

Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo

Lilian Lúcio HIRATA; Mayumi Eliza Otsuka SATO* e Cid Aimbiré de Moraes SANTOS

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Farmácia, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Brasil. Av. Prefeito Lothário Meissner, 3400, Campus Jardim Botânico-UFPR, Curitiba, Paraná, Brasil, CEP: 80210-170

RESUMO. Durante o envelhecimento cronológico cutâneo, ocorre a modificação do material genético e a proliferação celular decresce resultando na perda de elasticidade, da capacidade de regular o metabolismo e a replicação do tecido se torna menos eficiente. Oxidações químicas e enzimáticas envolvendo a formação de radicais livres aceleram esse fenômeno, gerando estresse oxidativo, cujo maior dano é a peroxidação dos ácidos graxos da dupla camada lipídica levando à morte celular. Para evitar esse processo, a pele possui seu próprio mecanismo de defesa. Entretanto, a capacidade protetora desse mecanismo diminui com o envelhecimento e compostos exógenos podem reforçar a proteção natural. Este artigo tem por objetivo revisar esses mecanismos de senescência e de ampliar a visão geral do profissional farmacêutico ajudando-o a desenvolver pesquisas que visem a prevenção do envelhecimento precoce cutâneo.

SUMMARY. "Cutaneous Ageing and Free Radicals". During the chronological cutaneous aging, modifications on the genetic material and cellular proliferation decreases result on lossing of elasticity and in the ability to regulate metabolism. Also, tissue replications become less efficient. Oxidations from chemical and enzymatic reactions involving the formation of free radicals accelerate this phenomenon, generating an oxidative stress. Peroxidation of fatty acids of the double lipid layer is one of the main damage, resulting on cellular death. In order to prevent oxidative stress, the skin has its own defense mechanism. However, the protective ability of this mechanism decreases with aging, and exogenous compounds may enhance this natural protection. The aim of this article is to review these senescence mechanisms and to amplify the general view of pharmacists, helping them to develop researches for prevention of cutaneous aging.

INTRODUÇÃO

A pele é um órgão complexo no qual interações celulares e moleculares reguladas de modo preciso governam muitas das agressões provindas do meio ambiente. É constituída por vários tipos de células interdependentes responsáveis pela manutenção da sua estrutura normal.

Com o envelhecimento cronológico cutâneo, ocorre a modificação do material genético por meio de enzimas, alterações proteicas e a proliferação celular decresce. Conseqüentemente, o tecido perde a elasticidade, a capacidade de regular as trocas aquosas e a replicação do tecido se torna menos eficiente. Oxidações químicas e enzimáticas envolvendo a formação de radicais

livres (RL) aceleram esse fenômeno de envelhecimento.

Os RL são espécies químicas constituídas de um átomo ou associação dos mesmos, possuindo um elétron desemparelhado na sua órbita mais externa. Essa situação implica em alta instabilidade energética e cinética, e para se manterem estáveis precisam doar ou retirar um elétron de outra molécula. A formação de RL conduz ao estresse oxidativo, processo no qual estes iniciarão uma cadeia de reações, originando alterações em proteínas extracelulares e a modificações celulares. O maior dano causado pelo estresse oxidativo é a peroxidação dos ácidos graxos constituintes da dupla camada lipídica

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidantes, Envelhecimento cutâneo, Óxido nítrico, Radicais livres.
KEY WORDS: Antioxidants, Cutaneous aging, Free radicals, Nitric oxide.

* Autor para correspondência. E-mail: mayumi@ufpr.br

que, em última instância, leva à morte celular.

Para evitar esse processo de depleção celular, a pele possui seu próprio mecanismo de defesa tais como: enzimas, vitaminas e agentes quelantes de íons metálicos. Entretanto, a capacidade protetora desse mecanismo diminui com o envelhecimento, então, compostos exógenos como enzimas, antioxidantes e compostos fenólicos reforçam a proteção natural pela limitação das reações oxidativas.

