

O POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE VEGETAIS NO COMBATE AO ENVELHECIMENTO CUTÂNEO

ANA RIGO¹, SÍLVIA STANISÇUASKI GUTERRES²

1. Graduanda do curso de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS.

E-mail: <aninha.rigo@bol.com.br>

2. Autor para correspondência, docente da Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga, 2752 - CEP 90610-000 - Porto Alegre, Rs. - e-mail: nanoc@farmacia.ufrgs.br

INTRODUÇÃO

Os produtos cosméticos e de higiene que contêm, em sua formulação, matérias-primas de origem vegetal têm recebido a preferência dos consumidores que lhes atribuem qualidades como suavidade e segurança,

além de serem considerados mais saudáveis que produtos contendo matérias-primas sintéticas. Entre esses produtos, a categoria cujas vendas têm aumentado mais rapidamente são os cosméticos para cuidados da pele.

Um dos fatores que têm contribuído para esse crescimento é o aumento da procura por produtos que

reduzam o envelhecimento cutâneo. Grupos especializados em pesquisa de mercado informam que a demanda por esses produtos irá crescer 5,6% anualmente entre 2000 e 2005, alcançando o valor de \$ 243 milhões (REISCH, 2001).

O processo oxidativo em nível celular é considerado o fator mais importante do envelhecimento cutâneo (KARG *et al.*, 1987; DARR & FRIDOVICH, 1994; LOPEZ-TORRES *et al.*, 1994; KOHEN, 1999). A pele está continuamente exposta ao oxigênio e seus metabólitos, sendo alguns de maior importância: as espécies reativas de oxigênio (EROs) ou radicais livres (embora algumas espécies não sejam tecnicamente radicais livres, porém tratadas como tal por serem fortes agentes oxidantes). As EROs incluem os radicais superóxido ($O_2^{\cdot-}$) hidroxila (OH^{\cdot}) e óxido nítrico (NO^{\cdot}) e os não- radicais, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido hipoclorídrico (HOCl) e oxigênio singleto (1O_2).

As EROs, geradas pela redução do oxigênio, provêm de fontes endógenas e exógenas. Como exemplo de fontes endógenas pode-se citar as reações metabólicas - reações de oxidação em mitocôndrias, fagocitose excessiva-, as reações catalisadas por algumas enzimas, como a xantina oxidase, e doenças como o câncer, inflamações e isquemia. Os fatores exógenos incluem a radiação UV, pesticidas, poluição, fármacos antitumorais e um modo de vida com hábitos pouco saudáveis como o tabagismo (LOPEZ-TORRES *et al.*, 1994; KOHEN, 1999).

Muitas substâncias encontradas nas camadas da pele (DNA, lipídios e proteínas) são candidatas ao dano oxidativo. Esse processo é bastante nocivo para as proteínas que constituem o tecido conjuntivo, como as microfibrilas de colágeno e o ácido hialurônico, induzindo à esclerose e fibrose do tecido de sustentação da pele (BANOV, 1999). Os sistemas biológicos, entretanto, contêm sistemas enzimáticos e não-enzimáticos poderosos que constituem a primeira linha de defesa contra as EROs (VOEGELI *et al.*, 1992; DARR & FRIDOVICH, 1994; BRIDI, 1999; KOHEN, 1999; SALES & PERCÁRIO, 2001).

Essa revisão enfoca os mecanismos de defesa antioxidante do tecido cutâneo e reúne informações sobre as plantas ou suas frações que possuem atividade antioxidante para possível utilização na prevenção do envelhecimento cutâneo.

MECANISMOS DE DEFESA ANTIOXIDANTE DO TECIDO CUTÂNEO CONTRA O ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo pode ser definido como um desequilíbrio nos níveis de antioxidantes e pró-oxidantes, com prevalência desses últimos, levando à condição de dano em potencial. Pode ser resultado da diminuição dos sistemas de defesa antioxidante, devido a deficiências nutricionais ou ao aumento da geração das EROs.

O agravamento do estresse oxidativo provoca lesões oxidativas à macromoléculas e diversas estruturas celulares provocando alterações na funcionalidade das células, tecidos e órgãos, acelerando o envelhecimento (BRIDI, 1999).

