



FACULDADE IRECÊ
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

ICARO DA SILVA FREITAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA *in vitro* DE EXTRATOS DAS
FOLHAS DE *Senna alata* (L.) Roxb POR ESPECTROFOTOMETRIA**

IRECÊ-BA

2021

ICARO DA SILVA FREITAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA *in vitro* DE EXTRATOS DAS
FOLHAS DE *Senna alata* (L.) Roxb POR ESPECTROFOTOMETRIA**

Monografia apresentada ao curso de Farmácia
da Faculdade Irecê como requisito final para
obtenção do título de farmacêutico, sob a
orientação do professor Dr. José Marcos
Teixeira de Alencar

IRECÊ-BA

2021

ICARO DA SILVA FREITAS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA *in vitro* DE EXTRATOS DAS
FOLHAS DE *Senna alata* (L.) Roxb POR ESPECTROFOTOMETRIA**

Monografia apresentada ao curso de Farmácia
da Faculdade Irecê como requisito final para
obtenção do título de farmacêutico.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Marcos Teixeira de Alencar Filho (Faculdade Irecê – FAI)
Orientador

Prof. Dra. Salvana Priscylla Manso Costa (Faculdade Irecê – FAI)
Avaliador interno

Prof. Dr. Raimundo Gonçalves de Oliveira Júnior (Faculté de Pharmacie, Université de Paris)
Avaliador externo

IRECÊ-BA

2021

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, quero agradecer a pessoa que me fez chegar até aqui: Deus. Para Ele o meu primeiro e maior agradecimento, o qual graciosamente me fornece a dádiva da vida e me capacita humanamente e profissionalmente a cada dia. Agradeço também a minha família (minha mãe, meu pai e minha irmã), os quais me sustentam em oração, em cuidados, em amor e paciência para que eu pudesse chegar até aqui.

Quero agradecer também aos meus amigos e colegas, especialmente àquelas que compõem o meu trio: Ediléia e Thays, pela parceria, pela paciência, pelo amor e por me fortalecer nos momentos que precisei, afinal, elas me conheceram nas minhas crises, momentos de luta, mas também compartilharam momentos de alegria, vitórias e conquistas. Amo vocês!

Agradecimento especial faço ao meu orientador, professor Dr. José Marcos Teixeira de Alencar Filho, não somente pelo conhecimento que tem possibilitado a mim, mas pela paciência, prudência, sinceridade, apoio, lealdade e por não desistir de mim. Somos pessoas com grande ponto em comum: O amor pela pesquisa. E essa congruência que me fez, desde o terceiro período da faculdade, a convidá-lo para fazer parte dessa etapa importante da minha vida. Obrigado por tanto, Zé! E repito algo que não canso: Não poderia ter escolhido orientador melhor.

Agradeço a dona Zenália e família por me fornecerem apoio no processo de coleta do material vegetal me assistindo de todas as formas. Agradeço a professora Dra. Ivânia Oliveira por gentilmente me ajudar na identificação da planta. Reforço agradecimento a Central de Análise de Fármacos, Medicamentos e Alimentos (CAFMA) por ceder o espaço para que eu pudesse realizar as análises, em especial a Vitória Laysna por me ensinar a utilizar o espectrofotômetro. Agradecimentos também a Rafael Carlos (PPgPNSB/UFPB) por me ajudar com as análises estatísticas e construção dos gráficos nos softwares.

Agradeço a Faculdade Irecê pelo espaço disponível e por possibilitar o meu encontro com pessoas sensacionais: Os professores, os quais entraram na minha trazendo lições inenarráveis. Prezados, saibam que um pouco do profissional que serei tem em uma marca de vocês. Além disso, Agradeço a coordenação do curso de Farmácia, na pessoa da professora Joseneide Miranda por ser uma profissional multifacetada, que faz tanto com pouco e o melhor: Com eficiência, competência e paixão.

Cordialmente,

Icaro Freitas

“Por aprendizagem significativa, entendo, aquilo que provoca profunda modificação no indivíduo. Ela é penetrante, e não se limita a um aumento de conhecimento, mas abrange todas as parcelas de sua existência”