ASPECTOS GERAIS DO ENVELHECIMENTO CUTÂNEO

Dois grupos de teorias tentam explicar o complexo processo do envelhecimento. O primeiro grupo inclui as teorias que postulam um determinado programa genético e cronológico para a gradual mudança no fenótipo. O segundo grupo assume a exposição repetitiva às influências danosas, as quais são a explicação para as mudanças que levam ao envelhecimento¹⁻³.

O envelhecimento cronológico (intrínseco) afeta a pele de maneira similar a outros órgãos^{4,5}. Devido à deficiências durante a replicação do DNA, os telômeros continuamente perdem parte de suas seqüências, e supõe-se que esta perda seja um fator de limitação para a capacidade replicativa celular, e um mecanismo de contagem - o relógio interno do envelhecimento. Porém, as principais mudanças na pele, relacionadas ao envelhecimento, são as alterações da matriz e mudanças no padrão da expressão dos fibroblastos que, na derme, permanecem em fase estacionária por um longo período de tempo e somente precisam proliferar quando existe estimulação, não ocorrendo o encurtamento dos telômeros. Os fatores derivados dos fibroblastos são essenciais para o normal crescimento e diferenciação dos queratinócitos, sendo, estes sim, afetados pela perda telomérica^{2,3}. Sobrepondo-se à esse processo inato, o envelhecimento extrínseco está relacionado a danos ambientais, principalmente à indução por raios ultravioleta no tecido conectivo dérmico da pele por exposição solar crônica (fotoenvelhecimento), o qual é responsável por 90% das mudanças que ocorrem na pele^{2,5,6}.

Há evidências que esses processos de envelhecimento, intrínseco e extrínseco, possuem mecanismos biológicos, bioquímicos e moleculares, em parte sobrepostos. Mudanças celulares como alterações qualiquantitativas das proteínas da matriz extracelular estão envolvidas, resultan-

do na perda da capacidade de retração e do poder tensor com a formação de rugas, aumento da fragilidade e diminuição da cicatrização de feridas^{2,5}. A pele torna-se mais fina, pálida, seca e há um aumento de rugas. O sistema superficial capilar torna-se visível, desordens pigmentares aparecem, a pele perde a firmeza e as suas propriedades mecânicas. Células cutâneas se proliferam na epiderme dando aparência irregular. Há menos colágeno e fibras elásticas, resultando na diminuição da elasticidade da pele. Os fibroblastos e os queratinócitos se reproduzem mais lentamente. A função de barreira da pele é diminuída e o sistema de defesa da pele é menos eficiente, pois as células de Langerhans são exauridas e as que restam são menos ativas. A atividade do fibroblasto é diminuída, com síntese lenta de colágeno, o qual sofre ligação cruzada pela glicose no fenômeno da glicação (Fig. 1)⁷.

Além disso, com esse processo de envelhecimento há um decréscimo geral no número de folículos pilosos da região corporal, e atrofia e fibrose dos mesmos. Em adição, têm sido descrito um acréscimo do número de folículos pilosos na fase telogênica do ciclo celular do pêlo¹⁰.

O número de glândulas sebáceas permanece aproximadamente o mesmo durante toda a vida, enquanto que o tamanho tende a aumentar com a idade. As diferenças na secreção sebácea, nos vários tempos de vida, estão associadas com mudanças concomitantes na produção de androgênios. Níveis reduzidos de androgênios levam à um decréscimo da renovação celular em glândulas sebáceas envelhecidas da face, resultando em hiperplasia glandular na velhice. O fotoenvelhecimento está associado ao desenvolvimento de tumores sebáceos benignos e malignos^{6,9}.

ESTRESSE OXIDATIVO E RADICAIS LIVRES

A teoria de que o envelhecimento é resultado de danos causados por radicais livres é creditada a Denham Harman que, em 1956, baseou-se na observação de que a irradiação em seres vivos levava à indução da formação de radicais livres, os quais diminuía o tempo de vida desses seres e produziam mudanças semelhantes ao envelhecimento¹¹. De acordo com esta teoria, o lento desenvolvimento de danos celulares irreversíveis leva ao envelhecimento¹.

