RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 17/10/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

UNESP

JANINE MAILHO GIMENIS

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIGLICANTE DO EXTRATO DE *Moringa oleifera* Lamark E INCORPORAÇÃO EM LIPOSSOMAS PARA ANÁLISE DE BIOMETROLOGIA CUTÂNEA

ARARAQUARA

2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

UNESP

JANINE MAILHO GIMENIS

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIGLICANTE DO EXTRATO DE *Moringa oleifera* Lamark E INCORPORAÇÃO EM LIPOSSOMAS PARA ANÁLISE DE BIOMETROLOGIA CUTÂNEA

Tese apresentada como requisito à obtenção do grau de Doutora em Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista – UNESP – Câmpus Araraquara.

Orientador: Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva

Coorientadora: Profa Dra. Vânia Rodrigues Leite e Silva

ARARAQUARA

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Gimenis, Janine Mailho
G491a Atividade antioxidante e antiglicante do extrato de *Moringa oleifera* Lamark e incorporação em lipossomas para análise de biometrologia cutânea / Janine Mailho Gimenis. – Araraquara : [s.n.], 2019
85 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química
Orientador: Regildo Márcio Gonçalves da Silva
Coorientador: Vânia Rodrigues Leite e Silva

1. Antioxidantes. 2. Produtos finais de glicosilação. 3. Flavonoides. 4. Nanotecnologia. 5. Hidratação. I. Título.

Bibliotecária Responsável: Valéria Aparecida Moreira Novelli - CRB/8 4634

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araraquara

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Atividade antioxidante e antiglicante do extrato de *Moringa oleifera* Lamark e incorporação em lipossomas para análise de biometrologia cutânea"

AUTORA: JANINE MAILHO GIMENIS
ORIENTADOR: REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA
COORIENTADORA: VANIA RODRIGUES LEITE E SILVA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em BIOTECNOLOGIA, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA
Departamento de Biotecnologia / Faculdade de Ciências e Letras - UNESP - Assis

Prof. Dr. VALDECIR FARIAS XIMENES
Departamento de Química / Faculdade de Ciências - UNESP - Bauru

Profª. Drª. PATRICIA SOARES SANTIAGO
Campus Experimental de Registro / Universidade Estadual Paulista - UNESP - Registro

Prof. Dr. MARLUS CHORILLI
Departamento de Fármacos e Medicamentos / Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara

Profª Drª ERIKA COSENDEY TOLEDO DE MELLO PEIXOTO
Centro de Ciências Agrárias / Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP - Bandeirantes

Araraquara, 17 de outubro de 2019

Dedicatória

Dedico este trabalho a todos os meus familiares e amigos, pelo incentivo e apoio que recebi e principalmente, por sempre participarem positivamente da minha vida e vibrarem comigo a cada conquista.

" A alegria está na luta, na tentativa, no sofrimento envolvido e não na vitória propriamente dita"

Mahatma Gandhi

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, pela presença constante em minha vida.

Aos meus filhos, ***Clara*** e ***Francisco***, por tanto amor e alegrias que sempre me dão e me impulsionam para ser sempre melhor em todos os sentidos. Vocês são tudo para mim!

A meu marido, ***Sérgio***, meu grande amor, que ao longo destes 26 anos que estamos juntos, de namoro e casados; compreende, respeita e me apoia em desafios pessoais e profissionais.

Aos meus pais, ***Suely e Luiz Carlos***, e a meu irmão ***Carlos Eduardo*** pelo amor incondicional que é a base de tudo o que realmente vale a pena. Me sinto muito feliz e abençoada.

Ao professor ***Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva***, que esteve comigo durante o mestrado e o doutorado, ensinando e acompanhando não somente os trabalhos durante estes estudos, mas colaborando em diversas áreas do conhecimento. Ser humano sábio e com um coração enorme, que tive o privilégio em me orientar! Muito obrigada por toda a orientação, compreensão e confiança.

À minha coorientadora, professora ***Dra. Vânia Rodrigues Leite e Silva***, que logo que me formei me acolheu e me deu a primeira oportunidade profissional. Meus agradecimentos especiais por tudo o que representa em minha vida, tenho o maior carinho e orgulho! Obrigada pela parceria de sempre e por me coorientar nos testes clínicos do meu doutorado, realizados em parceria com a Universidade Federal de São Paulo, campus Diadema, no laboratório de cosmetologia.

Aos amigos que fiz durante este período de mestrado e doutorado no laboratório, ***Amanda da Costa Gomes, Célia Cristina Malaguti Figueiredo, Amanda Martins Viel, Kamille Spera, Pamela Cristina Santos, Gustavo Franciscatti Mecina, Anderson Lourenção, Gustavo Martins e Lucas Lima,*** cada qual com o seu jeito único de ser, ajudaram a me aprimorar em todos os sentidos. Agradeço em especial as meninas que participaram mais dos meus projetos, as amigas ***Amanda da Costa Gomes, Célia Cristina Malaguti Figueiredo e Amanda Martins Viel***, sem vocês este título seria muito mais difícil de ser alcançado, minha eterna gratidão!

À amiga ***Carolina Reis Zambom*** que conheci na Unesp durante as disciplinas do programa e sempre foi muito atenciosa e prestativa e me auxiliou na elaboração e caracterização dos lipossomas no laboratório de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara/UNESP, muito obrigada!

Ao ***João Luiz Bronzel Júnior***, técnico de Laboratório NUB do Instituto de Química de Araraquara/UNESP, pelo auxílio nas análises fitoquímicas do meu projeto.

Ao professor ***Dr. Valdecir Farias Ximenes***, pelos auxílios nos testes de fluorescência e por toda a disponibilidade em atender e ensinar.

Ao professor ***Dr. Ricardo Della Coletta***, pelos auxílios nos testes de citotoxicidade em células tumorais.

À professora ***Dra. Patrícia Santos Lopes***, por ter se disponibilizado em me auxiliar nos testes de citotoxicidade.

Ao professor ***Dr. Marcelo Dutra Duque***, por ter colaborado com a realização das análises estatísticas dos testes biofísicos na pele.

À professora ***Dra. Erika Erika Cosendey Toledo de Mello Peixoto***, por ter atendido prontamente o pedido em participar da defesa com os seus valiosos conhecimentos. Meu muito obrigada especial para você!