Durante o processo evolutivo, para defender-se do estresse oxidativo, o tecido cutâneo, como outros tecidos, desenvolveu sistemas de antioxidantes biológicos (Figura 1). Uma substância antioxidante é aquela capaz de inibir a oxidação ou, então, qualquer substância

que, mesmo presente em baixas concentrações, comparada ao seu substrato oxidável, diminui ou inibe a oxidação daquele substrato.

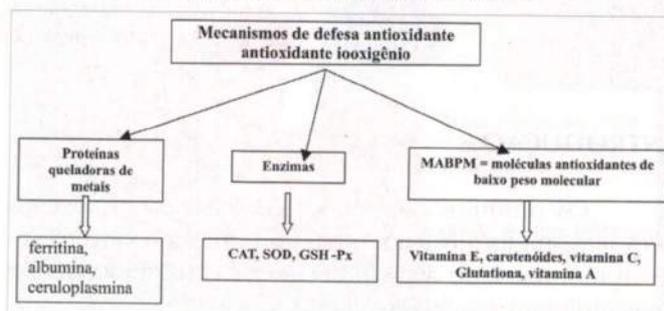
Os antioxidantes biológicos são a primeira linha de defesa contra as EROs e segundo VOEGELI *et al.*, 1992; DARR & FRIDOVICH, 1994; BRIDI, 1999; KOHEN, 1999; SALES & PERCÁRIO, 2001, dividem-se em:

- 1) enzimas que evitam o acúmulo de H_2O_2 e $O_2^{\cdot-}$ para que não haja a produção de radical hidroxila, contra o qual não existe nenhum sistema enzimático de defesa. Salientam-se três enzimas: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona redutase (GSH-Px);
- 2) agentes quelantes que ligam-se aos íons dos metais de transição, impedindo que esses catalisem reações formadoras de radicais livres. São exemplos as proteínas ferritina (liga-se ao ferro), albumina e ceruloplasmina (ligam-se ao cobre);
- 3) moléculas antioxidantes de baixo peso molecular (MABPM) que seqüestram radicais superóxido ou hidroxila ou suprimem oxigênio singleto. Esse sistema foi desenvolvido como resposta ao incremento nas concentrações de oxigênio para interagir diretamente com as EROs, sendo, segundo Kohen (1999), o mecanismo de maior importância na defesa do tecido cutâneo contra os radicais livres.

As MABPM fazem parte de um grupo de grande diversidade que está presente em todas as camadas da pele, encontrando-se em maior quantidade na epiderme (KOHEN, 1999). Esse grupo é formado por moléculas hidrofílicas e lipofílicas com diferentes habilidades para doar elétrons. Fazem parte desse grupo as substâncias sintetizadas pelas células como glutatona (GSH), nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e carnosina; as substâncias provenientes da dieta, ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides, polifenóis; e produtos de excreção, como o ácido úrico (VOEGELI *et al.*, 1992; DARR & FRIDOVICH, 1994; BRIDI, 1999; KOHEN, 1999).

Os antioxidantes biológicos agem, de maneira diversa, podendo ser classificados em duas categorias: os antioxidantes preventivos que retardam a fase de iniciação, eliminando ou impedindo a geração de EROs, como as enzimas e os agentes quelantes, e os antioxidantes, que bloqueiam a propagação da cadeia radicalar (*chain breaking* ou *scavenger*), como a vitamina E e os carotenóides, originando produtos não suficientemente reativos para propagar as reações em cadeia do processo oxidativo (JORDÃO *et al.*, 1998; BRIDI, 1999).

Figura 1. Mecanismos de defesa antioxidante do tecido cutâneo.



As enzimas e as MABPM fazem parte de estudos contraditórios sobre a sua função no processo de envelhecimento (LOPEZ-TORRES *et al.*, 1994; KOHEN, 1999). Lopez-Torres e colaboradores (1994) demonstraram que os níveis das enzimas e das MABPM não são alterados com a idade, sugerindo que a capacidade antioxidante da pele possa não ser 100% eficiente, sendo o processo de envelhecimento causado por um acúmulo dos danos causados pelas EROs. Já Kohen (1999) percebeu um decréscimo na concentração da MABPM hidrofílicas com a idade e em situações de estresse oxidativo, indicando perda na atividade antioxidante total da pele.