Carl Rogers

RESUMO

A *Senna alata* (L.) Roxb é uma planta arbustiva utilizada na medicina popular com diversas aplicações terapêuticas, possuindo alto teor de compostos fenólicos, sobretudo flavonoides e compostos hidroxiantracênicos, os quais possuem atividade fotoprotetora já elucidada. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi investigar a atividade fotoprotetora dos extratos hidroglicólicos de *S. alata* através de espectrofotometria. Esse trabalho trata-se de uma pesquisa básica, laboratorial de caráter exploratório, onde foi delineada uma extração utilizando planejamento fatorial 2^2 visando otimizar a extração de compostos com potencial fotoprotetor, para tanto, foram adotados como fatores o teor de propilenoglicol (PGL) e agitação do sistema de solventes. A extração planejada durou 2 h, obtendo-se quatro extratos (E1 a E4). Assim, a partir destes extratos, foram elaboradas 16 soluções-testes (com concentração de 0,25% a 1%) as quais foram submetidas à leitura espectrofotométrica, nos comprimentos de onda de 200 nm a 400 nm, objetivando determinar as absorbâncias e FPS-UVB de cada uma, comparando-as também a benzofenona-3 (BZF-3) (controle positivo). Para o tratamento estatístico dos dados foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) seguido de teste de Tukey, para averiguar se houve diferença estatística entre os FPS e absorbâncias das soluções-testes ($p < 0,05$). A partir da análise espectrofotométrica, observou-se que os extratos E1 e E3 relevaram as maiores absorbâncias nos comprimentos referentes a radiação UVB. Quanto aos valores de FPS, foi observado que E3 a 0,75% ($9,25 \pm 0,01$) e a 1% ($9,11 \pm$) apresentaram os resultados mais relevantes, apresentando também atividade protetora significativa em relação a BZF-3. Quanto aos resultados do planejamento fatorial, observou-se que os maiores perfis de absorbância e atividade fotoprotetora foram atribuídos aos extratos que possuíam PGL50% (nível alto). Em contrapartida, a agitação do sistema, analisada isoladamente, parece não ter fornecido incremento significativo nas respostas. Em suma, observou-se que os extratos de *Senna alata*, nas condições de extração realizadas, possuem atividade fotoprotetora *in vitro* por método espectrofotométrico, sendo isso observado em pequenas concentrações (0,75% a 1%) podendo, dessa forma, serem incorporados em maiores quantidades em formulações protetoras solares para amplificar esses benefícios. Ressalta-se ainda a importância do planejamento fatorial na extração dos compostos com potencial fotoprotetor nos extratos, sendo o teor de propilenoglicol a variável mais significativa nesse contexto, porém, serão necessários outros delineamentos para averiguar mais condições (fatores) que podem contribuir nesse quesito.

Palavras-chave: *Senna alata*; Extração; Planejamento Fatorial Completo; Atividade fotoprotetora; Espectrofotometria

ABSTRACT

Senna alata (L.) Roxb is a shrub plant used in folk medicine with several therapeutic applications, having a high content of phenolic compounds, especially flavonoids and hydroxyanthracene compounds, which have already elucidated photoprotective activity. Thus, the aim of this study was to investigate the photoprotective activity of *S. alata* extracts using spectrophotometric methodology. This research is a basic, exploratory laboratory research, where an extraction was designed using a 2² factorial design, having as factors the content of propylene glycol (PGL) and agitation of the solvent system. The planned extraction lasted 2 h, resulting in four extracts (E1 to E4). From these extracts, 16 test solutions (with a concentration of 0.25% to 1%) were prepared and submitted to spectrophotometric reading, at wavelengths from 200 nm to 400 nm, in order to determine the absorbances and FPS-UVB of the extracts, also comparing them to benzophenone-3 (BZF-3) - positive control. Analysis of variance (ANOVA) was used for the statistical treatment of the data, followed by Tukey's test, to verify if there was a statistical difference between the SPF and absorbance of the test solutions ($p < 0.05$). From the spectrophotometric analysis, it was observed that the E1 and E3 extracts showed the highest absorbance in the lengths related to UV radiation. As for the FPS-UVB values, it was observed that E3 at 0.75% (9.25 ± 0.01) and at 1% ($9.11 \pm$) had the most relevant results, also showing significant protective activity in relation to BZF -3. As for the results of the factorial design, it was observed that the highest absorbance and photoprotective activity profiles were attributed to extracts that had PGL50% (high level). In contrast, the agitation of the system, analyzed in isolation, does not seem to have provided significant increase in the responses. In short, it was observed that the extracts of *Senna alata*, under the conditions of extraction carried out, have photoprotective activity in vitro by spectrophotometric methodology, this being observed in small concentrations (0.75% to 1%), which may, therefore, be incorporated in larger quantities in sunscreen formulations to amplify these benefits. The importance of factorial planning in the extraction of compounds with photoprotective potential in the and extracts, with the propylene glycol content being the most significant variable in this context, however, other designs will be needed to investigate more conditions (factors) that may contribute in this regard.

Key words: *Senna alata*; Extraction; Full factory design; Photoprotective activity.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

