenção de resultados específicos, como redução na formação de rugas (Galembeck & Csordas, 2009).

Nos últimos tempos surgiram produtos com funções mais complexas do que a limpeza ou o embelezamento, os cosmecêuticos (Galembeck & Csordas, 2009). O termo cosmecêuticos, foi criado há aproximadamente 30 anos por Albert Kligman, para definir produtos com substâncias ativas que não podiam ser considerados cosméticos nem medicamentos (Azulay & Bagatin, 2009). Tal como os cosméticos, os cosmecêuticos são aplicados na pele, sendo diferentes uma vez que contêm substâncias que podem influenciar a função biológica da pele, proporcionando uma pele saudável (Brandt, Cazzaniga, & Hann, 2011). São produtos que usam substâncias químicas como matérias-primas: colagénio, elastina, retinoides, antioxidantes e agentes de despigmentação (Galembeck & Csordas, 2009) (Castro, 2011). Os cosmecêuticos são produtos muito populares, principalmente os que ajudam no tratamento e prevenção do envelhecimento (Azulay & Bagatin, 2009), sendo que o desenvolvimento de um produto antioxidante tópico é complexo, pois são vários os fatores que podem influenciar o seu desempenho quando aplicado na pele, nomeadamente o tipo de formulação desenvolvida (Fonseca, 2008) (Neves, 2008).

Assim, existem diversas formas galénicas, dependendo do veículo utilizado e estas podem ser líquidas, sólidas ou semi-sólidas. No primeiro grupo estão incluídas as emulsões, as suspensões, os *sprays* e as soluções, no segundo grupo podemos encontrar os pós, e por último, no grupo dos semi-sólidos temos os cremes, as pomadas, as pastas, os geles e as espumas. No entanto, as mais utilizadas em sistemas de veiculação tópicos com antioxidantes são as emulsões, os geles e as pomadas (Benson & Watkinson, 2012) (Ueda, 2009).

6.1.1. Emulsões

As emulsões são sistemas de veiculação tópicos, e são o tipo de veículo mais utilizado ao nível dermatológico e cosmético (Prista, 2008).

De acordo com Prista em 2008, relativamente à emulsão esta pode ser definida como:

“Emulsão é um sistema heterogéneo constituído por duas fases, imiscíveis entre si, em que uma das fases se encontra dispersa ou descontínua noutra dispersante ou contínua”.

Existem vários tipos de emulsões, classificadas consoante o tipo de fase dispersante ou contínua, assim têm-se emulsões do tipo óleo/água (O/A) ou água/óleo (A/O), em que a fase dispersante é oleosa ou aquosa, respetivamente (Estanqueiro & Conceição, 2014).¹

As emulsões podem apresentar-se na forma de cremes ou loções, sendo que os cremes são mais utilizados e classificados como sistemas semi-sólidos (Prista, 2008).

Os cremes O/A contêm na fase externa, componentes que são solúveis em água e mais facilmente removidos da pele, enquanto os cremes A/O possuem nesta fase componentes lipossolúveis e apresentam uma maior resistência à água, e portanto os cremes O/A são melhor aceites do que os cremes A/O, para além de não deixarem uma película oleosa à superfície da pele (Chorilli, Udo, Cavallini, & Leonardii, 2006).

Uma vez que na emulsão existem duas fases imiscíveis entre si, os agentes emulsivos que se adicionam a este tipo de formulação permitem criar uma barreira física, de modo a reduzir a coalescência e a tensão interfacial que se desenvolve entre as duas fases, aumentando

¹ Sendo que a fase que se apresenta dividida numa emulsão é denominada fase interna, dispersa ou descontínua, da mesma forma que o líquido que cerca as gotículas é designado como fase externa, dispersante ou contínua (Prista, 2008).

a estabilidade. Para estabilizar este tipo de formulações é frequente recorrer-se a agentes emulsivos (Epstein, 2009).

A degradação microbiana das emulsões é evitada pela inclusão de quantidades adequadas de conservantes na formulação. As preparações que contêm água permitem um maior crescimento microbiano do que as anidras. Os conservantes mais utilizados em preparações tópicas são o metilparabeno, o propilparabeno, os fenóis, entre outros (Prista, 2008). A contaminação das emulsões por microrganismos pode afetar as propriedades físico-químicas do produto, causando problemas como alterações da cor e odor, hidrólise dos óleos, alterações de pH da fase aquosa, podendo causar a separação de fases (Aulton, 2005).

Um produto cosmético ou farmacêutico para ser bem aceite por parte do utilizador, necessita de que a forma farmacêutica utilizada se adequa com precisão às suas funções. E por este motivo, as emulsões são na atualidade um dos veículos mais utilizados na elaboração de produtos cosméticos, pois apresentam uma série de vantagens das quais podemos destacar (Morrison & Sydney, 2002):

- A possibilidade de incorporar simultaneamente num mesmo produto substâncias hidrofílicas e lipofílicas;
- Haver a possibilidade de se obter veículos com diferente textura e consistência.

Além disso, conseguem ainda aperfeiçoar a absorção, a estabilidade, as propriedades terapêuticas e a capacidade de dispersão dos componentes ativos da formulação (Prista, 2008).

6.1.2. Geles

Os geles são sistemas semi-sólidos, e são dispersões coloidais. Normalmente são formados por água, álcool ou uma mistura hidro-alcoólica e um agente gelificante que é usado com a finalidade de aumentar a consistência/viscosidade da formulação, cujo principal é o carbopol (Prista, 2008).

Estes sistemas não possuem efeito oclusivo e portanto podem ser usados para aplicação de anti-inflamatórios, anti-infecciosos, anti-histamínicos e até para o tratamento do acne e de rosáceas. Os geles são constituídos essencialmente por uma base aquosa e são isentos de qualquer tipo de óleo ou gordura e por esta razão, não são tao bem absorvidos pela pele como as preparações com constituição gordurosa. São relativamente bem aceites pelo utente devido às suas propriedades refrescantes por serem de fácil aplicação e estão indicados em peles especialmente sensibilizadas pelo sol (Prista, 2008).

Em suma, este tipo de sistemas possui vantagens, tais como (Culp & Scheinfeld, 2009):

- Conter alto teor em água;
- Efeito refrescante;
- Início de ação rápido;
- Bom perfil de segurança;
- Elevada satisfação do consumidor.

Contudo, também apresenta a desvantagem da possibilidade de ocorrer ardor, comichão, secura, descamação ou vermelhidão na pele (Culp & Scheinfeld, 2009).

6.1.3. Pomadas

As pomadas também são sistemas semi-sólidos, contêm menos de 20% de água e de voláteis e mais do que 50% de hidrocarbonetos, ou ceras, como veículo. Este tipo de formulações são normalmente utilizadas no caso de doenças crónicas como o eczema, a psoríase e a dermatite, devido às suas propriedades oclusivas que permitem proporcionar um papel emoliente ao nível da pele. As pomadas estão normalmente associadas a oleosidade e a adesividade e portanto não são tão bem aceites pelos utentes (Prista, 2008).

Contudo, estes sistemas de veiculação apresentam várias vantagens, tais como:

- Eficaz para peles muito secas;
- Muitos não usam conservantes;
- Maior penetração da substância;
- Eficaz em lesões com pele espessa;
- Oclusividade pode ser benéfica.

Tendo como desvantagens o facto de serem insolúveis em água e, portanto, de difícil lavagem e de causarem um efeito gorduroso, o que faz com que não sejam tão bem aceites pelos utentes (Prista, 2008).

No que diz respeito à incorporação de antioxidantes em sistemas de veiculação tópicos convencionais, são vários os exemplos descritos na literatura.

6.1.4. Antioxidantes nos sistemas convencionais

Relativamente à incorporação de antioxidantes em emulsões temos por exemplo, a incorporação da vitamina C numa emulsão múltipla A/O/A, onde foi possível demonstrar que, mesmo esta sendo uma substância hidrofílica, a sua penetração, quando veiculada nesta emulsão múltipla, não é reduzida, mas sim melhorada quando comparada com a emulsão simples O/A (Tokgoz, 1996).

Em 2001, Arnejo & Garcia também estudaram a incorporação desta vitamina em emulsões múltiplas, do tipo emulsão A/S/A, e da sua função como despigmentante. Esta emulsão foi escolhida devido aos benefícios que se obtêm das propriedades físico-químicas dos silicones, além das características de estabilidade que estes oferecem às formulações de produtos para o tratamento da pele. Os valores obtidos no doseamento da vitamina C demonstraram que a emulsão múltipla atua realmente como uma cápsula, cumprindo o papel de barreira frente à ação do oxigénio, em comparação com a diminuição drástica que sofreu a concentração de vitamina C na emulsão simples.