A segunda linha de defesa contra o estresse oxidativo é realizado pelos sistemas de reparo do DNA, pelas proteases e fosfolipases, que removem as lesões oxidativas do DNA, proteínas e lipídios, respectivamente (DARR & FRIDOVICH, 1994; JORDÃO *et al.*, 1998; BRIDI, 1999; KOHEN, 1999).

A oxidação de moléculas orgânicas como uma das principais causas do envelhecimento cutâneo tem motivado o estudo científico da atividade antioxidante de plantas contra as EROs presentes no tecido cutâneo (Quadro 2). Muitas plantas medicinais contêm grandes quantidades de antioxidantes além de vitamina C, vitamina E e carotenóides. O efeito antioxidante deve-se, principalmente, aos flavonóides, ácidos fenólicos e diterpenos fenólicos (PIETTA *et al.*, 1998).

Quadro 2. Plantas com potencial antioxidante relatado em estudos científicos

Plantas com potencial antioxidante:

Acer palmatum Thunberg
Aesculus hippocastanum (castanheira-da-Índia)
Aloe sp (babosa)
Citrus limon (limão)
Ginkgo biloba (ginco)
Hamamelis virginiana (hamamélis)
Rosmarinus officinalis (alecrim)
Prunus donarium Sieb Var. *spontanea* Makino
Quebracho blanco

PLANTAS COM CAPACIDADE ANTIOXIDANTE PARA RETARDAR O ENVELHECIMENTO CUTÂNEO

Acer palmatum T. e *Prunus donarium* S.

Acer palmatum T. e *Prunus donarium* S tiveram seu potencial antioxidante estudado por Lee e colaboradores (2000). Das folhas foram obtidos os extratos etanólico e aquoso com 1,3-butileneglicol. O potencial antioxidante foi observado em experimentos *in vitro* e, após preparadas as emulsões com os extratos, a capacidade antioxidante foi avaliada *in vivo*. Os principais componentes ativos foram isolados, identificados e suas atividades antioxidantes foram avaliadas *in vitro* por métodos químicos.

A análise do potencial antioxidante demonstrou que o extrato etanólico das duas plantas possui maior atividade que o extrato aquoso, sendo sua atividade igual ou superior ao extrato aquoso do chá verde (um dos

controles positivo utilizado), porém menor que a atividade de vitamina E.

Os extratos mostraram boa compatibilidade com as emulsões analisadas (A/O, O/A, A/S), sendo indicada pelos autores a emulsão O/A. Nos estudos em humanos, foi observado o decréscimo na quantidade da superfície enrugada e na profundidade das rugas. Não foram observadas reações de intolerância, como alergia ou irritação.

As principais substâncias ativas isoladas das plantas foram dois flavonóides, vitexina (*Acer palmatum*) e isocutelareína-4-O-beta-glicopiranosídeo (*ISTR-O-Glu*) (*Prunus donarium*) que demonstraram possuir alta atividade antioxidante, quando comparadas com Vitamina E. Outros flavonóides e alcalóides estão presentes no extrato das duas plantas em grande quantidade, sugerindo uma atividade sinérgica para explicar o alto potencial antioxidante das duas plantas.

Aesculus hippocastanum (Castanheira-da-Índia)

Masaki e colaboradores (1995) constataram o poder antioxidante *in vitro* do extrato etanólico da castanheira-da-Índia, que demonstrou alta atividade contra as EROs, quando avaliada pelo método de ressonância eletrônica de spin (*spin-trapping*), utilizando como controles positivos antioxidantes como o α -tocoferol, o ácido ascórbico, o DMSO e o Na_3N .

A taxa de sobrevivência dos fibroblastos expostos as EROs demonstrou novamente a eficácia antioxidante da castanheira-da-Índia, sendo a taxa de sobrevivência dos fibroblastos de 77,5% ($\pm 6,7\%$), utilizando concentração de 50,0 mg/ml, enquanto que, sem a presença de extrato da planta, a taxa de sobrevivência dos fibroblastos não chega aos 20%.