% - PORCENTO/PERCENTUAL

ABS - ABSORBÂNCIA

BZF-3 - BENZOFENONA-3

CLAE - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

DNA - ÁCIDO DESOXIRRIBONUCLEÍCO

ER - ESPÉCIES REATIVAS

EROS - ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

FC - FATOR DE CORREÇÃO

FPS - FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR

GPS - *GLOBAL POSITIONING SYSTEM*

MMP - METALOPROTEINASE DE MATRIZ

PF - PLANEJAMENTO FATORIAL

PGL – PROPILENOGLICOL

PGL50% - SISTEMA DE SOLVENTES CONTENDO ÁGUA E PROPILENOGLICOL A 50%

PGL70% - SISTEMA DE SOLVENTES CONTENDO ÁGUA E PROPILENOGLICOL A 70%

POTENCIAL HIDROGENIÔNICO - pH

RPM - ROTAÇÕES POR MINUTO

RUV - RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

UV - ULTRAVIOLETA

UVA - RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA A

UVB - RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA B

UVC - RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA C

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Artigos que discorrem sobre o planejamento fatorial na otimização da extração de metabólitos secundários.....	Pág. 16
Quadro 2. Planejamento fatorial de extração dos extratos de <i>Senna alata</i>	Pág. 28
Quadro 3. Valores da relação $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ em função dos comprimentos de onda de 290 nm a 320 nm.....	Pág 31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Patogênese das lesões causadas pelas radiação ultravioleta.....	Pág. 20
Figura 2. Estrutura química do fenol (A) e representação de um flavonoide (B) e uma antraquinona (C).....	Pág. 22
Figura 3. <i>Senna alata</i> , evidenciando suas folhas, fruto e inflorescência.....	Pág. 23
Figura 4. Estrutura molecular dos marcadores de <i>Senna alata</i>	Pág. 26
Figura 5. Exsicata de <i>Senna alata</i>	Pág. 27
Figura 6. Fluxograma com as etapas da preparação dos extratos de <i>Senna alata</i> (L.) Roxb.....	Pág. 29
Figura 7. Processo de otimização da extração por planejamento fatorial completo.....	Pág. 29
Figura 8. Soluções-teste dos extratos de <i>S. alata</i>	Pág. 30
Figura 9. Espectrofotômetro de varredura UV-Vis.....	Pág. 30
Figura 10. Estrutura química da benzofenona-3.....	Pág. 32
Figura 11. Representação gráfica das absorbâncias das soluções-teste dos extratos E1 (A), E2 (B), E3 (C) e E4 (D) de <i>Senna alata</i> nos comprimentos de onda referentes ao espectro ultravioleta.....	Pág. 33
Figura 12. Gráfico superfície-resposta (A) e gráfico de Pareto (B) evidenciando os resultados de FPS (variável dependente) em função das variáveis independentes da pesquisa.....	Pág. 37
Figura 13. Representação gráfica das absorbâncias da benzofenona-3 (BZF-3) nos comprimentos de onda referentes ao espectro ultravioleta.....	Pág. 40
Figura 14. Gráficos concentração-resposta relacionando a atividade fotoprotetora dos extratos (%) em comparação a benzofenona-3.....	Pág. 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de FPS-UVB dos extratos E1 a E4 de *S. alata* (média \pm desvio padrão da média) Pág 36

Tabela 2. Atividade fotoprotetora (%) das soluções-teste dos extratos de *Senna alata* em comparação ao controle positivo (BZF-3) Pág. 41

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral	15
2.2 Objetivos específicos.....	15
3 REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 Planejamento fatorial de extração: otimizando a extração de moléculas bioativas.....	16
3.2 Radiação ultravioleta: considerações gerais e riscos biológicos	18
3.3 Fotoproteção: benefícios, importância e pesquisa científica de plantas com potencial fotoprotetor	22
3.4 Principais características botânicas, fitoquímicas e farmacológicas relativas ao gênero <i>Senna</i> e a espécie <i>Senna alata</i> (L). Roxb.....	25
4 METODOLOGIA.....	29
4.1 Tipo e local da pesquisa.....	29
4.2 Coleta e identificação do material vegetal.....	29
4.3 Desenho experimental da extração utilizando planejamento fatorial	30
4.4 Investigação da atividade fotoprotetora por espectrofotometria.....	32
4.5 Tratamento e interpretação dos dados	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1 Curvas de absorção dos extratos de <i>Senna alata</i> (L). Roxb nos comprimentos de onda referentes a radiação ultravioleta.....	35
5.2. Efeitos da otimização da extração nos valores de fator de proteção solar UVB (FPS-UVB) dos extratos de <i>Senna alata</i> (L). Roxb	44
5.3 Atividade fotoprotetora dos extratos de <i>Senna alata</i> (L). Roxb.....	38
6 CONCLUSÕES.....	48
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

Apesar dos possíveis benefícios à saúde relativos a radiação ultravioleta (RUV), sobretudo para a síntese de vitamina D (LIPS *et al.*, 2006), é explícito que a incidência e exposição exacerbadas, sem proteção devida, podem levar a danos agudos à pele e aos sistemas, como vermelhidão e imunossupressão, até consequências a longo prazo, como pigmentação, carcinogênese e fotoenvelhecimento por gerar estresse oxidativo e consequentemente inflamação e degradação da matriz que mantém o arcabouço da pele (MATSUMURA; ANANTHASWAMY, 2002; LÓPEZ-CAMARILLO *et al.*, 2012; LIU *et al.*, 2014).

A fim de minimizar os resultados da exposição a RUV, empregam-se os produtos fotoprotetores, que são formulações cosméticas contendo moléculas capazes de diminuir a carga energética potencialmente danosa intrínseca à radiação (como os filtros orgânicos, também chamados de filtros químicos) ou refletindo os fótons para atmosfera através dos fenômenos de reflexão (filtros inorgânicos ou físicos) (RASTOGI *et al.*, 2002).