Outro estudo que demonstra a incorporação do ácido ascórbico neste tipo de emulsões (Dalcin, Schaffazick, & Guterres, 2003), nomeadamente em emulsões múltiplas, do tipo propilenoglicol/óleo/água (P/O/A), faz uso desta vitamina com a finalidade de reduzir as manchas na pele no melasma. Neste estudo, foi possível concluir que a emulsão P/O/A, constitui uma boa estratégia para proteger esta vitamina da oxidação, podendo ser a sua estabilidade comprovada, quando comparada com as emulsões simples.

Ainda em 2003, Humbert et al., demonstraram a eficiência da vitamina C quando aplicada em pele danificada pela radiação solar, em comparação com um placebo. Mais concretamente, uma formulação de 5% de vitamina C foi aplicada diariamente durante 6 meses, e houve uma melhoria significativa na aparência clínica da pele fotoenvelhecida e reduções significativas nas rugas.

Existem também no mercado vários geles contendo antioxidantes com a função de proporcionar um efeito acalmante, reparador, protetor e nutritivo, em especial em peles sensibilizadas pelo sol (Prista, 2008).

No que diz respeito aos geles ou cremes, um exemplo da incorporação de antioxidantes nestes sistemas, é a Isotretinoína que é um derivado da vitamina A (Serri & Iorizzo, 2008). Esta tem como funcionalidade diminuir o número de lesões, vermelhas e inflamadas, da acne (INFOMED, 2017).

Relativamente às pomadas, também são utilizados antioxidantes muitas vezes como excipientes de formulações contendo outros ativos responsáveis pela ação principal da formulação, mas onde estes antioxidantes também podem ter alguma funcionalidade na pele. Temos o exemplo do palmitato de retinol (vitamina A) que irá formar uma camada protetora na pele (INFOMED, 2017).

Com estes estudos podemos comprovar a utilidade da incorporação de antioxidantes em sistemas de veiculação tópicos.

No entanto, por vezes existem dificuldades em limitar a ação de algumas substâncias aos vários estratos e estruturas da pele, ou seja, em evitar que estas atravessem a barreira cutânea e sejam absorvidas na corrente sanguínea, evitando a ação sistémica (Chanchal & Swarnlata, 2008). Neste contexto, têm sido várias as tentativas de criar sistemas tópicos alternativos, que permitam a libertação controlada de substâncias. Neste âmbito, a nanotecnologia tem vindo a ocupar um lugar de destaque (Benson & Watkinson, 2012) (Nelson & Patrick, 2009).

6.2. Sistemas de veiculação controlada

6.2.1. Nanotecnologia em sistemas de veiculação tópicos (formulações recentemente desenvolvidas)

O significado de nanotecnologia evoluiu significativamente ao longo dos anos. Esta é uma área transversal a vários domínios científicos englobando conceitos da biologia, química, engenharia, matemática, computação, entre outros (Mihrianyan, Ferraz, & Stromme, 2012). A nanotecnologia aplicada às ciências farmacêuticas, e em particular ao encapsulamento de substâncias, surgiu há relativamente pouco tempo, mas devido aos recentes e rápidos avanços tecnológicos nesta área, tem possibilitado a descoberta de novas oportunidades de diagnóstico e terapêutica para diversas doenças (Kamaly, Xiao, Valencia, & al., 2012).

A nanotecnologia foi comentada pela primeira vez, pelo físico Richard Feynman em 1959, onde este destacou a possibilidade na manipulação dos átomos e moléculas (Etheridge & al., 2013). Esta tecnologia tem como base as estruturas coloidais de dimensões compreendidas entre 0.1 e 1000 nanómetros (nm) (Fatal & Eugénio, 2010), tal como ilustra a **Figura 12**. Estas podem ser preparadas por diferentes métodos e com diferentes materiais, tais como: polímeros, macromoléculas, metais e lípidos (Soto & Muller, 2007) (Severino & Santana, 2011).

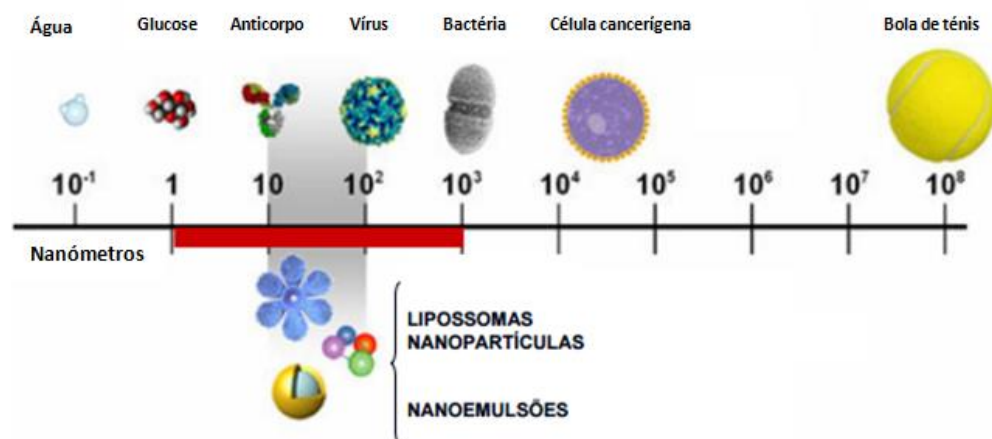


Figura 12 - Exemplo de onde se encontram alguns nanosistemas, adaptado de (Fatal & Eugénio, 2010).

A nanoencapsulação envolve a incorporação ou dispersão das substâncias no estado sólido, líquido ou gasoso, dentro de vesículas pequenas, com diâmetro na escala nanométrica. (Klaypradit & Huang, 2008) (Gharsallaqui, Roudaut, & Chambin, 2007).

Em sistemas de veiculação tópicos, a nanoencapsulação de ingredientes ativos pode conferir inúmeras vantagens a esses compostos, tais como (Jafari, Assadpoor, & Bhandari, 2008):

- Elevada estabilidade físico-química;
- Libertação controlada;
- Direcionamento para alvos específicos.

Paralelamente, estes nanosistemas permitem também a manutenção da integridade da barreira cutânea, aumento da eficácia e tolerância das substâncias à superfície da pele e a obtenção de produtos mais atrativos do ponto de vista estético (Mu, 2010).

Em suma, a ação terapêutica das substâncias depende da sua concentração no local de ação, durante um período de tempo desejável (Kesarwani, Gupta, & Mukerjee, 2013), e,

portanto, os sistemas de libertação controlada, apresentam inúmeras vantagens quando comparados com os sistemas convencionais, pois têm como objetivo prolongar e controlar a administração das substâncias de forma direcionada (Panyam & Labhasetwar, 2003).

Apesar de se tratar de uma área que se encontra ainda em expansão, estes nanosistemas podem já ser encontrados em alguns produtos onde estão incorporados antioxidantes, tais como: protetores solares, cremes, produtos de limpeza, entre outros (Ochekpe, Olorunfemi, & Ngwuluka, 2009) (Bonifácio, da Silva, & al., 2014) (Kamaly, Xiao, Valencia, & al., 2012). Como por exemplo existe no mercado cosmético desde 1986 (Souto & Müller, 2010), formulações tópicas anti-envelhecimento à base de lipossomas (cremes, geles), produzidas por várias marcas de renome, como por exemplo: L'Óreal e Christian Dior (Mu, 2010) (Kaur, Kapila, & Agrawal, 2007) (Pardeike & Müller, 2009).

Assim, a nanotecnologia, e a sua aplicação em sistemas de veiculação tópicos tem sido uma área em rápido crescimento e desenvolvimento na atualidade, devido às inúmeras vantagens que apresenta (Mignet, Seguin, & Chabot, 2013). Neste sentido, têm sido desenvolvidos diferentes tipos de nanosistemas, que têm como base diferentes matérias-primas, entre os quais se destacam as nanoemulsões, as nanopartículas e os lipossomas (Crosera, 2009) (Nasir, 2010) e onde se pode ver descrito na **Figura 13**, as aplicações da nanotecnologia mais usadas na área dos sistemas de veiculação tópicos com antioxidantes.

