

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**O emprego de extratos vegetais e compostos isolados com diferentes
mecanismos de ação para o uso no antienvhecimento da pele**

Stéffanie da Silva Santos

Porto Alegre, novembro de 2020

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Trabalho de Conclusão do Curso de Farmácia

O emprego de extratos vegetais e compostos isolados com diferentes mecanismos de ação para o uso no antienvhecimento da pele

Autora: Stéffanie da Silva Santos

Orientadora: Karina Paese

Porto Alegre, novembro de 2020

Agradecimentos:

Agradeço primeiramente a Deus, por durante todo o meu trajeto me abençoar com saúde para ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da jornada.

Aos meus pais, José Zanato e Mariza, por sempre batalharem para fornecer a melhor estrutura possível para que eu chegasse até aqui. Além de todo o apoio e incentivo que recebi durante todo meu processo acadêmico.

Ao meu noivo, Neto Mendes, por acreditar no meu potencial e não me deixar desistir, me dando sempre muita força e incentivo.

À professora Karina Paese, por ter me orientado e ter desempenhado essa função com dedicação e destreza, além de acrescentar muito à minha formação profissional ao longo do curso de farmácia.

Às minhas amigas e futuras colegas de profissão, Camilla Aita, Larissa Oliveira e Thayna Vargas, por estarem presentes em toda a trajetória, tornando-a mais leve, dividindo alegrias, tristezas, raivas e surtos.

Aos demais amigos e amigas, os quais não serei capaz de citar todos, mas que estiveram presentes ao longo da minha formação e através de conversas e trocas de experiências, me permitiram crescer não só como pessoa, mas também profissionalmente.

Por fim, agradeço a todos aqueles que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste sonho.

Resumo:

Com o passar do tempo, a pele sofre alterações morfológicas e fisiológicas em decorrência do envelhecimento. O envelhecimento pode ser intrínseco (associado a processos hormonais e bioquímicos genéticos que degeneram irreversivelmente o tecido da pele) ou extrínseco (relacionado a danos ambientais, principalmente exposição à radiação UV). Nos últimos anos, a saúde e a beleza da pele se tornaram fatores importantes para o bem-estar dos seres humanos, estimulando a pesquisa de produtos que auxiliem na redução da velocidade do envelhecimento humano. Entre esses produtos, os extratos vegetais têm se destacado pela facilidade de obtenção e aplicação, menos efeitos adversos que as substâncias sintéticas e por serem ricos em compostos com ação antienvhecimento. O presente trabalho aborda os principais mecanismos de ação apresentados por extratos vegetais e seus compostos isolados no tratamento dos sinais e sintomas do envelhecimento da pele. Esta revisão de literatura foi baseada em artigos científicos publicados nos últimos cinco anos, referentes às ações antienvhecimento cutâneo apresentada por extratos vegetais e compostos isolados presentes nos bancos de dados PubMed, Science Direct e Scopus. A ação antienvhecimento apresentada pelos extratos vegetais e seus compostos isolados não foi associada a nenhuma família botânica específica, porém está relacionada, principalmente, com o conteúdo de flavonóides presentes nos mesmos, sendo que, a maioria dos extratos e substâncias avaliadas atuava no retardo do envelhecimento cutâneo através de dois ou mais mecanismos distintos, indicando que tais produtos são promissores ingredientes cosméticos. Dentre os mecanismos avaliados, a atividade antioxidante se destaca como o mecanismo de ação majoritário apresentado pelos extratos e compostos isolados, entretanto outros mecanismos relatados mostram inibição das enzimas elastase e colagenase, aumento da produção de colágeno e da hidratação da pele e inibição da atividade inflamatória.

Palavras chave: extratos vegetais, compostos isolados, envelhecimento cutâneo.

Abstract:

Over time, the skin undergoes morphological and physiological changes as a result of aging. Aging can be intrinsic (associated with hormonal and biochemical genetic processes that irreversibly degenerate the skin tissue) or extrinsic (related to environmental damage, mainly exposure to UV radiation). In the last few years, the health and beauty of the skin have become important factors for the well-being of human beings, stimulating the search for products that help to reduce the speed of human aging. Among these products, plant extracts have stood out for their ease of obtaining and application, less adverse effects than synthetic substances and for being rich in compounds with anti-aging action. The present work addresses the main mechanisms of action presented by plant extracts and their isolated compounds in the treatment of signs and symptoms of skin aging. This literature review was based on scientific articles published in the last five years, referring to skin anti-aging actions presented by plant extracts and isolated compounds present in the PubMed, Science Direct and Scopus databases. The anti-aging action presented by plant extracts and their isolated compounds was not associated with any specific botanical family, however it is mainly related to the content of flavonoids present in them, and most of the evaluated extracts and substances acted in delaying aging. through two or more distinct mechanisms, indicating that such products are promising cosmetic ingredients. Among the mechanisms evaluated, antioxidant activity stands out as the major mechanism of action presented by extracts and isolated compounds, however other reported mechanisms show inhibition of the enzymes elastase and collagenase, increased production of collagen and skin hydration and inhibition of inflammatory activity.

Keywords: plant extracts, isolated compounds, skin aging.

Sumário:

Introdução.....	07
Objetivos.....	09
Metodologia.....	10
Resultados.....	11
1. Extratos vegetais e compostos isolados com potencial antioxidante com aplicação no envelhecimento cutâneo.....	11
1.1 Atividade antioxidante de extratos vegetais e compostos isolados, avaliados <i>in vitro</i> , e sua potencialidade no uso como ativos cosméticos anti-idade.....	11
1.2 Atividade antioxidante, avaliada <i>in vivo</i> , de extratos vegetais e compostos isolados e seu uso como anti-idade.....	20
2. Avaliação de extratos vegetais com possível aplicação no tratamento anti-envelhecimento associada a outros mecanismos de ação que não a atividade antioxidante.....	26
2.1 Atividade dos produtos de origem vegetal na inibição de enzimas importantes no processo de envelhecimento cutâneo <i>in vitro</i>	26
2.1.1 Atividade dos extratos e compostos isolados de origem vegetal na inibição de enzimas importantes no processo de envelhecimento cutâneo, avaliados <i>in vivo</i>	33
2.2 Produtos de origem vegetal avaliados <i>in vitro</i> quanto ao estímulo para a produção de colágeno.....	35
2.2.1 Produtos de origem vegetal que estimularam a produção de colágeno <i>in vivo</i>	37
2.3 Uso de produtos de origem vegetal para a promoção da hidratação cutânea.....	38
2.4 Inibição inflamatória no tratamento do envelhecimento cutâneo com produtos de origem vegetal.....	41
3. Extratos vegetais e compostos isolados que apresentaram melhora do aspecto cutâneo <i>in vivo</i>	50
Conclusão.....	56

Lista de Tabelas:

Tabela 1 –Lista dos trabalhos que empregam extratos vegetais e compostos isolados com atividade antioxidante e potencialidade de uso no tratamento do envelhecimento cutâneo.....24

Tabela 2- Principais informações presentes nos trabalhos abordados sobre extratos vegetais com outros mecanismos antienvhecimento que não a atividade antioxidante.....45

Tabela 3– Mecanismos antienvhecimento apresentados pelos extratos vegetais e substâncias isoladas estudados.....58

Introdução:

A pele é considerada o maior órgão do corpo humano (Otuki,2004) e exerce funções essenciais para a vida, entre elas termorregulação, sensibilidade, proteção contra danos exógenos (químicos, físicos e biológicos) e contra perda de proteínas e água. É constituída por três camadas, epiderme (mais externa), derme (intermediária) e hipoderme (mais interna) (Câmara,2009).

Cerca de 80% da epiderme é composta por queratinócitos, células cuja principal função é a produção de queratina, uma proteína que preenche as células superficiais da epiderme, formando a camada córnea. Aproximadamente 13% da população epidérmica é constituída de melanócitos, células responsáveis pela produção de melanina. As células de Langerhans são outro tipo celular presente na epiderme que exerce a função de indução da resposta imune (Otuki, 2004).

A derme fica localizada abaixo da epiderme e é composta principalmente por colágeno (70-80%), elastina (1-3%) e proteoglicanos, que são os constituintes da substância amorfa que envolve as fibras colágenas e elásticas. Essa camada da pele pode ser dividida em derme papilar (mais externa), reticular (mais interna) e derme perianexial. A derme papilar é majoritariamente composta por feixes delicados de colágeno (principalmente o tipo III) e elastina, dispostos em uma rede frouxa, rodeada por gel de mucopolissacarídeos. A derme reticular é constituída de fibras colágenas (principalmente tipo I) entrelaçadas, e também por fibras elásticas que ficam paralelas à superfície da pele. A derme perianexial possui a mesma estrutura da derme papilar, entretanto fica localizada nos anexos cutâneos. O sistema elástico, que atravessa as fibras colágenas da derme papilar e reticular, é o responsável pela elasticidade cutânea, que é a capacidade que a pele possui de voltar ao estado original após ser submetida ao estiramento (Câmara, 2009).

Com o passar do tempo a pele sofre progressivo decréscimo morfológico e fisiológico e, assim, fornece a primeira evidência do processo de envelhecimento (Zouboulis et al.,2019). O processo de envelhecimento é causado por alterações na pele, tecido mole e estruturas de suporte esquelético do rosto humano. As mudanças na derme ocorrem devido a fatores intrínsecos e extrínsecos. Os fatores intrínsecos estão relacionados aos processos hormonais e bioquímicos controlados geneticamente que causam a degeneração irreversível do tecido da pele, enquanto os fatores extrínsecos se referem a agressões ambientais, principalmente devido à

radiação ultravioleta (UV), que danifica e compromete a integridade da pele (Sadicket al., 2009).

O envelhecimento intrínseco ocasiona diversas alterações histológicas em todas as camadas da pele, como o achatamento da interface epidérmico-dérmica, redução no número de melanócitos e células de Langerhans na epiderme, atrofia dérmica, redução no número de fibroblastos dérmicos, perda de tecido elástico, espessamento e fragmentação incomuns de tecido elástico na derme reticular, entre outras alterações. Além disso, o envelhecimento intrínseco também causa alterações funcionais na pele humana, incluindo produção reduzida de colágeno tipo I e tipo III, menor taxa de renovação epidérmica e atividade de melanócitos reduzida (Sadick et al., 2009).

O envelhecimento extrínseco também causa alterações histológicas na pele, fazendo com que a mesma seja caracterizada por elastose, crescimento excessivo de fibras elásticas anormais e aumento da população de mastócitos, histiócitos e fibroblastos. O tecido cutâneo foto danificado geralmente é inflamado, com vasos sanguíneos dilatados e tortuosos e uma membrana basal espessada. Embora as alterações histológicas na pele envelhecida intrínseca e extrinsecamente sejam diferentes, muitas das alterações funcionais são semelhantes nos dois tipos de envelhecimento, como, por exemplo, o conteúdo de colágeno e a atividade dos melanócitos são reduzidos e o processo de cicatrização é prejudicado em ambos os envelhecimentos (Sadicket al., 2009).

Como a saúde e a beleza da pele estão entre os principais fatores que representam o bem-estar geral e a percepção da saúde em seres humanos (Zoubouliset al., 2019), nos últimos anos, muitos cientistas e empresas cosméticas e/ou farmacêuticas estudam o desenvolvimento de produtos (medicamentos ou cosméticos) para diminuir a velocidade do envelhecimento cutâneo humano.

A maioria dos cosméticos anti-envelhecimento presente no mercado pode causar efeitos adversos desagradáveis. Entretanto, prevê-se que os cosméticos fitoterápicos antienvhecimento sejam mais fáceis de usar e menos prejudiciais (Ratnasooriya et al., 2014). Além disso, os cosméticos à base de vegetais estão gradualmente se popularizando e se tornando uma tendência, já que os extratos de plantas e seus metabólitos são ricos em compostos ativos que podem ser usados no tratamento do envelhecimento e das doenças da pele (Mukherjee et al., 2011; De Wet et al., 2013).

Objetivos:**Objetivo Geral:**

Revisar a literatura acerca dos potenciais efeitos apresentados por extratos vegetais e suas substâncias isoladas, frente ao retardo dos sinais e sintomas do envelhecimento cutâneo.

Objetivos Específicos:

- Pesquisar na literatura extratos vegetais com atividade antioxidante e possível uso como ativo cosmético anti-idade.
- Revisar trabalhos científicos referentes à capacidade antioxidante de compostos isolados de extratos vegetais e sua aplicação como anti-envelhecimento.
- Revisar na literatura extratos vegetais com potencial ação anti-idade associados a outros mecanismos de ação, que não o antioxidante (inibição enzimática, estímulo à produção de colágeno, promoção da hidratação da pele e ação anti-inflamatória).

Metodologia:

O presente trabalho trata-se de uma revisão bibliográfica embasada em estudos disponíveis nos bancos de dados PubMed, Science Direct e Scopus. As palavras chaves utilizadas na pesquisa foram: “*anti ageing cosmetology*”, “*anti-aging extracts*” e “*anti-aging plant extracts*”. Dos trabalhos resultantes, foram selecionados os artigos publicados nos últimos cinco anos. As revisões bibliográficas foram excluídas, somente foram selecionados artigos originais que possuíam alguma avaliação antioxidante ou de outros mecanismos de ação, associados pelos autores, ao tratamento dos sinais e sintomas do envelhecimento cutâneo.

Tendo em vista os parâmetros citados anteriormente, artigos e os critérios de inclusão e exclusão aplicados, o total de 18 artigos foi utilizado como referência para esse trabalho.

Resultados:

1. Extratos vegetais e compostos isolados com potencial antioxidante com aplicação no envelhecimento cutâneo

O estresse oxidativo possui um papel fundamental no envelhecimento da pele e nos danos dérmicos. Os eventos oxidantes estão relacionados com danos ao DNA, resposta inflamatória, menor produção de antioxidantes e geração de metaloproteinases de matriz (MMPs), enzimas responsáveis pela degradação do colágeno e da elastina na camada dérmica da pele (Rittie e Fisher, 2002;Gonzaga, 2009;Zouboulis e Makrantonaki, 2011; Natarajan et al., 2014; Kammeyer e Luiten, 2015). Todos esses fatores danificam a pele e refletem o envelhecimento através da ruptura da matriz dérmica extracelular, perda de resistência à tração e elasticidade, redução da cicatrização de feridas, surgimento de rugas, manchas da idade e irregularidade no tom da pele (Lephart, 2016).

1.1 Atividade antioxidante de extratos vegetais e compostos isolados, avaliados *in vitro*, e sua potencialidade no uso como ativos cosméticos anti-idade:

Levando em consideração os danos associados aos processos oxidativos, diversos estudos *in vitro* foram realizados com extratos vegetais e substâncias isoladas para investigar o potencial anti-envelhecimento dessas substâncias e serão apresentados a seguir.

Sabendo da importância dos antioxidantes no tratamento de sinais de envelhecimento cutâneo, análises *in vitro* foram realizadas para determinar a atividade antioxidante de extratos vegetais. O estudo publicado por Wang et al. (2019), analisou as atividades anti-envelhecimento do extrato etanólico de *Ginkgo biloba* e avaliou quais compostos presentes nesse extrato poderiam ser os responsáveis por seu efeito. Para avaliar o potencial antioxidante do extrato etanólico de *Ginkgo biloba*, foram

utilizados os métodos DPPH e ABTS. O extrato indicou possuir capacidades significativas de eliminação de radicais DPPH e ABTS com IC50 de 0,103 mg/mL e 0,052 mg/mL, respectivamente.

Também foi analisada a produção de peróxidos através da coloração de fibroblastos dérmicos humanos (HDFs) com sonda fluorescente diacetato de 2,7-diclorofluoresceína (DCFH-DA). Neste ensaio a intensidade de fluorescência é proporcional à quantidade de peróxidos produzidos pelas células, sendo que o F0 representa a fluorescência do grupo controle e o F simboliza a fluorescência das amostras tratadas com o extrato de *Ginkgo biloba*, portanto quanto maior a razão F0/F, maior é a capacidade de eliminação de EROs pelo extrato. A concentração de extrato estudada (0,2 mg/mL), indicou uma notável atividade de eliminação de ERO (valor de F0 / F $1,38 \pm 0,0025$) quando comparada com o grupo controle (valor de F0 / F $1 \pm 0,043$) e o grupo de controle de ERO (F0 / F valor $0,84 \pm 0,023$) (Wang et al, 2019).

Após comprovar a alta capacidade antioxidante do extrato de *Ginkgo biloba*, os principais constituintes químicos responsáveis por tal atividade foram pesquisados por HPLC/DAD (flavonóides) e UHPLC/MS/MS (trilactonas terpenos). O extrato era composto pelos seguintes flavonóides: rutina, quercetina-3-O- β -glucosídeo, caempferol 3-O- β -D-glucopiranosídeo, isorhamnetina-3-O-glucosídeo e miricetina. O principal flavonóide presente no extrato, a miricetina, possui diversas atividades biológicas relatadas na literatura, incluindo antioxidante, anticâncer, anti-inflamatório, antibacteriano, antiviral e efeitos antidiabéticos. Portanto, a atividade antioxidante apresentada pelo extrato de *Ginkgo biloba*, provavelmente está relacionada com a presença desse flavonóide (Wang et al, 2019).

Outro extrato vegetal que foi analisado para comprovar seu potencial antioxidante e possível uso no combate ao envelhecimento cutâneo, foi o extrato butanólico da flor de *Cassia fistula*, por Limtrakul et al. (2016). Primeiramente, foi realizada a caracterização fitoquímica do extrato obtido, através do teste de Folin-Ciocalteu para quantificar o conteúdo fenólico total e a análise por HPLC foi utilizada para verificar quais compostos fenólicos estavam presentes no extrato, após foram comparados com padrões de ácido gálico, catequinas, ácido protocatecuico, ácido vanílico, ácido clorogênico, ácido ferúlico e ácido cumárico. Para determinar o teor total de flavonóides presente no extrato de *C. fistula*, utilizou-se o ensaio colorimétrico de cloreto de alumínio ($AlCl_3$). Com a finalidade de determinar a citotoxicidade do

extrato, um ensaio de viabilidade celular foi realizado com células de fibroblastos pelo método de sulforodamina B (SRB). As células fibroblásticas foram tratadas com diversas concentrações do extrato de *C. fistula* (0–200 µg/mL) por 48h, então, em seguida foi observado que o extrato da flor não apresentou efeito no crescimento de células de fibroblastos da pele em nenhuma concentração testada. Também foi verificado que o IC20 e o IC50 do extrato foram maiores que 200 µg/mL, ou seja, até as concentrações mais altas do extrato poderiam ser aplicadas em outros experimentos sem toxicidade.

Visto que o extrato de *C. fistula* se mostrou seguro para os fibroblastos testados, a atividade antioxidante do mesmo foi determinada pelo teste de DPPH, descrito anteriormente, e foi confirmada pelo ensaio ABTS. A vitamina E e o trolox foram utilizados como controles positivos. No teste DPPH, o extrato de *C. fistula* mostrou atividade de eliminação de radicais livres de 65% a 100 µg/mL. Na concentração de 25 µg/mL do extrato de flores, a atividade de eliminação de radicais apresentada foi de aproximadamente 33% e o IC50 do extrato de *C. fistula* e vitamina E encontrado foi de 70 e 72 µg/mL, respectivamente. Tais resultados indicam que o extrato de flor de *C. fistula* é um potente antioxidante, com capacidade comparável à vitamina E. Para confirmar a atividade antioxidante do extrato de flores, o ensaio ABTS foi realizado e exibiu inibição de 47% a 4 µg/mL. IC50 do extrato de flores e trolox foram de 4,8 e 3 µg/mL, respectivamente, concordando com os resultados obtidos no ensaio DPPH e comprovando a notável capacidade antioxidante que o extrato de *C. fistula* apresenta (Limtrakul et al., 2016).