Oxidações químicas e enzimáticas envolvendo a formação de radicais livres aceleram o fenômeno do envelhecimento por danos ao

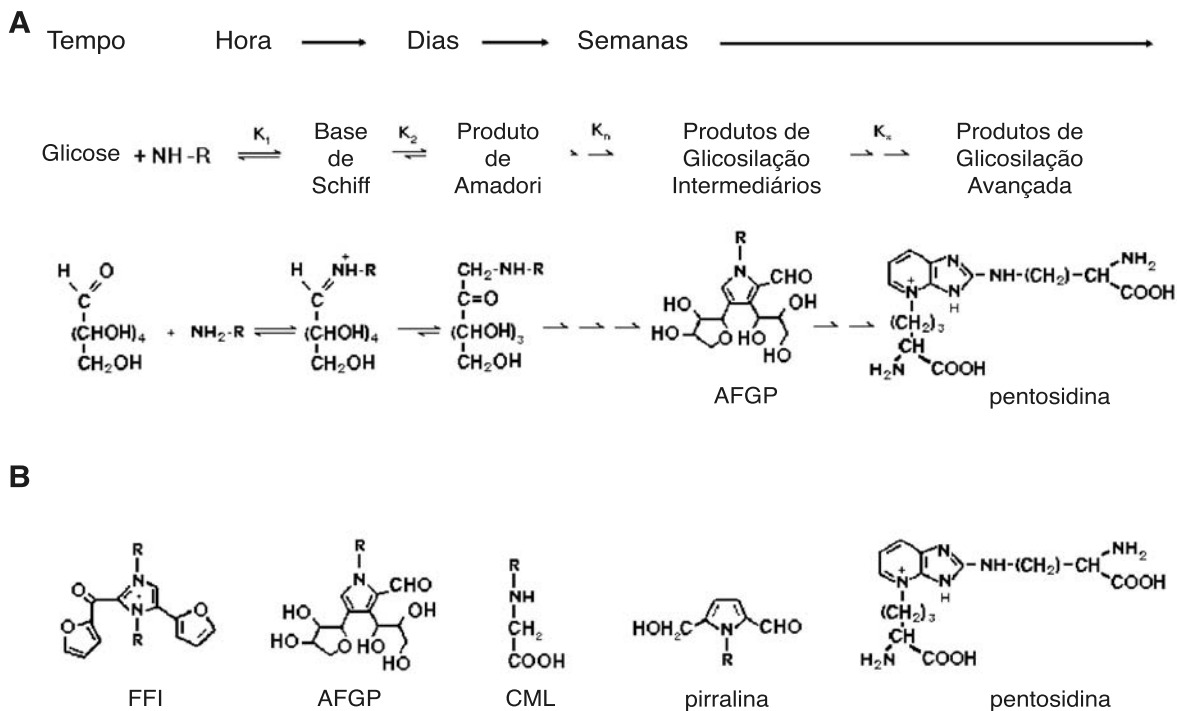


Figura 1. (A) Reações de glicação com formação de produtos finais de glicação avançada e (B) algumas estruturas dos produtos finais de glicação, onde: FFI = 2-(2-furoil)-4(5)-furanil-1-*H*-imidazol, AFGP = 1-alkil-2-formil-3,4-diglicosil pirrol, CML = carboximetil lisina ⁸.

DNA e por atuarem na desidrogenação, hidroxilação e na glicação proteica. A última reação envolve a perda das funções biológicas de proteínas, como o colágeno e proteoglicanas, que resultam em alterações da estrutura da membrana e aumento da flacidez da pele ¹².

A fonte desses RL pode ser endógena, associada à reações metabólicas (reação de oxidação na mitocôndria, fagocitose durante o processo de inflamação, ativação do metabolismo do ácido araquidônico) e exógena (devido à radiação ultravioleta –em especial o UVA que reage com fotossensibilizadores e com cromóforos da pele como a melanina–), com fatores ambientais –pesticidas, poluição, fumaça de cigarro, medicamentos antitumorais e estilos de vida não saudáveis ^{1,7,12,13}.