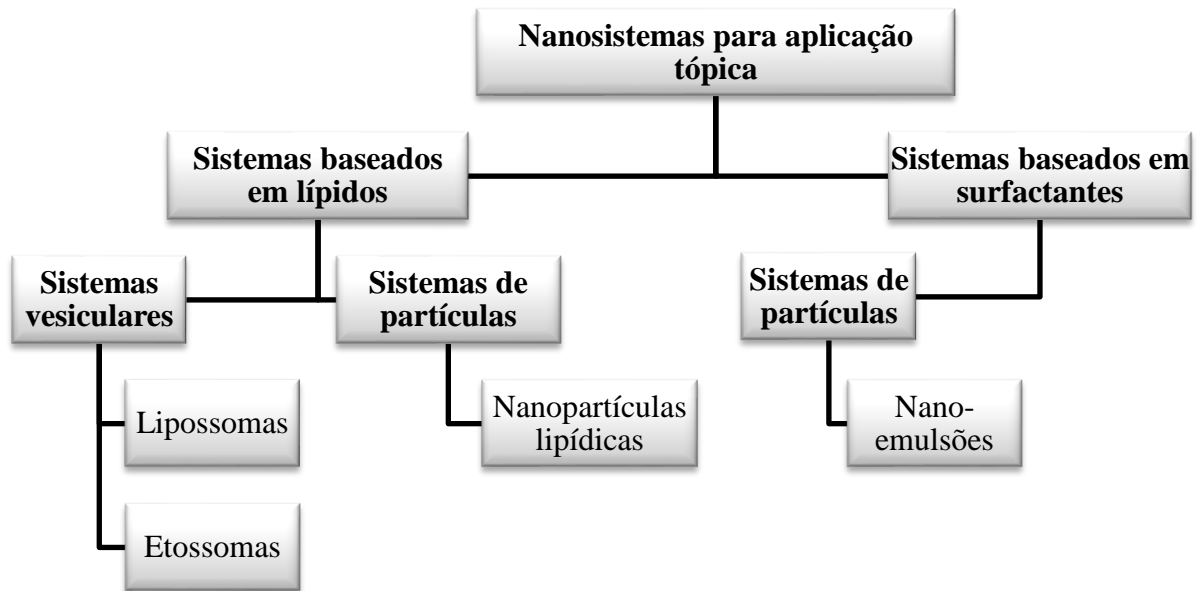


Figura 13 - Alguns nanosistemas usados para aplicação tópica.

a) Lipossomas

Os lipossomas foram os primeiros nanosistemas a serem introduzidos em cosméticos, e surgiram na década de sessenta, quando Alex Bangham através de uma experiência laboratorial constatou que a hidratação de um filme lipídico formado por fosfolípidos levava à formação de vesículas fechadas semelhantes às encontradas nas membranas celulares. Bangham *et al* em 1965, chamaram a estas estruturas lipídicas, de lipossomas (Batista & Carvalho, 2007) (Shegokar & Keck, 2011).

Portanto, os lipossomas são constituídos por estruturas vesiculares esféricas, designadas de fosfolípidos, sendo que estes podem ser de natureza sintética ou natural, apresentam tamanhos nanométricos e encontram-se separadas por um meio aquoso (Shegokar & Keck, 2011). Podendo variar entre si nas dimensões, composição, carga elétrica da superfície e estrutura (Batista & Carvalho, 2007) (Chanchal & Swarnlata, 2008) (Araújo, Gonzalez, & Egea, 2009).

Estes podem conter uma única bicamada lipídica ou bicamadas múltiplas à volta do compartimento aquoso interno e, portanto, são classificados em unilamelares (ULVs) e multilamelares (MLVs), respetivamente, tal como mostra a **Figura 14** (Araújo, Gonzalez, & Egea, 2009).

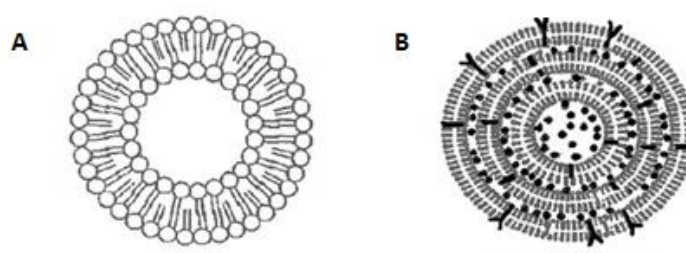


Figura 14 A e B – Estrutura de Lipossomas unilamelares (ULVs) e multilamelares (MLVs), respetivamente, adaptado de (Araújo, Gonzalez, & Egea, 2009).

As formulações que contêm lipossomas são conhecidas por favorecerem a deposição da substância na pele, reduzirem o potencial de irritação cutânea e melhorarem a estabilidade dos produtos (Weiner & Egbaria, 1990) (Kulkarni S. , 2010).

Também é possível encontrar outras vantagens ao nível dos lipossomas, tais como (Morrow & al., 2007) (Sezer, 2012):

- São biodegradáveis e biocompatíveis;
- Não são tóxicos;
- São capazes de incorporar vários componentes;
- Têm elevada biodisponibilidade;
- Apresentam melhor adesão e satisfação por parte dos doentes;
- Podem incorporar vários tipos de substâncias, hidrofílicas, lipofílicas e anfipáticas;
- Podem ser utilizados em diferentes vias de administração, tais como via oral, parental ou tópica;
- Podem ser utilizados em diversas formulações, tais como: semi-sólidos, pós, suspensões.

Estes sistemas podem encapsular moléculas hidrofílicas no seu compartimento aquoso interno e moléculas lipofílicas, anfifílicas ou hidrofílicas carregadas nas bicamadas das suas membranas, através de interações eletrostáticas ou hidrofóbicas (Kulkarni V. S., 2010).

Devido à sua constituição, os lipossomas, permitem incorporar substâncias com diversas propriedades físico-químicas, estes apresentam carga à superfície podendo esta ser positiva, negativa ou neutra dependendo da sua composição química (tipo de fosfolípidos, ingredientes ativos e de outros lípidos utilizados), e o seu revestimento não só protege o material interno da humidade, da luz, do oxigénio, de agentes externos adicionais, como também permite/auxilia o controlo da libertação das substâncias (Weiner & Egbaria, 1990) (Kulkarni V. S., 2010).

No entanto, existem principalmente três grupos de fármacos que são mais frequentemente utilizados neste meio que são os corticosteróides, os retinóides e os anestésicos locais (Kaur, Kapila, & Agrawal, 2007). Estas substâncias apresentam uma composição lipídica bastante semelhante à epiderme, e por esta razão, permitem a utilização dos lipossomas como veículos para transporte e libertação de ingredientes ativos em sistemas tópicos (Araújo, Gonzalez, & Egea, 2009) (Batista & Carvalho, 2007) (Chanchal & Swarnlata, 2008) (Souto & Müller, 2010).

Nos últimos anos, a utilização de lipossomas como sistemas de veiculação tópicos, tem sido bastante aplicada, tendo em conta as vantagens que apresentam, (Araújo, Gonzalez, & Egea, 2009) (Batista & Carvalho, 2007) (Chanchal & Swarnlata, 2008) (Souto & Müller, 2010) a **Figura 15**, ilustra algumas dessas vantagens.