Aloe (Babosa)

As folhas do gênero *Aloe* fornecem dois produtos bastante diferentes na sua composição química e nas suas propriedades terapêuticas: o látex e o gel. O látex provém de células pericíclicas e o gel de células parenquimatosas (CAPASSO *et al.*, 1998). O gel é essencialmente usado para o tratamento de várias condições da pele tendo sua efetividade documentada na literatura científica (REYNOLDS & DWECK, 1999). Possui a capacidade de aumentar a quantidade de colágeno solúvel, quando comparada com controles e, por isso, considerada um agente anti-envelhecimento (DANHOF, 1993).

Esteban e colaboradores (2000) identificaram uma peroxidase em amostras de um gel comercial (produzido por Hogar y Cosmética e armazenado a temperatura ambiente) de *A. barbadensis*. As propriedades dessa enzima foram investigadas no extrato protéico obtido do parênquima aquoso interno das folhas e no gel comercial. Em ambos os casos, não foram detectadas catalase ou polifenol oxidase, contudo uma significativa atividade de peroxidase foi observada.

Observou-se ainda que a atividade ótima da enzima é no pH 5.0 o que a torna ideal para ser utilizada topicamente. Aparentemente, a peroxidase é notavelmente estável em preparações como o gel. A estabilidade da enzima e o seu baixo k_M (0.14 mM) para H_2O_2 favorecem sua ação para eliminar H_2O_2 .

A estabilidade física de formulações farmacêuticas para uso tópico contendo o extrato mucilaginoso de *Aloe vera* (*in natura*) em diferentes concentrações foi avaliada por Leonardi e colaboradores (2000). O estudo indica que a base creme-gel apresentou vantagens sobre a base gel para veicular extrato *in natura* de *Aloe vera*, pois demonstrou maior pseudoplastia, quando acrescida do extrato, e maior estabilidade física para veicular a maior concentração (20%) do extrato envolvido no estudo.

Citrus limon (limão)

Do óleo de limão foi extraído um composto, denominado pelos pesquisadores de Lem 1, cuja capacidade de inibição das reações mediadas por radicais livres foi avaliada *in vitro* e *in vivo*. O estudo demonstra que a aplicação tópica de Lem 1 em voluntárias sadias aumenta, de forma significativa, o potencial antioxidante da superfície da pele, podendo tornar-se uma nova alternativa para minimizar o envelhecimento cutâneo (CALABRESE *et al.*, 1999).

Ginkgo biloba (Ginco)

Lin e Chang (1997) estudaram um extrato etanólico das folhas de ginco e observaram que, após aplicação tópica do extrato, ocorre o aumento da atividade da enzima superóxido dismutase e da enzima catalase na epiderme. A atividade seqüestradora de EROs pela ginco também foi investigada por Hibatallah e colaboradores (1999).

Nesse estudo, foi utilizado um extrato contendo apenas os flavonóides glicosídicos em altas concentrações (33%, sendo a maioria de derivados da quercetina e canferol) sem a presença da fração terpênica, por métodos *in vitro* e *in vivo*. A atividade do extrato foi comparada com duas agliconas, quercetina e canferol. Nos experimentos *in vitro*, tanto o extrato como a quercetina, tiveram propriedades antioxidantes significativas, sem efeito pró-oxidante.

Já o canferol comportou-se como um pró-oxidante. Nos experimentos *in vivo*, conduzidos por um modelo anti-inflamatório, foi confirmada a atividade antioxidante do extrato de ginco, que inibiu significativamente o fluxo cutâneo de sangue na mesma extensão que a enzima SOD.

Hamamelis virginiana (Hamamélis)

Uma das ações relatadas para o extrato etanólico de hamamélis (MASAKI *et al.*, 1994 e 1995) é a de antioxidante, observada, através dos métodos de ressonância eletrônica de spin e atividade antioxidante na peroxidação de lipossomas.

O hamamelitanino (2',5-di-O-galoilhamamelofuranose), principal constituinte das cascas, - que por hidrólise fornece 2 grupos galoil e o açúcar hamamelose - também foi avaliado (MASAKI *et al.*, 1994). Hamamelitanino demonstrou ser um potente seqüestrador de EROs, peróxidos lipídicos e radicais orgânicos, originados, após a reação das EROs com as células do tecido cutâneo (método de ressonância eletrônica de spin). Em experimentos com cultura celular (taxa de sobrevivência dos fibroblastos) os mesmos resultados foram observados, sugerindo que o hamamelitanino seja um promissor agente no combate ao envelhecimento cutâneo.