Sob essa perspectiva, tendo como ponto de partida o fato dos vegetais possuírem metabólitos secundários que possuem cromóforo e características similares aos filtros químicos reconhecidos pelo potencial fotoprotetor (IGNAT; VOLFF; POLPA, 2011), existem hoje na literatura diversos estudos que visam averiguar a fotoproteção de extratos vegetais ou moléculas isoladas a partir destes (OLIVEIRA-JÚNIOR *et al.*, 2013; ORLANDA; VALE, 2015; ALENCAR FILHO *et al.*, 2020).

Concernente às moléculas oriundas da matriz vegetal com potencial de absorver a radiação UV, tem destaque os flavonoides e antraquinonas, moléculas que possuem como principal característica ligações duplas conjugadas com simples, além de possuírem capacidade antioxidante principalmente quando possuem hidroxilas fenólicas (AGATI *et al.*, 2021; SILVA, 2017).

Reforçando essa ideia, uma revisão sistemática, elaborada por Alencar Filho e colaboradores (2016), reuniu os estudos em que foram testadas a atividade fotoprotetora de flavonoides *in vivo* e *in vitro*. A partir da análise da literatura, os autores constataram a ampla pesquisa com essas moléculas no âmbito da investigação pré-clínica e utilização desses agentes como componentes de formulações protetoras solares a posteriori (ALENCAR FILHO *et al.*, 2016).

De modo semelhante aos flavonoides, as antraquinonas são moléculas também estudadas no que diz respeito a fotoproteção, com destaque para os compostos hidroxiantracênicos. A exemplo pode-se citar pesquisas realizadas por Ray e colaboradores (2012) e Uzun e colaboradores (2020) com extratos de plantas que possuem antraquinonas hidroxiladas como principais marcadores químicos. Ademais, Silva (2017) também realizou a investigação da atividade fotoprotetora da antraquinona emodina, a qual apresentou FPS de 24,25 (RAY *et al.*, 2012; SILVA, 2017; UZUN *et al.*, 2020).

Ressalta-se que essas moléculas possuem outras atividades biológicas notáveis e estão presentes em quantidades significativas em muitas espécies vegetais, dentre elas, a *Senna alata* (L.) Roxb (sinonímia botânica *Cassia alata* L.). As antraquinonas e os flavonoides foram encontrados com grande distribuição na planta em questão, sobretudo nas folhas, sementes, raízes e inflorescências. Além desses, foram descritos outros fitoquímicos, tais como saponinas, antronas, cumarinas e xantonas (FATMAWATI *et al.*, 2020).

Do ponto de vista botânico, a *Senna alata* é uma planta arbustiva pertencente à família Fabaceae de prevalência e distribuição nas regiões intertropicais. Devido ao seu efeito alelopático é conhecida popularmente no Brasil como mata-pasto, entretanto, existem outras nomenclaturas, tais como fedogoso-gigante e acapulco. Ademais, em outros países *Senna alata* é conhecida em virtude das suas características anatômicas (*Candle bush* – arbusto de vela – referente a aparência das suas inflorescências) e propriedades farmacológicas (micose – devido a atividade antifúngica) (HENNEBELLE *et al.*, 2009; LIM, 2014).

Em estudos etnofarmacológicos realizados com populações africanas, caribenhas e indiana, pesquisadores relataram o uso popular das folhas dessa planta para doenças e disfunções sistêmicas, sendo que a atividade laxativa, anti-inflamatória e antimicrobiana são as mais descritas. Além destas, há relatos do uso de *Senna alata* para o tratamento de doenças metabólicas como o diabetes, doenças parasitárias e respiratórias (KABIR *et al.*, 2014; TANGJITMAN *et al.*, 2015).

Partindo do que foi apresentado anteriormente, sobretudo no que tange à constituição química de *Senna alata*, é coerente do ponto de vista experimental investigar a atividade fotoprotetora dos seus extratos. Outrossim, essa pesquisa pode contribuir para ampliar os conhecimentos científicos sobre *Senna alata*, bem como possibilitar a produção de uma nova formulação fotoprotetora oriunda de matéria-prima vegetal, a qual, eventualmente traga benefícios à saúde da população.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade fotoprotetora *in vitro* de extratos das folhas de *Senna alata* obtidos através de diferentes condições de extração.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter diferentes extratos de *Senna alata* a partir da utilização de um planejamento fatorial completo 2^2 .
- Determinar a atividade fotoprotetora dos extratos de *Senna alata* por espectrofotometria.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PLANEJAMENTO FATORIAL DE EXTRAÇÃO: OTIMIZANDO A EXTRAÇÃO DE MOLÉCULAS BIOATIVAS

No âmbito industrial e da pesquisa científica, discute-se a importância da implementação de planejamento experimental em diversas áreas, sendo o planejamento fatorial uma considerável ferramenta para atender a essas necessidades (PERALTA-ZAMORA; MORAIS; NAGATA, 2005). Do ponto de vista conceitual, o planejamento fatorial se trata de um método teórico-prático, realizado em pequena escala e imbuído de natureza estatística, que visa otimizar um processo ou metodologia, de modo que possa prever qual(is) técnica(s) ou variável(is) influenciam melhor em um desfecho requerido (DURAKOVIC, 2017).

Dentre as diversas aplicações de um planejamento fatorial estão as técnicas de extração, as quais são o ponto de partida para o estudo dos metabólitos secundários em plantas, de modo que objetivam separar os componentes presentes em uma droga vegetal (ALBU *et al.*, 2004).