Ao Instituto de Química de Araraquara – UNESP e ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, pela oportunidade de cursar este doutorado e aos funcionários por toda a clareza de informação e atenção com os alunos.

Aos funcionários da Universidade Estadual Paulista campus Assis, pela disposição e auxílios prestados.

A todos os professores do doutorado, meus sinceros agradecimentos por colaborarem com expertise em minha formação. Não poderia deixar de fazer um agradecimento especial para a professora ***Marisa Veiga Capela***, que além de professora ímpar de bioestatística, acolheu de forma muito especial eu e minhas amigas que viajamos durante um semestre para assistir as suas aulas. Muito obrigada de coração professora!

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil, pelo apoio da realização deste trabalho (código de Financiamento 001).

GIMENIS, J. M. Atividade antioxidante e antiglicante do extrato de *Moringa oleifera* Lamark e incorporação em lipossomas para análise de biometrologia cutânea. 2019. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista – UNESP – Instituto de Química, Araraquara/SP.

RESUMO

Novos produtos com ação antioxidante e antiglicante são estudados para indústria cosmética e farmacêutica, pois diversos tratamentos podem ser realizados devido a esta atividade de muitos compostos naturais. Neste contexto, este trabalho permitiu o aumento do conhecimento sobre o extrato bruto hidroetanólico de *Moringa oleifera* LAM, bem como sua encapsulação em lipossomas para estudo do potencial efeito na melhora da hidratação e função barreira da pele, por meio da avaliação da atividade antioxidante e antiglicante *in vitro* e avaliação da eficácia *in vivo* instrumental com equipamentos biometrológicos. Foi realizado o fracionamento do extrato em sílica C18 e análise em HPLC-DAD/MS. A avaliação da atividade antioxidante do extrato foi realizada pelos testes da atividade sequestradora do radical livre DPPH, potencial redutor de ferro (Ferric Reducing Antioxidant Power - FRAP), inibição da peroxidação lipídica (TBARS), atividade sequestradora de óxido nítrico (NO) e capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC-FL). A avaliação antiglicante do extrato foi avaliada pelo método da mobilidade proteica em eletroforese (MRE), determinação de grupos de amina livres e determinação da fluorescência de produtos finais de glicação avançada (AGEs). Foi realizada a avaliação da citotoxicidade do extrato pelo método sulforrodamina B e da viabilidade celular pelo método de redução do MTT. Foram preparados os lipossomas vesículas pelo método de hidratação do filme lipídico e as mesmas caracterizadas pelos testes do potencial zeta, índice de polidispersão e tamanho das partículas e determinada a estabilidade. Foi realizada a avaliação da atividade antioxidante dos lipossomas pelo teste da atividade sequestradora do radical livre DPPH. Foram preparadas formulações e realizados testes clínicos de eficácia instrumental *in vivo* com Corneometer® CM825, Tewameter® TM300 e pHmeter® pH900.

Palavras-chaves: *Moringa oleifera* LAM.; Antioxidantes; Lipossomas; Biometrologia Cutânea.

GIMENIS, J. M. Antioxidant and antioxidant activity of *Moringa oleifera* Lamark extract and incorporation into liposomes for skin biometrology analysis. 2019. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista – UNESP – Instituto de Química, Araraquara/SP.

ABSTRACT

New products with antioxidant and anti-glycemic action are studied for the cosmetic and pharmaceutical industry, as several treatments can be performed due to this activity of many natural compounds. In this context, this work allowed the increase of knowledge about Moringa oleifera LAM crude hydroethanolic extract, as well as its liposome encapsulation to study the potential effect on the hydration and barrier function of the skin, through the evaluation of antioxidant and antioxidant activity. in vitro and evaluation of instrumental in vivo efficacy with biometrological equipment. C18 silica extract fractionation and HPLC-DAD / MS analysis were performed. The antioxidant activity of the extract was evaluated by DPPH free radical scavenging activity, Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) tests, lipid peroxidation inhibition (TBARS), nitric oxide (NO) scavenging activity and Oxygen Absorption (ORAC-FL). The antioxidant evaluation of the extract was evaluated by the electrophoresis protein mobility (MRE) method, determination of free amine groups and fluorescence determination of advanced glycation end products (AGEs). The cytotoxicity of the extract by the sulforrodamine B method and cell viability by the MTT reduction method were evaluated. Vesicle liposomes were prepared by the lipid film hydration method and characterized by zeta potential, polydispersion index and particle size tests and stability determined. The antioxidant activity of the liposomes was evaluated by the DPPH free radical scavenging activity test. Formulations were prepared and in vivo clinical instrumental efficacy tests were performed with Corneometer® CM825, Tewameter® TM300 and pHmeter® pH900.

Keywords: *Moringa oleifera* LAM.; Antioxidants; Liposomes; Cutaneous Biometrology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica da *M. oleifera*..... 21
Figura 2 - *Moringa oleifera*..... 22
Figura 3 - Equilíbrio entre produção de espécies reativas de oxigênio e sistema antioxidante..... 24
Figura 4 - Representação das unidades formadoras de um lipossoma e efeito do colesterol..... 29

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Curva cinética do ensaio ORAC-FL na presença de extrato de *Moringa oleifera*..... 50
Figura 2 - Cromatograma de pico base (BPC +All MS), no modo positivo, de compostos presentes no extrato de *Moringa oleifera*..... 51
Figura 3 - Espectro MS composto 32..... 51
Figura 4 - Espectro MS composto 52..... 52
Figura 5 - Espectro MS composto 72..... 52
Figura 6 - Espectro MS composto 99..... 52
Figura 7 - Espectro MS composto 100..... 53
Figura 8 - Espectro MS composto 112..... 53
Figura 9 - Espectro MS composto 121..... 53
Figura 10 - Espectro MS composto 122..... 53
Figura 11 - Espectro MS composto 138..... 54
Figura 12 - Cromatograma UV 340 nm do extrato de *M. oleifera*..... 54
Figura 13 - Espectro UV dos picos obtidos no cromatograma UV 340 nm do extrato de *M. oleifera*..... 55
Figura 14 - Teste de mobilidade relativa em eletroforese para avaliação da capacidade antiglicação..... 56
Figura 15 - Porcentagem de aminas livres determinada pelo método do OPA..... 56
Figura 16 - Resultados da formação dos AGEs determinada por intensidade de fluorescência (A) e porcentagem de inibição dos AGEs (B)..... 57
Figura 17 - Efeito da doxorrubicina (A) e do extrato de *M. oleifera* (B) em linhagens celulares tumorais e em queratinócitos..... 58
Figura 18 - Efeito da doxorrubicina (A) e do extrato de *M. oleifera* (B) em linhagens celulares tumorais e em queratinócitos..... 59