Rosmarinus officinalis (Alecrim)

Os principais constituintes do alecrim, além dos

seus óleos essenciais, são o ácido caféico e seus derivados, como o ácido rosmarínico, que possuem efeitos antioxidantes e são bem absorvidos pela pele (AL-SEREIT *et al.*, 1999).

Masaki e colaboradores (1995) observaram que, embora o extrato etanólico do alecrim apresentasse alta atividade captadora de ânions superóxido (método de neotetrazolium), em testes biológicos (taxa de sobrevivência de fibroblastos), o alecrim mostrou-se ineficaz.

Em outro estudo, conduzido por Calabrese e colaboradores (2000), foram encontradas evidências de que o extrato etanólico das folhas do alecrim possuem alta atividade antioxidante em sistemas *in vitro* e *in vivo*, inibindo as alterações provocadas por oxidação nos lipídios da superfície da pele, sugerindo, portanto, atividade anti-envelhecimento.

Quebracho blanco

O extrato aquoso, obtido das cascas pulverizadas dessa planta, apresenta, em sua composição, depois de seco, grande quantidade de taninos condensados (proantocianidinas) de diferentes pesos moleculares, que possuem a capacidade de ligar-se a radicais livres. Através de um processo de fermentação com microorganismos específicos, o extrato é concentrado em oligômeros de proantocianidinas (OPC), tendo sua eficiência aumentada. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) mostrou que, após a fermentação, o extrato obtido contém 99% de OPC e 1% de ácido gálico (JAY E BERTHON, 1998).

O efeito do *Quebracho blanco* foi comparado à atividade da SOD, usando o método xantina/ xantina oxidase. Na forma microencapsulada, o extrato possui atividade de inibição de radicais livres maior que a SOD. A concentração de 2.5% é suficiente para inibir a formação de radicais livres em 80%. A concentração de 5% inibe em 100% a formação de radicais livres (JAY E BERTHON, 1998).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O forte apelo comercial de produtos naturais, considerados mais seguros por muitos consumidores, junta-se ao fato de que as plantas são importantes geradoras de substâncias antioxidantes, motivando o uso de substâncias naturais em produtos cosméticos. Embora no mercado exista um número bastante razoável de extratos que, devido à sua atividade antioxidante, são indicados para serem utilizados na prevenção do envelhecimento cutâneo - extrato de acerola, extrato fresco de semente de uva, fitoesteóis, Tepescohuite (extrato de *Mimosa tenuiflora*), extrato de hibisco vermelho, extrato de *Glycyrrhiza glabra* - poucas plantas possuem estudos de caráter científico quanto a atividade antioxidante específica para as células dos tecidos cutâneos.

A fim de evitar que novos produtos fossem colocados no mercado sem as devidas comprovações de sua eficácia, deveriam ser estabelecidos padrões para determinar se a atividade do produto está embasada cientificamente ou se os benefícios do produto apenas fazem parte do marketing da empresa.

Embora as plantas ou suas frações citadas neste trabalho apresentem atividade antioxidante superior ou comparável a substâncias com uso sedimentado, como a vitamina E e a vitamina C, seus estudos ainda estão em fase inicial. Estudos farmacotécnicos minuciosos para