Nesse contexto, o planejamento fatorial vem se tornando uma ferramenta eficaz, pois aperfeiçoa a extração de metabólitos secundários de interesse (OLIVEIRA, 2014) e, consequentemente, possibilita os estudos fitoquímicos de caracterização e identificação de moléculas bioativas (VEGGI *et al.*, 2009; OLIVEIRA *et al.*, 2016). O quadro 1 reúne alguns artigos com pesquisas que utilizaram o planejamento fatorial para otimização da extração de componentes químicos de vegetais.

Quadro 1. Artigos que discorrem sobre o planejamento fatorial na otimização da extração de metabólitos secundários.

Planta utilizada no experimento	Método de extração	Fatores e níveis utilizados	Efeito(s) investigado(s)	Principais resultados e conclusões	Referência
Palma (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	Maceração	pH (2 e 6), concentração de etanol (20% e 80%), temperatura de extração (30°C e 80°C), tempo de extração (30 min e 300 min) e proporção solvente/droga vegetal (10 e 100 mL/g)	Determinação do teor de fenóis totais, flavonoides totais e atividade antioxidante	De todos os fatores, os que mais contribuíram para a extração consequentemente nas respostas investigadas foram a concentração de etanol no maior nível com incremento médio de 6,3% a 30.7% no requisitado, bem como a proporção líquido e sólido do extrato que contribuiu de 7,3% a 59,2% nas respostas.	Wong e colaboradores (2015)

Sene (<i>Senna alexandrina</i> MILL)	Maceração	Quantidade da droga vegetal (10 g, 12,5 g e 15 g), grau de hidratação do sistema extrator – solução hidroetanólica – (40, 50 e 60%) e maceração com e sem temperatura e agitação.	Determinação do teor de resíduo seco e de compostos derivados antracênicos (expressos em senosídeos B)	Nesse experimento, a maceração com agitação e temperatura, etanol a 60% e 15 g da droga vegetal foi o sistema que apresentou melhor resultado na extração dos senosídeos e no teor de resíduo seco.	Severo e colaboradores (2013)
Chá-verde (<i>Camelia sinensis</i>)	Maceração	Temperatura do sistema de extração (75° C e 95° C) e número de fermentações (uma ou duas)	Determinação do teor de cafeína e ácido gálico dos extratos aquosos de <i>C. sinensis</i>	A temperatura de 95° C e a realização de duas fermentações sucessivas foram os níveis que levaram a melhor extração de cafeína e ácido gálico	Setyawan e colaboradores (2018)
Vernônia (<i>Vernonia amygdalina</i>)	Extração por micro-ondas	Tempo de irradiação ao extrato (1 e 5 min), potência de micro-ondas (500W-700W), temperatura (60°C e 80°C), proporção do solvente utilizado (1:8 e 1:12 g/mL) e concentração de etanol (40 e 80%)	Determinação do conteúdo fenólico total, atividade antioxidante e teor flavonoídico total.	De modo geral, a concentração de etanol a 80% incrementou 33,68% nas efeitos investigados, ao passo que a potência de 800W contribuiu 13,15%, o tempo de irradiação 10,74% e a proporção de solvente 1:12 g/mL 1,76%	Alara; Abdurahma; Olalere (2020)
Jamelão (<i>Syzygium cumini</i> L.)	Maceração, turbólise, percolação	Método de extração (maceração, turbólise e percolação) e grau de hidratação do sistema extrator - solução hidroetanólica - (50%, 70% e 96%)	Determinação do teor de resíduo seco e atividade antimicrobiana	A percolação e o etanol na concentração de 50% foram os níveis que obtiveram melhor teor de resíduo seco e atividade antimicrobiana contra <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermatitis</i> , enquanto a percolação e o etanol a 70% obtiveram melhor atividade antifúngica contra <i>Candida krusei</i> .	Migliato e colaboradores (2011)

Stévia (<i>Stevia rebaudiana</i>)	Turbólise	Tamanho de partícula (181 a 780 nm), proporção solvente/droga vegetal (10g/g e 30g/g), tempo de extração (3 a 18 min), temperatura (23°C a 80°C) e velocidade de turboextração (5.000 rpm a 20.000 rpm).	Determinação por de glicosídeos expressos em esteviosídeo e rebaudiosídeo A por CLAE	Nesse experimento, o menor tamanho de partícula, a velocidade de turbólise e a proporção solvente/droga vegetal foram os que obtiveram melhores efeitos no teor de glicosídeos, devido às características intrínsecas ao método de extração, a temperatura e o tempo não ofertaram significância estatística no processo	Martins e colaboradores (2017)
Alecrim-pimenta (<i>Lippia sidoides</i>)	Extração à Quente (Infusão e Decocção)	Proporção de material vegetal (5,0% e 7,5% - massa/volume de solvente), tipo de solvente (água/etanol a 50%), e método de extração (infusão e decocção).	Determinação do teor de flavonoides totais	No que diz respeito ao teor de flavonoides, os fatores que mais contribuíram para essa resposta foram o etanol a 50% como sistema extrator otimizando o processo em 62,67% e o extrato com 7,5% da droga vegetal que aumentou a extração de flavonoides em 23,85%.	Lima e colaboradores (2015)
Penicilina (<i>Alternanthera brasiliana L.</i>)	Maceração	Grau de hidratação dos sistemas de solventes (etanol a 30% e 50%), proporção droga solvente (1:40 e 1:20) e presença de agitação (350 rpm e 0 rpm).	Determinação do teor de flavonoides totais	No tocante a extração de flavonoides, o sistema de extração contendo etanol a 30%, proporção droga solvente 1:40 e agitação a 350 rpm, apresentou maior teor de flavonoides totais (503.7 ± 14.01) expressos em mg de equivalentes de rutina por grama (mg EQR/g)	Alencar Filho e colaboradores (2020)