Kim e Park (2017) analisaram a atividade antioxidante do extrato de calo de *Pyrus pyrifolia* var. *culta*. No estudo publicado por Kim e Park foi preparado um extrato aquoso fervendo o pó seco da planta em 1L de solução salina tamponada com fosfato (PBS), e também se preparou uma solução de calo, adicionando-se o pó de calo a 1L de PBS. Após, os autores identificaram os principais compostos químicos presentes no extrato de calo. O teor fenólico total foi determinado usando o reagente Folin-Ciocalteu. O conteúdo fenólico foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico/g de extrato seco. A quantidade total de flavonóides foi determinada pelo método colorimétrico. A avaliação foi feita baseada em uma curva padrão derivada utilizando quercetina, e os resultados foram expressos em mg equivalentes de quercetina/g de extrato seco. O conteúdo fenólico total da solução de calos de *Pyrus pyrifolia* var. *culta* e do extrato foram $65,50 \pm 1,13$ e $50,80 \pm 1,46$ mg/L, respectivamente. Já o conteúdo total de flavonóides presentes na solução e no extrato de calos foi de $15,90 \pm 1,13$ e

6,21 ± 1,76 mg/mL, respectivamente. Para estimar a atividade de eliminação de radicais da solução e extrato de calos de *Pyrus pyrifolia* var. *culta*, Kim e Park utilizaram o ensaio DPPH e o ácido ascórbico como controle positivo. Os resultados indicaram que o extrato de calo possui atividade de eliminação de radicais livres, dependente da dose, de 78,7%, equivalente ao do ácido ascórbico 500 µM (82,1%). Entretanto, a solução de calo mostrou uma atividade de eliminação de DPPH pouco significativa em uma concentração menor de 5mg/mL e apresentou apenas 46,8% de atividade de eliminação de radicais livres a 10 mg/mL. Devido aos teores fenólicos e de flavonóides totais estarem fortemente relacionados à atividade antioxidante, provavelmente esses são os compostos responsáveis pelas propriedades antioxidantes apresentadas pela *Pyrus pyrifolia* var. *culta*.

De modo a garantir a segurança de aplicação do extrato na pele, foi avaliada a proliferação de células de fibroblastos humanos (CCD-986sk) após o tratamento com a solução de calos e o extrato de *Pyrus pyrifolia* var. *culta*. Após o ensaio, verificou-se que tanto o extrato quanto a solução de calos foram bem tolerados e não parecem ter efeitos sobre a viabilidade celular da linhagem CCD-986sk, sendo, portanto, um indicativo de segurança.

A decocção de Erjingwan (EJW) é composta por 2 plantas, *Lycium barbarum* e *Polygonatum sibiricum*. O polissacarídeo de *Lycium barbarum* mostrou, anteriormente, ser capaz de reduzir o dano ao DNA pela diminuição do estresse oxidativo (Wu et al., 2006). Enquanto que o *Polygonatum sibiricum* apresentou efeitos antioxidantes e capacidade para elevar a atividade da telomerase (Wang et al, 2011; Li et al, 2008). Logo, devido a estas atividades, essas duas plantas medicinais possuem um grande potencial para evitar o processo de envelhecimento.

No estudo realizado por Zhong et al. (2019), a eficácia dos extratos de EJW foi investigada através do tratamento de fibroblastos do prepúcio humano (HFFs) com H₂O₂ para induzir o dano oxidativo. As amostras utilizadas na pesquisa conduzida por Zhong et al. (2019), foram produzidas pela LG Household & Health Care Co., inclusive o creme contendo extratos de EJW (amostra A) e o creme sem ingrediente ativo (amostra B).

Para validar a capacidade antioxidante dos extratos de EJW, foi realizado o ensaio de eliminação de radicais livres de DPPH. A vitamina C foi utilizada como o controle positivo e cinco concentrações de extrato de EJW (0,0625, 0,125, 0,25, 0,5 e 1 mg/mL) foram testados. A atividade da DPPH foi significativamente inibida pelos

extratos e o IC50 foi de 0,531 mg/mL. Segundo os resultados obtidos, a capacidade antioxidante dos extratos está relacionada com os efeitos antienvhecimento apresentados por esse extrato vegetal, por essa razão, Zhong et al. (2019), resolveram avaliar a via Nrf2 (fator nuclear derivado do eritróide 2), uma via antioxidante, e como o esperado essa via foi ativada após a exposição aos extratos de EJW. Além da expressão de p-Nrf2, a expressão de HO-1 (heme oxigenase-1) também foi significativamente maior, enquanto a via do NF-κB, fator nuclear kappa B, (ativada por H₂O₂) foi inibida pelos extratos de EJW. A via de NF-κB é muito importante na ocorrência e regulação do envelhecimento, portanto a inibição dela pode diminuir a senescência celular e os danos oxidativos, podendo prolongar a expectativa de vida (Tilstra et al., 2012).

O extrato aquoso de cultura de calos de *Leontopodium Alpinum* (LACCE), foi investigado por Cho et al. (2020) a fim de verificar a eficácia antienvhecimento do mesmo. A avaliação da citotoxicidade do LACCE no crescimento, propagação e sobrevivência celular de células de pele humana foi verificada através do ensaio MTT. Para essa análise foram utilizadas duas linhagens celulares diferentes, HaCaT (queratinócitos) e Detroit551 (fibroblastos), que foram tratadas com três diferentes concentrações de LACCE (0,1%, 0,5% e 1%; m/v). A viabilidade de ambas as células após o tratamento com LACCE foi semelhante ao do controle. A viabilidade das células HaCaT diminuiu de 98,61% (0,1% LACCE) para 94,72% (1% LACCE) conforme a concentração de LACCE aumentava. Enquanto a viabilidade celular das células Detroit551 aumentou de 95,99% (0,1% LACCE) para 99,95% (1% LACCE) à medida que a concentração de LACCE aumentava. Também foi realizado um ensaio MTT induzindo dano oxidativo por exposição ao peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que mostrou a forte citotoxicidade causada por essa substância (42,52% da viabilidade celular) quando comparada com o controle negativo. A adição de N-acetil cisteína (NAC) a 0,033% (m/v), um antioxidante celular utilizado como controle positivo, reduziu a citotoxicidade causada pelo peróxido de hidrogênio (60,24% da viabilidade celular ao final do tratamento). Então, os autores testaram a efetividade do LACCE a 0,1%, 0,5% e 1% (m/v) frente à 1mM de H₂O₂ por 8h. Conforme a concentração de LACCE aumentava, a viabilidade celular também aumentou de 45,54% (0,1% LACCE) para 60,37% (1% LACCE) em resposta ao H₂O₂. Portanto, a taxa de inibição das espécies reativas de oxigênio (ERO) do LACCE 1% (m/v) é similar à do NAC.

Logo após, foi realizado o teste de eliminação de radicais DPPH, para analisar a atividade antioxidante do LACCE em três concentrações distintas (0,1%, 0,5% e 1%; m/v). O ácido ascórbico 0,001% (m/v) (Vitamina C) foi utilizado como controle positivo.

Quanto maior foi a concentração de LACCE, maior foi a atividade de eliminação dos radicais DPPH, visto que, aumentou de 2,85% (0,1% LACCE) para 20,47% (1% LACCE). A capacidade de eliminação dos radicais DPPH da vitamina C foi de 14,05%, portanto as concentrações de 0,1% e 0,5% de LACCE não foram tão efetivas quanto o controle positivo, porém o extrato de 1% (m/v) de LACCE se mostrou mais efetivo que o ácido ascórbico para eliminar os radicais livres.

No trabalho publicado por Li; Baiet al. (2019) foi estudado o potencial antienvhecimento do extrato e compostos do rizoma de *Zingiber cassumunar* Roxb. Três extratos diferentes foram produzidos para serem analisados, o extrato de éter de petróleo (PE), extrato de clorofórmio (CHCl_3) e extrato de acetato de etila (EtOAc). Dos extratos de PE e EtOAc do rizoma de *Z. cassumunar* Roxb, foram isolados seis compostos ativos, sendo que dois dos compostos foram obtidos do extrato de PE e os quatro demais do extrato de EtOAc. São eles: (E) -3- (3,4-dimetoxifenil) - 2-propenal (1), cis-3- (3,4-dimetoxifenil) -4 - [(E) - 2,4,5-trimeetoxiestiril] ácido ciclo-hex-1-eno (2), 1-feroilliloxicinâmico (3), (1E, 4E, 6E) -1,7-bis (4-hidroxifenil) -1,4,6-heptatrien-3-ona (4), bisdemetoxicurcumina (5) e curcumina (6). A atividade antioxidante dos compostos presentes nos extratos de *Z. cassumunar* Roxb. foi explorada pelo ensaio de eliminação de radicais DPPH. Os resultados indicaram que os compostos 2 e 1 não apresentaram efeito antioxidante, entretanto o composto 3 mostrou forte poder de eliminação de radicais livres, com taxa antioxidante de 94,16% na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$ e 50% de capacidade antioxidante na concentração de 22,95 $\mu\text{g/mL}$. O composto 4 exibiu 56,27% de capacidade de eliminação do radical DPPH na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$, enquanto o composto 5 apresentou a menor atividade antioxidante, 35,20% na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$. O sinergismo das capacidades antioxidantes dos diferentes compostos presentes nos extratos de *Z. cassumunar* Roxb. resulta em um potencial antienvhecimento notável desse extrato vegetal.

No estudo realizado por Ma; Yanget al. (2019), foi avaliado o potencial antioxidante de 14 compostos fenólicos, isolados do extrato etanólico a 80% do caule de *Dendrobium loddigesii* Rolfe. A atividade antioxidante foi examinada através do ensaio de eliminação de radicais DPPH e o Trolox foi utilizado como controle positivo nesse ensaio. Os resultados obtidos indicaram que grande parte dos compostos fenólicos presentes no extrato de *D. loddigesii* são capazes de eliminar radicais livres, são eles: treo-7-O-etil-9-O- (4-hidroxifenil) propionil-guaiacilglicerol (1), crepidatina (4), moscatilina (5), 4,5,4'-tri-hidroxi-3,3'-dimetoxibenzil (6), 4', 5-di-hidroxi-3,3' - dimetoxibenzil (7), tristina (8), di-hidroconiferil di-hidro- p-coumarato (13), p-

hidroxifenetil trans-ferula (14). A capacidade antioxidante variou de 89,411 (crepidatina) a 94,278% (p-hidroxifenetil trans-ferula) a 100 µg/mL, indicando que esses compostos podem atuar prevenindo o envelhecimento da pele através da atividade antioxidante.

Chaiyana et al. (2018) também estudaram a atividade antienvhecimento de extratos vegetais, neste trabalho foi investigado o potencial dos extratos de *Ocimum sanctum* Linn., popularmente conhecida como “Rainha da Erva” (Sharma et al., 2016). Extratos produzidos com n-hexano, acetato de etila e etanol foram avaliados. Após a obtenção dos extratos, foi analisado o conteúdo de ácido rosmarínico, por cromatografia líquida de alta eficiência e o conteúdo fenólico total através do Método de Folin-Ciocalteu. O ácido rosmarínico foi determinado como o principal componente do extrato etanólico e do extrato de acetato de etila, já o conteúdo fenólico total apresentado pelo extrato etanólico foi o maior, seguido pelo extrato acetato de etila e extrato n-hexano, respectivamente. Esses resultados se relacionam bem com o teor de ácido rosmarínico, visto que o extrato etanólico foi o que possuiu maior quantidade de ácido rosmarínico também apresentou o maior teor fenólico total.

A determinação da atividade antioxidante dos extratos foi então avaliada através de três diferentes ensaios. O ensaio ABTS foi utilizado para verificar a atividade de eliminação de cátions radicais ABTS do ácido rosmarínico de cada extrato de *O. sanctum*. Para calcular a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) foi construída uma curva padrão utilizando a atividade de eliminação de ABTS%+ de várias concentrações de Trolox, na qual foi baseada o cálculo da TEAC. O segundo ensaio realizado foi o DPPH, para avaliar a atividade de eliminação de radicais DPPH do ácido rosmarínico dos três extratos. O último ensaio antioxidante realizado no trabalho de Chaiyana et al. (2018), foi o ensaio de poder antioxidante redutor férrico (FRAP) do ácido rosmarínico. A partir dos resultados dos ensaios antioxidantes, pode-se concluir que o extrato etanólico possuía a maior atividade antioxidante em todos os testes (ABTS, DPPH e FRAP), desse modo, pode-se afirmar que os mecanismos que o extrato etanólico apresenta para inibir a oxidação são diversificados. ABTS e DPPH estão relacionados à reação de transferência eletrônica, enquanto o FRAP está associado à redução de íons férricos (Fe^{+3}) e íons ferrosos (Fe^{+2}) (Somwongin et al., 2018). A maior atividade antioxidante do extrato etanólico é comparável com o conteúdo fenólico e de ácido rosmarínico. Logo, os compostos fenólicos, principalmente o ácido rosmarínico, exerceram um importante papel na atividade antioxidante dos extratos de *O. sanctum*. Os resultados convergiam com um estudo anterior que relatou que o ácido rosmarínico foi o antioxidante mais potente entre os

diversos ácidos hidroxicinânicos (uma classe de compostos fenólicos) em consequência da presença de duas estruturas catecol conjugadas com um ácido carboxílico (Sánchez-Campillo et al., 2009).

Inúmeros trabalhos já avaliaram, através de metodologias *in vitro*, a atividade antioxidante de substâncias isoladas de extratos vegetais com possível aplicação no antienvhecimento. A 7,8-di-hidroxi-flavona (7,8-DHF, 7,8-di-hidroxi-2-fenil-4H-cromen-4-ona) também é um composto fenólico pertencendo ao subgrupo dos flavonóides que mostrou possuir diversos benefícios para a saúde (COLOMBO et al., 2014; PARK et al., 2012; HUAL et al., 2014; CHOI et al., 2016). No trabalho de Choi et al. (2017) os potenciais efeitos antienvhecimento da 7,8-DHF foram investigados em fibroblastos dérmicos humanos Hs68 estimulados por TNF- α . O TNF- α é uma citocina inflamatória que é expressa por diversas células cutâneas durante o processo de envelhecimento, tanto intrínseco quanto extrínseco. Vários estudos sugerem que o TNF- α é um regulador principal do envelhecimento, portanto ele foi o escolhido para a realização do estudo em questão. Inicialmente o 7,8-DHF (0-20 μ M) foi avaliado quanto sua atividade antiproliferativa frente a linhagem Hs68 (fibroblastos) por meio do ensaio MTT. Os resultados do ensaio mostraram que até a concentração de 10 μ M, o 7,8-DHF não inibiu a proliferação dos fibroblastos, entretanto em 20 μ M a viabilidade celular diminuiu 19 % em comparação com as células controle não tratadas (100%), desse modo, para estudar os efeitos antienvhecimento desse flavonoide nas células da pele, foram utilizadas doses não citotóxicas de 7,8-DHF (0,01 a 10 μ M). Para acompanhar as alterações no nível de espécies reativas de oxigênio (EROs) intracelular foi utilizado o método de corante DCF-DA (2,7-diclorofluoresceína diacetato). Os fibroblastos dérmicos humanos (Hs68) foram pré-tratados com diferentes concentrações de 7,8-DHF por 1 h e tratados com 20 ng/mL de TNF- α por 18 h. Após esse período de tempo o meio foi retirado e as células foram tratadas com 10 μ M DCF-DA no escuro por 45 minutos e, após lavadas duas vezes com PBS, os fibroblastos corados com DCF-DA foram monitorados e visualizados em microscópio de fluorescência (Axio Imager D2, Carl Zeiss, Alemanha, x100). Os resultados desse teste demonstraram que enquanto a produção de ERO aumentou notavelmente com o tratamento com TNF- α nas células Hs68, o nível de ERO intracelular diminuiu após o tratamento com 7,8-DHF (0,1, 1, 5 e 10 μ M) em 6, 9, 11 e 13%, respectivamente, quando comparado com as células controle tratadas com TNF- α (100%). No monitoramento das alterações nos níveis intracelulares de ERO, verificou-se que as células controle estimuladas por TNF- α foram imensamente coradas com DCF-DA, mostrando que o TNF- α induziu o acúmulo de quantidades significativas de EROs nos

fibroblastos. Porém, a quantidade de células positivas para DCF-DA foram notavelmente reduzidas, de maneira dependente da dose, depois do tratamento com 7,8-DHF (1, 5 e 10 μM), indicando que o 7,8-DHF é capaz de inibir a produção de ERO induzida por TNF- α durante o envelhecimento cutâneo.

Para comprovar os efeitos do 7,8-DHF na expressão de enzimas antioxidantes intracelulares, os níveis da Mn-superóxido dismutase (Mn-SOD), heme oxigenase-1 (HO-1) e catalase foram analisados por *Western blot*. Demonstrou-se que os níveis de Mn-SOD, catalase e HO-1 foram ligeiramente elevados pelo tratamento com TNF- α em comparação com as células normais, entretanto as células não foram salvas do estresse oxidativo, provavelmente por que níveis aumentados de enzimas antioxidantes induzidas pelo tratamento com TNF- α não foram suficientes para lidar com o acúmulo de ERO promovido pelo TNF- α . Esses níveis aumentados de enzimas antioxidantes foram ainda maiores após o tratamento com 7,8-DHF (0,1, 1, 5 e 10 μM), assim conseguindo resgatar os fibroblastos dérmicos do estresse oxidativo. Choi et al.(2017) pesquisou também a atividade de eliminação de radicais livres do 7,8-DHF através do ensaio de eliminação de radicais DPPH modificado. Várias concentrações (0-300 μM) de 7,8-DHF (0,2 mL) foram misturadas com 1,8 mL de solução radical DPPH (0,1mM) e a queda da absorvância a 518 nm foi monitorada. O 7,8-DHF também apresentou atividade de eliminação de DPPH, as atividades foram de 2, 6, 15, 32,5 e 66% a 18,75, 37,5, 75, 150 e 300 μM de 7,8-DHF, respectivamente. Esses resultados indicam que o 7,8-DHF inibe o acúmulo de ERO intracelular durante o envelhecimento cutâneo, não só aumentando a expressão de Mn-SOD, catalase e HO-1, mas também diminuindo diretamente com a ERO. Para examinar os mecanismos moleculares do 7,8-DHF, os seus efeitos na ativação das proteínas da via Akt e MAPKs, como JNK, ERK e p38, foram analisadas por *Western blot*. As quantidades de proteína fosfo-Akt (p-Akt), fosfo-ERK (p-ERK), fosfo-p38 (p-p38) e fosfo-JNK (p-JNK) elevaram substancialmente após o tratamento com 20 ng/mL de TNF- α , mostrando que essas MAPKs e Akt foram ativadas pelo TNF- α durante o envelhecimento da pele. Entretanto, o 7,8-DHF (0,1, 1, 5 e 10 μM) retrocedeu significativamente esses aumentos. Estes resultados indicaram que o 7,8-DHF promove um efeito protetor contra o estresse oxidativo e contra o envelhecimento devido à regulação negativa das vias de sinalização de MAPKs e Akt nos fibroblastos dérmicos humanos.

No trabalho publicado por Kim et al. (2019) foi investigado o potencial antioxidante das frações de hexano, diclorometano, acetato de etila e água obtidas a

partir do extrato etanólico da parte aérea de *Artemisia iwayomogi*. Os ensaios DPPH e ABTS foram realizados no extrato e nas suas quatro frações para determinar a atividade antioxidante deles. Assim, como citado em trabalhos apresentados anteriormente, as frações mais polares apresentaram resultados mais promissores no que diz respeito à atividade antioxidante e possível aplicação antienvhecimento. As frações de acetato de etila e de água apresentaram atividades antioxidantes notáveis, então a partir dessas frações obtiveram cinco compostos: escopolina, 2,4-di-hidroxi-6-metoxi-acetofenona-4-O- β -D-glucopiranosídeo, escopoletina, caempferol-3-O-metil-éter e luteolina. A capacidade antioxidante dos compostos isolados foi avaliada a partir do teste DPPH, e o ácido ascórbico foi usado como controle positivo. O resultado evidenciou que a luteolina apresentou uma atividade antioxidante potente, dependente da dose, e maior que a apresentada pelo ácido ascórbico. O teste de atividade de eliminação de superóxido também foi realizado nos compostos isolados para avaliar a atividade antioxidante dos mesmos. A atividade de eliminação de superóxido foi definida espectrofotometricamente pela medição contínua da formação de ácido úrico com NBT (cloreto de tetrazólio azul) como substrato. Nesse ensaio, a luteolina e o caempferol-3-O-metil-éter exibiram uma potente atividade antioxidante, inclusive, maior que o controle positivo.