escolha de bases apropriadas, doses, estabilidade química, física e microbiológica são necessários para obtenção de produtos de alta qualidade, bem como estudos clínicos que comprovem a eficácia e a não-toxicidade dessas plantas para, então, participarem como substância ativa na composição de produtos anti-idade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL – SEREIT, M. R.; ABU – AMER K.M.; SEM, P. Pharmacology of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and Its Therapeutic Potentials. *Indian J Exp Biol*, v. 37., n.2, p. 124-30, 1999. Medline. Resumo
- BARBER, D.A., HARRIS, S.R. Oxigen Free Radicals and Antioxidants: A Review. *American Pharmacy*, v. NS34, n. 9, p. 26-32, 1994.
- BRIDI, R. *Investigação da Atividade Neuroprotetora do Extrato padronizado de Ginkgo biloba (Egb 761) em Ratos*. Porto Alegre, Faculdade de Farmácia – UFRGS, 1999. Dissertação (Mestrado).
- CALABRESE, V. *et al.* Biochemical Studies of a Natural Antioxidant Isolated from Rosemary and its Application in Cosmetic Dermatology. *Int. J. Tissue. React*, v. 22, n. 1, p. 5-13, 2000. Medline. Resumo.
- DANHOF, I. E. Potential Reversal of Chronological and Photo-Aging of the Skin by Topical Application of Natural Substances. *Phytotherapy Research*, v.7, p. S53-S56, 1993.
- DARR, D.; FRIDOVICH, I. Free Radicals in Cutaneous Biology. *The Journal of Investigative Dermatology*, v. 102, n. 5, p. 671-5, 1994.
- ESTEBAN A. *et al.* Peroxidase Activity in *Aloe barbadensis* Commercial Gel: Probable Role in Skin Protection. *Planta Medica*, v. 66, p. 724-27, 2000.
- HIBATALLAH, J. *et al.* In-vivo and In-vitro Assessment of the Free-Radical-Scavenger Activity of Ginkgo Flavone Glycosides at High Concentration. *J Pharm Pharmacol*, v. 51, n. 12, p. 1435-40, 1999. Medline. Resumo
- JAY, V.; BERTHON, J. Y. New Active Ingredient for Aging Prevention. *Cosmetics & Toiletries*, v.113, p. 71-7, 1998.
- JORDÃO, A. A. *et al.* Peroxidação Lipídica e Etanol: Papel da Glutathiona Reduzida e da Vitamina E. *Medicina (Ribeirão Preto)*, v. 31, n. 3, p. 434-46, 1998.
- KARG, G.; WILMOTT, J.; ZNAIDEN, A.. Protective Role of Natural Antioxidants. *Cosmetics & Toiletries*, v.102, p. 37-51, 1987.
- KOHEN, R. Skin Antioxidants: Their Role in Aging and in Oxidative Stress – New Approaches for their Evaluation. *Bio-medicine & Pharmacotherapy*, v. 53, p. 181-92, 1999.
- LEONARDI G.R.; BERALDI, P. Produtos de Uso Tópico com *Aloe vera*. *Cosmetics & Toiletries* (edição em português), v.12, p. 44-53, 2000.
- LIN, S.Y.; CHANG, H. P. Induction of Superoxide Dismutase and Catalase in Different Rat Tissues and Protection from UVB Irradiation After Topical Application of Ginkgo biloba Extracts. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, v.19, n. 6, p. 367-71, 1997. Medline. Resumo.
- LOPEZ-TORRES, M.; SHINDO, Y.; PACKER, L.. Effect of Age on Antioxidants and Molecular Markers of Oxidative Damage in Murine Epidermis and Dermis. *The Journal of Investigative Dermatology*, v.102, n.4, p. 476-80, 1994.
- MASAKI, H.; ATSUMI, T.; SAKURAI, H. Active-Oxygen Scavenging Activity of Plant Extracts. *Pharm. Bull*, v. 18, n.1, p. 162-6, 1995.
- MASAKI, H.; *et al.* Hamamelitannin as a New Potent Active Oxygen Scavenger. *Phytochemistry*, v. 37, n. 2, p. 337-43, 1994.
- MASAKI, H.; ATSUMI, T.; SAKURAI, H. Protective Activity of Hamamelitannin on cell Damage Induced by Superoxide Anion Radicals in Murine Dermal Fibroblasts. *Biol. Pharm. Bull.*, v. 18, n. 1, p. 59-63, 1995.
- PIETTA, P.; SIMONETTI, P.; MAURI, P. Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plants. *J. Agric. Food Chem.*, v. 46, p. 4487-90, 1998.
- REYNOLDS, T.; DWECK, A.C. Aloe vera Leaf Gel: a Review Update. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 68, p. 3-37, 1999.
- SALES, R. P.; PERCÁRIO, S. Devemos Avaliar o Estresse Oxidativo e a Defesa Antioxidante de Nossos Pacientes? *Laes & Haes*, v. 22, n. 130, p. 122-40, 2001.
- VOEGELI, R. *et al.* Defesa Contra Espécies Reativas de Oxigênio – Modelos *in vitro*. *Cosmetics & Toiletries* (edição em português), v. 104, p. 49-55, 1992.