Fonte: Própria, 2021.

3.2 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA: CONSIDERAÇÕES GERAIS E RISCOS BIOLÓGICOS

3.2.1. Características gerais e aspectos físicos da radiação ultravioleta

Nas últimas décadas, há um debate acerca da correlação existente entre a emissão de gases poluentes, a redução paulatina da camada de ozônio, o aumento da incidência de radiação

ultravioleta (RUV) e a alta prevalência de neoplasias do tecido tegumentar (D'ORAZIO *et al.*, 2013). Além disso, discute-se também sobre a influência das luzes artificiais na emissão de radiação potencialmente lesiva à pele com consequências similares às RUV solar (AUSTIN *et al.*, 2018).

Sobre a RUV, sabe-se que é um conjunto de ondas inseridas no espectro eletromagnético, mais precisamente no comprimento de onda de 200 a 400nm. Sendo essencialmente categorizadas em UVA, UVB e UVC, as quais se diferenciam pelo comprimento de onda, energia e grau de penetração nos tecidos biológicos e em relação à camada de ozônio (KULLAVANIJAYA; LIM, 2005).

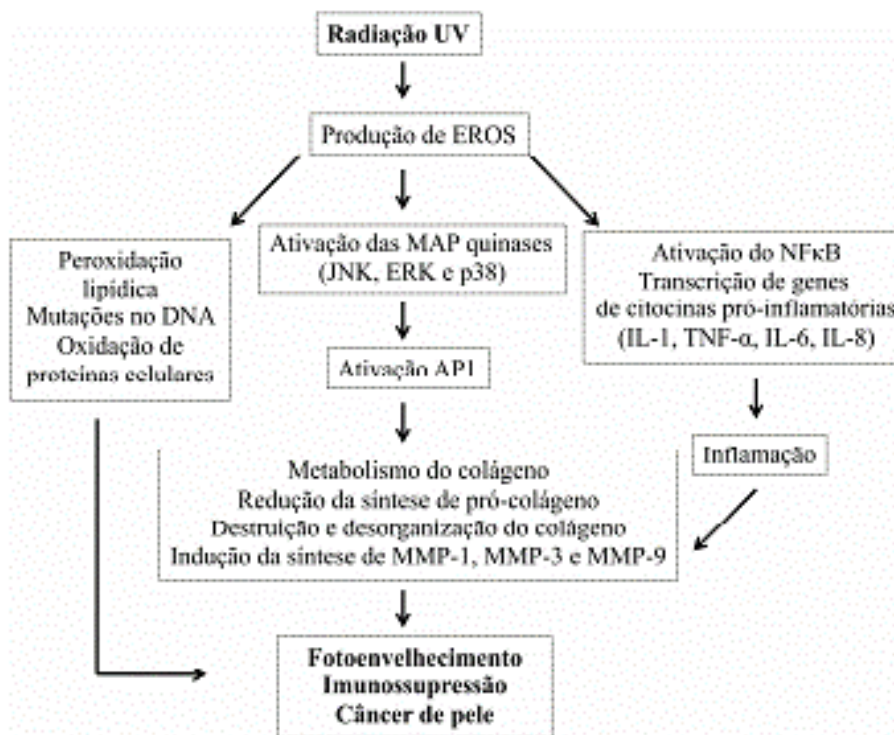
Com relação a isso, sabe-se que a radiação UVA, existente na faixa dos 320 a 400 nm do espectro eletromagnético, é a mais prevalente na atmosfera e responsável por efeitos crônicos, cumulativos e irreversíveis da radiação, devido à capacidade de produção de espécies reativas (ER), além de ser capaz de penetrar nas camadas mais profundas da pele e atingir a derme (MELONI; FARINA; DE SERVI, 2010).

Já os raios UVB (comprimento de onda 290 a 320 nm) são menos prevalentes, compreendendo em média apenas 5% da radiação presente na atmosfera e têm como principais consequências a vermelhidão, queimaduras e pigmentação, além de ser um potencial fator mutagênico ao DNA (ICHIHASHI *et al.*, 2003; VERSCHOOTEN; DECLERCQ; GARMYN, 2006). Por fim, a radiação UVC é a mais energética e de comprimento de onda mais curto (200 a 290 nm), apesar disso, por ser absorvida na camada de ozônio não constitui, por hora, um perigo para a saúde humana, entretanto, alguns filtros solares vêm sendo desenvolvidos pensando na fragilidade da camada de ozônio frente às mudanças climáticas (YOUNG; CLAVEAU; ROSSI, 2017).