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Comparação dos valores de Corneometer versus Tempo..... 75
Figura 2 - Comparação dos valores de Corneometer versus Produto..... 76
Figura 3 - Comparação dos valores de TEWL versus Tempo..... 77
Figura 4 - Comparação dos valores de TEWL versus Produto..... 78

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Atividade antioxidante do extrato das folhas de *Moringa oleifera* e controle positivo ácido gálico e trolox por meio dos testes DPPH, FRAP, TBARS e NO..... 49
Tabela 2 - Frações cromatográficas identificados no extrato das folhas de *M. oleifera*..... 51
Tabela 3 - Tempo de retenção dos picos do cromatograma UV 340nm..... 54
Tabela 4 - Atividade antiproliferativa..... 58

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Composição lipídica dos lipossomas utilizados..... 67
Tabela 2 - Desenvolvimento das formulações A, B, C, D e E..... 69
Tabela 3 - Determinação do tamanho médio (TM), índice de polidispersão (IPD) e potencial zeta (Zeta) dos lipossomas contendo extrato de *M. oleifera*..... 73
Tabela 4 - Atividade antioxidante pelo método DPPH dos lipossomas sem e com o extrato incorporado..... 74
Tabela 5 - Valores de significância de Corneometer versus Tempo (p>0,05)..... 75
Tabela 6 - Valores de significância de Corneometer versus Produto (p>0,05)..... 76
Tabela 7 - Análise estatística do produto LE..... 77
Tabela 8 - Valores de significância de TEWL versus Tempo (p>0,05)..... 78
Tabela 9 - Valores de significância de TEWL versus Produto (p>0,05)..... 78
Tabela 10 - Análise estatística do produto BS..... 79
Tabela 11 - Análise estatística do produto EX..... 79
Tabela 12 - Análise estatística do produto CT..... 80

LISTA DE ABREVIATURAS

Λmax	Comprimento de onda máxima
Amax	Absorbância máxima
AAPH	2,2'-Azobis (2- amidinopropano) dicloridrato
AGE	Produtos de glicação avançada
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
FRAP	Poder antioxidante de redução férrica
MTT	Brometo de 3 - (4,5-dimetiltiazol-2-il) 2,5 difeniltetrazólio
Na	Sódio
NMF	Natural Moisturizing Factor (fator natural de hidratação)
NO	Óxido nítrico
OPA	Ortoftalaldeído
PBS	Tampão fosfato salino
P/V	Peso por volume
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RL	Radicais livres
EROs	Espécies reativas de oxigênio
SNP	Nitroprussiato de sódio
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TEWL	Transepidermal Water Loss (perda de água transepidérmica)
UA	Unidades Arbitrárias
UV	Ultravioleta
UV-Vis	Ultravioleta-visível

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
Cm	Centímetro
Σ	Somatória
mL	Mililitro
µL	Microlitro
mM	Milimolar
M	Molar
µg	Micrograma
mg	Miligrama
pH	Potencial hidrogeniônico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 16
REFERÊNCIAS..... 18

2 REFERENCIAL TEÓRICO..... 21
2.1 *Moringa oleifera*..... 21
2.2 Danos oxidativos no organismo..... 24
2.1.1 Doenças degenerativas..... 24
2.1.2 Envelhecimento e Estresse Oxidativo..... 25
2.3 Glicação proteica..... 26
2.4 Avaliações antioxidantes e antiglicantes..... 27
2.5 Estabilidade de compostos naturais na indústria e encapsulação..... 27
2.6 Pele e integridade da barreira cutânea..... 29
2.7 Biometrologia cutânea..... 31
REFERÊNCIAS..... 32

3 OBJETIVOS..... 38
3.1 Objetivo geral..... 38
3.2 Objetivos específicos..... 38

CAPÍTULO 1
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIGLICANTE E CITOTOXICIDADE DAS FOLHAS DE *Moringa oleifera* L.

1-Introdução..... 39
2-Material e Métodos..... 40
3-Resultados..... 49
4-Discussão..... 59
5-Conclusão..... 61
Referências..... 61

CAPÍTULO 2
ANÁLISES POR BIOMETROLOGIA CUTÂNEA DE LIPOSSOMAS CONTENDO EXTRATO DE FOLHAS DE *Moringa oleifera* L.

1-Introdução..... 65
2-Material e Métodos..... 66
3-Resultados..... 73

4-Discussão..... 80
5-Conclusão..... 82
Referências..... 82

1 INTRODUÇÃO

Moringa oleifera Lamarck é uma planta nativa da Índia conhecida como "árvore milagrosa" ou "planta diamante". Tem sido amplamente cultivada em todo o mundo, por seus múltiplos usos, principalmente por ser fonte de nutrientes e por seus efeitos medicinais, além de seu cultivo apresentar baixo custo de produção (LIN et al., 2019).

Vários estudos têm demonstrado a presença dos mais diversos constituintes químicos em *M. oleifera*, principalmente uma gama de compostos fenólicos associados à atividade antioxidante, flavonoides e glucosinolatos. Também foi demonstrado que raiz, caule, folhas, flores, frutos e sementes são ricas fontes de proteínas e minerais como cálcio, sódio, potássio e magnésio, bem como ácidos graxos. Vale salientar a presença das vitaminas A, B, C e E, assim como riboflavina, ácido ascórbico, ácido linolênico e ácido fólico nas folhas (ANWAR et al., 2007; AMAGLO et al., 2010; SHIH et al., 2011).