Muitos autores associam a atividade antioxidante à capacidade antienvhecimento, portanto a ação antioxidante dos extratos foi avaliada, mas não necessariamente por meio de metodologias que empregassem a pele como modelo de tecido. Contudo a atividade desses extratos frente a outros mecanismos, também considerados antienvhecimento, foram avaliados na pele e serão abordados em outro tópico do presente trabalho.

1.2 Atividade antioxidante, avaliada *in vivo*, de extratos vegetais e compostos isolados e seu uso como anti-idade:

Avaliações *in vivo* já foram conduzidas e indícios de atividade antioxidante de extratos vegetais associada a ação antienvhecimento já foram encontradas. Zhi et al. (2019) avaliaram os efeitos protetores do extrato rico em antocianina da batata-doce roxa (PSP-AE) no estresse oxidativo causado pela exposição à radiação ultravioleta B (UVB) no fotoenvhecimento. Neste estudo 36 camundongos BALB/c-nu fêmeas foram divididos em 6 grupos aleatoriamente. O grupo controle normal (NC) recebeu administração oral de solução salina 0,9% (m/v); o grupo controle modelo (MC) foi

irradiado com UVB, para promover o envelhecimento da pele, e também foi realizada a administração oral de solução salina 0,9% (m/v); o grupo controle positivo (PC) foi irradiado com UVB e administrado 50 mg/Kg de peso corporal de Vitamina E; o grupo dose baixa de PSP-AE (A-L) recebeu irradiação com UVB e 12,5 mg/Kg de peso corporal de PSP-AE; o grupo dose média de PSP-AE (A-M) foi irradiado com UVB e administrado com 25 mg/Kg de peso corporal de PSP-AE; e o grupo dose alta de PSP-AE (A-H) foi exposto a radiação UVB e administrado com 100 mg/Kg de peso corporal de PSP-AE. A dose de irradiação de UVB na primeira semana foi de 100 mJ/cm² durante 10 minutos por 7 dias. Na segunda semana a dosagem foi de 200 mJ/cm² por 20 minutos, 3 vezes na semana. Enquanto na terceira semana, a exposição ao UVB foi na dose de 300 mJ/cm² por 30 minutos em 3 dias da semana. A dose de irradiação de UVB da quarta à oitava semana foi de 400 mJ/cm² durante 40 minutos, 3 vezes por semana. Ao final do tratamento os camundongos foram mortos e, em seguida, a pele foi coletada para ser analisada.

Após 8 semanas de exposição à irradiação com UVB e tratamento diário com as substâncias listadas anteriormente, a pele do grupo MC se mostrou seca, com eritema, rugas grossas, flacidez e danos leves na superfície, enquanto a aparência macroscópica da pele do grupo NC foi suave, sem rugas, elástica e sem flacidez. Porém no grupo PC e nos grupos tratados com PSP-AE, as alterações macroscópicas da pele causadas pelo UVB foram melhoradas, ou seja, a administração de PSP-AE pode reduzir as rugas da pele, diminuir o eritema e até amenizar os danos. Além disso, o conteúdo de água da pele no grupo PC e PSP-AE (A-H) aumentou significativamente quando comparado ao grupo MC, sugerindo que o PSP-AE além de inibir o dano macroscópico causado pelo UVB também poderia melhorar o grau de hidratação da pele. O teor de água na pele nos grupos PSP-AE (A-L) e PSP-AE (A-M) também foi maior em comparação com o grupo MC, entretanto essa diferença não foi significativa (Zhi et al., 2019). Os autores não relacionaram os resultados apresentados pelo extrato rico em antocianinas da batata-doce roxa com o controle positivo (vitamina E).

Para estudar o efeito do PSP-AE nas alterações histoquímicas da pele após exposição à UVB, as amostras de tecido da pele foram coradas com hematoxilina e eosina. O grupo NC apresentou epiderme fina e junção dermo-epidérmica de onda. Após a irradiação com UVB houve o espessamento da camada epidérmica, danos na junção dermo-epidérmica e até infiltrados inflamatórios, confirmando que UVB promoveu o fotoenvelhecimento na pele dos camundongos. O pré-tratamento com

PSP-AE melhorou as alterações estruturais cutâneas induzidas pela UVB, de modo que o grupo A-H apresentou as mesmas alterações histológicas da pele que o grupo PC.

Sabendo da importância do colágeno para a manutenção da estrutura da pele, as amostras de tecido da pele foram submetidas à coloração tricômica de masson para analisar as alterações do colágeno na camada dérmica. No grupo NC as fibras mostraram-se estreitamente entrelaçadas e uniformemente distribuídas, enquanto no grupo MC elas se apresentavam soltas, irregulares e dispostas erraticamente. Contudo, a morfologia das fibras de colágeno foi menos prejudicada nos grupos tratados com PSP-AE em comparação com o grupo MC (Zhi et al., 2019).

A radiação UVB causa o fotoenvelhecimento da pele através de diversos mecanismos, entretanto a geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e, conseqüentemente, a promoção do estresse oxidativo são os mais importantes. No estudo de Zhi et al. (2019) o nível de ERO no grupo MC aumentou significativamente mais de duas vezes em comparação com o grupo NC. Porém, os grupos A-M e A-H mostraram efeito inibitório significativo da geração de ERO em 21,05% e 35,22%, indicando que o extrato pode limitar a geração de EROs e, assim, proteger a pele contra o estresse oxidativo. A atividade das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GSH-Px também foi analisada e verificou-se que no grupo MC houve uma redução significativa de 31,05%, 50,47% e 11,51%, respectivamente, em comparação com o grupo NC, entretanto nos grupos PSP-AE (A-M) e PSP-AE (A-H) as atividades das três enzimas foram progressivamente recuperadas. No grupo PSP-AE (A-L) os autores não verificaram diferenças significativas.

Outro parâmetro avaliado foi o nível de MDA, que é um subproduto da peroxidação lipídica, considerado um dos principais indicadores de dano oxidativo. No grupo MC notou-se um aumento significativo de 31,02% no nível de MDA quando comparado ao grupo NC, e nos três grupos de tratamento com PSP-AE os níveis de MDA foram significativamente suprimidos em 53,70%, 63,85% e 68,29%, respectivamente. Os resultados obtidos mostraram que o PSP-AE diminuiu de modo efetivo o estresse oxidativo na pele através da melhora das atividades das enzimas antioxidantes e da, conseqüente, diminuição da peroxidação lipídica (Zhi et al., 2019).

Além das avaliações *in vitro*, estudos que determinaram a capacidade antioxidante de substâncias isoladas de extratos vegetais em modelos *in vivo* também já foram publicados. Sabe-se que as plantas são fontes de diversos compostos com

atividades biológicas interessantes, entre eles estão os polifenóis. O galato de epilocatequina 3 (EGCG) é o principal polifenol presente no chá verde (*Camellia sinensis*) e o responsável por vários dos seus efeitos, entre eles o efeito antienvelhecimento (OSADA et al. 2001).

No estudo realizado por Chen et al., 2017 foram utilizados camundongos Kunming, machos, de seis semanas de idade, que foram separados aleatoriamente em 5 grupos de 9 animais. O grupo normal foi injetado, por via subcutânea, 0,2 mL de solução salina, enquanto os demais grupos foram injetados com o mesmo volume de d-galactose (200 mg/kg), uma vez ao dia, durante 8 semanas. A d-galactose é frequentemente utilizada em pesquisas antienvelhecimento, pois ela, através da indução do estresse oxidativo, consegue acelerar o processo de envelhecimento. Após 5h da injeção de d-galactose, 3 grupos foram tratados com injeção de 0,2 mL de 10 e 20 mg/kg de EGCG e 40 mg/kg de vitamina C (como controle positivo), uma vez ao dia, durante 6 semanas, a partir da terceira semana. Ao término do período de tratamento a pele dos camundongos foi retirada, após a morte deles, e utilizada para análises bioquímicas e histológicas, a fim de avaliar a atividade antienvelhecimento do EGCG. Os exames histológicos mostraram que houve diminuição da espessura dérmica e epidérmica, e do conteúdo de colágeno do grupo controle (injetado apenas com d-galactose), em comparação com o grupo normal. Além disso, o conteúdo de fibras de colágeno na porção reticular apresentou-se mais frouxo e irregular no grupo controle em relação aos demais grupos. O estresse oxidativo gerado pelo envelhecimento causado pela d-galactose aumentou também a produção de H_2O_2 no grupo controle comparado ao grupo normal, portanto foi avaliada a atividade das enzimas antioxidantes Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT), Glutathione Redutase (GSH) e Glutathione Peroxidase (GSH-PX), que possuem alta capacidade de eliminação de espécies reativas de oxigênio. Os resultados encontrados mostram que as peles tratadas com EGCG e vitamina C apresentaram espessuras epidérmicas e dérmicas significativamente superiores ao do controle, indicando que o galato de epilocatequina tem capacidade de proteger a estrutura da pele do envelhecimento. Além disso, verificou-se que a quantidade de fibras de colágeno presente no grupo tratado com doses mais altas de EGCG foi maior que a quantidade do grupo normal, de forma significativa. Também se observou que o arranjo das fibras de colágeno das peles tratadas com EGCG e vitamina C eram mais compactos e regulares, ou seja, o EGCG foi capaz de inibir a degradação do colágeno causado no processo de envelhecimento. O EGCG conseguiu diminuir significativamente a produção de H_2O_2 na pele a um nível quase igual ao do grupo normal e também melhorou os níveis das

enzimas antioxidantes SOD, CAT, GSH e GSH-PX, de forma mais acentuada que a vitamina C, portanto os autores afirmam que o EGCG é um ótimo antioxidante para proteção antienvhecimento cutâneo (Chen et al., 2017).

A atividade antioxidante é observada em extratos vegetais de famílias botânicas distintas (Tabela 1), porém pode-se detectar que os principais compostos avaliados e responsáveis por essa atividade são os compostos fenólicos, o que explica a razão pela qual os extratos hidrofílicos tendem a apresentar resultados mais efetivos nos ensaios, pois são esses extratos que apresentam maior rendimento de extração no que diz respeito aos compostos fenólicos.

Além da ação antioxidante, outros mecanismos antienvhecimento promissores também já foram estudados a partir dos extratos vegetais e serão apresentados a seguir.

Tabela 1. Lista de trabalhos que empregam extratos vegetais e compostos isolados com atividade antioxidante e potencialidade de uso no tratamento do envelhecimento cutâneo.

Autor	Substância Avaliada	Objetivo do Estudo	Principal Resultado
Limtrakul et al. 2016	Extrato de flor de <i>Cassia fistula</i>	Avaliar os efeitos anti-envelhecimento do extrato através de diversos mecanismos diferentes	O extrato exibiu potente ação antioxidante, comparável à Vit. E.
Kanlayavattanakul et al. 2016	Extrato da panícula do arroz de jasmim	Avaliar a atividade anti-envelhecimento do extrato através de ensaios <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	O extrato protegeu os fibroblastos humanos do estresse oxidativo e o uso do creme contendo o extrato clareou a pele, aumentou a firmeza e maciez e reduziu o enrugamento cutâneo.
Kim e Park 2017	Extrato de calo de <i>Pyrus pyrifolia</i> var. Culta	Investigar as atividades anti-envelhecimento do extrato	Na concentração de 10 mg/mL, o extrato mostrou atividade sequestradora de radicais livres de 78,7 %.
Wang et al. 2019	Extrato de folhas de <i>Ginkgo biloba</i>	Verificar os efeitos inibitórios do extrato e seus constituintes químicos nas espécies reativas de oxigênio	O extrato apresentou notável atividade antioxidante associada à eliminação de espécies reativas de oxigênio.
Zhi et al. 2019	Extratos de antocianina de batata doce de polpa roxa	Avaliar os efeitos da substância avaliada no fotoenvelhecimento induzido por UVB em camundongos BALB / c-nu	O extrato inibiu o estresse oxidativo induzido pela radiação UVB e aumentou as atividades das enzimas antioxidantes.
Zhong et al. 2019	Extrato de Erjingwan (<i>Lycium barbarum</i> + <i>Polygonatum sibiricum</i>)	Avaliar o potencial anti-envelhecimento do extrato <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> por medidas não invasivas	No estudo <i>in vivo</i> , aplicando creme contendo o extrato, o brilho e a elasticidade da pele foram significativamente melhorados. O ensaio antioxidante, o extrato vegetal exibiu notável inibição dos radicais DPPH.
Cho et al. 2020	Extrato de cultura da de calos de <i>Leontopodium alpinu</i>	Avaliar a eficácia anti-envelhecimento do extrato através de ensaios <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	O extrato apresentou potente atividade antioxidante através da eliminação de radicais DPPH. O estudo <i>in vivo</i> revelou que o extrato melhorou as rugas anti-periorbitais, a elasticidade da pele, a densidade dérmica e a espessura da pele.

Chen et al. 2017	Galato de epigallocatequina (composto isolado do <i>Camellia sinensis</i>)	Investigar os efeitos anti-envelhecimento da substância em um modelo de camundongo com envelhecimento induzido por d-galactose	O composto melhorou toda a estrutura da pele, inibiu a produção de H ₂ O ₂ na pele e aumentou os níveis de enzimas antioxidantes.
Choi et al. 2018	7,8-dihydroxiflavona	Avaliar o potencial anti-envelhecimento da substância usando fibroblastos dérmicos humanos Hs68 envelhecidos por TNF- α	A substância reduziu significativamente a geração de espécies reativas de oxigênio e induziu a expressão de enzimas antioxidantes.
Chaiyana et al. 2018	Extratos de n-hexano, acetato de etila e etanol de <i>Ocimum sanctum</i> Linn.	Avaliar a atividade anti-envelhecimento da pele de diferentes extratos de <i>O. sanctum</i>	O extrato etanólico apresentou as maiores atividades antioxidantes nos três ensaios realizados (DPPH, FRAP e ABTS), indicando que o mesmo inibe a oxidação por diferentes mecanismos.
Li ; Bai et al. 2019	Extratos de rizoma de <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb. e seus compostos isolados	Avaliar o potencial anti-envelhecimento através de diferentes modos de ação	Apenas os compostos 1-feroilliloxicinâmico (3), (1E, 4E, 6E) -1,7-bis (4-hidroxifenil) -1,4,6-heptatrien-3-ona (4) e bisdemetoxicurcumina (5) apresentaram atividade antioxidante.
Ma et al. 2019	Compostos isolados de extrato de caule de <i>Dendrobium loddigesii</i> Rolfe.	Avaliar a eficácia anti-envelhecimento dos compostos frente a ensaios antioxidantes	A maioria dos compostos fenólicos presentes no extrato de <i>D. loddigesii</i> possuem atividade antioxidante (treo-7-O-etil-9-O- (4-hidroxifenil) propionil-guaiacilglicerol (1), crepidatina (4), moscatilina (5), 4,5,4'-tri-hidroxi-3,3'-dimetoxibenzil (6), 4', 5-di-hidroxi-3,3' - dimetoxibenzil (7), tristina (8), di-hidroconiferil di-hidro- p-coumarato (13), p-hidroxifenetil transferula (14)).
Kim et al. 2019	Frações do extrato etanólico de <i>Artemisia iwayomogi</i> (hexano, diclorometano, acetato de etila e água) e compostos isolados	Avaliar a atividade cosmecêutica da <i>Artemisia iwayomogi</i> através de ensaios <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	As frações de acetato de etila e água exibiram significativa atividade antioxidante, sendo que dos compostos isolados dessas frações, apenas o kaempferol-3- Éter O-metílico e a luteolina apresentaram potente efeito antioxidante. O creme contendo a fração aquosa do extrato mostrou melhora das rugosidades presentes na pele.

2. Avaliação de extratos vegetais com possível aplicação no tratamento antienvhecimento associada a outros mecanismos de ação que não a atividade antioxidante

2.1 Atividade dos produtos de origem vegetal na inibição de enzimas importantes no processo de envelhecimento cutâneo *in vitro*

A hiperpigmentação da pele ocorre devido algumas alterações no mecanismo enzimático que regula a pigmentação, como a ação da tirosinase, podendo ser causada por vários fatores, entre eles o envelhecimento. A melanina é importante pois serve como proteção contra lesões cutâneas causadas pela exposição à radiação ultravioleta, mas sua superprodução pode levar à formação de lentigem ou manchas escuras de senescência (NICOLETTI et al., 2002), portanto, inibidores da tirosinase podem ser considerados potenciais agentes antienvhecimento.

Além da hiperpigmentação, o envelhecimento da pele também ocasiona aumento da degradação de colágeno, elastina e ácido hialurônico, devido a maior expressão das enzimas collagenase (MMP-1), elastase e hialuronidase (GIARDINA et al., 2010; THRING et al., 2009). As metaloproteinases de matriz (MMPs) constituem uma família de enzimas com atividade proteolítica relacionada geneticamente, porém se diferenciam estruturalmente e na sua habilidade em degradar um grupo particular de proteínas da matriz extracelular (MEC), sendo que, juntas, podem degradar todos os seus componentes proteicos (RIBEIRO et al., 2008).

Diversos estudos relataram uma correlação entre a utilização de compostos fenólicos e redução do envelhecimento cutâneo, pela inibição das enzimas tirosinase, collagenase, elastase e hialuronidase. Desse modo, a busca por substâncias naturais que atuem na pigmentação e no envelhecimento da pele está cada vez mais em destaque, devido à possível aplicação dermatológica dessas substâncias e a possibilidade de utilizá-las como agentes terapêuticos e/ou cosméticos (SUMANTRAN et al., 2007; THRING et al., 2009; JACKSON et al., 2010; OLIVEIRA, 2010).

O trabalho publicado por Im et al. (2019) visava verificar o potencial anti-rugas da timosaponina A-III, composto presente na *Anemarrhena asphodeloides* Bunge, para isso foram realizados testes em células HaCaT e um ensaio clínico. Primeiramente, uma linha celular de queratinócitos humanos não tumorigênicos imortalizados (HaCaT) foram expostos a 20 mJ/ cm² de UVB na presença ou ausência de TA-III (timosaponina A-III) por 24h. Imediatamente depois da exposição ao UVB, a

viabilidade celular foi avaliada através do teste de MTS. A radiação UVB diminuiu a viabilidade das células para 49,6% em relação ao controle, porém as células que foram incubadas com 0,1 $\mu\text{mol/L}$ de TA-III anteriormente à irradiação, tiveram a sua viabilidade mantida em 100% em comparação com o controle. Após a irradiação com UVB, também se verificou os níveis de metaloproteinase-1(MMP-1) no meio de cultura das células HaCaT através de kits ELISA totais humanos para MMP-1. Os resultados mostraram que os níveis de MMP-1 se elevaram após a irradiação por UVB, entretanto a TA-III indicou forte atividade de inibição desta enzima. Além disso, o TA-III foi isolado como o principal composto presente na *A. asphodeloides*. Os autores também avaliaram a influência da TA-III nos níveis de mRNA de inibidor tecidual de metaloproteinase-1 (TIMP) e citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-8 e TNF- α), por RT-PCR depois da exposição à radiação UVB nas células HaCaT. O nível de TIMP foi reduzido depois da irradiação UVB quando comparado ao grupo controle, no entanto, o TA-III aumentou os níveis de mRNA do TIMP. Os níveis de IL-1 β , IL-8 e TNF- α foram elevados após a irradiação de UVB, porém o TA-III se mostrou capaz de reduzi-los novamente.

A metaloproteinase de matriz- 1 (MMP-1), também conhecida como colagenase, é a enzima responsável pela degradação do colágeno da pele, portanto a mesma é fortemente associada ao envelhecimento cutâneo.