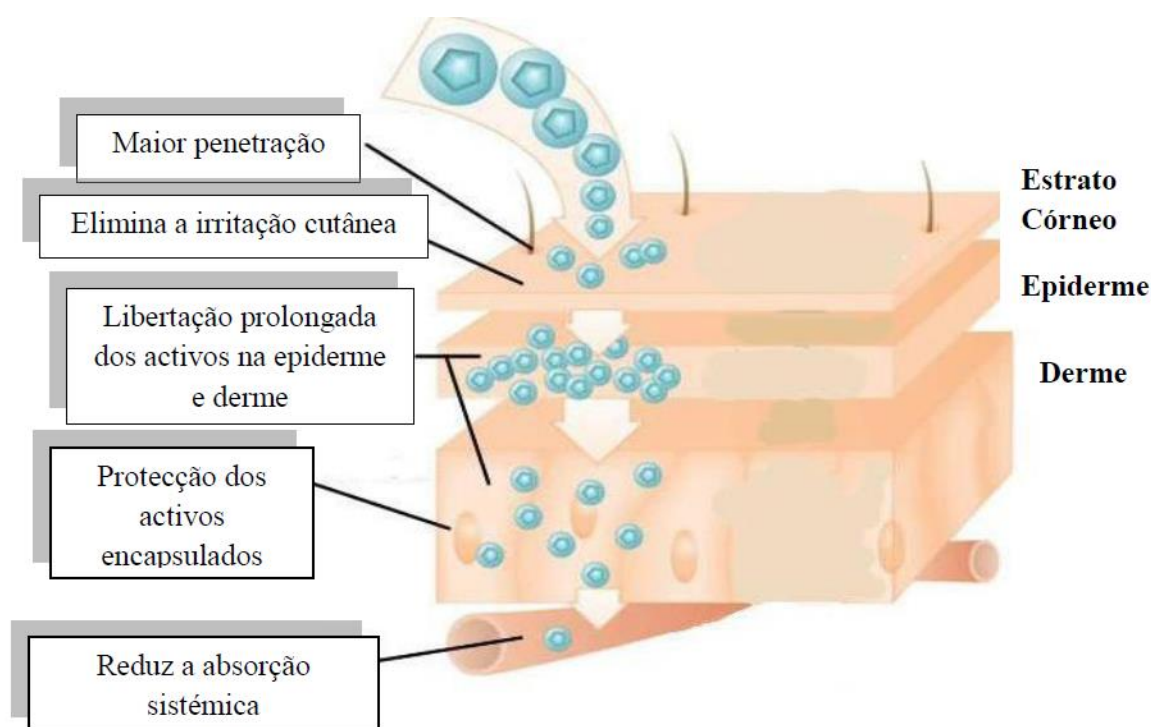


Figura 15 - Principais funções dos lipossomas, adaptado de (Daniels, 2004).

Deste modo, os lipossomas são utilizados para veicular substâncias em sistemas tópicos, porque podem atuar como (Kaur, Kapila, & Agrawal, 2007) (Souto & Müller, 2010) (Mihiranyan, Ferraz, & Stromme, 2012):

- Transportadores, libertando as moléculas encapsuladas diretamente na pele;
- Reservatório para a libertação controlada;
- Barreira para evitar a absorção sistémica.

Apesar de todas as vantagens que apresentam, a aplicação dos lipossomas nestes sistemas pode apresentar inconvenientes, tais como (Araújo, Gonzalez, & Egea, 2009) (Soto & Muller, 2007):

- Elevados custos de produção associados à utilização de fosfolípidos;
- Baixa estabilidade físico-química ao longo do tempo;
- Dificuldades em proteger eficazmente os ativos quimicamente lábeis;
- Risco da ocorrência da libertação imediata dos ingredientes ativos encapsulados;
- Possibilidade de encapsulação de quantidades muito reduzidas de ingredientes ativos.

b) Nanoemulsões

As nanoemulsões são nanosistemas transparentes ou translúcidos formados por gotículas uniformes de dimensões muito reduzidas, que podem estar compreendidas entre 20 a 200 nm. Uma nanoemulsão resulta da mistura de duas fases líquidas imiscíveis com um ou mais agentes tensioativos, formando-se um sistema com aspeto macroscópico homogéneo, mas que se mantém heterogéneo ao nível microscópico (Souto & Müller, 2010) (Sharma, Singh, & Bhadwal, 2011).

As nanoemulsões têm demonstrado ser atrativas para libertação de ingredientes ativos em sistemas tópicos, devido às vantagens que apresentam comparativamente a outros sistemas, tais como (Souto & Müller, 2010) (Sharma, Singh, & Bhadwal, 2011) (Nasir, 2010):

- Elevada superfície de contacto das gotículas, devido ao seu tamanho nanométrico, permitindo também distribuição uniforme;
- Atuam como emolientes, transportando lípidos para a pele, diminuindo a perda transepidérmica da água e reforçando a função de barreira da pele;
- O facto de serem transparentes e possuírem baixa viscosidade, torna-as atrativas do ponto de vista estético;
- A penetração das gotículas através das rugosidades da pele, inclusive através de peles extremamente ásperas, possibilita maior capacidade de hidratação além de facilitar a penetração de ativos;
- Podem ser alternativas aos lipossomas (que possuem baixa estabilidade).

Como principais desvantagens destes nanosistemas, está o facto de estes poderem sofrer fenómenos de floculação e coalescência, afetando a libertação controlada dos ingredientes ativos. Contudo, estes fenómenos são facilmente detetáveis através da simples observação das preparações (Souto & Müller, 2010) (Sharma, Singh, & Bhadwal, 2011).

c) Nanopartículas lipídicas

As nanopartículas lipídicas derivam das emulsões O/A, por substituição de um lípido líquido (óleo), por um lípido que é sólido à temperatura ambiente (Souto & Müller, 2010) (Nikolic, Keck, & Anselmi, 2011). Estes sistemas apresentam tamanhos e estruturas semelhantes aos das nanoemulsões, sendo a principal diferença entre estes, o facto do núcleo das nanoemulsões ser líquido e das nanopartículas lipídicas ser sólido (Souto & Müller, 2010) (Beck, Guterres, & Pohlmann, 2011).

Os sistemas de nanopartículas lipídicas dividem-se em dois subtipos: as nanopartículas de lípidos sólidos ('solid lipid nanoparticles', SLN) e os vetores lipídicos nanoestruturados ('nanostructured lipid carriers', NLC) (Beck, Guterres, & Pohlmann, 2011).

As SLN correspondem à primeira geração de nanopartículas lipídicas e possuem apenas um lípido sólido na sua composição. Por outro lado, as NLC correspondem à segunda geração destes sistemas e caracterizam-se por apresentarem uma matriz constituída por uma mistura de lípidos sólidos e lípidos líquidos (Beck, Guterres, & Pohlmann, 2011) (Souto & Müller, 2010) (Pathak & Thassu, 2009) (Pardeike & Müller, 2009). A **Figura 16** apresenta as principais diferenças entre a matriz das SLN e dos NLC.



Figura 16 - Diferenças entre a matriz das SLN e dos NLC, adaptado de (Souto & Müller, 2010).

As SLN surgiram no início da década de 90, com a finalidade de ultrapassarem as limitações dos sistemas coloidais tradicionais como, por exemplo, lipossomas, nanoemulsões e nanopartículas poliméricas (Pardeike & Müller, 2009) (Souto & Müller, 2010).

Estas têm-se mostrado promissoras como sistemas de transporte de ingredientes ativos em sistemas tópicos, devido às numerosas vantagens que apresentam, tais como (Beck, Guterres, & Pohlmann, 2011) (Chanchal & Swarnlata, 2008) (Nikolic, Keck, & Anselmi, 2011) (Pardeike & Müller, 2009) (Pathak & Thassu, 2009) (Souto & Müller, 2010):

- Propriedades adesivas relacionadas com o tamanho nanométrico, formando um filme oclusivo à superfície da pele, que promove a absorção dos ingredientes ativos e evita a perda de água por evaporação, favorecendo assim a hidratação da pele;
- Efeito protetor solar contra as radiações UV, isoladamente (SLN vazias) funcionando como filtro solar físico ou exercendo um efeito sinérgico por encapsulação de filtros solares químicos ou partículas que atuam como filtros solares físicos (óxido de zinco e dióxido de titânio);
- Efeito pigmentante, permitindo mascarar a cor dos ingredientes ativos encapsulados.

No entanto, as SLN apresentam também desvantagens, designadamente (Beck, Guterres, & Pohlmann, 2011) (Chanchal & Swarnlata, 2008) (Nikolic, Keck, & Anselmi, 2011) (Souto & Müller, 2010):

- Baixa capacidade de carga da matriz lipídica sólida;
- Ocorrência de transformações polimórficas dos lípidos de configurações instáveis (forma α) para configurações mais estáveis (forma β), durante o seu armazenamento, o que conduz à degradação das substâncias encapsuladas;
- Elevada quantidade de água presente nas formulações que é um meio propício à proliferação microbiana e à ocorrência de reações de hidrólise;
- Risco de peroxidação dos lípidos.

Neste contexto, no início do milénio surgiram os NLC, constituindo a segunda geração de nanopartículas lipídicas, com o objetivo de minimizar os problemas associados às SLN (Souto & Müller, 2010) (Nikolic, Keck, & Anselmi, 2011).

A principal diferença entre as SLN e os NLC, reside no facto das últimas serem formadas por uma mistura de lípidos sólidos com lípidos líquidos, cujo ponto de fusão deve ser igual ou superior a 40 °C. A mistura origina uma matriz com muitas imperfeições, permitindo acomodar uma maior quantidade de substâncias (Souto & Müller, 2010). A **Figura 17** representa esquematicamente as principais diferenças entre as SLN e NLC.