Os estudos etnobotânicos com *M. oleifera* se concentram nas propriedades das folhas da planta, pois as mesmas tem provado numerosas propriedades biológicas, como propriedade antioxidante (CHUMARK et al., 2008; SINGH et al., 2009; SREELATHA e PADMA 2009; VERMA et al., 2009; KUSHWAHA et al., 2014; YASSA e TOHAMY 2014), anti-inflamatória e imunomoduladora (ABD-ELHAKIM et al., 2018; SANDEEP et al., 2019), anticancerígena (JUNG 2014), anti-hipertensiva (NANDAVE et al., 2009), hipolipidêmica (NAMBIAR et al., 2010), hipoglicêmica (WILLIAM et al., 1993; KUMARI 2010; YASSA e TOHAMY 2014) e antimicrobiana (UGWOKE et al., 2017). Certamente, seus numerosos efeitos farmacológicos são devido à diversidade de seus fitoquímicos (LIN et al., 2019). Desta forma, *M. oleifera* constitui importante fonte de compostos bioativos e a adaptabilidade da planta às mais diversas condições aliadas à presença de variados constituintes químicos e nutrientes lhe confere imensa importância econômica e medicinal.

Diante do exposto acima e considerando a importância da espécie *M. oleifera* para a descoberta de novos compostos ativos, sabe-se que as plantas são fonte de ampla variedade de moléculas sequestradoras de radicais livres, que podem atuar de forma direta e/ou indireta no estresse oxidativo, prevenindo e até combatendo doenças degenerativas relacionadas ao envelhecimento. Além da busca de novos antioxidantes, sabe-se que o desenvolvimento de novas tecnologias para liberação e otimização dos mesmos torna-se cada vez mais necessário. Entre estas tecnologias está a incorporação de fármacos em nanossistemas, que consiste na associação de moléculas a vetores específicos objetivando o direcionamento de fármacos para o seu alvo de ação. Estas formulações oferecem numerosas vantagens comparadas aos sistemas convencionais de administração, como aumento da eficácia do tratamento, redução das dosagens e frequência de administração do fármaco,

redução do custo da terapia, diminuição da toxicidade e proteção do fármaco contra inativação química ou enzimática (TORCHILIN, 2009).

A nanotecnologia farmacêutica desenvolveu sistemas coloidais de imobilização e liberação controlada para a veiculação de agentes bioativos na forma de nanodispositivos incorporados com substâncias hidrofílicas e lipofílicas entre estes dispositivos estão os lipossomas (DUNNE et al., 2003). Estes constituem parte dos sistemas coloidais de liberação controlada de compostos terapêuticos, formados por associações de lipídeos anfipáticos, que se organizam espontaneamente em bicamadas lipídicas concêntricas tipo "concha esférica". Podem ser preparados a partir de misturas lipídicas naturais extraídas e purificadas, ou a partir de lipídeos sintéticos, disponíveis comercialmente (CHORILLI et al., 2007). Os lipossomas são empregados na terapêutica há mais de 40 anos e apresentam muitas vantagens, entre elas a biocompatibilidade, pois contém os mesmos constituintes estruturais que as membranas biológicas, os fosfolipídeos. Tais vesículas são consideradas excelentes nanodispositivos devido a sua flexibilidade estrutural seja no tamanho, composição e fluidez da bicamada lipídica. Os lipossomas também são biodegradáveis, biocompatíveis e não imunogênicos (BATISTA et al., 2007).

Para a produção de lipossomas, a técnica de hidratação do filme lipídico é a mais utilizada. Esta técnica consiste em solubilizar os lipídeos em solvente orgânico, como clorofórmio ou metanol, e em seguida evaporar esse solvente formando um fino filme na parede do tubo utilizado. O filme lipídico preparado é posteriormente hidratado com água ou com solução tampão adequada. A molécula a ser encapsulada pode ser incorporada na solução tampão, no caso de serem hidrofílicas, ou dissolvidos na mistura lipídica, se forem lipofílicas (GREGORIADIS e SENIOR, 1980; KIRBY et al., 1980). A utilização dos lipossomas está relacionada também com uma maior duração do efeito terapêutico do fármaco, que apresenta prolongada liberação no organismo, permitindo que doses maiores sejam administradas sem os riscos da toxicidade. Assim, há maior janela terapêutica e um menor número de administrações do fármaco ao longo do tratamento (MENDES et al., 2018).

Na última década a ciência farmacêutica e a cosmetológica, ganhou uma profunda relevância, convertendo seus produtos em elementos geradores de saúde, bem-estar e qualidade de vida. No entanto, o conhecimento neste campo vem se intensificando cada vez mais e revelando os ativos que compõem um produto, sua formulação e adequação ao biotipo e aos novos conceitos de fabricação para manipulação em farmácia e/ou indústria (DAUDT et al., 2013; ALMEIDA et al., 2017).

Dentro deste contexto destaca-se a Bioengenharia cutânea, ou Biometrologia cutânea, que consiste no estudo das características biológicas, mecânicas e funcionais da pele por meio da medição de diferentes variáveis por métodos cientificamente comprovados e não-invasivos, que podem ser usados sozinhos ou em combinação. Existem equipamentos modernos que podem medir, por exemplo, a concentração de água na pele e a perda transepidérmica, antes e depois do uso de uma

fórmula. A biometrologia está fortemente inserida na análise Genética e Cosmética, visto o seu crescimento na área da saúde e considerando ainda o desenvolvimento da Biotecnologia na saúde humana, na produção de alimentos e na Medicina Forense (BLICKENSTAFF et al., 2014; HUMBERT, 2017).

Diante do exposto, este estudo conciliou as vantagens da nanotecnologia juntamente com a ação antioxidante e o possível potencial antiglicante de *M. oleifera* na elaboração de lipossomas com o extrato das folhas da planta para aplicação tópica. Desta forma, este trabalho foi desenvolvido para obter e caracterizar lipossomas contendo o extrato das folhas de *M. oleifera* e avaliar *in vitro* e *in vivo* esse sistema de liberação controlada. Portanto, o presente trabalho viabilizou a ampliação dos estudos com *M. oleifera* com uma abordagem nanotecnológica, o que consiste numa importante aplicação destas nanoestruturas como forma de aplicação do extrato da planta, maior estabilidade dos seus compostos antioxidantes, antiglicantes e melhora da qualidade da pele, justificando sua realização.