A expressão de MMP-1 também foi avaliada, *in vitro*, após efeito exposição ao extrato EJW. No estudo de Zhong et al. (2019), citado anteriormente, foi avaliado os efeitos dos extratos de EJW (Erjingwan) na expressão das metaloproteinases de matriz 1 (MMP-1) e no colágeno tipo 1 (COL1A2) *in vitro*. Para esse ensaio, as células dos fibroblastos do prepúcio humano (HFFs) foram tratados com 0,015% (v/v) de H₂O₂ por 15 minutos. Como resultado, a viabilidade celular foi estatisticamente reduzida de modo dependente do tempo. Após, foi observado que a expressão de MMP-1 foi elevada, enquanto a expressão de COL1A2 foi diminuída. Em seguida, as células HFFs foram incubadas com extratos de EJW nas concentrações de 100 $\mu\text{g/mL}$ ou 200 $\mu\text{g/mL}$ por 24 e 48 horas depois da exposição ao H₂O₂. A viabilidade das células tratadas com EJW aumentaram notavelmente depois de 48 h. Além disso, após 48h de exposição aos extratos de EJW, a expressão aumentada de MMP-1 e diminuída de COL1A2 foram revertidas nas células HFFs.

Levando em consideração a importância da expressão de MMP-1 no envelhecimento cutâneo, inúmeros trabalhos avaliaram o impacto do tratamento com

produtos de origem vegetal frente a esta expressão. O trabalho de Wang e co-pesquisadores (2019), citado anteriormente, também verificou os efeitos do extrato etanólico de *Ginkgo biloba* na redução de MMP-1 nos fibroblastos dérmicos humanos (HDFs). Os níveis de MMP-1 foram determinados em HDFs através de kits ELISA disponíveis comercialmente. O extrato de *Ginkgo biloba* inibiu a MMP-1 significativamente na concentração de 0,2 mg/mL (nível de MMP-1 $0,22 \pm 0,03$ ng/mL) e de 0,1 mg/mL (nível de MMP-1 $1,115 \pm 0,25$ ng/mL) quando comparado ao grupo controle (nível de MMP-1 $8,98 \pm 0,06$ ng/mL). Nos HDFs, todos os constituintes químicos testados do extrato, exceto a quercetina-3-O- β -glicosídeo, inibiram notavelmente a MMP-1 na concentração de 0,2 mg/mL ($p < 0,01$). Enquanto o Kaempferol 3-O- β -Dglucopiranosídeo, isorhamnetina-3-O-glicosídeo, miricetina e bilobalíde foram efetivos na redução dos níveis de MMP-1 na concentração de 0,1 mg/mL ($p < 0,01$). Além disso, a Ginkgolida A também foi capaz de inibir a expressão de MMP-1 na concentração de 0,1 mg/mL ($p < 0,05$).

Yu et al. (2018) investigaram o potencial antienvhecimento de dois componentes presentes no extrato de *Thamnoia vermicularis* (Sw.) Ach.(TV), a vermicularina (Verm) e o β -sitosterol (Sito) tiveram suas atividades biológicas anti-rugas avaliadas em fibroblastos da pele humana. Para verificar a citotoxicidade de TV, Sito e Verm, foi realizado um ensaio MTT nas células de fibroblastos dérmicos humanos adultos (HDFs) e nas células epidérmicas humanas permanentes (HaCaT) após o tratamento das mesmas com diferentes concentrações (12,5-100 μ M) de TV, Sito e Verm. Os resultados observados indicaram que até a concentração de 25 μ M de TV, Sito e Verm, os HDFs não apresentaram alteração significativa na sua viabilidade. Já HaCaT não teve a sua viabilidade modificada até a concentração de 50 μ M de TV, Sito e Verm, portanto nas experiências posteriores, apenas as concentrações não citotóxicas foram utilizadas.

As células HDF após serem tratadas com os compostos testados (TV, Sito e Verm) por 24h, foram expostas ou não a 200 μ M de H_2O_2 por 24h. Em seguida, os níveis de colágeno tipo 1 (COL-I) e metaloproteinase de matriz 1 (MMP-1) foram determinados através de ensaios ELISA disponíveis comercialmente. A avaliação do conteúdo de COL-I e MMP-1 mostrou que o nível de COL-I reduziu 23%, enquanto os níveis de MMP-1 e espécies reativas de oxigênio aumentaram 36% e 55%, respectivamente, nos HDF expostos ao H_2O_2 . A Verm melhorou significativamente, de maneira dependente da dose, a quantidade de COL-I e reduziu consideravelmente, dependentemente da dose, o conteúdo de MMP-1 e espécies reativas de oxigênio,

enquanto Sito não alterou nenhum dos fatores. Para entender o mecanismo antienvhecimento apresentado por Verm, o seu efeito na ativação da sinalização MAPK (ERK, JNK e p38 MAPK) foi avaliado através de *Western blot*. Em HDF induzidos por H₂O₂, houve um aumento da fosforilação de ERK, JNK e p38 MAPK. Verm reduziu, de maneira dependente da dose, a fosforilação de ERK e JNK, enquanto a fosforilação de p-38 só foi suprimida em concentrações de Verm a partir de 20 µM (Yu et al. ,2018).

O trabalho de Chaiyana et al. (2018), avaliou também as propriedades dos 3 extratos de *Ocimum sanctum* Linn. (etanólico, acetato de etila e n-hexano), na atividade de algumas enzimas relacionadas ao envelhecimento cutâneo. Primeiro foi avaliada a atividade anti-colagenase (MMP-1) dos extratos através de métodos espectrofotométricos. Os resultados indicaram que o extrato etanólico de *O. sanctum* era que apresentava a maior inibição de MMP-1 em todas as concentrações testadas. Além disso, os resultados exibidos pelo extrato etanólico foram semelhantes aos do ácido rosmarínico em baixa concentração (80 µg/mL).A inibição de outras metaloproteinases de matriz (MMP-2 e MMP-9) pelos extratos de *O. sanctum* também foi investigada pelos autores. Nesse ensaio foram utilizadas células 3T3 de fibroblastos de embrião de camundongo Albino Swiss e a expressão de MMP-2 e MMP-9 foram verificadas pela eletroforese em gel de dodecilsulfato de sódio - poliacrilamida (SDS - PAGE). Se na inibição da MMP-1 o extrato etanólico foi o mais efetivo, na inibição de MMP-2 e MMP-9 o mesmo se mostrou pouco eficaz em comparação com os outros 2 extratos de *O. sanctum*. O extrato de acetato de etila foi o que exibiu maior inibição contra MMP-2 e MMP-9.A atividade anti-elastase dos extratos de *O. sanctum* também foi avaliada, nesse teste foram utilizados métodos espectrofotométricos. Os extratos que mostraram maiores e comparáveis inibições da atividade da elastase foram o extrato de n-hexano, com um IC₅₀ de 82,7 ± 30,9 µg/mL e o extrato de acetato de etila com IC₅₀ de 77,9 ± 16,6 µg/mL, enquanto o extrato etanólico foi pouco efetivo na inibição da enzima apresentando um IC₅₀ de 270,3 ± 35,2 µg/mL. O extrato de n-hexano e o extrato etanólico, na concentração de 60 µg/mL, mostraram atividade anti-elastase semelhante à do ácido rosmarínico, entretanto o extrato de acetato de etila apresentou uma inibição estatisticamente superior, indicando que esse extrato é o mais adequado para a atividade inibitória da elastase, pois é capaz de inibir a enzima mesmo em baixas concentrações. Por fim, Chaiyana e co-pesquisadores (2018), investigaram os efeitos dos extratos de *O. sanctum* no nível de expressão da hialuronidase através da eletroforese em gel de

dodecilsulfato de sódio-poliacrilamida (SDS - PAGE). Os resultados revelaram que todos os três extratos possuíam atividade anti-hialuronidase comparáveis entre si ($p > 0.05$), os autores sugeriram que esse resultado se deu devido à alta concentração dos extratos avaliados (1 mg/mL), o que acarretou a inibição máxima do platô. Além disso, foi observado que os compostos puros (eugenol, ácido ursólico, linalol e ácido rosmarínico) na concentração de 1 mg/mL apresentaram atividade anti-hialuronidase menor, sugerindo que haja um efeito sinérgico entre os compostos presentes nos extratos de *O. sanctum*.

Jeon et al. (2016) pesquisaram o potencial antienvhecimento do extrato de duas plantas, a *Kochia scoparia* (Ks) e a *Rosa multiflora* (Rm). Essas duas plantas foram selecionadas para o ensaio pois, através de testes *in vitro*, foi confirmado que ambas possuíam efeito agonista duplo para PPAR (receptor ativado por proliferador de peroxissomo) α e γ . Todos os isotipos de PPARs, foram descritos como capazes de diminuir a inflamação, acelerar a diferenciação epidérmica, reduzir a proliferação epidérmica e melhorar a função barreira da pele (Man et al., 2006). No trabalho de Jeon (2016), foi utilizado a mistura dos extratos metanólicos das duas plantas, porque os autores esperavam observar um efeito sinérgico entre elas. Adicionalmente, para verificar os efeitos de Ks e Rm na secreção de MMP-1 induzida por UVB, foi realizado um teste ELISA para quantificar os níveis de enzima em culturas de células tratadas com as frações metanólicas de Ks ou Rm 1h antes de serem expostas à radiação UVB e por 48h depois da irradiação. Os resultados indicaram que tanto Ks quanto Rm reduziram significativamente a secreção de MMP-1 em fibroblastos humanos normais (NHF) irradiados por 20 mJ/cm² UVB, sugerindo que as frações estudadas são capazes de bloquear a produção de proteínas MMP-1.

A expressão de MMP-2 também já foi avaliada após tratamento com extrato vegetal. O extrato de cultura de calos de *Leontopodium Alpinum* (LACCE), estudado por Cho et al. (2020), anteriormente mencionado, também foi avaliado quanto ao seu potencial na redução de rugas através da quantificação do gene que codifica a metaloproteinase de matriz-2 (MMP-2) por RT-PCR em tempo real. As células de fibroblastos humanos, Detroit 551, após exposição à 5 mJ/cm² de UVB, foram tratadas por 24h com LACCE a 0,1, 0,5 e 1% (m/v), e tiveram sua expressão de MMP-2 significativamente elevadas em comparação com o controle negativo, que não foi exposto ao UVB. O LACCE diminuiu consideravelmente a expressão de MMP-2 depois da irradiação com UVB. A expressão de MMP-2 foi reduzida conforme o aumento da concentração de LACCE. A expressão de MMP-2 na presença de LACCE

a 0,5% (m/v) após exposição ao UVB é semelhante à de condições normais sem irradiação com UVB. Esses resultados indicam que, além dos efeitos já citados, que o LACCE também possui a capacidade de diminuir a atividade da enzima MMP-2.

O trabalho de Kanlayavattanakul et al. (2016), mencionado anteriormente, também investigou os efeitos do extrato da panícula de arroz de jasmim (variedade Khao Dawk Mali 105, ML) na melanogênese e nas atividades da tirosinase, elastase e colagenase, *in vitro*. Além disso, os autores associaram esses efeitos com a composição fenólica do extrato. Os resultados demonstraram que o extrato de ML foi capaz de inibir a tirosinase, elastase e colagenase, entretanto a atividade anti-tirosinase foi inferior à do controle (ácido kójico). Por outro lado, o efeito inibitório da elastase apresentado pelo extrato ML foi comparável ao efeito do controle positivo e a atividade anticolagenase do extrato ML (47% de inibição) foi superior à do chá verde (10% de inibição) quando avaliado na mesma concentração, resultado apresentado em artigo publicado anteriormente.

O ácido p-cumárico (pCA) é uma substância capaz de suprimir a melanogênese através da inibição da tirosinase (An et al., 2010). Os ácidos ferúlicos (FA) e cafeico (CA) também são compostos fenólicos derivados da mesma via de biossíntese do pCA, ou seja, inibem de maneira semelhante a melanogênese (Choi et al., 2007). Portanto, sabendo que pCA, FA e CA são os principais compostos presente no extrato de ML, a atividade do mesmo frente à melanogênese em células de melanoma foi verificada.

Para o ensaio de melanogênese foi mensurado o conteúdo de melanina. Diferentes concentrações de extrato de ML foram avaliadas e o ácido kójico e a teofilina foram utilizados como controles positivo e negativo, respectivamente. Também foi avaliada a atividade da tirosinase em células de melanoma B16F10 através da formação de cromo DOPA a 490 nm. A tirosinase de cogumelo padrão foi utilizada como controle positivo. Por fim, se investigou a atividade das proteínas-2 relacionadas à tirosinase (TRP-2) pela redução do cromo DOPA a 490 nm. A mistura dos reagentes com albumina de soro bovino no lugar do sobrenadante celular foi empregada como controle negativo. A atividade do TRP-2 foi relacionada com o controle e expressa como a razão relativa (%). A atividade anti-melanogênese do extrato de ML foi comparada com as atividades inibitórias do pCA e FA, contra o ácido kójico (KA), todos na concentração de 0,1 mg/ml. A teofilina (T) (controle negativo) induziu a melanogênese e o conteúdo de melanina aumentou em $156,97 \pm 10,38\%$. Já o KA (controle positivo), é um inibidor da

melanogênese e apresentou produção de melanina de $79,28 \pm 1,87\%$. O extrato de ML, pCA e FA diminuíram o conteúdo de melanina para $38,34 \pm 0,12$, $25,73 \pm 6,75$ e $47,66 \pm 7,08\%$, respectivamente, portanto foram mais eficientes que o controle positivo na redução dos níveis de melanina. A ação anti-melanogênese exibida pelo extrato de ML ($61,66 \pm 0,12\%$) foi equivalente ($p > 0,05$) à apresentada pelo pCA e FA ($74,27 \pm 6,75$ e $52,34 \pm 7,08\%$, respectivamente). Contudo, a inibição do KA foi significativamente inferior ($20,72 \pm 1,87\%$) ($p < 0,001$). Esses resultados mostram que o pCA é o principal responsável pela inibição da melanogênese observada no extrato de ML. Além disso, o ensaio anti-melanogênese em concentrações menores do extrato de ML ($0,0001$ – $0,1$ mg / ml), indicou que a inibição foi dependente da dose. A produção de melanina é regulada pela tirosinase e proteínas relacionadas TRP-1 e TRP-2. Então, inibir principalmente a tirosinase e o TRP-2 é uma estratégia importante para a prevenção da hiperpigmentação da pele, considerada uma característica clínica do envelhecimento cutâneo (Kammeyer e Luiten, 2015). No ensaio anti-tirosinase em células de melanoma B16F10, a Televou notavelmente a atividade enzimática ($109,52 \pm 1,72\%$), enquanto o KA, o extrato de ML, o pCA e o FA inibiram significativamente a atividade da tirosinase. O efeito anti-tirosinase do extrato de ML foi consideravelmente ($p < 0,001$) superior ao do pCA e FA isolados ($92,80 \pm 0,05$, $59,56 \pm 3,93$ e $20,45 \pm 4,11\%$, respectivamente) e se mostrou dependente da concentração. Por fim, a atividade anti-TRP-2 do extrato de ML foi investigada, e os resultados indicaram que o pCA foi o principal responsável pela inibição destas proteínas, de maneira dependente da dose (Kanlayavattanakul et al., 2016).

No trabalho de Kim e Park (2017) sobre a atividade biológica do extrato e da solução de calo de *Pyrus pyrifolia* var culta, já mencionado, também foi avaliada a capacidade de inibição da síntese de melanina. A determinação da atividade inibitória da biossíntese de melanina foi efetuada em células de melanoma B16F10 previamente tratadas com $0,05$ - $1,0$ mg/mL de arbutina (controle positivo), ou solução ou extrato de calo de *Pyrus pyrifolia* var culta. A solução de calos de *Pyrus pyrifolia* var culta apresentou inibição na produção de melanina estatisticamente superior à arbutina ou ao extrato de calos. Os melanócitos tratados com solução de calos a $0,1$ mg/mL, tiveram a produção de melanina reduzida em $51,40 \pm 5,57\%$ em relação ao controle não tratado. A arbutina e o extrato de calo apresentaram atividades inibitórias dependentes da dose e do conteúdo de melanina. O extrato de calo a 1 mg/mL, inibiu $44,60 \pm 3,65\%$ da síntese de melanina, inibição $1,4$ vezes superior à arbutina na mesma concentração.

Majeed juntamente com colaboradores (2020) pesquisaram o efeito antienvhecimento do pterostilbeno, um análogo natural dimetilado do resveratrol, localizado principalmente no cerne do *Pterocarpus marsupium* (Maurya et al., 2004). Apesar de possuir correspondências estruturais com o resveratrol, o pterostilbeno é uma substância antioxidante e anti-inflamatória mais potente que o resveratrol (Pinto e Moraes, 2015). É descrito que a presença de grupos metoxi no pterostilbeno aumenta a lipofilicidade e, consequentemente sua permeabilidade através de membranas, resultando em uma maior atividade da molécula (Yim et al., 2019). No trabalho de Majeed et al. (2020), os critérios antienvhecimento e o brilho da pele foram avaliados em voluntários, enquanto a inibição da melanogênese foi verificada *in vitro*. Os resultados obtidos indicaram que o pterostilbeno (90%) apresenta atividade inibidora da melanogênese, com IC50 de 0,55 µg/mL nas células de melanoma de camundongo B16F1, enquanto o ácido kojico (controle positivo) apresentou IC50 de 50 µg/mL.

2.1.1 Atividade dos extratos e compostos isolados de origem vegetal na inibição de enzimas importantes no processo de envelhecimento cutâneo, avaliados *in vivo*

No trabalho de Zhi et al. (2019), também foi investigada a atividade anti-MMP1 do extrato de antocianina da batata-doce roxa (PSP-AE). O nível de MMP-1 presente na pele de camundongos BALB/c-nu fêmeas foi medido por *Western blot*. O grupo MC (irradiado com UVB e administrado solução salina 0,9% (m/v)) apresentou conteúdo de MMP-1 3,11 vezes maior que o grupo NC (apenas recebeu administração de solução salina 0,9%(m/v)). Porém, no grupo A-H (exposição à radiação UVB e administração de 100 mg/Kg de peso corporal de PSP-AE) houve uma redução significativa ($p < 0,05$) de 45,79% no nível de MMP-1, quando comparado ao grupo MC. A expressão de MMPs pode ser regulada pelas vias de sinalização MAPK e NF-κB (Kim, Kim, Yun, & Hwang, 2017). Foi demonstrado em estudos anteriores que a ativação de MAPK e NF-κB estava relacionada tanto com o estímulo, quanto com a aceleração da expressão de MMP-1 (Kim et al., 2013; Sun et al., 2016). Então, os efeitos do PSP-AE na via de sinalização MAPK foi avaliado. A exposição ao UVB estimulou a fosforilação das proteínas JNK (p-JNK), ERK (p-ERK) e p38 MAPK (p-p38) em relação ao grupo NC. No entanto, a administração de PSP-AE reduziu notavelmente as expressões de p-JNK, p-ERK e p-p38, principalmente no grupo de maior concentração de extrato, em comparação com o grupo MC. Quanto ao NF-κB, o grupo MC apresentou um aumento em relação ao grupo NC. Porém os grupos tratados com PSP-AE tiveram a expressão de NF-κB significativamente diminuída em

26,28% (dose de 12,5 mg/Kg de peso corporal), 34,06% (dose de 25 mg/Kg) e 60,28% (dose de 100 mg/Kg).

Jeon et al. (2016) também pesquisaram o potencial antienvhecimento da mistura dos extratos das plantas, a *Kochia scoparia* (Ks) e a *Rosa multiflora* (Rm) *in vivo*. Para a realização do ensaio, 24 camundongos fêmeas sem pelos (SKH-1) com 18 semanas de idade, foram irradiados com 14 J/cm² de UVA e 40 mJ/cm² de UVB, 3 vezes por semana, durante 8 semanas. Os ratos foram separados aleatoriamente em 4 grupos. O primeiro grupo foi tratado com 50 µL de veículo (propilenoglicol / EtOH – 7:3, v/v) duas vezes ao dia e não foi exposto às radiações UVA e UVB, apenas à luz simulada, o segundo grupo foi tratado com 50 µL de veículo, o terceiro grupo foi tratado com 50 µL de tesaglitazar (agonista duplo PPAR α/γ , Tes) e o quarto grupo foi tratado com uma mistura de extratos a 1% (m/v) de Ks e Rm (KR). Os grupos 2, 3 e 4 receberam o tratamento duas vezes ao dia após exposição às radiações UVA e UVB.