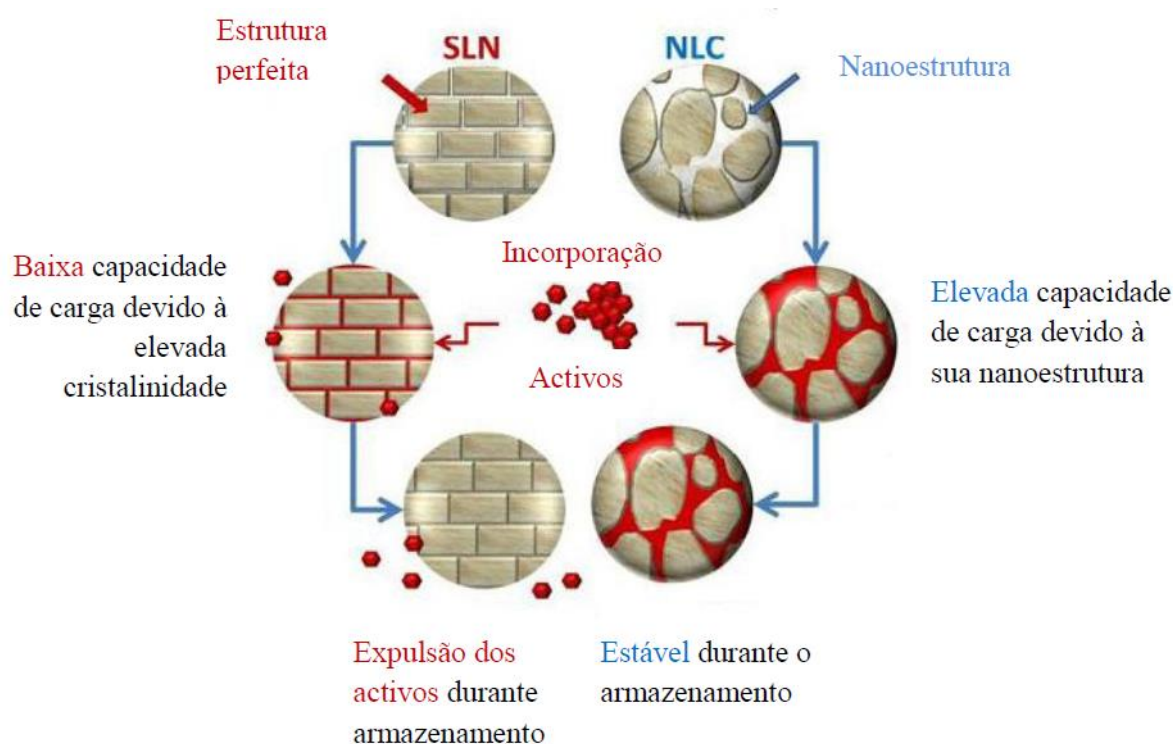


Figura 17 - Principais diferenças entre SLN e NLC adaptado de (Souto & Müller, 2010).

Os NLC combinam as vantagens das SLN ao mesmo tempo que minimizam algumas das suas desvantagens, nomeadamente (Nikolic, Keck, & Anselmi, 2011) (Pardeike & Müller, 2009) (Pathak & Thassu, 2009) (Souto & Müller, 2010):

- Capacidade de encapsular uma maior quantidade de ingredientes ativos;
- Elevada flexibilidade de modulação da libertação das substâncias;
- Elevada estabilidade física durante o armazenamento, devido à estrutura interna mais desorganizada e à menor tendência para a degradação das substâncias.

O interesse da utilização das nanopartículas lipídicas como sistemas transportadores de substâncias em sistemas tópicos resulta do facto de estas reunirem, num só sistema, as vantagens dos sistemas tradicionais, ao mesmo tempo que minimizam as suas desvantagens.

Em comparação com os últimos, as nanopartículas lipídicas apresentam as seguintes vantagens (Pardeike & Müller, 2009) (Pathak & Thassu, 2009) (Souto & Müller, 2010):

- Elevada estabilidade físico-química;
- Redução ou ausência de toxicidade aguda ou crónica, uma vez que são usados lípidos e agentes tensioativos GRAS ('Generally Recognized as Safe'), ou seja, biocompatíveis e biodegradáveis;
- Apresentam uma matriz sólida à temperatura ambiente, permitindo uma libertação modificada bem como a proteção de substâncias lábeis;
- Facilidade de transposição dos métodos de produção à escala industrial;
- Não recorrem à utilização de solventes orgânicos potencialmente tóxicos durante a produção dos sistemas;
- Possibilidade de direccionar as substâncias para locais-alvo específicos;
- Baixos custos de produção.

As SLN e NLC estão particularmente indicadas para encapsular moléculas lipofílicas, uma vez que, para moléculas hidrofílicas apresentam baixa capacidade de carga (Pathak & Thassu, 2009) (Souto & Müller, 2010). Os pré-requisitos fundamentais para uma encapsulação eficaz e uma elevada capacidade de carga das formulações de SLN/NLC são a adequada solubilidade e miscibilidade dos ingredientes ativos com o(s) lípido(s) a utilizar e, ao mesmo

tempo, essa mistura apresentar um ponto de fusão acima da temperatura corporal e ambiente, de modo a manter o seu estado sólido.

Nestes sistemas, a escolha do lípido é crucial para a estabilidade a longo prazo, uma vez que a utilização de lípidos com elevado grau de cristalinidade (triacilgliceróis) facilita a expulsão dos ativos durante o período de armazenamento, devido à falta de espaço disponível para acomodar as moléculas. Pelo contrário, a utilização de lípidos de composição complexa (mistura de mono, di e triacilgliceróis) origina estruturas com muitas imperfeições e, por isso, com mais espaço para acomodar os ativos, minimizando assim o risco de expulsão durante o armazenamento (Nikolic, Keck, & Anselmi, 2011) (Pathak & Thassu, 2009) (Souto & Müller, 2010) (Soto & Muller, 2007).

A sua aplicabilidade é imensamente vasta, existindo aplicações ao nível ocular, intramuscular, oral e dérmico. Ao nível dérmico existem já vários sistemas poliméricos que encapsulam várias substâncias, nomeadamente ingredientes ativos sensíveis como os antioxidantes, tais como: os retinoides e o palmitato de ascorbil por exemplo (Souto & Müller, 2010) (Soto & Muller, 2007).

Relativamente à incorporação de antioxidantes em sistemas de libertação controlada, como é o caso dos nanosistemas, existem vários exemplos.

d) Antioxidantes em Nanosistemas

Em relação aos lipossomas de uma maneira geral eles podem encapsular uma grande variedade de compostos, nomeadamente compostos capazes de retardar o envelhecimento da pele, como as vitaminas C e E, e serem posteriormente incorporados em diversos tipos de produtos, tais como: hidratantes para a pele, produtos anti-envelhecimento e protetores solares (Lasic, 1995.). Ou seja, os lipossomas podem ser encontrados em vários produtos em que é necessário libertar a substância incorporada na epiderme. Os lipossomas por si só, quando formulados em sistemas tópicos aumentam a hidratação (Wu & Guy, 2009) e podem ainda ter como função proteger moléculas facilmente oxidáveis e alteradas, tais como as Vitaminas C e E (Pathak & Thassu, 2009).

Outro tipo de nanosistemas que incorporam antioxidantes são as nanoemulsões, estas podem ser consideradas efetivas, seguras e atrativas para aplicação tópica depois de controlados os fatores de instabilidade (Sharma, Singh, & Bhadwal, 2011). A sua aplicação em sistemas tópicos como por exemplo, em protetores solares, cremes para o corpo, preparações antirrugas e anti-envelhecimento, têm vindo a ser estudada devido às boas características que poderão conferir às preparações (fluidez, frescura, hidratação) e por possuírem uma maior área superficial que as macroemulsões, promovendo igualmente a melhoria da permeação de substâncias lipofílicas (como, antioxidantes e outros compostos anti-envelhecimento) (Sharma, Singh, & Bhadwal, 2011).

As nanoemulsões mais utilizadas em sistemas tópicos, são as do tipo óleo em água (O/A), uma vez que, o seu interior oleoso permite a estabilização e transporte de compostos lipofílicos, como é o caso dos antioxidantes e alguns agentes anti-envelhecimento (Sharma, Singh, & Bhadwal, 2011) (Chanchal & Swarnlata, 2008) (Nasir, 2010). Do ponto de vista da formulação final, uma nanoemulsão corresponde a uma preparação de textura fluida, não gordurosa, facilmente absorvida pela pele, sensorialmente agradável, o que permite uma boa adesão por parte do consumidor (Nasir, 2010) (Souto & Müller, 2010) (Pathak & Thassu, 2009).