3.2.1 Efeitos celulares, moleculares e fisiopatológicos da radiação ultravioleta

Devido ao alto grau de penetração da RUV nas estruturas que compõem a pele, alterações fisiológicas expressivas podem ocorrer a curto e longo prazo. Dentre as principais destaca-se o eritema, a imunossupressão, pigmentação, aceleração do processo de envelhecimento mediado pela luz e carcinogênese (YOUNG *et al.*, 2017).

Figura 1. Patogênese das lesões causadas pela radiação ultravioleta



Fonte: Souza, 2015

Como as outras ondas que compõem espectro eletromagnético, a RUV é munida de energia que se expressa em fótons, estes possuem capacidade de deturpar o arcabouço eletrônico de átomos que compõe as moléculas, dentre elas as que possuem cromóforos (duplas ligações conjugadas com simples). Basicamente, a energia proveniente da radiação consegue excitar os elétrons das moléculas cromóforas levando-as a um estágio energético maior, nesse estado essas entidades químicas podem reagir com oxigênio molecular, formando a partir destes as espécies reativas de oxigênio (EROs) (WITTGEN; VAN KEMPEN, 2007).

Dentre as moléculas que podem interagir com a RUV e formar radicais livres ou outras moléculas potencialmente danosas aos sistemas estão os ácidos nucleicos (DNA, RNA), aminoácidos, ácido urocânico e proteínas. Entretanto, o DNA quando atingido pelos raios UV parece ter um papel central na formação de moléculas aberrantes (como os dímeros ciclobutano de pirimidina - DCBP) e radicais livres. No caso dos DCBP estes são formados pela união de dois nucleotídeos de pirimidina, como a citosina e timina, gerando ligações do tipo C-C, T-T ou T-C dentro da própria molécula de DNA, o que pode gerar prejuízos na informação genética e construção das proteínas (HECK *et al.*, 2004).

Como consequência desse processo anormal, a célula aciona os mecanismos de reparo celular, como aqueles mediados pela proteína p53. Caso encontre sucesso nesse feito, a célula

pode continuar viável ou caso contrário ser direcionada à apoptose (ALBERTS *et al.*, 2017). Entretanto, caso esses mecanismos naturais não ocorram, lesões ou diferenciações celulares do tipo neoplasias podem surgir (GANDINI *et al.*, 2005).

Dentre os principais cânceres que têm como etiologia as injúrias fornecidas pela RUV, tem relevância clínica o melanoma, o qual representa 3% de todas os tumores malignos em adultos possuindo alta incidência nesse grupo, além de ser uma das neoplasias malignas mais letais (LENS; DAWES, 2004). Além disso, o melanoma possui potencial metastático alto, sendo que a massa tumoral possui crescimento radial, vertical e invasivo em muitos outros tecidos (GRAY-SCHOPFER; WELLBROCK; MARAIS, 2007).

Além do melanoma, têm destaque e magnitude epidemiológica as neoplasias de queratinócitos (carcinoma espinocelular e basocelular) que também tem como principal fator de gênese a RUV (KARIMKHANI *et al.*, 2015). Esses tumores são fruto de um crescimento aberrante das células basais da epiderme e acometem a face. Para o tratamento, normalmente necessitam de incisão cirúrgica (causando danos permanentes) e apesar de responderem bem a terapia antineoplásica, esta normalmente é escassa e de alto custo, principalmente quando os tumores se encontram em estadiamento avançado (SEKULIC *et al.*, 2012; GUY JR *et al.*, 2015).

Além disso, o fotoenvelhecimento é um dos efeitos crônicos mais marcantes da radiação UV, que basicamente consiste no aceleração do processo natural de senescência da pele, que de modo semelhante às diferenciações celulares neoplásicas, pode se originar do estresse oxidativo (RYU *et al.*, 2014; RINNERTHALER *et al.*, 2015). Basicamente, as EROs podem danificar diretamente as fibras elásticas de colágeno e elastina, além disso, o processo inflamatório promove aumento da expressão de metaloproteinases de matriz (MMPs), essencialmente a MMP-1, MMP-3 e MMP-9, que potencializam a degradação desses componentes (QUAN *et al.*, 2009). Não obstante, sucede também a autofagia dos fibroblastos e queratinócitos (WEN *et al.*, 2013; CHEN *et al.*, 2018). Todos esses eventos têm como desfecho a perda do arcabouço que garante firmeza à pele, surgimento de rugas e linhas de expressão características do envelhecimento (DONG *et al.*, 2008).