Após o último tratamento as amostras de pele foram obtidas e coradas com hematoxilina e eosina (H&E). Para determinar os efeitos dérmicos do KR na pele fotoenvelhecida, a espessura dérmica foi avaliada visualmente e o número de fibroblastos dérmicos foi quantificado. A densidade dérmica do colágeno também foi analisada, através da coloração de Masson-tricrômico. A radiação UV reduziu a espessura dérmica, porém não significativamente, já o número de fibroblastos dérmicos diminuiu notavelmente após exposição à radiação UV. O KR se mostrou capaz de recuperar a espessura dérmica e o número de fibroblastos dérmicos, de forma significativa, na pele fotoenvelhecida, enquanto o Tes (controle positivo) não obteve esses efeitos. A fim de investigar a capacidade protetiva da derme pelo KR, a expressão do procolágeno tipo 1 e da metaloproteinase de matriz -13 (MMP-13) foram avaliadas por ELISA. A expressão de colágeno decaiu na pele fotoenvelhecida quando comparada à pele exposta à luz solar simulada. O KR elevou os níveis de proteínas e mRNA do procolágeno tipo 1 quando comparado com o resultado apresentado pela pele tratada com veículo, apesar desses aumentos não serem significativos. Contudo o KR, no fotoenvhecimento cutâneo, reduziu significativamente a expressão do mRNA da MMP-13. Ambos os resultados mostram que o KR restaura a atividade dos fibroblastos dérmicos enfraquecidos pela exposição à radiação UV de forma crônica. Para verificar o efeito de KR na proliferação epidérmica no fotoenvhecimento cutâneo, a espessura epidérmica foi medida através da coloração H&E e a proliferação epidérmica com a coloração de antígeno nuclear celular em proliferação (PCNA). As 8 semanas de exposição à radiação UV elevaram a espessura epidérmica

quando comparado com a luz solar simulada. O KR não foi capaz de reverter o aumento da espessura epidérmica após exposição à radiação UV, já o Tes diminuiu a espessura em comparação com o veículo, mas não foi uma redução significativa. A quantidade de queratinócitos corados com PCNA aumentou na pele fotoenvelhecida em comparação com a pele tratada com luz solar simulada, entretanto nem KR nem Tes alterou esse valor quando comparado com o tratamento com veículo. Além disso, também foi determinada a expressão de proteínas marcadoras da diferenciação epidérmica, utilizando a coloração imuno-histoquímica. Após a exposição ao UV a diferenciação epidérmica não se alterou. Nem KR nem Tes afetaram a diferenciação epidérmica em relação ao veículo. Tais resultados indicam que KR não promove efeitos adversos epidérmicos significativos. Em resumo, pode-se afirmar que o KR impediu o envelhecimento dérmico através do aumento do número de fibroblastos dérmicos e da espessura dérmica, devido à produção de procolágeno tipo 1 induzida por TGF- β e reduzindo a degradação de colágeno pela inibição do MMP-13 (Jeon et al., 2016).

2.2 Produtos de origem vegetal avaliados *in vitro* quanto ao estímulo para a produção de colágeno:

Com o passar dos anos, a pele passa a sofrer danos nas fibras de colágeno, nas fibras elásticas e na matriz dérmica, resultando no envelhecimento cutâneo (HARRIS, 2009). Portanto, um mecanismo muito importante para evitar o envelhecimento da pele, é promover a secreção de colágeno.

Os 14 compostos isolados do extrato etanólico do caule de *Dendrobium loddigesii* Rolfe, foco da pesquisa de Ma: Yang et al. (2019), já mencionada anteriormente, também foram analisados com o intuito de verificar seus efeitos na produção de colágeno por fibroblastos dérmicos humanos (HDFs), *in vitro*. Para esse estudo, as células HDFs receberam tratamento com amostras teste por 72h. TGF- β foi utilizado como controle positivo. A análise foi realizada com o kit ELISA do peptídeo pró-colágeno. Os resultados indicaram que a batatasina III (9) aumentou intensamente a produção de colágeno nos HDFs (IC50 3,182 $\mu\text{g}/\text{mL}$), enquanto os compostos 4,5,4'-tri-hidroxi-3,3'-dimetoxibenzil (6) e 4', 5-di-hidroxi-3,3' - dimetoxibenzil (7) exibiram menor produção de colágeno (33,062% e 29,157% a 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente).

O trabalho publicado por Kim et al. (2018), sobre as potenciais atividades do NaturalGEL e do extrato aquoso de ginseng vermelho, também abordaram os efeitos desses produtos na expressão de colágeno tipo I (Col-I) nas células de fibroblastos humanos. Foi realizado um ensaio de qRT-PCR para avaliar a expressão do mRNA do Col-I após o tratamento com RG WE (extrato aquoso de ginseng vermelho) e RG NGEL (NaturalGEL de ginseng vermelho) por 24 h. Os resultados mostraram que o RG WE não alterou a expressão de mRNA de Col-I, porém o grupo que recebeu o tratamento com RG NGEL, nas concentrações de 250 e 500 mg/mL, apresentaram aumentada expressão de Col-I em 128,9% e 131,2%, respectivamente ($p < 0,01$), em relação ao grupo controle (sem tratamento com RG WE e RG NGEL). Tais resultados indicam que o RG NGEL pode ser capaz de melhorar a elasticidade da pele.

O extrato de calo de *Pyrus pyrifolia* var culta, estudado por Kim e Park (2017), conforme citado anteriormente, também foi testado para verificar sua capacidade de estímulo à síntese de procolágeno e a proliferação de fibroblastos humanos. Para verificar se o extrato de calo de *Pyrus pyrifolia* var culta aumenta a síntese de procolágeno, o nível de peptídeo C do procolágeno tipo I foi empregado como marcador. As células de fibroblastos humanos (CCD-986sk) foram tratadas com diferentes concentrações de fator de crescimento transformador humano recombinante- β (rhTGF- β) (10, 100, 500 e 1000 ng/mL) ou solução ou extrato de calo (1, 2 e 5 mg/mL) por 24 h, e em seguida, os níveis de peptídeo C do procolágeno tipo I foram definidos com um ensaio ELISA, seguindo as orientações do fabricante. A síntese do peptídeo C do procolágeno tipo I foi consideravelmente estimulada após o tratamento dos fibroblastos com 10-1000 ng/mL de rhTGF- β , quando comparado com o grupo controle. Após o tratamento com 1, 2 e 5 mg/mL de solução de calo, a produção de peptídeo C do procolágeno tipo I foi aumentada 2,13, 2,01 e 2,07 vezes, respectivamente, em relação ao controle. De maneira semelhante, o extrato de calo de *Pyrus pyrifolia* var culta, a 5 mg/mL, aumentou a síntese do peptídeo C do procolágeno tipo I 2,04 vezes em comparação ao controle e de maneira dependente da dose. No ensaio de proliferação celular, as células de fibroblastos humanos (CCD-986sk) foram tratadas com rhTGF- β (10, 50, 100, 500 e 1000 ng/mL) ou solução ou extrato de calo de *Pyrus pyrifolia* var culta (0,01, 0,1, 1, 2 e 5 mg/mL) durante 24 h. Os resultados mostraram que os fibroblastos proliferaram significativamente depois de serem tratados com rhTGF- β (controle positivo), sendo que a proliferação foi de $133 \pm 12,8\%$ mais alta que a do grupo controle, com 50 ng/mL de rhTGF- β . Nas concentrações inferiores à 5 mg/mL de solução ou extrato de calo, não houve aumento considerável na proliferação celular. Porém os fibroblastos tratados com 5 mg/mL de

extrato e solução de calo, exibiram proliferação de $127 \pm 9,00\%$ e $134 \pm 10,7\%$, respectivamente, superior ao grupo controle.

O estudo do extrato butanólico da flor de *Cassia fistula*, de Limtrakul et al. (2016), também pesquisou se o extrato exibia algum efeito na síntese de colágeno. Para analisar a quantidade total de colágeno intracelular presente nos fibroblastos estudados, foi utilizado o Kit de coloração de colágeno Sirius Red / Fast Green. Os resultados do teste mostraram que as células de fibroblastos aumentaram significativamente a síntese de colágeno depois de serem tratadas com diferentes concentrações (100-150 $\mu\text{g/mL}$) do extrato de *C. fistula* por 48 h.

A pesquisa de Choi e colaboradores (2017), citada anteriormente, abordando a capacidade antienvhecimento da 7,8-di-hidroxi-flavona (7,8-DHF), também examinou os efeitos desse flavonoide na secreção de colágeno tipo I. Para determinar se a 7,8-DHF atua na secreção de colágeno tipo I, os fibroblastos dérmicos humanos Hs68 foram pré-tratados com 7,8-DHF (0-20 μM) por 1h, em seguida foram estimulados por TNF- α 20 ng/ml por 18 h. Os níveis de pró-colágeno tipo I secretados foram mensurados através de ensaio ELISA. Além disso, também foi analisada a expressão do mRNA do pró-colágeno tipo I por RT-PCR. Os resultados mostraram que as células expostas ao TNF- α , tiveram sua secreção de pró-colágeno e expressão de mRNA consideravelmente diminuídas em relação às células não estimuladas com TNF- α , sugerindo que o TNF- α inibe a síntese de pró-colágeno. Contudo, o tratamento com 7,8-DHF reverteu os baixos níveis de secreção e expressão do mRNA de pró-colágeno, de maneira dependente da dose. Além disso, o tratamento com 10 μM 7,8-DHF se mostrou capaz de recuperar totalmente a síntese de colágeno, no mesmo nível das células não expostas ao TNF- α .

No trabalho de Li; Bai et al. (2019), citado previamente, os efeitos dos extratos e dos compostos de rizoma de *Z. cassumunar* Roxb na secreção de colágeno também foram abordados. Os extratos estudados foram: extrato de éter de petróleo (PE), extrato de clorofórmio (CHCl_3) e extrato de acetato de etila (EtOAc). A produção de colágeno foi avaliada nos fibroblastos dérmicos humanos adultos (HDFa) através do kit colágeno ELISA, após o tratamento das células com 10 $\mu\text{g/mL}$ dos compostos do rizoma de *Z. cassumunar* Roxb. Nesse ensaio, o TGF- β (0,01 $\mu\text{g/mL}$) foi empregado como controle positivo. A técnica de MTS foi utilizada para determinar a viabilidade celular. Entre os três extratos analisados, apenas o extrato de EtOAc estimulou a secreção de colágeno, ainda que de modo pouco efetivo. Dos seis compostos ativos

[(E)-3-(3,4-dimetoxifenil)-2-propenal (1), cis-3-(3,4-dimetoxifenil)-4-[(E)-2,4,5-trimeetoxiestiril] ácido ciclo-hex-1-eno (2), 1-feroililoxicinâmico (3), (1E, 4E, 6E)-1,7-bis(4-hidroxifenil)-1,4,6-heptatrien-3-ona (4), bisdemetoxicurcumina (5) e curcumina (6)] isolados dos extratos de PE e EtOAc, apenas os compostos 2 e 4 estimularam potentemente a secreção de colágeno com $IC_{50} = 11,43 \pm 1,08 \mu\text{g/mL}$ e $IC_{50} = 8,50 \pm 1,31 \mu\text{g/mL}$, respectivamente. Além disso, nenhum dos compostos apresentou toxicidade para os HDFa, segundo o ensaio MTS, exceto o composto 6 que exibiu uma fraca citotoxicidade.

2.2.1 Produtos de origem vegetal que estimularam a produção de colágeno *in vivo*:

No estudo de Zhi e colaboradores (2019), anteriormente citado, também foi abordado os efeitos do extrato de antocianina da batata-doce roxa (PSP-AE) na produção de colágeno da pele. Para observar as alterações causadas pelo UVB no colágeno da derme, amostras do tecido da pele de camundongos BALB/c-nu fêmeas foram coradas com tricrômio de masson. As células foram expostas à radiação UVB como descrito anteriormente, as fibras de colágeno do grupo modelo de controle (MC) (irradiado com UVB e administrado com solução salina 0,9%, m/v) se apresentaram soltas, irregulares e desarranjadas quando comparadas ao grupo de controle normal (NC) (apenas administração de solução salina 0,9%, m/v, sem exposição ao UVB). Entretanto, os grupos que receberam o tratamento com PSP-AE (12,5 mg/kg, 25 mg/kg e 100 mg/kg) apresentaram danos ao colágeno menores que o grupo MC. A hidroxiprolina (Hyp), um aminoácido específico do colágeno cutâneo (Kong et al., 2018), é considerada um dos critérios de avaliação do grau de envelhecimento cutâneo, portanto o seu conteúdo na pele foi mensurado, através de kit de ensaio Hyp, pois a mesma poderia mostrar diretamente as mudanças das fibras de colágeno na derme (Song, Zhang, Zhang, & Li, 2017). Os resultados mostraram que os níveis de Hyp no grupo MC foi significativamente menor que o grupo NC ($p < 0,05$), contudo o uso do PSP-AE reverteu consideravelmente o baixo conteúdo de Hyp causado pela exposição ao UVB de maneira dependente da dose ($p < 0,05$).

2.3 Uso de produtos de origem vegetal para a promoção da hidratação cutânea:

Sabe-se que a pele seca e/ou desidratada apresenta mais precocemente sinais de envelhecimento do que uma pele normal ou mista/oleosa. Além disso, a hidratação

da pele é determinante para a gravidade dos sinais clínicos típicos do envelhecimento, pois a pele seca ou desidratada, quando envelhece apresenta rímulas e rugas mais profundas e mais difíceis de tratar, maior perda de firmeza e elasticidade do que uma pele hidratada. Portanto, a hidratação e o antienvhecimento são dois conceitos dependentes e intimamente relacionados (Oliveira, 2009).

Alterações na função de barreira e no conteúdo de água da pele ocorrem no decorrer do envelhecimento do cutâneo. A aquaporina 3 (AQP3), por ser um canal de membrana, é responsável por permitir a passagem de água, glicerol e outros através da membrana. Portanto, a redução da AQP3 causa secura da pele e diminui a elasticidade desta (Li et al., 2010). O ácido hialurônico (AH), é um importante componente da matriz extracelular (MEC) para a hidratação da pele e é sintetizado pela ácido hialurônico sintase (HAS). Entre as três HASs que existem, a HAS2 é uma das principais isoformas produtoras de AH na pele (Papakonstantinou et al., 2012). Já no estrato córneo, o colesterol, os ácidos graxos livres e a ceramida são os responsáveis pela prevenção da perda de água. A ceramida é comumente produzida pela via de novo, uma das quais é iniciada pela serina palmitoil transferase SPT (Cha et al., 2016). Já a filagrina (FLG) é degradada em aminoácidos livres, que auxiliam na formação dos fatores naturais de hidratação (NMFs) que mantêm a água na pele (Hoste et al., 2011). No trabalho de Kim et al. (2018), anteriormente citado, também foi investigado se o NaturalGEL e o extrato aquoso de ginseng vermelho afetavam a expressão de aquaporina 3 (AQP3), hialuronan sintetase 2 (HAS2), serina palmitoil transferase (SPT), ceramida sintase 3 (CERS3) e filagrina (FLG), pois são estruturas associadas à hidratação da pele nos queratinócitos humanos. Para avaliar a expressão do mRNA desses fatores associados à hidratação, qRT-PCR foi realizado após o tratamento dos queratinócitos com RG NGEL (NaturalGEL de ginseng vermelho) (10, 25 e 50 µg/mL) e RG WE (10, 25 e 50 µg/mL) por 24 h. O RG NGEL estimulou consideravelmente os níveis de AQP3 e FLG, em 145,4% ($p < 0,001$) e 134% ($p < 0,001$), respectivamente, em relação ao RG WE e de modo dependente da dose. Já a expressão de mRNA de SPT e HAS2 foram elevados pelo RG NGEL em comparação com RG WE. O ensaio de imunotransferência foi realizado para verificar a expressão proteica de CERS3 e FLG após o tratamento com RG WE e RG NGEL, nas mesmas concentrações e duração do teste anterior. O CERS3 teve sua expressão mais que dobrada depois do tratamento com RG NGEL em comparação ao tratamento controle ($p < 0,01$). RG WE aumentou o CERS3 em 154,2% ($p < 0,01$). Enquanto o nível de proteína FLG aumentou 169,4% ($p < 0,001$) após o tratamento com RG NGEL em comparação com

o tratamento com RG WE. Levando em consideração os resultados obtidos, os autores concluíram que o RG NGEL é capaz de aumentar os níveis de AQP3, HAS2, SPT, FLG e CERS3 e, desse modo melhorar a hidratação e elasticidade da pele.

O trabalho de Cho et al. (2020), já referido anteriormente, também analisou a capacidade do extrato de cultura de calos de *Leontopodium Alpinum* (LACCE) (0,1 %, 0,5% e 1%, m/v) na promoção da hidratação da pele através da análise da expressão do gene que codifica a aquaporina 3 (AQP3) em células HaCaT (queratinócitos) por RT-PCR. Os resultados mostraram que, quando comparado com o controle negativo (sem tratamento com LACCE), o LACCE aumentou significativamente a expressão do gene AQP3. Além disso, a expressão da AQP3 aumentou de forma proporcional ao aumento da concentração de LACCE, de 3,19 (a 0,1% de LACCE) para 4,5 (a 1% de LACCE).

Os resultados observados mostram que, além dos efeitos já mencionadas, o LACCE também é capaz de melhorar a hidratação cutânea.

Os efeitos antienvhecimento do extrato butanólico da flor de *Cassia fistula*, estudado por Limtrakul et al. (2016), como já foi mencionado, também foram avaliados pela capacidade do extrato de estimular a síntese de ácido hialurônico (AH). O ensaio de síntese de AH foi realizado utilizando um kit ELISA. Os resultados indicaram que o tratamento dos fibroblastos da pele com diversas concentrações (50–200 µg/mL) do extrato de *C. fistula* durante 48 h aumentou consideravelmente a síntese de AH, de maneira dependente da dose. Os fibroblastos expostos ao extrato de flor a 200 µg/mL, sintetizaram quatro vezes mais AH que as células não tratadas.

No trabalho de Yu et al. (2018), mencionado anteriormente, a vermicularina (Verm) e o β -sitosterol, presentes no extrato de *Thamnia vermicularis* (Sw.) Ach. (TV), também tiveram suas atividades anti-resssecamento avaliadas em fibroblastos e queratinócitos de pele humana. As células HDF (fibroblastos dérmicos humanos), depois do tratamento com os compostos testados (TV, Sito e Verm) por 24h, foram expostas ou não a 200 µM de H₂O₂ durante 24 h. Então, os níveis de ácido hialurônico (HA) foram avaliados por ensaios de ELISA. Os resultados obtidos exibiram que Sito aumentou significativamente a secreção de HA de maneira dependente da dose, sendo que o aumento é de 18% em alta concentração. Já o Verm não modificou de maneira considerável os níveis de HA. O mecanismo pelo qual Sito melhora os níveis de HA foram investigados através da expressão de ácido hialurônico sintases (HAS1, HAS2 e HAS3) e hialuronidases (HYAL1, HYAL2, HYAL3) em HDF por QRT-PCR.

Após as análises, verificou-se que Sito aumentou o mRNA das proteínas de HAS1, HAS2 e HAS3, e também diminuiu os níveis de mRNA de HYAL3 a partir da concentração de 25 μM .

As células HaCaT (queratinócitos humanos não tumorigênicos imortalizados) foram utilizadas para investigar os efeitos de Sito, Verm e TV na função de barreira epidérmica, após 24 h de tratamento. Para isso, os níveis de aquaporina 3 (AQP3) e loricrina (LOR) foram determinados por ELISA, enquanto os níveis de filagrina (FLG) e involucrina (IVL) foram mensurados por *Western blot*. Os resultados indicaram que Sito aumentou efetivamente os níveis de mRNA de AQP3, LOR, FLG e IVL, de maneira dependente da dose. Sito se mostrou capaz de promover a biossíntese de HA e melhorar a função barreira da pele, portanto este efeito duplo apresentado por Sito, permite que o mesmo seja utilizado como um composto ativo para a hidratação da pele.