A principal fonte de RL em sistemas biológicos é a molécula de oxigênio, que, no entanto, é fundamental para o metabolismo celular e para a produção de energia ^{11,12}. Sendo assim, a mais abundante fonte endógena geradora são as mitocôndrias (que usam cerca de 90% do O₂-oxigênio-usado pelo corpo humano) onde o oxigênio é reduzido em etapas seqüenciais para produzir água. Ou seja, ele participa da cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria, onde é reduzido pela citocromo oxidase em água e o

NADH é oxidado a NAD⁺, para que haja a produção de ATP. Para a completa redução de uma molécula de oxigênio em duas moléculas de água, quatro elétrons são transportados dentro da membrana mitocondrial interna. Entretanto, 1 a 2% desses elétrons são perdidos durante o transporte, levando a formação de superóxido (O₂⁻) e subseqüentemente a outras numerosas espécies reativas de oxigênio (ERO) como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radicais hidroxil (OH) (Fig. 2).

Em concentrações apropriadamente elevadas, as ERO têm a capacidade de oxidar e danificar componentes celulares, enquanto que em concentrações medianas agem como mediado-

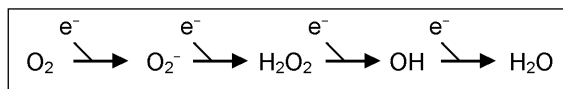


Figura 2. Formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) durante o transporte de elétrons na mitocôndria. O superóxido (O₂⁻), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e radicais hidroxil (OH) são formados como resultado da sucessiva transferência de elétrons isolados. A citocromo C oxidase transfere um total de quatro elétrons com extrema eficiência, mesmo assim, de 1-2% dos elétrons são constantemente perdidos dentro da célula como ERO potencialmente tóxicos ¹.

res e como moléculas de mediação de transdução, exercendo o papel de reguladores celulares ^{1,7,9,12,14-16}. Além disso, mitocôndrias com deficiências enzimáticas na cadeia respiratória podem liberar quantidades excessivas de radicais livres para o citoplasma e expor o núcleo e outros componentes celulares ao estresse oxidativo ¹⁵. Por conterem uma vulnerável membrana lipídica, enzimas envolvidas na produção de energia e abrigar seu próprio material genético, desprotegidos pelas histonas, as mitocôndrias são as organelas que mais sofrem os danos causados pelos RL, tendo como consequência a redução da produção de ATP, que reduz a energia para manter muitos dos processos químicos celulares, levando ao esgotamento energético e à degeneração do tecido ¹¹.

Além das mitocôndrias supra citadas, outra fonte endógena de RL incluem enzimas que podem indiretamente produzir espécies reativas. Por exemplo, a enzima xantina oxidase que converte xantina a ácido úrico, também converte oxigênio a radicais superóxido durante esse processo. A enzima óxido nítrico sintase pode produzir radicais nitro (NO) diretamente na pele. Outras fontes de danos oxidativos podem incluir processos isquêmicos e pós-isquêmicos, os quais podem levar à uma superprodução de ERO, que por sua vez geram o dano oxidativo ¹⁷.

A destruição de tecido normal é uma das desagradáveis consequências de reações inflamatórias. Dos vários componentes do processo inflamatório, as ERO têm sido consideradas como a causa da morte celular. As ERO são produzidas pelos neutrófilos sangüíneos, eosinófilos, ou por monócitos/macrófagos que estão acumulados nos sítios de inflamação. Quando estimulados, as células fagocíticas liberam O_2^- no ambiente extracelular, onde irá participar de reações que produzem H_2O_2 , OH^{\cdot} e possivelmente O_2^{\cdot} , sendo que o agente responsável pela morte celular é o H_2O_2 , isso deve-se ao fato dele ser uma molécula pequena e sem carga, podendo atravessar facilmente as membranas celulares ^{2,18}.

Dentre as várias fontes exógenas de RL, o fotoenvelhecimento é a mais importante causa do envelhecimento, especialmente pela luz ultravioleta, que produz radicais livres ^{1,7,11,17}. A pele também pode sofrer mudanças oxidativas induzidas por danos físicos como queimaduras e ferimentos ^{11,17}.