REFERÊNCIAS

ABD-ELHAKIM, Y. M.; EL BOHI, K. M.; HASSAN, S. K.; EL SAYED, S.; ABD-ELMOTAL, S.M. Palliative effects of *Moringa oleifera* ethanolic extract on hemato-immunologic impacts of melamine in rats. Food and Chemical Toxicology, v. 114, p. 1-10, 2018.

ALMEIDA, C. B. L.; CONDE E SÁ, C.; CARVALHO, R. C. D.; ALMEIDA, E. S. Estudo prospectivo da moringa na indústria de cosméticos. Cadernos de Prospecção, v. 10, n. 4, p. 905-918, 2017.

AMAGLO, N. K.; BENNETT, R. N.; LO CURTO, R. B.; ROSA, E. A. S.; LO TURCO, V.; GIUFFRIDA, A.; LO CURTO, A.; CREA, F.; TIMPO, G. M. Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. Food Chemistry, v.122, p. 1047-1054, 2010.

ANWAR, F.; LATIF, S.; ASHRAF, M.; GILANI, A. H. *Moringa oleifera*: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses. Phytotherapy Research, v.21, p.17-25, 2007.

BATISTA, C. M.; CARVALHO, C. M. B.; MAGALHÃES, N. S. S. Lipossomas e suas aplicações terapêuticas: Estado da arte. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 43, n. 2, 2007.

BLICKENSTAFF, N. R.; COMAN, G. C.; MAIBACH, H. I. Emphasizing basic science research in medical training for evidence-based practice. Indian Journal of Dermatology Venereology and Leprology's, v. 80, n. 3, p. 199-200, 2014.

CHORILLI, M.; RIMÉRIO, T. C.; DE OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V. Estudo da estabilidade de lipossomas compostos de fosfatidilcolina de soja e fosfatidilcolina de soja hidrogenada adicionados ou não de colesterol por método turbidimétrico. Latin American Journal of Pharmacy, v. 26, n. 1, p. 31-37, 2007.

CHUMARK, P.; KHUNAWAT, P.; SANVARINDA, Y.; PHORNCHIRASILP, S.; MORALES, N. P.; PHIVTHONG-NGAM, L.; KLAI-UPSORN, S. P. The *in vitro* and *ex vivo* antioxidant properties,

Os resultados de citotoxicidade obtidos demonstram que o extrato das folhas de *M. oleifera* tem efeito inibitório em diferentes linhagens celulares. Anwar e colaboradores (2007) demonstram que as folhas são uma fonte potencial para atividade antitumoral. Patel e Pande (2018), sobre citotoxicidade da *M. oleifera*, reforçam que o extrato de folhas de *Moringa oleifera* tem um significativo efeito inibitório em diferentes linhagens celulares, porém não induzem citotoxicidade em células normais. Em outros estudos, Ghosh e Gaba (2013) e Muhammad et al. (2013) demonstraram que *M. oleifera* é exemplo de planta rica em flavonoides e utilizada no tratamento de feridas pois contribuiu para o aumento na proliferação e migração de fibroblastos, assim como proliferação em células Hacat. Os autores atribuem estes resultados à presença de derivados de ácidos fenólicos no extrato avaliado.

5. Conclusão

Diante dos resultados obtidos neste estudo foi possível concluir que *Moringa oleifera* possui potencial para ser utilizada como fonte de compostos antioxidantes, antiglicantes e citotoxicidade em linhagens de células tumorais, refletindo na possibilidade da utilização desta espécie em diversas aplicações na área da saúde, cosmética e alimentação.

REFERÊNCIAS

ABD RANI, N. Z.; HUSAIN, K.; KUMOLOSASI, E. *Moringa* Genus: A Review of Phytochemistry and Pharmacology. Frontiers in Pharmacology, v. 9, 2018.

ALLEY, M. C.; SCUDIERE, D. A.; MONKS, A.; HURSEY, M. L.; CZERWINSKI, M. J.; FINE, D. L.; ABBOTT, B. J.; MAYO, J. G.; SHOEMAKER, R. H.; AND BOYD, M. R. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. Cancer Research, v. 48, p. 589-601, 1988.

AL-MALKI, A. L.; EL RABEY, H. A. The antidiabetic effect of low doses of *Moringa oleifera* Lam. seeds on streptozotocin induced diabetes and diabetic nephropathy in male rats. BioMed Research International, 2015.

AMAGLO, N. K.; BENNETT, R. N.; LO CURTO, R. B.; ROSA, E. A. S.; LO TURCO, V.; GIUFFRIDA, A.; LO CURTO, A.; CREA, F.; TIMPO, G. M. Profiling selected phytochemicals and nutrients in different tissues of the multipurpose tree *Moringa oleifera* L., grown in Ghana. Food Chemistry, v.122, p. 1047-1054, 2010.

ANWAR, F.; LATIF, S.; ASHRAF, M.; GILANI, A. H. *Moringa oleifera*: A Food Plant with Multiple Medicinal Uses. Phytotherapy Research, v. 21, p. 17-25, 2007.

BEAULIEU, L.F.; HARRIS, C.S.; SALEEM, A.; CUERRIER, A.; HADDAD, P.S.; MARTINEAU, L.C.; BENETT, A.I.; ARNASON, J.T. Inhibitory effect of the creetradicional medicine wiishichimanaanh (Vacciniumvitis-idaea) on Advanced glycation end product formation: Identification of active principles. Phytotherapy Research, v. 24, p. 741-747, 2010.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Analytical Biochemistry, v. 239, n.1, p. 70-76, 1996.

BERRIDGE, M.V.; HERST, P.M.; TAN, A.S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: 377 new insights into their cellular reduction. Biotechnology Annual Review, v. 11, p. 127-152, 2005.

BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature, v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. LWT - Food Science and Technology, v. 28, p. 25-30, 1995.

CHRIST, B.; MUELLER, K. H. On the serial determination of the content of flavonol derivatives in drugs. Arch Pharm Ber Dtsch Pharm Ges, v. 293, n. 65, p. 1033-1042, 1960.

COLLIER, A. C.; PRITSOS, C. A. The mitochondrial uncoupler dicumarol disrupts the MTT assay. Biochemical Pharmacology, v. 66, n. 2, p. 281-287, 2003.