2.4 Inibição inflamatória no tratamento do envelhecimento cutâneo com produtos de origem vegetal:

Uma das teorias mais recentes sobre o envelhecimento está focada na resposta imunológica e leva em consideração a ativação de inflamação subclínica e crônica de baixo grau denominada *inflamm-aging* (processo inflamatório relacionado ao envelhecimento precoce) (Minciullo et al., 2016). Essa resposta inflamatória crônica pode acumular-se com o tempo e gradualmente provocar danos nos tecidos. Além disso, a mesma é considerada uma das principais causadoras de diversas doenças relacionadas com a idade, incluindo o envelhecimento cutâneo (Fishman et al., 1998).

O estudo de Cho e colaboradores (2020) referente ao extrato de cultura de calos de *Leontopodium Alpinum* (LACCE), analisou se o LACCE possuía efeitos anti-inflamatórios. Para esse teste, as células HaCaT (queratinócitos) foram irradiadas com 5 mJ/ cm^2 de UVB, em seguida as células foram tratadas com 3 concentrações diferentes de LACCE (0,1, 0,5 e 1%, m/v) por 4h. A dexametasona foi utilizada como controle positivo. O efeito anti-inflamatório do LACCE foi avaliado através da quantificação, por RT-PCR, da expressão dos genes que codificam a COX2 e iNOS (óxido nítrico sintase induzível). Foi observado que a exposição ao UVB aumenta a expressão do gene COX2, que conseqüentemente codifica a proteína que estimula a

inflamação. Quando comparado ao controle negativo, a adição de LACCE nas células HaCaT reduziu significativamente a expressão do gene COX2, porém nenhuma diferença relevante foi observada entre as três concentrações de LACCE. Em comparação com o controle positivo (dexametasona), o LACCE apresentou resultados anti-inflamatórios equivalentes em todas as concentrações testadas. A expressão do gene iNOS foi inibida tanto pela dexametasona quanto pelo LACCE, sendo que, conforme com o aumento da concentração de LACCE observou-se diminuição proporcional da expressão do gene iNOS. Esses resultados mostram que, além dos efeitos anteriormente referidos, o LACCE também apresenta um efeito anti-inflamatório importante para evitar o envelhecimento da pele.

Adicionalmente a resposta inflamatória induzida por exposição à radiação UVB também foi avaliada no trabalho de Zhi et al. (2019). Os autores avaliaram a atividade do extrato de antocianina da batata-doce roxa (PSP-AE) na resposta inflamatória após fotoexposição. Os parâmetros da exposição à radiação já foram relatados. O tratamento foi realizado com PSP-AE nas doses de 12,5 mg/Kg, 25 mg/Kg e 100 mg/Kg, 1 h após à exposição ao UVB, por 8 semanas. Os resultados indicaram que o conteúdo de TNF- α e IL-6 foram notavelmente aumentados no grupo MC (irradiado com UVB e administrado solução salina 0,9%, m/v) em relação ao grupo NC (apenas recebeu administração de solução salina 0,9%, m/v, sem exposição ao UVB) ($p < 0,05$). Porém, com a administração de PSP-AE os níveis de TNF- α e IL-6 foram significativamente reduzidos, de modo dose dependente, quando comparado com o grupo MC ($p < 0,05$), ou seja, o PSP-AE é capaz de suprimir a resposta inflamatória ocasionada pela exposição à radiação UVB. A expressão de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6, pode estar diretamente relacionada com a ativação de NF- κ B (Wagener, Carels, & Lundvig, 2013), desse modo, os autores avaliaram a expressão de NF- κ B na pele de camundongos BALB/c-nu fêmeas, bem como o efeito do PSP-AE sobre o mesmo. O grupo MC exibiu um aumento considerável no nível nuclear de NF- κ B em relação ao grupo NC. Já os grupos que foram tratados com PSP-AE reduziram significativamente a expressão de NF- κ B em 26,28% (dose de 12,5 mg/Kg de peso corporal), 34,06% (dose de 25 mg/Kg) e 60,28% (dose de 100 mg/Kg).

O trabalho de Chaiyana et al. (2018), avaliou a atividade anti-inflamatória apresentadas pelos 3 extratos de *Ocimum sanctum* Linn. (etanólico, acetato de etila e n-hexano). Para verificar o efeito dos extratos de *O. sanctum* na secreção de IL-6, células de macrófago de monócito de camundongo RAW 264.7 foram tratadas com 10 μ M de cada extrato por 2 h. Um ensaio ELISA foi realizado, para determinar a

secreção de IL-6. O LPS foi utilizado como controle negativo e a dexametasona, substância anti-inflamatória, foi empregada como controle positivo para inibição da secreção de IL-6. Os resultados obtidos revelaram que a dexametasona reduziu a secreção de IL-6 em $34,4 \pm 4,8\%$. Quanto aos extratos de *O. sanctum*, o etanólico foi o que apresentou maior atividade inibitória da secreção de IL-6, com IC₅₀ de $81,3 \pm 35,5$ ng/mL, enquanto os extratos de n-hexano e de acetato de etila exibiram IC₅₀ de $143,5 \pm 18,3$ ng/mL e $311,8 \pm 164,5$ ng/mL, respectivamente. Apesar de terem comprovado que o ácido rosmarínico, principal composto presente nos extratos de *O. sanctum*, reduziu significativamente a secreção de IL-6 *in vitro* e *in vivo* (Vostálová et al., 2010; Jiang et al., 2009), os extratos de *O. sanctum* mostram-se mais efetivos na inibição da liberação de IL-6. Portanto, é provável que outros componentes presentes no extrato exerçam esse efeito. Além disso, não se pode descartar o efeito sinérgico do ácido rosmarínico com outros compostos como justificativa para a atividade anti-inflamatória superior apresentada pelos extratos de *O. sanctum*.

Os autores também avaliaram o efeito dos extratos de *O. sanctum* e do ácido rosmarínico, na concentração de 10 µg/mL durante 48 h, no nível de fator de transcrição NF-κB em células U937 de linfoma de monócitos leucêmicos humanos, através da análise de *Western Blot*. Como controle positivo foi utilizado a indometacina (10 µg/mL), um antiinflamatório não esteróide (AINE). Os resultados indicaram que o extrato etanólico e o extrato de acetato de etila apresentaram ação anti-secreção de NF-κB significativa, sendo elas de $20,7 \pm 9,6\%$ e $21,0 \pm 6,1\%$, respectivamente ($p < 0,05$). Porém, o extrato de n-hexano não alterou os níveis de NF-κB. A indometacina apresentou inibição de $49,0 \pm 9,3\%$ da expressão de NF-κB ($p < 0,001$). Já o ácido rosmarínico, reduziu os níveis de NF-κB com a inibição de $36,8 \pm 5,6\%$ ($p < 0,001$). Desse modo, o ácido rosmarínico foi considerado o principal responsável pela supressão de NF-κB demonstrada pelos extratos de *O. sanctum*.

Para finalizar os estudos que avaliaram a atividade anti-inflamatória de produtos de origem vegetal no tratamento do envelhecimento cutâneo Li; Baiet al. (2019), investigaram os efeitos dos extratos e dos compostos presente no rizoma de *Z. cassumunar* Roxb frente à inflamação. Nesse trabalho foram analisados os extratos de éter de petróleo (PE), de clorofórmio (CHCl₃) e de acetato de etila (EtOAc) na concentração de 50 µg/mL. A atividade anti-inflamatória foi verificada através da inibição da produção de óxido nítrico (NO) estimulada pelo LPS (1 µg/ml) nas células de macrófagos peritoneais de camundongo (RAW264.7). L-NMMA foi utilizado como controle positivo. O ensaio MTS também foi realizado para observar a sobrevivência

celular e excluir possíveis efeitos citotóxicos das amostras. Os resultados da análise dos extratos indicaram que o extrato de PE apresentou uma atividade anti-inflamatória potente e o extrato de EtOAc apresentou uma atividade inibitória estatisticamente relevante, entretanto o extrato de CHCl_3 pouco afetou a resposta inflamatória. Desse modo, apenas os extratos de PE e EtOAc de rizoma de *Z. cassumunar* Roxb passaram pela análise de cromatografia de coluna repetida e HPLC semipreparativa, para identificação dos seus compostos ativos. Os compostos ativos isolados dos extratos foram os seguintes: (E) -3- (3,4-dimetoxifenil) - 2-propenal (1), cis-3- (3,4-dimetoxifenil) -4 - [(E) - 2,4,5-trimeetoxiestiril] ácido ciclo-hex-1-eno (2), 1-feroililoxicinâmico (3), (1E, 4E, 6E) -1,7-bis (4-hidroxifenil) -1,4,6-heptatrien-3-ona (4), bisdemetoxicurcumina (5) e curcumina (6). Tais substâncias foram utilizadas no tratamento de macrófagos mononucleares (RAW264.7) na concentração de 12,5 μM (compostos 3, 5 e 6), 25 μM (composto 2) e 50 μM (compostos 1 e 4), sendo que as substâncias 1 (IC_{50} de $22,67 \pm 2,36 \mu\text{M}$), 3 (IC_{50} de $7,00 \pm 0,22 \mu\text{M}$), 4 (IC_{50} de $15,40 \pm 0,63 \mu\text{M}$), 5 (IC_{50} de $5,47 \pm 0,09 \mu\text{M}$) e 6 (IC_{50} de $7,16 \pm 0,05 \mu\text{M}$) mostraram inibição da resposta inflamatória significativa e maior que à do controle positivo L-NMMA (50 μM) ($\text{IC}_{50} = 46,56 \pm 2,39 \mu\text{M}$) com uma baixa toxicidade. O composto 2 demonstrou baixa atividade anti-inflamatória.

Os estudos apresentados são sumarizados na Tabela 2

Tabela 2- Principais informações presentes nos trabalhos abordados sobre extratos vegetais com outros mecanismos antienvhecimento que não a atividade antioxidante.

Autor	Substância Avaliada	Objetivo do Estudo	Principal Resultado
Atividade dos produtos de origem vegetal na inibição de enzimas importantes no processo de envelhecimento cutâneo			
Jeon et al. 2016	Mistura dos extratos de <i>Kochia scoparia</i> e <i>Rosa multiflora</i>	Pesquisar o potencial efeito anti-envelhecimento dos extratos através da análise de fibroblastos humanos normais irradiados com UVB (<i>in vitro</i>) e de camundongos SKH-1 expostos à UVA e UVB (<i>in vivo</i>).	Os extratos reduziram significativamente a secreção de MMP-1 e a expressão do mRNA da MMP-13 nos ensaios <i>in vitro</i> . Na análise <i>in vivo</i> a mistura dos extratos recuperou a espessura dérmica e os fibroblastos dérmicos, de forma significativa, na pele fotoenvelhecida.
Kanlayavatta nakul et al. 2016	Extrato da panícula do arroz de jasmim	Avaliar a atividade anti-envelhecimento do extrato e suas substâncias ativas através de ensaios <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	O extrato inibiu a tirosinase, elastase e collagenase (<i>in vitro</i>). O extrato, o ácido p-cumárico e o ácido ferúlico diminuíram o conteúdo de melanina e inibiram significativamente a atividade da tirosinase em células de melanoma B16F10 (<i>in vivo</i>).
Kim e Park 2017	Extrato e solução de calo de <i>Pyrus pyrifolia</i> var. <i>Culta</i>	Pesquisar a capacidade do extrato e da solução em inibir a síntese de melanina em células de melanoma B16F10	Ambas formulações inibiram a síntese de melanina, entretanto a solução apresentou uma inibição mais potente.
Yu et al. 2018	β-sitosterol e vermicularina (dois ativos presentes na <i>Thamnia vermicularis</i>)	Avaliar o potencial anti-envelhecimento dos compostos em fibroblastos expostos à H ₂ O ₂	A vermicularina aumentou significativamente o conteúdo de colágeno tipo I e reduziu os níveis de MMP-1 e espécies reativas de oxigênio.
Chaiyana et al. 2018	Extratos de n-hexano, acetato de etila e etanol de <i>Ocimum sanctum</i> Linn.	Avaliar a atividade anti-envelhecimento da pele de diferentes extratos de <i>O. sanctum</i>	O extrato etanólico de <i>O. sanctum</i> apresentou a maior inibição de MMP-1 em todas as concentrações testadas. O extrato de acetato de etila foi o que exibiu maior inibição contra MMP-2 e MMP-9 em células 3T3 de fibroblastos de embrião de camundongo Albino Swiss. Os extratos de n-hexano e de acetato de etila apresentaram as maiores e comparáveis atividades anti-elastase. Todos os três extratos possuíam atividade anti-hialuronidase comparáveis entre si.

A-Rang et al. 2019	Timosaponina A-III (composto isolado de <i>Anemarrhena asphodeloides</i>)	Avaliar as propriedades antienvhecimento do composto em células HaCaT expostas a UVB (<i>in vitro</i>) e pesquisar efeitos anti-rugas em ensaio <i>in vivo</i>	O composto inibiu fortemente a MMP-1 e aumentou os níveis de mRNA de TIMP. No ensaio clínico, a substância mostrou melhorar a rugosidade da pele.
Zhong et al. 2019	Extrato de Erjingwan (<i>Lycium barbarum</i> + <i>Polygonatum sibiricum</i>)	Investigar os efeitos dos extratos na expressão das MMP-1 e no colágeno tipo 1 COL1A2 nas células dos fibroblastos do prepúcio humano expostas ao H ₂ O ₂	A exposição das células ao extrato reduziu a expressão de MMP-1 e aumentou a expressão de colágeno tipo 1.
Wang et al. 2019	Extrato de folhas de <i>Ginkgo biloba</i>	Verificar os efeitos inibitórios do extrato e seus constituintes químicos na atividade da MMP-1 em fibroblastos dérmicos humanos	O extrato inibiu a MMP-1 significativamente nas concentrações de 0,2 mg/mL e de 0,1 mg/mL. Todos os constituintes químicos testados do extrato, exceto a quercetina-3-O-β-glicosídeo, inibiram notavelmente a MMP-1 na concentração de 0,2 mg/mL.
Zhi et al. 2019	Extratos de antocianina de batata doce de polpa roxa	Avaliar os efeitos do extrato no fotoenvelhecimento induzido por UVB em camundongos BALB / c-nu	O extrato reduziu consideravelmente os níveis de MMP-1, pela redução da fosforilação das proteínas MAPK e da expressão de NF-κB.
Cho et al. 2020	Extrato de cultura da de calos de <i>Leontopodium alpinum</i>	Avaliar os efeitos do extrato na redução de rugas através da quantificação do gene da MMP-2 em células Detroit 551 expostas ao UVB	O extrato reduziu significativamente a expressão de MMP-2 após irradiação com UVB.
Majeed et al. 2020	Pterostilbeno (substância isolada do <i>Pterocarpus marsupium</i>)	Investigar o efeito anti-envelhecimento cutâneo do composto <i>in vivo</i> e sua atividade clareadora da pele (anti-melanogênese) em células de melanoma (<i>in vitro</i>)	O pterostilbeno inibiu a melanogênese e melhorou significativamente a luminosidade da pele, a hidratação e a elasticidade, além de reduzir consideravelmente a aspereza, as linhas finas e as rugas.
Produtos de origem vegetal avaliados quanto ao estímulo para a produção de colágeno.			
Limtrakul et al. 2016	Extrato de flor de <i>Cassia fistula</i>	Avaliar os efeitos anti-envelhecimento do extrato através da síntese de colágeno	Aumento da síntese de colágeno em fibroblastos após o tratamento com diferentes concentrações do extrato.

Kim e Park 2017	Extrato e solução de calo de <i>Pyrus pyrifolia</i> var. Culta	Investigar as atividades anti-envelhecimento do extrato pelo estímulo à síntese de procolágeno e proliferação de fibroblastos humanos	Tanto o extrato quanto a solução aumentaram consideravelmente a produção de procolágeno. Os fibroblastos tratados com 5 mg/mL de extrato ou solução de calo, exibiram um aumento de proliferação.
Choi et al. 2017	7,8-dihidroxi-flavona	Avaliar o potencial anti-envelhecimento da substância usando fibroblastos dérmicos humanos Hs68 envelhecidos por TNF- α	O composto reverteu os baixos níveis de secreção e expressão do mRNA de procolágeno causados pelo TNF- α .
Kim et al. 2018	NaturalGEL e extrato aquoso de ginseng vermelho	Investigar e comparar o potencial do NaturalGEL e do extrato na indução de colágeno Tipo I nos fibroblastos humanos	O extrato não alterou a expressão de mRNA de colágeno tipo I, porém o Natural GEL aumentou significativamente.
Ma et al. 2019	Compostos isolados de extrato de caule de <i>Dendrobium loddigesii</i> Rolfe.	Avaliar a eficácia anti-envelhecimento dos compostos frente à produção de colágeno nos fibroblastos dérmicos humanos	A batatasina III aumentou intensamente a produção de colágeno nos fibroblastos.
Zhi et al. 2019	Extratos de antocianina de batata doce de polpa roxa	Avaliar os efeitos do extrato no fotoenvelhecimento induzido por UVB em camundongos BALB / c-nu	Os grupos tratados com o extrato apresentaram menores danos ao colágeno, além disso, o extrato também foi capaz de reverter consideravelmente o baixo nível de hidroxiprolina causado pela exposição ao UVB.
Li ; Bai et al. 2019	Extratos de rizoma de <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb. (éter de petróleo, extrato de clorofórmio e extrato de acetato de etila) e seus compostos isolados	Avaliar o potencial anti-envelhecimento através da secreção de colágeno nos fibroblastos dérmicos humanos	Apenas o extrato de acetato de etila estimulou a secreção de colágeno. Dos compostos isolados, apenas o cis-3- (3,4-dimetoxifenil) -4 - [(E) - 2,4,5-trimeetoxiestiril] ácido ciclo-hex-1-eno e o (1E, 4E, 6E) -1,7-bis (4-hidroxifenil) -1,4,6-heptatrien-3-ona estimularam potentemente a secreção de colágeno.

Uso de produtos de origem vegetal para a promoção da hidratação cutânea.

Limtrakul et al. 2016	Extrato de flor de <i>Cassia fistula</i>	Estudar o potencial anti-envelhecimento do extrato através da estimulação da síntese de ácido hialurônico em fibroblastos humanos	O extrato aumentou consideravelmente a síntese de ácido hialurônico.
Yu et al. 2018	β -sitosterol e vermicularina (dois ativos presentes na <i>Thamnia vermicularis</i>)	Investigar o potencial anti-envelhecimento dos compostos em fibroblastos e queratinócitos expostos à H ₂ O ₂	Sito aumentou significativamente a secreção de ácido hialurônico nos fibroblastos, através do estímulo às ácido hialurônico sintases e inibição da hialuronidase 3. Sito também aumentou efetivamente os níveis de mRNA e proteína da aquaporina 3, loricrina, filagrina e involucrina nos queratinócitos HaCaT.
Kim et al. 2018	NaturalGEL e extrato aquoso de ginseng vermelho	Pesquisar e comparar o potencial do NaturalGEL e do extrato na promoção da hidratação da pele em queratinócitos humanos	O Natural GEL de ginseng vermelho é capaz de aumentar os níveis de aquaporina 3, hialuronan sintetase 2, serina palmitoil transferase, filagrina e ceramida sintase, melhorando a hidratação e elasticidade da pele.
Cho et al. 2020	Extrato de cultura da de calos de <i>Leontopodium alpinum</i>	Avaliar os efeitos do extrato no aumento da hidratação da pele através da análise do gene da aquaporina 3 em células HaCaT (queratinócitos)	O extrato aumentou significativamente a expressão do gene da aquaporina 3, e consequentemente promoveu uma maior hidratação cutânea.
Inibição inflamatória no tratamento do envelhecimento cutâneo com produtos de origem vegetal.			
Chaiyana et al. 2018	Extratos de n-hexano, acetato de etila e etanol de <i>Ocimum sanctum</i> Linn.	Investigar os efeitos dos extratos de <i>O. sanctum</i> na secreção de IL-6 e de NF- κ B em células	O extrato etanólico inibiu mais fortemente a secreção de IL-6. A ação anti-secreção de NF- κ B foi significativa apenas nos extratos etanólico e de acetato de etila.
Zhi et al. 2019	Extratos de antocianina de batata doce de polpa roxa	Avaliar os efeitos do extrato na inflamação presente no fotoenvelhecimento induzido por UVB em camundongos BALB / c-nu	O extrato reduziu significativamente os níveis de TNF- α e IL-6, através da inibição da expressão de NF- κ B.