As radiações ultravioleta A e B são componentes essenciais da luz solar que geram severo estresse oxidativo nas células cutâneas via inte-

ração com cromóforos intracelulares e fotossensibilizadores, resultando em danos genéticos transitórios e permanentes e na ativação de atalhos de sinais citoplasmáticos de transdução relacionados ao crescimento, diferenciação, senescência replicativa e degradação do tecido conectivo. O fotossensibilizador excitado reage com o oxigênio, resultando na geração de ERO e oxigênio singlete (O_2^{\cdot}). Estes podem também ser produzidos por neutrófilos que estão em número aumentado na pele fotodanificada e contribuem para o estado pró-oxidante geral ².

Um local particularmente susceptível à reações de peroxidação são as membranas celulares. Peróxidos lipídicos são conhecidos como produtores de perda irreversível da fluidez e elasticidade da membrana, podendo levar à ruptura da célula. Em humanos, a maior evidência da ocorrência da peroxidação lipídica é demonstrada pela exalação de etano e *n*-pentano na respiração, que aumenta com a idade ¹¹.

A senescência replicativa foi descrita como a interrupção irreversível do crescimento que ocorre após várias divisões celulares com a expressão excessiva de algum inibidor quinase ciclina-dependente. Estresses fortes podem aumentar o nível de erros acima do limiar da capacidade de diluição dos erros por meio da divisão celular, levando a célula tanto para a necrose, apoptose ou senescência, dependendo do tipo de célula, do nível das defesas específicas e do nível de erros gerados pelo estresse ^{19,20}.

A atividade dos RL também mostram a capacidade de oxidar e fazer ligações cruzadas com proteínas. Em particular, os resíduos aminoácidos protéicos são altamente susceptíveis ao ataque oxidativo. O DNA é altamente susceptível ao ataque por RL. A reação de um radical oxigênio com o DNA pode retirar uma base ou causar uma quebra na dupla fita, o qual possui potencial para produzir um evento prejudicial ou até mesmo letal. Lesões oxidativas no DNA não se acumulam com a idade, e parece ser uma importante contribuição para o processo de envelhecimento ¹¹.

ANTIOXIDANTES

O perigo do estresse oxidativo no organismo é tão grande que uma defesa antioxidante enérgica e sistemas de reparo estão envolvidos nas células para a proteção contra a destruição por RL. O sistema de defesa pode ser classificado em dois grupos: o enzimático e o dos antioxidantes de baixo peso molecular (ABPM).

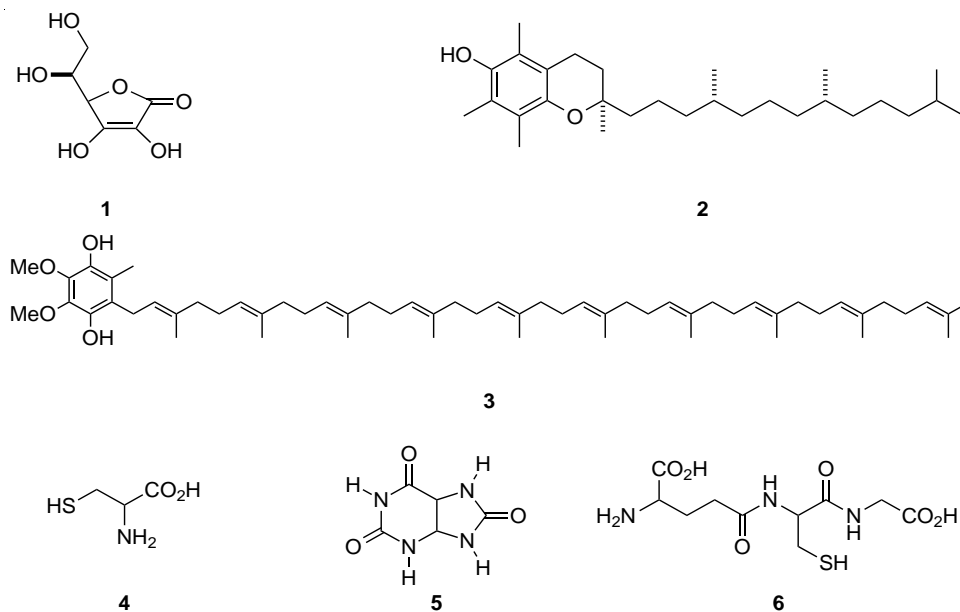


Figura 3. Alguns antioxidantes celulares ¹⁴. 1 ácido ascórbico; 2 α -tocoferol; 3 ubiquinona-10 (CoQH₂-10); 4 cisteína; 5 ácido úrico; 6 glutationa (GSH).