COPPIN, J. P.; XUA, Y.; CHENA, H.; PANB, MIN-HSIUNG; HOC, CHI-TANG; JULIANIA, R.; JAMES E. SIMONA, QINGLIWUA. Determination of flavonoids by LC/MS and anti-inflammatory activity in *Moringa oleifera*. Journal of Functional Foods, v. 5, p. 1892-1899, 2013.

DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. Journal of Agricultural and Food Chemistry, p. 48-54, 2004.

EDWARDS, R. L.; LYON, T.; LITWIN, S. E.; RABOVSKY, A.; SYMONS, J. D.; JALILI, T. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. Journal of Nutrition, v. 137, p. 2405-2411, 2007.

FAYLE, S. E.; HEALY, J. P.; BROWN, P. A.; REID, E. A.; GERRARD, J. A.; AMES, J. M. Novel approaches to the analysis of the Maillard reaction of proteins. Electrophoresis, v. 22, p. 1518-1525, 2001.

FAROOQ, B. KOUL, B. Comparative analysis of the antioxidant, antibacterial and plant growth promoting potential of five Indian varieties of *Moringa oleifera* L. South African Journal of Botany, 2019.

GIMENIS, J. M.; GOMES, A. C.; SANTOS, V. H. M.; FERREIRA, P. C.; OLIVEIRA, C. A.; BABY, A. R.; SILVA, R. M. G. Antioxidant and photoprotective potential of *Moringa oleifera* Lam (Moringaceae). Bioscience Journal, v. 34, n. 5, 2018.

GHOSH, P. K.; GABA, A. Phyto-Extracts in Wound HealingJournal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v.16, n.5, p. 760 - 820, 2013.

GUGLIUCCI, A.; KOTANI, K.; TAING, J. Short-term low calorie diet intervention reduces serum advanced glycation end products in healthy overweight or obese adults. Annals of Nutrition and Metabolism, v. 54, p. 197-201, 2009.

GUIMARÃES, A. G.; OLIVEIRA, G. F.; MELO, M. S.; CAVALCANTI, S. C.; ANTONIOLLI, A. R.; BONJARDIM, L. R. et al. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. Basic & Clinical Pharmacolology & Toxicology, v. 107, p. 949-957, 2010.

IVORRA, M. D.; PAYÁ, M.; VILLAR, A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. Journal of Ethnopharmacology, v. 27, p. 243-275, 1989.

JAISWAL, D.; RAI, P. K.; MEHTA, S.; CHATTERJI, S.; SHUKLA, S.; RAI, D. K.; SHARMA, G.; SHARMA, B.; KHAIR, S.; WATAL, G. Role of *Moringa oleifera* in regulation of diabetes-induced oxidetive stress. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, p. 426-432, 2013.

LARSON, A. J.; SYMONS, J. D.; JALILI, T. Therapeutic potential of quercetin to decrease blood pressure: review of efficacy and mechanisms. Advances in Nutrition,v. 3, p. 39-46, 2012.

LEDESMA-OSUNA, A. I.; RAMOS-CLAMONT, G.; VÁZQUEZ-MORENO, L. Characterization of bovine serum albumin glycated with glucose, galactose and lactose. Acta Biochimica Polonia, v. 55, n. 3, p. 491-497, 2008.

LUNCEFORD, N., GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. Fitoterapia, v. 76, p. 419-431, 2005.

MARCOCCI, L.; MAGUIER, J. J.; DROY-LEFAIX, M. T.; PACKER, L. The nitric oxide-scavenging properties of *Ginkgo biloba* extract. Biochemical Research Communications, v. 201, n. 2, p. 748-755, 1994.

MELO, P. S. Derivados da desidrocrotonina: síntese, atividade antiulcerogênica e citotoxicidade. 116 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

MONKS A.; SCUDIERO D.; SKEHAN, P.; SHOEMAKER R.; PAULL K.; VISTICA D.; HOSE C.; LANGLEY J.; CRONISE P.; VAIGRO-WOLFF A.; GRAY-GOODRICH M.; CAMPBELL H.; MAYO J.; BOYD M. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. Journal of the National Cancer Institute, v. 83, p. 757-766, 1991.

MONTEIRO, P. A.; ZELIOLI, I. A. M.; DE OLIVEIRA SOUSA, I. M.; RUIZ, A. L. T. G.; VENDRAMINI-COSTA, D. B.; FOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E. Chemical composition and antiproliferative activity of Croton campestris A.St.-Hil. essential oil. Natural Product Research, v. 9, p. 1-4, 2017.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival Application to proliferation and cytotoxicity assays. The Journal of Immunological Methods, v. 65, p. 55-63, 1983.

MUHAMMAD, A. A.; PAUZI, N. A. S.; ARULSELVAN, P.; ABAS, F.; FAKURAZI, S. In vitro wound healing potential and identification of bioactive compounds from Moringa oleifera Lam. BioMed research international, v. 2013, p.1-10, 2013.

NAMBIAR, V.; MATELA, H.; BAPTIST, A. Total antioxidant capacity using ferric reducing antioxidant power and 2, 2diphenyl1picrylhydrazylmethods and phenolic composition of fresh and dried drumstick (*Moringa oleifera*) leaves. International Journal of Green Pharmacy, v. 7, p. 66-72, 2013.

OECD Test. 487: in vitro mammalian cell micronucleus test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section, v. 4, 2010.

PATEL, V.; PANDE, V. Screening of *Moringa oleifera* Leaf Extract on Various Human Cancerious Cell Line Using Microtiter Plate Based Assay. Current Trends in Biomedical Engineering & Biosciences, v. 14, n. 1, 2018.

PENG, X.; CHENG, K.-W.; MA, J.; CHEN, B.; HO, C.-T.; LO, C. *Cinnamon* bark proanthocyanidins as reactive carbonyl scavengers to prevent the formation of advanced glycation end products. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 56, p. 1907-1911, 2008.

RAMKISSOON, J. S.; MAHOMOODALLY, M. F.; AHMED, N.; SUBRATTY, A. H. Antioxidant and anti-glycation activities correlates with phenolic composition of tropical medicinal herbs. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, p. 561-569, 2013.