Comparativamente com as emulsões convencionais contendo antioxidantes, as nanoemulsões têm melhores propriedades de espalhabilidade na pele (Wu & Guy, 2009).

As nanopartículas lipídicas também podem ser atrativas para uso em protetores solares, uma vez que a matriz lipídica formada sobre a pele pode retardar a penetração do ativo, reduzindo o potencial tóxico de um produto convencional e a incorporação de ativos quimicamente lábeis (por exemplo, o retinol) nas nanopartículas lipídicas oferecendo proteção contra a decomposição e possibilitando a libertação controlada do mesmo (Wu & Guy, 2009).

Finalmente, este estudo permite salientar a relevância da incorporação de antioxidantes em sistemas de veiculação tópicos, em particular no que diz respeito à sua utilidade na proteção contra os danos causados pela radiação UV e de outros fatores nocivos para a pele. Fica ainda claro, que este continua a ser um tema com elevado interesse para a comunidade científica, onde a aplicação destes antioxidantes em sistemas inovadores e recentemente desenvolvidos, nomeadamente na área da nanotecnologia, tem ganho crescente relevância.

Conclusão

Com o aumento da esperança média de vida, tem-se observado cada vez mais as evidentes alterações a que a pele está sujeita. Este órgão reflete otimamente o envelhecimento, demonstrando não só o envelhecimento cutâneo intrínseco, como também as agressões externas a que a pele está sujeita ao longo desse tempo, sendo que o grande fator responsável pelo envelhecimento extrínseco são as radiações UV.

Uma das formas de combater estes malefícios, é através do uso de antioxidantes, quer por via oral, como por via tópica, que visam prevenir ou corrigir lesões resultantes dos radicais livres produzidos pela radiação UV, sendo que a via tópica apresenta vantagens que conferem uma maior adesão à terapêutica por parte do utente.

Existem várias moléculas com propriedades antioxidantes, que retardam a formação de radicais livres, entre elas destacam-se as vitaminas A, C e E, que estão entre os antioxidantes mais utilizados em sistemas tópicos, contudo para obter um máximo proveito da atividade destas substâncias quando aplicadas na pele, é necessário recorrer a estratégias que melhorem a sua performance no local.

Portanto, podemos destacar o uso de sistemas de veiculação convencionais como é o caso das emulsões (cremes), geles e pomadas, e os sistemas recentemente desenvolvidos como é o caso dos nanosistemas, designadamente, os lipossomas, as nanoemulsões e as nanopartículas lipídicas.

No caso dos primeiros, os que melhor veiculam estes antioxidantes e que têm uma maior aprovação por parte do consumidor, são os cremes O/A que são mais facilmente removidos da pele e não deixam uma película oleosa à superfície da pele. Já os geles, não são tao bem absorvidos pela pele como as preparações com constituição gordurosa e portanto, não são tão bem aceites por parte do consumidor por essa razão, mas no que se refere à boa aplicação e efeito refrescante em peles sensibilizadas pelo sol, são melhor aceites.

Em relação aos nanosistemas, estes apresentam um elevado potencial e aplicabilidade tanto na área farmacêutica como na área da cosmética. A encapsulação de ingredientes ativos em sistemas tópicos tem-se vindo a mostrar uma área promissora, devido às vantagens que eles apresentam, comparativamente às formas farmacêuticas convencionais. Entre estes sistemas, as nanopartículas lipídicas têm-se destacado devido à sua ampla utilização em sistemas de veiculação tópicos e às vantagens que apresentam, existindo atualmente vários produtos comercializados.

O interesse nestes sistemas baseia-se no desenvolvimento de sistemas tópicos que apresentem um perfil de libertação adequado, a estabilidade desejada e que a sua produção à escala industrial não represente custos muito elevados, quer no que diz respeito à tecnologia de fabricação, quer no que diz respeito aos custos das matérias-primas. No que diz respeito à incorporação de antioxidantes neste tipo de sistemas, já são vários os estudos que demonstram as vantagens desta estratégia.

Em suma, com este estudo foi possível compreender a relevância da pele e dos sistemas de veiculação tópicos, no que diz respeito ao cuidado e tratamento deste órgão. Neste âmbito, a veiculação de antioxidantes, demonstrou-se de enorme relevância, nomeadamente no que diz respeito à proteção contra os danos causados pela radiação UV e de outros fatores nocivos para a pele. Adicionalmente, foi possível ainda compreender que a forma como estes antioxidantes são veiculados é crucial e que, conseqüentemente, o desenvolvimento de novas formulações mais eficientes é uma preocupação atual, onde as novas tecnologias como os nanosistemas, têm vindo a ocupar um lugar de destaque, tendo estes como objetivo melhorar ou contornar desvantagens associadas às formulações tópicas convencionais, nomeadamente por permitirem a libertação controlada dessas substâncias.

Referências Bibliográficas

- A. Barreiros, & J. David. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. *Vol. 29*, pp. 113-123.
- Ala, F., & Matsubara, M. (1997). Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. 61-68.
- Aranha, F., Gonçalves, M. d., & Barros, J. (2000). O papel da vitamina C sobre as alterações orgânicas no idoso. pp. 89-97.
- Araújo, J., Gonzalez, E., & Egea, M. (2009). Nanomedicines for ocular NSAIDs: safety on drug delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 394-401.
- Arnejo, N., & Garcia, M. (2001). Obtencion de emulsiones multiples W/S/W y su utilizacion como vehiculo de Vitamin C. pp. 50-52.
- Aulton, M. (2005). Delineamento de Formas Farmacêuticas. pp. 20-29.
- Azulay, M., & Bagatin, E. (2009). Cosmeceuticals vitamins. pp. 469-474.
- Bagatin, E. (2008). Mecanismos do envelhecimento cutâneo e o papel dos cosmecêuticos. 5-11.
- Barata. (2002). Cosméticos, Arte e Ciência. pp. 20-30.
- Barbosa, K. B., Costa, N. M., Alfenas, R. d., De Paula, S. O., Minim, V. P., & Bressan, J. (2010). Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. Nutr*, 23(4):629-643.
- Barreiros, A. L., M., J., & Juceni., P. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. 113-126.

- Barreiros, A., & David, j. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. *Vol.29*, pp. 113-123.
- Barrel, A., & Paye, M. (2009). Hand book of cosmetic Science and Technology. pp. 430-460.
- Batista, C., & Carvalho, C. (2007). Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. pp. 168-179.
- Baumann, L. (2004). Dermatologia Cosmética. pp. 20-45.
- Beck, R., Guterres, S., & Pohlmann, A. (2011). Nanocosmetics and Nanomedicines: New approaches for skin care. pp. 181-239.
- Benson, A., & Watkinson, H. (2012). Transdermal and Topical Drug delivery, Principles and Practice. pp. 15-20.
- Bologna, J. e. (2012). Dermatology e-dition, Chapter 129 Other Topical Medications. pp. 20-35.
- Bonifácio, B., da Silva, P., & al., e. (2014). Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: a review. *International Journal of Nanomedicine.*, 1-15.
- Brandt, F., Cazzaniga, A., & Hann, M. (2011). Cosmeceuticals: current trends and market analysis. 141-143.
- Burke, K. (2007). Interaction of vitamins C and E as better cosmeceuticals, *Dermatol.* pp. 314-321.
- Campos, J., & Frasson, A. (2011). Avaliação da atividade antioxidante do extrato aquoso de *Lafoensia pacari* A. ST-HIL. em emulsão não-iônica. *Revista Ciências Farmácia Básica Apl.*, 32(3):363-368 ISSN 1808-4532.
- Castro, M. (2011). Cosmetobolomics as an incipient-omics with high analytical involvement. 1365-1373.

- Catania, A. S., & Barros, C. R. (2009). Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia Metabólicos*. pp. 20-25.
- Catania, Siqueira, & Barros, G. (2009). *Vitaminas e minerais com propriedades antioxidantes e risco cardiometabólico: controvérsias e perspectivas*.
- Chanchal, D., & Swarnlata, S. (2008). Novel approaches in herbal cosmetics. . *Journal of Cosmetic Dermatology*, 89-95.
- Chen, L., Hu, J., & Wang, S. (2012). The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. *67(5):1013-24*.
- Cho, H., Choi, S., & Cheong, I. (2012). Topical delivery of retinol emulsions costabilised by PEO-PCL-PEO triblock copolymers: effect of PCL block length. pp. 29(8):739-46.
- Chorilli, M., & Ribeiro, M. (2004). Efeito de emulsão contendo extrato seco de guaraná sobre os vasos sanguíneos da derme papilar de ratos. pp. 7-12.
- Chorilli, M., Udo, M., Cavallini, M., & Leonardi, R. (2006). Desenvolvimento e estudos preliminares de estabilidade de formulações fotoprotetoras contendo Granlux GAI-45 TS. *Revista de Ciências Farmacêuticas*, 237-246.
- Colven, R., & Pinnell, S. (1996). Topical vitamin C in aging. pp. 227-34.
- Conaway, H., Henning, P., & Lerner, U. (2013). Vitamin a metabolism, action, and role in skeletal homeostasis. pp. 766-97.
- Crosera, M. e. (2009). Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. pp. 1043-1055.
- Culp, B., & Scheinfeld, N. (2009). Rosacea: A Review. *Pharmacy and Therapeutics*. 38-45.