O grupo enzimático contém um número limitado de proteínas e inclui enzimas da superóxido dismutase (SOD, isoformas separadas são encontradas no citoplasma, mitocôndrias e espaço extracelular), junto com a catalase e a glutatona peroxidase que detoxificam os radicais peróxido, peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos, respectivamente. Durante o metabolismo oxidativo normal, as enzimas da matriz manganês superóxido dismutase (MnSOD) e glutatona peroxidase extinguem os RL produzidos na mitocôndria ^{1,7,11,14,15,21}.

O grupo dos captadores não enzimáticos (ABPM), inclui carotenóides, a vitamina C hidrossolúvel (ácido ascórbico), a vitamina E lipossolúvel (α -tocoferol), ubiquinol-10 (coenzima Q₁₀) e outras substâncias como cisteína, ácido úrico e glutatona (Fig. 3), além de substâncias quelantes de íons metálicos, para prevenir a reação de Fenton (Fig. 4). Os ABPM são capazes de prevenir o dano oxidativo por interações diretas e indiretas com as ERO. Enquanto que o mecanismo indireto envolve a quelação de metais de transição, as moléculas que agem diretamente compartilham uma peculiaridade química semelhante que as permitem doar um elétron ao radical oxigênio. Agindo desse modo, eles podem captar o radical, prevenindo o ataque do alvo biológico ^{1,7,11,14,15,17,21}.

Durante o estresse oxidativo, o ácido ascórbico é esgotado primeiro, seguido do ubiquinol-10, indicando que esses dois antioxidantes são

muito sensíveis ao estresse oxidativo. O antioxidante lipossolúvel melhor conhecido, o α -tocoferol, permanece inalterado e, preferentemente requer o ácido ascórbico e o ubiquinol-10 como co-antioxidantes. O α -tocoferol capta dois radicais peróxido-lipídicos, por meio da chamada peroxidação mediada por α -tocoferol (PMT), que resulta na formação de uma molécula de radical

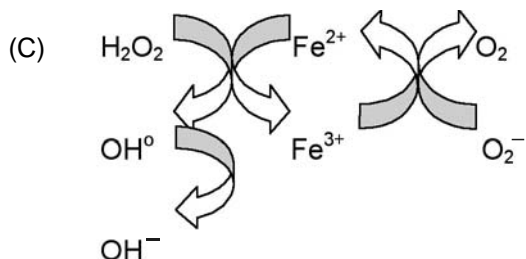
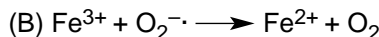
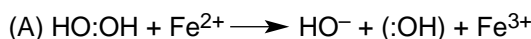


Figura 4. (A) Reação de Fenton. Produção de ERO na presença de íon metálico (Fe²⁺). (B) Com a produção de OH⁻, uma reação em cadeia ocorre. Esta reação pode ser interrompida pela exaustão do Fe²⁺ quando oxidado a Fe³⁺, mas o superóxido (O₂^{·-}) reduz o Fe³⁺. (C) A presença simultânea do ferro, superóxido e peróxido de hidrogênio permite a rotação do ciclo de Haber-Weiss, produzindo OH⁻, sendo este ferro dependente. Essas reações podem ser generalizadas com outros metais de transição como o cobre, manganês e molibdênio ¹².