Li; Bai et al. 2019	Extratos de rizoma de <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb. (éter de petróleo, extrato de clorofórmio e extrato de acetato de etila) e seus compostos isolados	Estudar os efeitos anti-envelhecimento através da atividade anti-inflamatória nas células de macrófagos peritoneais de camundongo (RAW264.7)	O extrato de éter de petróleo possui uma atividade anti-inflamatória potente, enquanto que o extrato de acetato de etila apresentou uma atividade inibitória estatisticamente relevante. Dos compostos isolados dos extratos, apenas o cis-3- (3,4-dimetoxifenil) -4 - [(E) - 2,4,5-trimeetoxiestiril] ácido ciclo-hex-1-eno, não mostrou inibição da resposta inflamatória significativamente relevante.
Cho et al. 2020	Extrato de cultura da de calos de <i>Leontopodium alpinum</i>	Pesquisar os efeitos anti-inflamatórios do extrato em células HaCaT (queratinócitos) irradiadas com UVB	O extrato reduziu significativamente a expressão do gene da ciclooxigenase-2 e inibiu a expressão do gene do óxido nítrico sintase induzível.

3. Extratos vegetais e compostos isolados que apresentaram melhora do aspecto cutâneo *in vivo*

Diversos extratos abordados no decorrer desse trabalho avaliaram a melhora geral de características da pele, alguns *in vivo* (em camundongos) e outros clinicamente (em voluntários humanos), devido ao uso dos extratos e substâncias isoladas sozinhas ou em formulações cosméticas, como cremes.

Estudos *in vivo* em voluntários humanos também já foram conduzidos. O estudo desenvolvido por Kanlayavattanakul et al. (2016) avaliou o potencial cosmético do extrato da panícula de arroz de jasmim (variedade Khao Dawk Mali 105, ML) relacionando a sua composição fenólica e atividade biológica *in vivo*. Em seguida, um produto tópico contendo o extrato de panícula de arroz de jasmim foi produzido no intuito de tratar ou prevenir irregularidades leves da pele (Elsner e Maibach, 2000). A eficácia do produto foi avaliada através dos seguintes parâmetros: hidratação da pele, coloração, suavidade e formação de rugas, através do uso de sondas e aparelho videodermatoscópio. Os compostos fenólicos são compostos muito importantes dos fitonutrientes, sendo alguns deles ativos no tratamento de doenças da pele e proteção antienvhecimento (Nichols et al., 2010; Mukherjee et al., 2011). No extrato da panícula de arroz o ácido p-cumárico (pCA), ácido ferúlico (FA) e ácido cafeico (CA) foram os principais componentes fenólicos encontrados. A atividade antioxidante do extrato de ML foi examinada em fibroblastos da pele humana, através do tratamento das células com diversas concentrações das amostras e dos solventes (etanol absoluto ou meio de cultura) por 24h. Em seguida, foram tratadas com meio fresco contendo H₂O₂ (150µM) e incubadas por mais 3h. E então a viabilidade celular foi determinada com sulforodamina B. A análise revelou que a viabilidade dos fibroblastos tratados com o extrato ML, pCA, FA e vitamina C (controle positivo) são dependentes da concentração e todos foram capazes de impedir significativamente a oxidação celular.

Para verificar a eficácia *in vivo* do extrato de ML, voluntários tailandeses saudáveis, com idades entre 25 e 50 anos, sem doenças de pele, foram recrutados para esse estudo. Primeiramente, foi realizado um teste de alergia em 20 indivíduos por 24h. 20 µL das amostras testadas foram aplicadas nos antebraços dos voluntários. As amostras testes foram: lauril sulfato de sódio 0,5% (m/v) (controle positivo), água (controle negativo), creme base, creme de ML (0,1%; m/v) e creme de ML (0,2%; m/v). Nenhum dos indivíduos apresentou irritação na pele ao ser exposto ao creme base,

cremes contendo ML ou água, confirmando a segurança na utilização dos cremes. Então, o total de 24 voluntários (7 homens e 17 mulheres) foram submetidos ao estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, usando os cremes de 0,1% (m/v) e 0,2% (m/v) de ML no antebraço interno esquerdo ou direito, duas vezes ao dia (manhã e noite). A pele dos indivíduos foi analisada por sondas no tempo 0 e depois de 14, 28, 56 e 84 dias da aplicação. Os resultados evidenciaram que os cremes contendo ML melhoram a hidratação da pele, comparado ao creme base em todos os pontos avaliados durante o estudo. O uso do creme por mais tempo (28 a 84 dias) melhorou consideravelmente ($p < 0,05$) a hidratação da pele quando comparado com o início do tratamento (0-14 dias) (Kanlayavattanakul et al., 2016).

A aplicação do creme ML também clareou o tom de pele, todavia a eficácia significativa ($p < 0,001$) do mesmo só foi observada após 28 dias de tratamento. Também depois de 28 dias de tratamento, houve o aumento notável ($p \leq 0,0045$) na firmeza da pele tratada com os cremes ML em comparação com o creme base. A firmeza da pele foi melhorada com o maior tempo de uso dos cremes, com 84 dias de tratamento os resultados apresentados foram expressivamente maiores que os exibidos nos dias 28 e 56 ($p < 0,05$). Entretanto, a eficácia do tratamento indicou ser independente da dose. Os cremes ML também se mostraram capazes de reduzir significativamente o grau de rugas e promover a suavidade da pele ($p \leq 0,004$ e $\leq 0,038$) depois de 56 dias de uso. Além disso, ambos os cremes ML (0,1% e 0,2%) diminuíram as rugas e aumentaram a suavidade similarmente, a cada período monitorado. Por fim, foi realizada com 30 voluntárias, uma avaliação sensorial dos cremes ML para analisar a aceitabilidade. Mais de 80% dos indivíduos preferiram o creme de 0,1% (m/v) de ML, principalmente devido a sua viscosidade, cor, odor, capacidade de espalhamento, adsorção da pele e efeito hidratante (Kanlayavattanakul et al., 2016).

No trabalho de Zhong et al. (2019), citado anteriormente, o potencial antienvelhecimento do extrato de erjingwan foi avaliado *in vivo*, incorporado à formulação de creme. Os participantes do estudo randomizado, duplo-cego, foram 21 mulheres chinesas saudáveis com idades entre 30 e 45 anos. O creme com princípios ativos (extratos de EJW) foi aplicado na pele da face esquerda e em um antebraço por 4 semanas, já o creme placebo foi aplicado no outro lado como controle. Os resultados desse estudo clínico mostraram que o brilho da pele na área testada foi notavelmente maior que na área controle, indicando que os extratos de EJW são capazes de melhorar o brilho cutâneo em comparação com a amostra controle. Além disso, o teste de elasticidade da pele, avaliada através de sondas, revelou que o valor de R1

(parâmetro de firmeza da pele) diminuiu significativamente, indicando que a firmeza da pele aumentou e o valor de R2 (parâmetro de elasticidade da pele) subiu significativamente apenas na área de teste, ou seja, a elasticidade da pele aumentou após o tratamento com o creme contendo extratos de EJW.

No intuito de verificar se a pele apresentaria alguma reação alérgica ao creme contendo os extratos de EJW, foi realizado um teste de alergia de 24 h, onde 20 homens, sem dermatoses, tiveram 15 µL das amostras (SLS – lauril sulfato de sódio, MPO- 2-metil-1,3-propanodiol, 0,25 % (m/v) EJW, 0,5 % (m/v) EJW e 1 % (m/v) EJW) espalhadas em suas costas, e após 2 h o grau de alergia foi observado. Nenhum dos indivíduos dos grupos amostrais apresentou sinais de reações alérgicas na pele.

Após verificar a atividade *in vitro*, o efeito do LACCE (extrato aquoso de cultura de calos de *Leontopodium Alpinum*) *in vivo* foi avaliado, Cho et al. (2020) realizaram uma avaliação clínica após aplicação do extrato e verificaram quatro parâmetros diferentes: levantamento facial e melhora das rugas periorbitais, elasticidade da pele, densidade dérmica e espessura da pele. Para esse estudo duplo-cego, 21 mulheres voluntárias, com idade média de $48,04 \pm 4,28$ anos, foram separadas em 12 voluntárias na faixa dos 40 anos e 9 na faixa dos 50 anos, para participar da avaliação clínica em quatro semanas. No tempo zero, todos os quatro critérios avaliados foram medidos em todos os voluntários. Após, duas amostras distintas, LACCE e placebo (controle), foram aplicadas na área facial determinada duas vezes ao dia (manhã e noite). Os voluntários foram, então, divididos em dois grupos, o grupo I (LACCE aplicado na face esquerda e o placebo na face direita) e o grupo II (LACCE foi aplicado no lado direito da face e o placebo no lado esquerdo da face). Duas e quatro semanas depois do início do uso das amostras, as mesmas medidas foram feitas para verificar o efeito do LACCE em comparação com o do placebo. Ao examinar o efeito do LACCE nas rugas periorbitais, dois parâmetros foram analisados, a média da rugosidade (Ra) e a rugosidade quadrática média da raiz (Rq). Depois de quatro semanas de tratamento, tanto com LACCE quanto com placebo, os valores de Ra e Rq diminuíram. Contudo, a taxa de diminuição de Ra e Rq foi muito mais notável nos indivíduos tratados com LACCE do que no grupo tratado com placebo, visto que 90,476% dos voluntários tratados com LACCE apresentaram redução dos parâmetros de rugosidade avaliados, enquanto 57,142% dos voluntários tratados com placebo exibiram essa diminuição. Para verificar o efeito do LACCE na elasticidade da pele, três diferentes critérios foram medidos: elasticidade bruta (R2), elasticidade líquida (R5) e elasticidade biológica (R7). Tanto o tratamento com LACCE quanto o tratamento com placebo mostraram valores de R2, R5 e R7 maiores durante as quatro

semanas, porém o nível de aumento na amostra tratada com LACCE foi maior do que na amostra tratada com placebo. Os aumentos de R2, R5 e R7 na amostra tratada com LACCE foram de 3,296 %, 5,816 % e 6,756 %, respectivamente, enquanto as taxas de aumento de R2, R5 e R7 na amostra tratada com placebo foram de 1,621 %, 2,895 % e 3,378 %, respectivamente, em quatro semanas.

Nos parâmetros densidade dérmica e espessura da pele, as duas amostras apresentaram aumento na densidade dérmica e na espessura da pele depois de quatro semanas de tratamento. Mais uma vez o aumento da densidade dérmica exibida pelo grupo tratado com LACCE (5,466 %) foi maior que a expressa pelo grupo placebo (3,118 %), após as quatro semanas. A espessura da pele também mostrou um aumento mais proeminente com LACCE (10,192 %) do que com placebo (4,829 %). Surpreendentemente, 90,476 % dos voluntários apresentaram um forte aumento na densidade dérmica e 100% na espessura da pele, depois de quatro semanas de tratamento com LACCE. Por fim, o levantamento facial foi avaliado. Ambas as amostras exibiram uma diminuição no *lifting* facial, mas, novamente, a redução do *lifting* facial foi mais relevante no grupo tratado com LACCE (2,541 %) do que no placebo (0,437 %). A proporção de voluntários que mostraram uma diminuição no *lifting* facial com LACCE (85,714 %) também foi maior que os que utilizaram placebo (57,142 %). Todos os resultados obtidos indicam que o LACCE possui potencial atividade antienvhecimento, devido ao seu poder antioxidante e seus efeitos na melhora dos tecidos faciais e cutâneos.

Além da avaliação *in vitro* do potencial antioxidante do extrato de *Artemisia iwayomogi*, também foi realizado um ensaio *in vivo* para avaliar o potencial antienvhecimento. Para o estudo clínico, 21 mulheres voluntárias com 30 a 50 anos de idade, que começaram a desenvolver rugas ou já apresentavam rugas, foram convocadas. Neste ensaio um adesivo de controle foi aplicado no canto do olho esquerdo, já o creme contendo 1% (m/v) da fração aquosa de *Artemisia iwayomogi* foi aplicado no canto direito do olho direito. Como controle, foi utilizado o creme sem adição da fração aquosa de *Artemisia iwayomogi*. Para avaliar os resultados, os dois lados (esquerdo e direito) foram analisados, a 2 cm de distância do canto externo do olho. Cinco critérios foram avaliados usando um visiómetro de pele: rugosidade da pele (R1), rugosidade máxima (R2), rugosidade média (R3), profundidade (R4) e rugosidade média aritmética (R5). Após 8 semanas de uso do creme com 1% (m/v) da fração aquosa de *Artemisia iwayomogi*, todos os parâmetros analisados reduziram significativamente em comparação ao controle, indicando que a fração aquosa de *Artemisia iwayomogi* possui efeito antienvhecimento expressivo.

Após verificar o potencial anti-rugas do TA-III *in vitro*, um estudo clínico *in vivo* foi realizado. Inicialmente, foi efetuado um teste de segurança da substância aplicada na pele, com 30 indivíduos com idade média de $42,1 \pm 5,2$ anos. Para esse teste um adesivo 0,25% (m/v) de TA-III foi aplicado como uma solução teste, lauril sulfato de sódio (SLS) 0,5% (m/v) foi utilizado como controle positivo e o Squalene como controle negativo. O adesivo, contendo 20 μ L da solução teste, ficou aplicado na área testada por 48 h. Após a remoção do adesivo, cada área de teste foi visualizada depois de 30 minutos e 24 h. Nenhuma reação cutânea foi observada com a solução teste durante o período de estudo. Para o ensaio clínico anti-rugas, 21 mulheres com idades entre 43 e 55 anos, que estavam começando a formar rugas ou já as haviam formado, foram recrutadas. O produto contendo 0,25% (m/v) de TA-III foi aplicado na região em torno dos olhos, duas vezes ao dia, por 12 semanas. A avaliação da pele foi realizada através da análise de cinco parâmetros de rugas: rugosidade da pele (Rt), rugosidade máxima (Rm), rugosidade média (Rz), profundidade de suavidade (Rp) e rugosidade média aritmética (Ra), através de equipamento de análise das características da pele. Os resultados indicaram que as rugas ao redor dos olhos foram notavelmente reduzidas depois de 8 e 12 semanas no grupo teste ($p < 0,01$), já no grupo controle, a melhora das rugas foi somente observada após 12 semanas ($p < 0,01$). Quando comparado com o grupo controle, o grupo teste (TA-III) apresentou redução significativa das rugas depois de 12 semanas ($p < 0,01$). Quanto aos parâmetros de rugas da pele, o Rt, Rm e Ra foram consideravelmente reduzidos depois de 4, 8 e 12 semanas de aplicação do produto teste, no entanto Rz foi notavelmente menor após 8 e 12 semanas de uso do produto e Rp foi significativamente reduzido depois de 12 semanas de uso do produto teste. No grupo controle, Rt, Rm e Rz foram expressamente reduzidos após 8 e 12 semanas. O grupo teste, quando comparado ao grupo controle, teve a Rt significativamente reduzida depois de 4, 8 e 12 semanas de uso do produto. Os parâmetros Rm, Rz e Ra só apresentaram melhoras significativas no grupo teste, em comparação com o grupo controle, depois de 12 semanas aplicando o produto.

Ao final da avaliação clínica de 4, 8 e 12 semanas, os voluntários foram instruídos a preencher um questionário de eficácia do produto, e, depois das 12 semanas de estudo, os participantes também preencheram um questionário de usabilidade do produto. Os resultados exibiram que 76% dos indivíduos do grupo teste e 86% dos participantes do grupo controle confirmaram o aumento da umidade da pele e melhora da suavidade da pele depois de 8 e 12 semanas. Enquanto 48% dos voluntários do grupo teste e 62% do grupo controle afirmaram melhora do brilho da

pele, melhoria da elasticidade da pele e diminuição das rugas da pele após 8 e 12 semanas, entretanto esses resultados não constituíram uma diferença significativa (Im et al., 2019).

Majeed et al. (2020), mencionado anteriormente, também pesquisaram o efeito antienvelhecimento do pterostilbeno em ensaio *in vivo*, 38 indivíduos com idades entre 38 e 55 anos, com pele Fitzpatrick tipos III a V, apresentando linhas finas e rugas visíveis na região periorbital (pés de galinha sob os olhos), testa e problemas de envelhecimento da pele foram selecionados. O objetivo do estudo clínico proposto foi verificar a eficácia do pterostilbeno no clareamento da pele, na melhora da hidratação e avaliar a eficácia na redução de linhas finas, rugas e elasticidade da pele. A avaliação do clareamento foi executada durante 4 semanas e os critérios antienvelhecimento por 8 semanas através de avaliação dermatológica, avaliação não invasiva com instrumento e avaliação por imagem. O braço interno superior dos participantes foi utilizado como controle para as avaliações de clareamento. O produto teste foi um creme contendo 0,4 % (m/v) de extrato natural de pterostilbeno a 90%. A avaliação dermatológica para eficácia foi realizada utilizando um questionário de avaliação dermatológica, que foi registrada no tempo 0 e nas semanas 2, 4 e 8. Os parâmetros avaliados foram: uniformidade do tom da pele, textura da pele, firmeza/elasticidade da pele, escala de classificação dos pés de galinha na face sob os olhos, linhas de expressão e dobras nasolabiais. A avaliação de segurança foi executada através da avaliação dermatológica, baseada no surgimento de eritema, secura, edema, urticária e reações alérgicas durante o estudo clínico.

O creme contendo extrato de pterostilbeno mostrou melhorar significativamente a luminosidade da pele, na região da testa após 4 semanas e na região das bochechas após 2 e 4 semanas de uso, em comparação com a linha base. Além disso, a aplicação do produto teste, melhorou notavelmente a hidratação, a elasticidade bruta, a amplitude máxima e a elasticidade líquida da pele em todos os períodos, quando comparado à semana inicial, enquanto a viscoelasticidade apresentou melhora significativa na oitava semana em comparação com a linha base. Também foi observado uma redução considerável na aspereza, nas linhas finas e nas rugas médias e grandes da pele depois de 4 e 8 semanas aplicando o creme, comparado ao tempo 0. Segundo a avaliação dermatológica, houve uma melhora significativa na lisura da pele da testa e bochechas na quarta semana, entretanto não houve nenhuma mudança significativa na uniformidade do tom de pele e na elasticidade. Uma melhora relevante também foi observada na textura da pele a partir da segunda semana de estudo e na área dos pés de galinha após 8 semanas,

comparado com a linha base, porém nas dobras nasolabiais nenhuma mudança considerável foi observada. As linhas de expressão também apresentaram mudanças significativas depois de 8 semanas de uso do produto em comparação com a linha de base. Também foi verificado uma melhoria expressiva na linha fina sob os olhos a partir da segunda semana de aplicação do creme teste, quando comparado à linha de base. O creme contendo pterostilbeno não ocasionou nenhuma irritação da pele ou eventos adversos durante o período de estudo, portanto pode-se considerar que o uso do creme de pterostilbeno, duas vezes ao dia, por 8 semanas, é seguro e bem tolerado. Os resultados obtidos no estudo de Mejeed et al. (2020), indicam que o pterostilbeno é uma molécula segura e eficaz na redução dos sinais de envelhecimento da pele.

Conclusão:

Espera-se que até 2025 o mercado antienvelhecimento represente mais de 303 bilhões de dólares em vendas em todo o mundo (P&S Intelligence Reports, 2018). Nos últimos vinte anos, a pesquisa sobre o envelhecimento da pele aumentou exponencialmente visando determinar os mecanismos relacionados a essas alterações na pele e para explorar novas abordagens para o tratamento dessas preocupações dermatológicas (Helfrich et al., 2008).

Nesse trabalho foi abordada a capacidade antioxidante de extratos de origem vegetal, pois tal atividade é fortemente associada a estratégias antienvelhecimento. Entretanto os extratos de plantas também se mostraram efetivos por apresentar outros mecanismos relacionados ao retardo do envelhecimento cutâneo, como inibição de enzimas importantes, como elastase e colagenase, aumento da produção de colágeno e da hidratação da pele e inibição da atividade inflamatória. A eficácia apresentada pelos diferentes extratos vegetais e seus compostos isolados, foi avaliada através de ensaios *in vitro* e *in vivo*, sendo que a maioria dos extratos/ substâncias estudadas apresentavam atividade com potencialidade antienvelhecimento associada a dois ou mais mecanismos diferentes (Tabela 3), todos com resultados promissores no retardo do envelhecimento cutâneo.