- Dalcin, K., Schaffazick, S., & Guterres, S. (2003). Vitamina C e seus derivados em produtos dermatológicos: Aplicações e estabilidade. p. 6979.
- Daniels, R. (12 de Outubro de 2004). *Strategies for Skin Penetration Enhancement*.
- Darr, D. J., Colven, R. M., & Pinnell, S. (1997). Vitamin C in health and disease. p. 517.
- Darr, D., Combs, S., Dunston, S., & Manning, T. (1992). *Dermatol.* p. 247.
- Elewa, R., & Zouboulis Ch, C. (2011). Vitamin A and Skin. pp. 12-17.
- Epstein, H. (2009). Cosmeceutical vehicles. pp. 453-460.
- Estanqueiro, M., & Conceição, J. (2014). *Characterization and stability studies of emulsion systems*.
- Etheridge, M., & al., e. (2013). The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products. pp. 1-14.
- Evans, & Johnson. (2010). The Role of Phytonutrients in Skin Health. pp. 20-28.
- F'guyer, S., Afaq, F., & Mukhtar, H. (2003). *Photodermatol. Photoimmunol.Photomed.* pp. 19, 56.
- Farris. (2007). Idebenone, green tea, and Coffeeberry extract: new and innovative antioxidants. pp. 12-15.
- Farris, P. (2005). Topical vitamin C: a useful agent for treating photoaging and other dermatologic conditions. pp. 814-817;.
- Fatal, V., & Eugénio, J. (2010). Evolução da Nanotecnologia: abordagem nacional e internacional. . pp. 1-22.
- Ferreira, A., & Matsubara, L. (1997). Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo.

- Fonseca, V. (2008). Desenvolvimento de formulações tópicas antioxidantes. pp. 64-68.
- From, C., & al., e. (2009). *Communication from the commission to the council, the European Parliament, Nanosciences and nanotechnologies : An action plan for Europe 2005-2009*.
- Galembeck, F., & Csordas, Y. (2009). *Cosméticos: A química da beleza*. 1-38.
- Gautam, A., Singh, D., & Vijayaraghavan, R. (2011). Dermal Exposure of Nanoparticles: An Understanding. *Journal of Cell and Tissue Research*. pp. 2073-2708.
- Gharsallaqui, A., Roudaut, G., & Chambin, O. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients. pp. 1107-1121,.
- Glase, D. (2004). Anti-aging products and cosmeceuticals. pp. 12(3):363-72.
- Gomes, F. (2007). Carotenoids: a possible protection against cancer development. pp. 12-14.
- Griffiths, H., & Lunec, J. (2001). Ascorbic acid in the 21st century - more than a simple antioxidant. pp. 173-82.
- Gutierrez, J., Theodosiou, M., & Schubert, M. (2011). Vitamin A: a multifunctional tool for development. pp. 603-10.
- Harris, M. I. (2009). *Pele: estrutura, propriedades e envelhecimento*. pp. 12-16.
- Helfrich, Y., Sachs, D., & Voorhees, J. (2008). Overview of skin aging and photoaging. pp. 177–184.
- INFOMED*. (21 de Outubro de 2017). Obtido de http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=4698&tipo_doc=fi
- INFOMED*. (22 de Outubro de 2017). Obtido de http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=4129&tipo_doc=fi

- Isabel, C. (2013). Ciclodextrinas: novas aplicações. pp. 5-73.
- Jafari, M., Assadpoor, E., & Bhandari, B. (2008). Nanoparticle encapsulation of fish oil by spray drying. pp. 172-183.
- Jaski, M., & Lotério, N. S. (2014). A ação de alguns antioxidantes no processo de envelhecimento cutâneo. pp. 1-16.
- Jing-Yi, L., Christopher, R., & Mostafa, M. (2003). UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. pp. 866-74.
- Joshi YB, P. D. (2012). Vitamin E in aging, ementia, and Alzheimer's disease. pp. 38(2):90-7.
- Junqueira, & Carneiro. (1999). Histologia Básica. pp. 30-32.
- Kadoma, Y., Ishihara, M., Okada, N., & Fujisawa, S. (2006). Free Radical Interaction Between Vitamin E (alpha-, beta-, gamma- and delta-tocopherol), Ascorbate and Flavonoids, in vivo. pp. 823-828.
- Kafi, R., & Kang, S. (2007). Improvement of naturally aged skin with vitamin A (retinol). pp. 143(5):606-12.
- Kamaly, N., Xiao, Z., Valencia, P., & al., e. (2012). Targeted polymeric therapeutic nanoparticles: design, development and clinical translation. pp. 2971–3010.
- Kaur, I., Kapila, M., & Agrawal, R. (2007). Role of novel delivery systems in developing topical antioxidants as therapeutics to combat photoageing. pp. 271-288.
- Keller, K., & Fenske, N. (2012). Uses of vitamins A, C, and E and related compounds in dermatology: A review. pp. 611-625.
- Kesarwani, K., Gupta, R., & Mukerjee, A. (2013). Bioavailability enhancers of herbal origin: an overview. pp. 253-266.

- Kirejev, V., & Ericson, B. (10 de Outubro de 2013). *Topical Drug Delivery*. [Online]. Obtido de http://www.physics.gu.se/english/research/Complex_Systems_Bioimaging/Biomedical_Photonics/projects/topical-drug-delivery/.
- Klaypradit, W., & Huang, W. (2008). Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. pp. 1133-1139.
- Kulkarni, S. (2010). Handbook of Non-invasive Drug delivery Systems. pp. 40-45.
- Kulkarni, V. S. (2010). Handbook of Non-invasive Drug delivery Systems. pp. 23-30.
- Kwak, S., Lee, S., & Choi, H. (2011). Dual effects of caffeoyl-amino acidyl-hydroxamic acid as an antioxidant and depigmenting agent. pp. 5155–5158.
- Larson, R. (1997). Naturally Occurring Antioxidants. p. 7.
- Lasic, D. (1995.). "Applications of liposomes". pp. 491-519.
- Lee, M.-S., Lee, K.-H., & Sin, H.-S. (2006). A newly synthesized photostable retinol derivative (retinyl N-formyl aspartamate) for photodamaged skin: profilometric evaluation of 24-week study. pp. 220-224.
- Lintner, K., C. Mondon, P. P., & al. (2009). Cosmeceuticals and active ingredients, Clin Dermatol. 27, 461-8.
- Lupo, M. (2001). Antioxidants and vitamins in cosmetics. pp. 467–473.
- Manela-Azulay, M., & Bagatin, E. (2009). Cosmeceuticals vitamins. pp. 469-474.
- Mangialasche, F., Xu, W., Kivipelto, M., & al. (2012). Tocopherols and tocotrienols plasma levels are associated with cognitive impairment. Neurobiology of aging. pp. 33(10):2282-90.

- Mao, H., Roy, K., Troung-Le, V., Janes, K., & al., e. (2001). Chitosan-DNA nanoparticles as gene carriers: synthesis, characterization and transfection efficiency. pp. 399–421.
- Mariana, N. (2014). Tendências mais recentes na fotoproteção. pp. 5-81.
- Mignet, N., Seguin, J., & Chabot, G. (2013). Bioavailability of Polyphenol Liposomes: A Challenge Ahead. pp. 457–471.
- Mihrianyan, A., Ferraz, N., & Stromme, M. (2012). Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics. pp. 875-910.
- Mireles-Rocha, G., Galindo, I., & Huerta, M. (2002). Acta Derm. Venereol. pp. 82, 21.
- Mitsui, T. (1998). New Cosmetic Science. pp. 12-40.
- Montagner, & Costa. (2009). Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento. An Bras Dermatol. 84(3):263-9.
- Montagner, S., & Costa, A. (2009). Bases biomoleculares do fotoenvelhecimento. pp. 263-269.
- Moody, M. L. (2010). Topical Medications in the Treatment of pain. pp. 73-91.
- Morrison, I., & Sydney, R. (2002). Colloidal Dispersions: Suspensions, Emulsions, and Foams. pp. 30-45.
- Morrow, D., & al. (2007). Innovative Strategies for Enhancing topical and Transdermal Drug Delivery. *The Open Drug Delivery Journal.*, 36-59.
- Moslemi, M., & Tavanbakhsh, S. (2011). Selenium-vitamin E supplementation in infertile men: Effects on semen parameters and pregnancy rate. pp. 99-104.
- Mu, L. S. (2010). Application of nanotechnology in cosmetics. pp. 186–193.
- Namiki, M. (1990). Antioxidants/antimutagens in food. *Journal of Nutrition*, v.29, n.4, p.273-300.