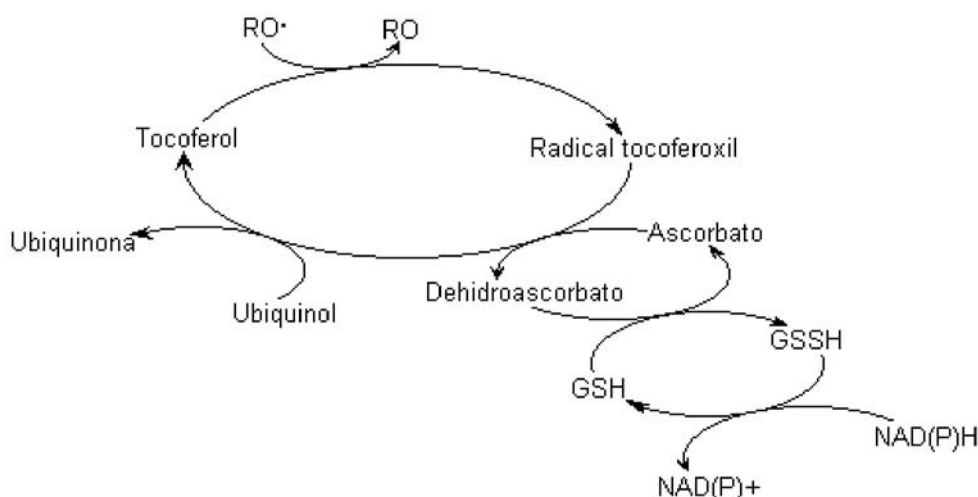


Figura 5. Sistema de trabalho dos ABPM. Uma ERO formada na área lipofílica da célula é reduzida pelo α -tocoferol localizado nas membranas, dando origem ao radical tocoferoxil (forma oxidada do tocoferol). Esse radical pode ser novamente reduzido por outro ABPM lipossolúvel, como o ubiquinol. Entretanto, devido à carga do radical tocoferoxil ele também poderá ser novamente reduzido pelo ascorbato por causa da mudança de localização da fronteira da membrana-citoplasma. A forma oxidada, dehidroascorbato pode ser reconvertido pela glutatona (GSH) e finalmente o NADPH é reduzido ao seu estado ativo ¹.

α -tocoferol e de várias moléculas de hidroperóxido lipídico. Quando o ácido ascórbico e o ubiquinol-10 estão presentes, eles rapidamente reduzem o radical α -tocoferol e cessam a PMT (Fig. 5) ^{14,15}.

Na pele humana, muitos ABPM estão presentes –tocoferol, ubiquinona, glutatona, ascorbato e urato– e alguns desses são detectáveis em concentrações relevantes mesmo no estrato córneo. Apesar de estarem em altas concentrações, especialmente na epiderme, se o estresse oxidativo subjugar a pele, a concentração pode decair juntamente com um aumento na formação de componentes celulares oxidados ^{1,13,21}.

A eficiência desses sistemas de proteção tende a decrescer com a idade, indicando que a geração de RL e o declínio das defesas antioxidantes devem ser consideradas contribuidores potenciais importantes para o processo de envelhecimento ^{1,7,11,14,15,17,21}. Para reforçar a proteção natural, faz-se uso de compostos exógenos como enzimas, antioxidantes (incluindo algumas vitaminas e metais) e compostos fenólicos, limitando-se as reações oxidativas. Em adição à medidas físicas ou químicas para a proteção contra a luz UV, o uso de ABPM para a prevenção de envelhecimento cutâneo prematuro parece ser apropriado. Isso pode ser fornecido à pele via dieta rica em frutas e vegetais ou por meio de administração tópica ou oral dos

ABPM. A atual eficácia de um antioxidante aplicado topicamente é limitada por sua penetração em concentrações relevantes ^{1,13,21}.

Evidências sugerem que doenças causadas pelas reações oxidativas em sistemas biológicos podem ser retardadas pela ingestão de antioxidantes naturais encontrados na dieta, principalmente de compostos fenólicos, os quais englobam flavonóides e taninos ^{13,22}.

Diversas funções são atribuídas aos flavonóides nas plantas. Entre elas citam-se: proteção dos vegetais contra a incidência de raios ultravioleta e visível, além de proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias, antioxidantes, controle da ação de hormônios vegetais, agentes alelopáticos e inibição de enzimas. Alguns medicamentos que contêm flavonóides são indicados para o tratamento de doenças circulatórias, hipertensão e agindo como cofator da vitamina C ²².