RODRÍGUEZ-PÉREZ, C.; QUIRANTES-PINÉB, R.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. Industrial Crops and Products, v. 66, p. 246-254, 2015.

SHOEMAKER, R. H. The NCI60 human tumour cell line anticancer drug screen. Nature Reviews: Cancer, v. 6, n. 10, p. 813-823, 2006.

SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, p. 2144-2155, 2003.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. The American Journal of Enology and Viticulture, v. 16, p. 144-158, 1965.

THOMSON, J. C.; WILLIS, S.; VERGHESE, M. Antioxidant Content and Capacity of Moringa Leaf. Nutrition and Food Toxicology, v. 3, 2018.

TSHABALALA, T.; NDHLALA, A. R.; NCUBE, B.; ABDELGADIR, H. A.; VAN STADEN, J. Potential substitution of the root with the leaf in the use of *Moringa oleifera* for antimicrobial, antidiabetic and antioxidant properties. South African Journal of Botany, 2019.

TUNNICLIFFE, J. M.; ELLER, L. K.; REIMER, R. A.; HITTEL, D. S.; SHEARER, J. Chlorogenic acid differentially affects postprandial glucose and glucose-dependent insulinotropic polypeptide response in rats. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism., v. 36, p. 650-659, 2011.

VAN DIJK, A. E.; OLTHOF, M. R.; MEEUSE, J. C.; SEEBUS, E.; HEINE, R. J.; VAN DAM, R. M. Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance. Diabetes Care, v. 32, p. 1023-1025, 2009.

VELLONEN, K. S.; HONKAKOSKI, P.; URTTI, A. Substrates and inhibitors of efflux proteins interfere with the MTT assay in cells and may lead to 77 underestimation of drug toxicity. European journal of pharmaceutical sciences, v. 23, n. 2, p. 181-188, 2004.

mediadas pelo estresse oxidativo e, conforme apontado acima, em lipossomas pode apresentar benefício adicional da sua aplicação em bases tópicas apropriadas e seguras.

5. Conclusão

Os resultados obtidos nesta investigação sugerem que *M. oleifera* possui potencial para ser utilizada como fonte de compostos antioxidantes encapsulados em lipossomas para aplicação em fórmulas cosméticas e farmacêuticas, pois são capazes de aumentar a hidratação e manter a função barreira, reduzindo os sinais de envelhecimento, principalmente os danos causados pelo estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS

ABIHPEC. Disponível em: <https://abihpec.org.br/publicacao/panorama-do-setor-2018/> Acessado em: 26/06/2019.

ADDOR F. Skin barrier in atopic dermatitis. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 85, p. 184-94, 2010.

AGACHE, P. G.; MONNEUR, C.; LEVEQUE, J. L.; DE RIGAL, J. Mechanical properties and Young's modulus of human skin in vivo. Archives for Dermatological Research, 269, p. 221, 1980.

ALI, A.; AKHTAR, N.; CHOWDHARY, F. Enhancement of human skin facial revitalization by moringa leaf extract cream. Postępy Dermatologii i Alergologii, v. 31, p. 71-76, 2014.

ALI, A.; AKHTAR, N.; KHAN, M. S.; RASOOL, F.; IQBAL, F. M.; KHAN, M. T.; DIN, M.; ELAHI, E.Moisturizing effect of cream containing *Moringa oleifera* (Sohajana) leaf extract by biophysical techniques: *In vivo* evaluation. Journal of Medicinal Plants Research, v. 7, p. 386-391, 2013a.

ALI, A.; AKHTAR, N.; MUMTAZ, A. M.; KHAN, M. S.; IQBAL, F. M.; ZAIDI, S. S. *In vivo* skin irritation potential of a cream containing *Moringa oleifera* leaf extract. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, v. 7, p. 289-293, 2013b.

ANWAR, F.; LATIF, S.; ASHRAF, M.; GILANI, A. H. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. Phytotherapy Research, v. 25, p. 17-25, 2007.

ATROOZ, O. M. The incorporation effects of methanolic extracts of some plant seeds on the stability of phosphatidylcholine liposomes. Pakistan Journal of Biological Sciences, v. 10, n. 10, p. 1643-1648, 2007.

AZULAY, M. M.; CUZZI, T.; PINHEIRO, J. C. A.; AZULAY, D. R.; RANGEL, G. B. Métodos objetivos para análise de estudos em dermatologia cosmética. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 85, n. 1, p. 65-71, 2010.

BARATA, E. A. F. Cosméticos - Arte e Ciência. Lidel, 2002.

BENSON, H. A. E.; ROBERTS, M. S.; LEITE-SILVA, V. R.; WALTERS, K. Cosmetic formulation: principles and practice. CRC Press, 2019.

BERARDESCA, E.; FIDELI, D.; BORRONI, G.; RABBIOSI, G.; MAIBACH, H. *In vivo* hydration and water-retention capacity of stratum corneum in clinically uninvolved skin in atopic and psoriatic patients. Acta Dermato-Venereologica, v. 70, p. 400-404, 1990.

BERBEL MANAIA, E.; PAIVA ABUÇAFY, M.; CHIARI-ANDRÉO, B. G.; LALLO SILVA, B.; SHIRO-JÚNIOR, J. A.; CHIAVACCI, L. Physicochemical characterization of drug nanocarriers. International Journal of Nanomedicine, v.12, p. 4991-5011, 2017.

BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature, v. 181, p. 1199-1200, 1958.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. LWT - Food Science and Technology, v. 28, p. 25-30, 1995.

BORZDYNSKI, C. J.; MCGUINESS, W.; MILLER, C. Emerging Technology for Enhanced Assessment of Skin Status. Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing, v. 44, p. 48-54, 2017.

BURACZEWSKA, I.; BROSTROM, U. B.; LODÉN, M. Artificial reduction in transepidermal water loss improves skin barrier function. British Journal of Dermatology, v. 157, p. 82-86, 2007.

CARNEIRO, A. L.; SANTANA, M. H. A. Production of liposomes in a multitubular system useful for scaling-up of processes. In: GALEMBEK, F. (Ed.). Progress in Colloid & Polymer Science, Surface and Colloid Science. New York: Springer, v. 128, p. 273-276, 2004.