- Nasir, A. (2010). Nanotechnology and dermatology: Part I – potencial of nanotechnology. pp. 458-466.
- Ndiayea, Philippea, Mukhtara, & Ahmada. (2011). The Grape Antioxidant Resveratrol for Skin Disorders: Promise, Prospects, and Challenges. pp. 164–170.
- Nelson, A., & Patrick, O. (2009). Nanotechnology and Drug Delivery, Part 2: Nanostructures for Drug Delivery. pp. 275-283.
- Neves, K. (2008). Cumprir o que promete. pp. 23-29.
- Nichols, & Katiyar. (2010). Skin photoprotection by natural polyphenols: antiinflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. pp. 71-83.
- Nichols, J., & Katiya, S. (2010). Skin photoprotection by natural polyphenols: antiinflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. pp. 302:71–83.
- Nikolic, S., Keck, C., & Anselmi, C. (2011). Skin photoprotection improvement: Synergistic interaction between lipid nanoparticles and organic UV filters. pp. 276-284.
- Nkengne, & Source, B. (2012). Aging and facial changes-documenting clinical signs, part 1: clinical changes of the aging face. *Skinmed*. pp. 284-9.
- Nkengne, A., & C.Source., B. (2012). Aging and facial changes-documenting clinical signs, part 1: clinical changes of the aging face. *Skinmed*. pp. 10(5):284-9.
- Ochekpe, N., Olorunfemi, P., & Ngwuluka, N. (2009). Nanotechnology and drug delivery part 1: background and applications. pp. 265-274.
- Ochiai, Y., Kaburagi, S., Obayashi, K., & al., e. (2006). A new lipophilic pro-vitamin C, tetra-isopalmitoyl ascorbic acid (VC-IP), prevents UV-induced skin pigmentation through its anti-oxidative properties. pp. 37-44.

- Oliveira, K. d., & Koury, J. C. (2007). Micronutrientes e capacidade antioxidante em adolescentes sedentários e corredores. pp. 171-179.
- Oludemi, T., González-Paramás, A., & Barreiro, M. (2017). Hydroxycinnamic Acids and Their Derivatives: Cosmeceutical Significance, Challenges and Future Perspectives, a Review. p. 22.
- Panyam, J., & Labhasetwar, V. (2003). Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. pp. 329-347.
- Pardeike, J. H., & Müller, R. (2009). Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. pp. 170-184.
- Pathak, W., & Thassu, D. (2009). Drug Delivery Nanoparticles Formulation and Characterization. pp. 206-240.
- Pereira, A., & Vidal, T. (2009). Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. pp. 34(3):231-47.
- Phillips, C., Combs, S., & Pinnell, S. (1994). Effects of ascorbic acid on proliferation and collagen synthesis in relation to the donor age of human dermal fibroblasts. pp. 103(2):228-32.
- Piccardi, N., & Manissier, P. (2009). Nutrition and nutritional supplementation: Impact on skin health and beauty. pp. 1(5): 271-4.
- Pinheiro, L., & Pinheiro, A. (2007). A pele da criança. A cosmética infantil será um mito? 200-208.
- Pinnell, S., Yang, H., Omar, M., & al., e. (2001). Topical l-ascorbic acid : percutaneous absorption studies. pp. 137-142.
- Prista, N. (2008). Tecnologia Farmacêutica. pp. 20-50.

- Pujol, A. P. (2011). *Nutrição aplicada à estética*. pp. 19-56.
- Rabe, A., Mamelak, & et al, .. (2006). Photoaging: mechanisms and repair. *J Am Acad Dermatol*. pp. 55(1):1-19.
- Ribeiro, C. J. (2010). *Cosmetologia aplicada à dermoestética*. pp. 65-78.
- Riscuta, G. (2016). Nutrigenomics at the interface of aging, lifespan, and cancer prevention. pp. 1931–1939.
- Robinson, D., & Aasi, S. (2011). Cosmetic concerns and management strategies to combat aging. pp. 256-260.
- Ruivo, A. P. (2014). *Envelhecimento cutâneo: fatores influentes, ingredientes ativos e estratégias de veiculação*. pp. 1-112.
- Seeley, R. (2016). *Anatomia e Fisiologia*. pp. 150-165.
- Serri, R., & Iorizzo, M. (2008). Cosmeceuticals: focus on topical retinoids in photoaging. pp. 633–635.
- Severino, P., & Santana, M. (2011). *Nanopartículas De Lípidos Sólidos: Métodos Clássicos De Preparação Laboratorial*. pp. 1762-1769.
- Sezer, A. (2012). Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems. 69-141.
- Shapiro, S., & Saliou, C. (2001). Role of vitamins in skin care. pp. 839-44.
- Sharma, N., Singh, N., & Bhadwal, M. (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: An overview. pp. 429-438.
- Shegokar, R., & Keck, C. (2011). 20 Years of Lipid Nanoparticles (SLN & NLC): Present State of Development & Industrial Applications. pp. 2-38.

- Silva, T. J., & Mejia, D. P. (2013). Os benefícios da vitamina C no combate ao envelhecimento cutâneo. pp. 1-14.
- Singla, V. e. (2012). Emulgel: A new platform for topical drug delivery. *International Journal of Pharma and Bio Sciences.*, 485-498.
- Soto, E., & Muller, R. (2007). Lipid Nanoparticles (SLN and NLC) for Drug Delivery. *Nanoparticles for Pharmaceutical Applications.*, 103-122.
- Souto, E., & Müller, R. (2010). Lipid Nanoparticles: Effect on Bioavailability and Pharmacokinetic Changes. pp. 115-141.
- Stamford, N. (2012). Stability, transdermal penetration, and cutaneous effects of ascorbic acid and its derivatives. pp. 11(4):310-7.
- Tasic-Kostov, M. (2011). Does lactobionic acid affect the colloidal structure and skin moisturizing potential of the alkyl polyglucoside-based emulsion systems? pp. 862-70.
- Teixeira, S. M. (2012). Veiculação de filtros solares utilizados na fotoproteção. pp. 5-80.
- Tokgoz, N. (1996). Optimisation d'une emulsion multiple H/L/H renfermant de l'acide ascorbique, etude de la libération et évaluation cosmétique. pp. 20-24.
- Traber, M., & Tkinson, J. (2007). Vitamin E, antioxidant and nothing more. pp. 43(1):4-15.
- Ueda, C. e. (2009). Topical and transdermal Drug products. pp. 750-764.
- Usoro, O., & Mousa, S. (2010). Vitamin E forms in Alzheimer's disease: a review of controversial and clinical experiences. *Critical reviews in food science and nutrition.* pp. 50(5):414-9.
- Wallert, M., Schmolz, L., & Galli, F. (2014). Regulatory metabolites of vitamin E and their putative relevance for atherogenesis. *Redox biology.* pp. 2:495-503.

- Walters, & al. (2008). Dermatologic, Cosmeceutic and Cosmetic Development – Therapeutic and Novel Approaches. pp. 23-70.
- Walters, A., Roberts, M., & Kenneth, A. (2008). Dermatologic, Cosmeceutic and Cosmetic Development – Therapeutic and Novel Approaches. pp. 30-34.
- Weiner, N., & Egbaria, K. (1990). Liposomes as a topical drug delivery system. pp. 40-50.
- Wiesenthal, A. e. (2011). Nanoparticles: small and mighty. pp. 247-254.
- Wrona, M., Rozanowska, M., & Sarna, T. (2004). Free Radical. p. 36.
- Wu, X., & Guy, R. (2009). "Applications of nanoparticles in topical drug delivery and in cosmetics". pp. 371-384.
- Zussman, J., Ahdout, J., & Kim, J. (2010). Vitamins and photoaging: do scientific data support their use? pp. 63 (3):507-525.