Plantas ricas em taninos são empregadas na medicina tradicional como remédios para o tratamento de diversas moléstias orgânicas, tais como diarreia, hipertensão arterial, reumatismo, hemorragias, feridas, queimaduras, problemas estomacais, problemas renais e do sistema urinário e processos inflamatórios. Estudos recentes mostram que vários taninos atuam como captadores de radicais, os quais interceptam o oxigênio ativo formando radicais estáveis ²².

CONCLUSÃO

O conjunto de dados apresentados permite iniciar uma estratégia antienvhecimento baseada na proteção dos diferentes compartimentos celulares cutâneos e o desenvolvimento de formulações qualitativa e quantitativamente apropriadas otimizarão a proteção celular e retardarão o aparecimento de sinais de senescência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Podda, M. & M. Grundmann-Kollmann (2001) *Clin. Exp. Dermatol.* **54**: 578-82.
2. Ma, W.M. Wlaschek, I. Tantcheva-Poor, L.A. Schneider, L. Naderi, Z. Raziwolf, J. Schuller & K. Scharffetter-Kochalek (2001) *Clin. Exp. Dermatol.* **26**: 592-9.
3. Boukamp, P. (2001) *Clin. Exp. Dermatol.* **26**: 562-5.
4. Viglioglia, P.A. & J. Rubin (1991) "Cosmiatria III" Americana Publicações, Buenos Aires, págs. 22-162
5. Jenkins, G. (2002) *Mech. Ag. Develop.* **123**: 801-10.
6. Zouboulis, C.C. & A. Boschnakow (2001) *Clin. Exp. Dermatol.* **26**: 600-7.
7. Sousselier, L. & J. Y. Berthon (1998) *Happi* **12**: 93-6.
8. Huttunen, H. (1996) "Receptor for advanced glycation end products (RAGE)". Tese de Doutorado. Universidade de Helsinki, 42 págs.
9. Cotran, R. S., V. Kumar & T. Colins (2000) "Robins. Pathologic basis of disease". Philadelphia Saunders, págs. 1263-85.
10. Bologna, J.L. (1995) *Am. J. Med.* **98**, supl. 1A: 99s-103s
11. Wickens, A.P. (2001) *Resp. Physiol.* **128**: 379-91
12. Jay, V., J.Y. Berthon, P. Hagege, M.P. Pouget, B. Lejeune & H. Pourrat (1998) *Cosm. Toiletries* **113**: 71-77
13. Dattner, A.M. (1999) *Clin. Dermatol.* **17**: 57-64.
14. Yamamoto, Y. (2001) *J. Dermatol. Sci.* **27**, supl. 1: S1-S4.
15. Sharma, P. & P. D. Morgan (2001) *Mitochondrion* **1**: 191-8.
16. Xu, D. & T. Finkel (2002) *Bioch. Bioph. Res. Com.* **294**: 245-248
17. Kohen, R. (1992) *Biomed. & Pharmacother.* **53**: 181-92.
18. Simon, R.H., C.H. Scoggin & D.J. Patterson (1981) *Biol. Chem.* **256**: 7181-6.
19. Dumont, P., M. Burton, Q.M. Chen, E.S. Gonos, C. Fripiat, J.B. Mazarati, F. Ellaers, J. Remacle & O. Toussaint (2000) *Free Rad. Biol. Med.* **28**: 361-73
20. Hütter, E., H. Unterluggauer, F. Uberall, H. Schramek & P. Jansen-Dürr (2002) *Exp. Geront.* **37**: 1165-74.
21. Lucero, M.J., J. A. Sánchez, J. Vigo, F. Martín & A.M. Rabasco (1994) *Int. J. Pharm.* **104**: 49-60.
22. Simões C.M.O., E.P. Schenkel, G. Gosmann, J.C.P. Mello, L.A. Mentz & P.R. Petrovick (2000) "Farmacognosia - da planta ao medicamento", Porto Alegre/Florianópolis, Ed. Universidade UFRGS/Ed. da UFSC, págs. 433-43, 489-514, 517-32.