CARITA, A. C.; ELOY, J. O.; CHORILLI, M.; LEE, R. J.; LEONARDI, G. R. Recent Advances and Perspectives in Liposomes for Cutaneous Drug Delivery. Current Medicinal Chemistry, v. 13, p. 606-635, 2018.

CHAVES, C. A. C.; D'AGOSTINO, M. C.; BABY, A. R.; LEITE SILVA, V. R. Biometrological methods to evaluate *in vivo* the skin hydratation of different commercial moisturizers containing 10.0% urea as the main claim. Journal Biomedical and Biopharmaceutical Research, p. 101-110, 2014.

CHORILLI, M.; RIMÉRIO, T. C.; DE OLIVEIRA, A. G.; SCARPA, M. V. Estudo da estabilidade de lipossomas compostos de fosfatidilcolina de soja e fosfatidilcolina de soja hidrogenada adicionados ou não de colesterol por método turbidimétrico. Latin American Journal of Pharmacy, v. 26, n. 1, p. 31-37, 2007.

CHORILLI, M. et al. Lipossomas e suas aplicações dermocosméticas. Infarma, v. 16, n. 7-8, p. 75-79, 2004.

CODEVILLA, C. F.; BAZANA, M. T.; SILVA, C. B.; BARIN, J. S.; MENEZES, C. R. Nanoestruturas contendo compostos bioativos extraídos de plantas. Ciência e Natura, v.37, Ed. Especial-Nano e Microencapsulação de compostos bioativos e probióticos em alimentos, p. 142-151, 2015.

DRAELOS, Z. D. Cosmecêuticos. Elsevier: Rio de Janeiro 2005.

ELKHYAT, A.: AGACHE, P.; ZAHOUANI, H.; HUMBERT, P. G. A new method to measure in vivo human skin hydrophobia. International Journal of Cosmetic Science, 23, p. 347-352, 2001.

FLUHR, J. W.; BANKOVA, L.; DIKSTEIN, S. Skin Surface pH: Mechanism, Measurement, Importance. In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin. 2ª ed. New York, Taylor&Francis, pp. 411-417, 2006.

HOLM, E. A.; WULF, H. C.; THOMASSEN, L.; JEMEC, G. B. Instrumental assessment of atopic eczema: validation of transepidermal water loss, stratum corneum hydration, erythema, scaling, and edema. Journal of the American Academy of Dermatology, v. 55, p. 772-780, 2006.

KOUL, B.; CHASE, N. *Moringa oleifera* Lam.: panacea to several maladies. Journal of Chemistry and Pharmaceutical Research., v. 7, p. 687-707, 2015.

JACOBI, O. K. Moisture regulation in the skin. Drug and Cosmetic Industry, v. 84, p. 732-812, 1959.

LODÉN, M. Barrier recovery and influence of irritant stimuli in skin treated with a moisturizing cream. Contact Dermatitis, v. 36, p. 256-60, 1997.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R.; MAIA CAMPOS, P. M. Application of a noninvasive method to study the moisturizing effect of formulations containing vitamins A or E or ceramide on human skin. International Journal of Cosmetic Science, v. 53, p. 263-268, 2002.

MARTINI, M. C. Hidratación cutánea y productos hidratantes. In: Martini (Ed.). Introdución a la dermofarmácia y a la cosmetologia. Zaragoza, Acribia, S.A., p. 39-45, 2005.

OLIVEIRA, A. G., Lipossomas: Aplicações farmacêuticas e perspectivas futuras. Caderno de Farmácia, v. 9, n. 2, p. 71-76, 1993.

OYEYINKA, A. T.; OYEYINKA, S. A. *Moringa oleifera* as a food fortificant: recent trends and prospects. Journal of Saudi Society of Agriculture Sciences, v. 17, p. 127-136, 2018.

ROGIERS, V. EEMCO guidance for the assesment os transepidermal water loss in cosmetic sciences. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol., v. 14, p. 117-128, 2001.

ROSADO, C.; RAIMUNDO, H.; RODRIGUES, L. M. Acerca da Medição da Hidratação "profunda" da Pele. Rev. Lusófona de Ciências e Tecnologias da Saúde, n. 6, p. 65-75, 2009.

SERUP, J. How to choose and use non-invasive methods. In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin. 2ª ed. New York, Taylor&Francis, p. 9-13, 2006.

SHAI, A.; MAIBACH, H. I.; BARAN, R. Handbook of Cosmetic Skin Care. London, Martin Dunitz, 2001.

SILVA, V. R. L.; SCHULMAN, M. A.; FERELLI, C.; GIMENIS, J. M.; RUAS, G. W.; BABY, A. R.; VELASCO, M. V. R.; TAQUEDA, M. E. S.; KANEKO, T. M. Hydrating effects of moisturizer active compounds incorporated into hydrogels: *in vivo* assessment and comparison between devices. Journal of Cosmetic Dermatology, v. 8, n. 1, p. 32-39, 2009.

SHARMA, A.; SHARMA, U. S. Liposome in drug delivery: progress and limitations. Int. J. Pharm., v. 154, p.123-140, 1997.

SOTOODIAN, B.; MAIBACH, H. Noninvasive test methods for epidermal barrier function. Clin Dermatol, v. 30, p. 301-310, 2012.

SUZUKI, K.; SAKON, K. The application of liposomes to cosmetics. Cosm. Toil., v. 105, n.5, p.65-78, 1990.

TAKIWAKI, H. Color measurement from digital images. In: Serup, Jemec e Grove (Eds.). Handbook of Non Invasive Methods and the Skin. 2ª ed. New York, Taylor&Francis, p. 649-651, 2006.

TAYLOR, T. M.; DAVIDSON, P. M.; BRUCE, B. D.; WEISS, J. Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 45, p. 587-605, 2005.

THURBER, M. D.; FAHEY, J. W. Adoption of *Moringa oleifera* to combat under-nutrition viewed through the lens of the "Diffusion of innovations" theory. Ecology of Food and Nutrition, v. 48, p. 212-225, 2009.

WERNER, Y. The water content of the stratum corneum in patients with atopic dermatitis. Measurement with the Corneometer CM 420. Acta Derm Venereol Suppl (Stockh), v. 66, p. 281, 1986.