A partir dessa revisão pode-se concluir que a ação antienvelhecimento dos extratos e seus compostos isolados, estão associados principalmente com a riqueza de flavonóides presentes nos mesmos. Os flavonóides são polifenóis presentes nos vegetais que, devido a sua estrutura, são capazes de sequestrar radicais livres e exercer uma atividade antioxidante (Alves et al., 2007) importante na desaceleração

do envelhecimento cutâneo. Além disso, a atividade antienvelhecimento não foi relacionada a nenhuma família botânica específica, pois a redução dos sinais do envelhecimento ocorreu frente a extratos de variadas espécies vegetais, impossibilitando uma associação direta entre a atividade e a família botânica.

Alguns trabalhos avaliaram a citotoxicidade *in vitro* dos extratos e substâncias isoladas quando aplicados em células da pele, como fibroblastos e queratinócitos, e nenhum destes produtos induziu diminuição significativa na viabilidade celular. Alguns autores também avaliaram *in vivo* se os produtos desencadeavam resposta alérgica e também não detectaram nenhuma reação relevante.

Portanto essa revisão elucidou como os extratos vegetais e seus compostos isolados podem atuar na prevenção do envelhecimento da pele e, desse modo, a possibilidade de aplicação dos mesmos como ingredientes cosméticos seguros e eficazes.

Tabela 3– Mecanismos antienvhecimento apresentados pelos extratos vegetais e substâncias isoladas estudados

Extrato vegetal/Composto Isolado	Mecanismos Antienvhecimento
<i>Ginkgo biloba</i>	Antioxidante + Inibição enzimática
<i>Cassia fistula</i>	Antioxidante + Produção de colágeno + Hidratação da pele
<i>Pyrus pyrifolia</i>	Antioxidante + Inibição enzimática + Produção de colágeno
Batata-doce roxa	Antioxidante + Inibição enzimática + Produção de colágeno + Inibição da atividade inflamatória
Panícula de arroz de jasmim	Antioxidante + Inibição enzimática
Erjingwan	Antioxidante + Inibição enzimática
<i>Leontopodium alpinum</i>	Antioxidante + Inibição enzimática + Promoção da hidratação + Inibição da atividade inflamatória
<i>Z. cassumunar</i>	Antioxidante + Produção de colágeno + Inibição da atividade inflamatória
<i>Dendrobium loddigesii</i>	Antioxidante + Produção de colágeno
<i>Ocimum sanctum</i>	Antioxidante + Inibição enzimática + Inibição da atividade inflamatória
7,8-di-hidroxi-flavona	Antioxidante + Produção de colágeno
Galato de epilocatequina 3 (<i>Camelia sinensis</i>)	Antioxidante
<i>Artemisia iwayomogi</i>	Antioxidante
Timosaponina A-III (<i>Anemarrhena asphodeloides</i>)	Inibição enzimática
<i>Thamnia vermicularis</i> (vermicularina + β -sitosterol)	Inibição enzimática + Promoção da hidratação
<i>Kochia scoparia</i> + <i>Rosa multiflora</i>	Inibição enzimática
<i>Pterocarpus marsupium</i>	Inibição enzimática

Referências bibliográficas:

- SADICK, N; KARCHER, C; PALMISANO, L. Cosmetic dermatology of the aging face. Clinics in Dermatology, New York, v.27, p. S3-S12, 2009. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2008.12.003
- ZOUBOULIS, C. et al. Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. Clinics in Dermatology, Dessau, v. 37, p. 365-372, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2019.04.002>
- LEPHART, E. Skin aging and oxidative stress: Equol's anti-aging effects viabiochemical and molecular mechanisms. Ageing Research Reviews, Provo, v. 31, p. 36-54, ago. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2016.08.001>
- OTUKI, Michel Fleith. Atividade antiinflamatória tópica de extratos e triterpenos isolados de *Protium kleinii*. 2004. Tese (Doutorado em Farmacologia) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.
- BARBOSA, Fernanda de Souza. Modelos de impedância de ordem fracional para a resposta inflamatória cutânea. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biomédica) – Faculdade de Engenharia Biomédica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.
- COSTA, Edna Márcia Almeida. Extratos de plantas da Amazônia como inibidores de tirosinase, elastase e hialuronidase. Relatório final PIB-S/0021/2011 – Programa Institucional de Iniciação Científica, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2012.
- CASTRO, E.; MENSCH, M. Envelhecimento facial: efeito da radiofrequência nas linhas e rugas de expressões. Revista Saber Científico, Porto Velho, v.6, n. 2 – jan/dez. 2017.
- OLIVEIRA, Ângela Zélia Moreira de. Desenvolvimento de formulações cosméticas com ácido hialurônico. 2009. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Farmacêutica) – Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, 2009.
- NUNES, S. et al. Avaliação da atividade anti-inflamatória *in vitro* de um produto de administração oral contendo peptídeos de colágeno, delphinol® vitamina C e *hibiscus*. Surg Cosmet Dermatol, Rio de Janeiro, v. 10, n. 3, p.27-32, jul-set. 2018. DOI: <http://www.dx.doi.org/10.5935/scd1984-8773.201810311004>
- CÂMARA, Vivianne Lira da. Anatomia e fisiologia da pele. **Medicinanet**, 2009. Disponível em: http://www.medicinanet.com.br/conteudos/revisoes/2054/anatomia_e_fisiologia_da_pele.htm?ancor=142544>. Acesso em 08 de junho de 2020.
- NICOLETTI, Maria A.; ORSINE, Eliane M. de A.; DUARTE, Ana C. N.; BUONO, Gabriela A. Hiperpigmentações: Aspectos gerais e uso de despigmentantes cutâneos. Cosmetics & Toiletries, São Paulo, vol. 14, p. 46-51, mai/jun. 2002
- GIARDINA, S; MICHELOTTI, A; ZAVATTINI, G; FINZI, S; GHISALBERTI, C; MARZATICO, F. Studio d'efficacia *in vitro*: valutazione dell'influenza di resveratrolo e resveratrolo + N-acetil-cisteina sulla proliferazione cellulare e sull'inibizione della collagenasi. Minerva ginecologica, vol. 62, n. 3, pag. 195 - 201, 2010.

THRING, Tamsyn SA; HILI, Pauline; NAUGHTON, Declan P. Anti-collagenase, antielastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2009, 9:27 doi:10.1186/1472-6882-9-27.

JACKSON, John K.; ZHAO, Jinying; WONG, Wesley; BURT, Helen M. The inhibition of collagenase induced degradation of collagen by the galloyl-containing polyphenols tannic acid, epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *J Mater Sci: Mater Med*, v. 21, p. 1435–1443, 2010

OLIVEIRA, Karina Bora de. Determinação do ácido rosmarínico em *Salvia officinalis* L., Lamiaceae, e avaliação de sua toxicidade e influência na melanogênese. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

SUMANTRAN, V. N.; KULKARNI, A. A.; HARSULKAR, A.; WELE, A.; KOPPIKAR, S. J.; CHANDWASKAR, R.; GAIRE, V.; DALVI, M.; WAGH, U. V. Hyaluronidase and collagenase inhibitory activities of the herbal formulation *Triphala guggulu*; *J. Biosci*, v. 32, p. 755–761, 2007.

HARRIS, Maria Inês Nogueira de Camargo; Maria Edwiges Hoffmann; Adriane Cruvinel. *Pele: Estrutura, Propriedades e Envelhecimento*. 3ª Ed. São Paulo: Editora Senac, 2009.

Minciullo PL, Catalano A, Mandraffino G, Casciaro M, Crussitti A, Malttese G. Inflammaging and Anti- Inflammaging: The Role of Cytokines in Extreme Longevity. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, v. 64(2), p. 111-26, 2016.

Fishman D, Faulds G, Jeferry R, Mohamed-al V, Yudkin JS, Humphries S, et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J Clin Invest.*, v. 102(7), p. 1369-76, 1998.

WANG, X. et al., *In vitro* anti-aging activities os Ginkgo biloba leaf extract and its chemical constituents. *Food Science and Technology*, Campinas, v. 42, n. 2, p. 476-482, Abr-Jun. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.02219>

LIMTRAKUL, P. et al. Anti-aging and tyrosinase inhibition affects of *Cassia fistula* flower butanolic extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Chiang Mai, nov. 2016. DOI: 10.1186/s12906-016-1484-3

KIM, H.; PARK, J. Anti-aging activities os *Pyrus pyrifolia* var culta plant callus extract. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, Benin City, v. 16, n. 7, p. 1579-1588, Jul. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v16i7.16>

ZHI, Q. et al. The anthocyanin extracts from purple-fleshed sweet potato exhibited antiphotaging effects on ultraviolet B-irradiated BALB/c-nu mouse skin. *Journal of Functional Foods*, Chongqing, v. 62, out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103640>

KANLAYAVATTANAKUL, M.; LOURITH, N.; CHAIKUL, P. Jasmine rice panicle: A safe and eficiente natural ingrediente for skin aging treatments. *Journal of Ethnopharmacology*, Chiang Rai, v. 193, p. 607-616, out. 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.013>

ZHONG, H. et al. Erjingwan Extracts Exert Antiaging Effects of Skin through Activating Nrf2 and Inhibiting NF- κ B. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Shanghai, v. 2019, mai. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/5976749>

CHO, W. et al. Anti-Aging Effects of *Leontopodium alpinum* (Edelweiss) Callus Culture Extract through Transcriptome Profiling. Genes, Seoul, v. 11, n. 230, fev. 2020. DOI: 10.3390/genes11020230

LI, M.; BAI, X. et al. Cosmetic potentials of extracts and compounds from *Zingiber cassumunar* Roxb. rhizome. Industrial Crops & Products, Kunming, v. 141, set. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111764>

MA, R.; YANG, L. et al. Phenolic Constituents with Antioxidative, Tyrosinase Inhibitory and Anti-aging Activities from *Dendrobium loddigesii* Rolfe. Natural Products and Bioprospecting, v. 9, p. 329–336, out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13659-019-00219-y>

CHAIYANA, W. et al. *Ocimum sanctum* Linn. as a natural source of skin anti-ageing compounds. Industrial Crops & Products, Chiang Mai, v. 127, p. 217-224, out. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.081>

CHOI, J.; LEE, J.; PARK, Y. 7,8-Dihydroxyflavone attenuates TNF- α -induced skin aging in Hs68 human dermal fibroblast cells via down-regulation of the MAPKs/Akt signaling pathways. Biomedicine & Pharmacotherapy, Gyeonggi-do, v. 95, p. 1580-1587, set. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.098>

CHEN, J. et al. Anti-skin-aging effect of epigallocatechin gallate by regulating epidermal growth factor receptor pathway on aging mouse model induced by d-Galactose. Mechanisms of Ageing and Development, Kunming, v. 164, p. 1-7, mar. 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2017.03.007>

KIM, K. et al. *In vitro* and *in vivo* anti-aging effects of compounds isolated from *Artemisia iwayomogi*. Journal of Analytical Science and Technology, Yongin, v. 10:35, out. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40543-019-0193-1>

IM, A. et al. Clinical evaluation of the safety and efficacy of a timosaponin A-III-based antiwrinkle agent against skin aging. Journal of Cosmetic Dermatology, Daejeon, v. 19, p. 423-436, mai. 2019. DOI: 10.1111/jocd.13035

YU, H. et al. The protective effects of β -sitosterol and vermicularin from *Thamnia vermicularis* (Sw.) Ach. against skin aging *in vitro*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, Shanghai, v. 91, n. 4, dez. 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201920181088>

JEON, H. et al. A Mixture of Extracts of *Kochia scoparia* and *Rosa multiflora* with PPAR γ /Dual Agonistic Effects Prevents Photoaging in Hairless Mice. International Journal of Molecular Sciences, Wonju, v. 17, nov. 2016. DOI: 10.3390/ijms17111919

MAJEED, M. et al. An Open-Label Single-Arm, Monocentric Study Assessing the Efficacy and Safety of Natural Pterostilbene (*Pterocarpus marsupium*) for Skin Brightening and Antiaging Effects. Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology, Bangalore, v. 13, p. 105-116, 2020. DOI: <http://doi.org/10.2147/CCID.S238358>

- KIM, Y. et al. Effect of red ginseng NaturalGEL on skin aging. *Journal of Ginseng Research*, Cheongju, v. 44, p. 115-122, set. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.09.006>
- GONZAGA, E.R., 2009. Role of UV light in photoaging, skin aging, and skin cancer. *Am. J. Clin. Dermatol.* 10 (Suppl. 1), 19–24.
- KAMMEYER, A., Luiten, R.M., 2015. Oxidative events and skin aging. *Ageing Res. Rev.* 21, 16–29. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2015.01.001>
- NATARAJAN, V.T., GANJU, P., RAMKUMAR, A., Grover, R., Gokhale, R.S., 2014. Multifaceted pathways protect human skin from UV radiation. *Nat. Chem. Biol.* 10, 542–551. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nchembio.1548>
- RITTIE, L., FISHER, G.J., 2002. UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Res. Rev.* 1, 705–720.
- ZOUBOULIS, C.C., MAKRANTONAKI, E., 2011. Clinical aspects and molecular diagnostics of skin aging. *Clin. Dermatol.* 29, 3–14. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2010.07.001>
- ELSNER, P., MAIBACH, H.I., 2000. *Cosmeceuticals: Drugs vs. Cosmetics*. Marcel Dekker, New York.
- NICHOLS, J.A., KATIYAR, S.K., 2010. Skin photoprotection by natural polyphenols: antiinflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Arch. Dermatol. Res.* 302, 71–83.
- MUKHERJEE, P.K., MAITY, N., NEMA, N.K., SARKAR, B.K., 2011. Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine* 19, 64–73.
- WU, H., GUO, H. e ZHAO, R., 2006. “Effect of Lycium barbarum polysaccharide on the improvement of antioxidant ability and DNA damage in NIDDM rats,” *Yakugaku Zasshi*, vol. 126, no. 5, pp. 365–371.
- WANG, Y., WU, X. e ZHANG, G., 2011. Experimental study on anti-oxidative effect of Polygonatum Polysaccharides in rats. *Chinese Modern Doctor*, vol. 49, no. 6.
- LI, Y., CHENG, W., DENG, H. e ZHANG, P., 2008. Effects of polygonatum polysaccharide on telomerase activity in brain and gonad of App transgenic mice. *Chinese New Drugs and Clinical Remedies*, vol. 27, pp. 844–846.
- TILSTRA, J. S., ROBINSON, A. R., WANG, J. et al., 2012. NF- κ B inhibition delays DNA damage–induced senescence and aging in mice. *e Journal of Clinical Investigation*, vol. 122, no. 7, pp. 2601–2612.
- SOMWONGIN, S., CHANTAWANNAKUL, P., CHAIYANA, W., 2018. Antioxidant activity and irritation property of venoms from Apis species. *Toxicon.* 145, 32–39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.02.049>
- SÁNCHEZ-CAMPILLO, M. *et al.*, 2009. Rosmarinic acid, a photoprotective agent against UV and other ionizing radiations. *Food Chem. Toxicol.* 47 (2), 386–392. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.026>
- KIM, J., KIM, M., YUN, J. G., & HWANG, J., 2017. Protective effects of standardized

Siegesbeckia glabrescens extract and its active compound kirenol against UVB-induced photoaging through inhibition of MAPK/NF-kappa B pathways. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, V. 27, p. 242–250.

KIM, S. *et al.*, 2013. Anti-wrinkle and anti-inflammatory effects of active garlic components and the inhibition of MMPs via NF-κB signaling. *PloS One*, V. 8, e73877.

SUN, Z. *et al.*, 2016. Dietary *Foeniculum vulgare* Mill extract attenuated UVB irradiation-induced skin photoaging by activating of Nrf2 and inhibiting MAPK pathways. *Phytomedicine*, V. 23, p. 1273–1284.

MAN, M. *et al.*, 2006. Basis for improved permeability barrier homeostasis induced by PPAR and LXR activators: Liposensors stimulate lipid synthesis, lamellar body secretion, and post-secretory lipid processing. *J. Investig. Dermatol.* V. 126, p. 386–392.

AN, S.M. *et al.*, 2010. p-Coumaric acid not only inhibits human tyrosinase activity in vitro but also melanogenesis in cells exposed to UVB. *Phytother. Res.* 24, p. 1175–1180.

CHOI, S.W. *et al.*, 2007. Antioxidant and antimelanogenic activities of polyamine conjugates from corn bran and related hydroxycinnamic acids. *J. Agric. Food Chem.* V. 55, p. 3920–3925.

KAMMEYER, A. e LUITEN, R.M., 2015. Oxidation events and skin aging. *Ageing Res. Rev.* 21, p. 16–29.

MAURYA R, *et al.*, 2004. Constituents of *Pterocarpus marsupium*: an ayurvedic crude drug. *Phytochemistry* V. 65, p. 915–920. DOI: 10.1016/j.phytochem.2004.01.021

PINTO M. e MORAES CT., 2015. Mechanisms linking mtDNA damage and aging. *Free Radic Biol Med* v. 85, p. 250–258. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.05.005

YIM S. *et al.*, 2019. Chrysanthemum morifolium extract and ascorbic acid-2-glucoside (AA2G) blend inhibits UVA-induced delayed CyclobutanePyrimidineDimer (CPD) production in melanocytes. *Clin Cosmet Investig Dermatol* V. 12, p. 823–832. DOI: 10.2147/CCID.S223802

LI J. *et al.*, 2010. Aquaporin-3 gene and protein expression in sun-protected human skin decreases with skin ageing. *Australas J Dermatol* v. 51, n 2, p. 106-112.

PAPAKONSTANTINOOU E. *et al.*, 2012. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol* v. 4, n. 3, p. 253-258.

CHA HJ. *et al.*, 2016. Intercellular and intracellular functions of ceramides and their metabolites in skin. *Int J Mol Med* v. 38, p. 16-22.

HOSTE E. *et al.*, 2011. Caspase-14 is required for filaggrin degradation to natural moisturizing factors in the skin. *J Invest Dermatol* v. 131.

WAGENER, F. A. D. T., CARELS, C. E. e LUNDTVIG, D. M. S. (2013). Targeting the redox balance in inflammatory skin conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 14, p. 9126–9167.

JIANG, W.L. *et al.*, 2009. Rosmarinic acid protects against experimental sepsis by inhibiting proinflammatory factor release and ameliorating hemodynamics. *Shock* v. 32, n. 6, p. 608–613. DOI: <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e3181a48e86>.

VOSTÁLOVÁ, J. *et al.*, 2010. Prunella vulgaris extract and rosmarinic acid prevent UVB-induced DNA damage and oxidative stress in HaCaT keratinocytes. *Arch. Dermatol. Res.* v. 302, n. 3, p. 171–181. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00403-009-0999-6>

P&S Intelligence Reports, 2018. Anti-Aging Market Overview Report. Report Code: LS10343.

HELFRICH, Y.R., SACHS, D.L., VOORHEES, J.J., 2008. Overview of skin aging and photoaging. *Dermatol. V.* 20, n. 3, p. 177.

RATNASOORIYA, W.D., ABEYSEKERA, W.P.K.M., RATNASOORIYA, C.T.D., 2014. In vitro antihyaluronidase activity of Sri Lankan low grown orthodox orange pekoe grade black tea (*Camellia sinensis* L.) *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* v. 4, n. 12, p. 959–963.

DE WET, H., NCIKI, S., VAN VUUREN, S.F., 2013. Medicinal plants used for the treatment of various skin disorders by a rural community in northern Maputaland, South Africa. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* v. 9, p. 51–61. DOI: <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-51>.

MUKHERJEE, P.K., MAITY, N., NEMA, N.K., SARKAR, B.K., 2011. Phytomedicine bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Eur. J. Integr. Med.* v. 19, p. 64–73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.10.003>.

ALVES, C. Q. *et al.*, 2007. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. *Diálogos e ciência – Revista da rede de Ensino FTC*, ano V, n. 12.