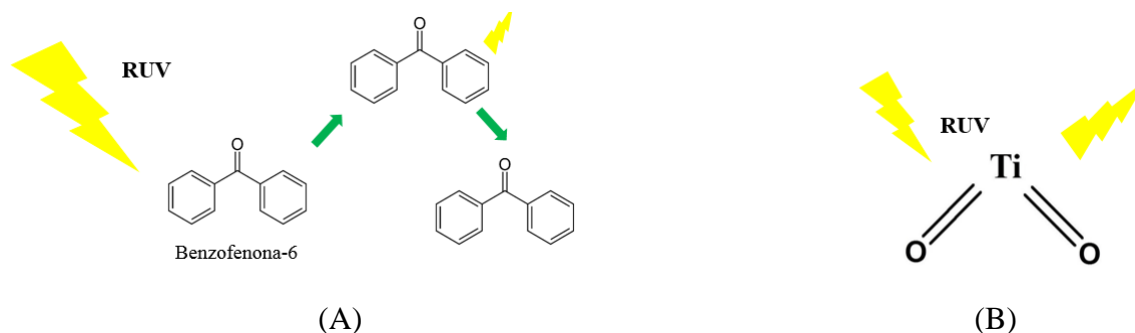
3.3. FOTOPROTEÇÃO: BENEFÍCIOS, IMPORTÂNCIA E PESQUISA CIENTÍFICA DE PLANTAS COM POTENCIAL FOTOPROTETOR

Como proteção intrínseca, a pele possui a epiderme, a queratina e a melanina, além de enzimas responsáveis pela defesa antioxidante (exemplo, superóxido dismutase) como os principais componentes que conseguem, até certo ponto, minimizar os prejuízos da RUV (BRENNER; HEARING, 2008), entretanto, devido às questões climáticas relativas a redução da camada de ozônio e alta incidência da radiação solar, existe a indicação por parte das autoridades de saúde para que haja proteção exógena, como por exemplo, a utilização dos filtros solares como coadjuvantes no processo de proteção solar (FDA, 2019).

Em definição, filtros solares são formulações cosméticas que devem ser aplicadas sob a pele em condições normais, que visam fornecer proteção físico-química capaz de reduzir e minimizar a carga energética advinda da RUV, sendo uma ferramenta importante na prevenção das neoplasias de pele e envelhecimento precoce (DRAELOS, 2016). Essas formulações devem ser constituídas de filtros químicos (orgânicos) e físicos (inorgânicos), os quais devem estar em concentrações equilibradas para garantir proteção ampla. Pode-se citar como exemplos de filtros químicos o ácido *p*-aminobenzoico, oxicinamatos, benzofenonas e o octocrileno e como filtros inorgânicos o dióxido de titânio (TiO₂) e o óxido de zinco (ZnO) (LADEMANN, 2005).

Quanto ao mecanismo de ação, os filtros químicos mimetizam os cromóforos naturais da pele, ou seja, recebem a RUV e se elevam a um estado energético maior. Entretanto, ao invés de se tornarem reativos e causarem danos e formação de EROs, são estáveis, conseguindo converter a alta carga energética em radiação de baixa energia e retornam ao estado de repouso (Figura 2A), diferente dos filtros inorgânicos, pois estes agem por reflexão da RUV, impedindo a sua penetração na pele (Figura 2B) (LATHA, 2013).

Figura 2. Mecanismo de ação dos filtros solares



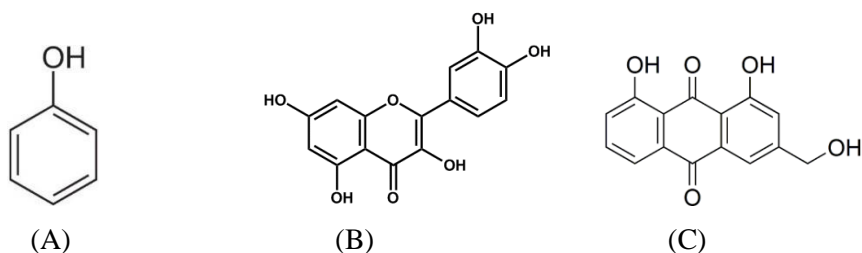
Fonte: Própria, 2021

A depender da constituição e proporção dos filtros, as formulações cosméticas possuem os chamados Fatores de Proteção Solar (FPS), que é uma medida experimental obtida através da comparação entre o tempo necessário para que a RUV em dado comprimento de onda possa causar eritema na pele protegida em detrimento da pele desprotegida. A escolha do FPS se baseia em características individuais e necessidades da pele do usuário (FDA, 2017).

A busca por novos agentes fotoprotetores oriundos de matriz vegetal tem sido alvo de pesquisadores em diversas áreas, como a cosmetologia (SOLANO, 2020). Essas propensões partem do princípio que as plantas possuem mecanismos de defesa endógenos frente ao estresse oxidativo imposto pela RUV em excesso (LIU, 2009). Uma das formas das plantas resistirem às EROs é a produção de enzimas, carotenoides, betalaínas e moléculas fenólicas, as quais conseguem atenuar esses agentes. Essas moléculas são produzidas pelo metabolismo primário e secundário das plantas e ficam situados nas porções anatômicas distais, sobretudo na epiderme das folhas (WINKEL-SHIRLEY, 2002; SHARMA; GURUPRASARD, 2009).

Os fenóis (Figura 1) são grupos funcionais presentes em moléculas que possuem como estrutura uma hidroxila associada a um anel aromático, sendo que parte dos marcadores químicos de muitos vegetais são moléculas polifenólicas (SOLOMONS; FRYHLE; SNYDER, 2018).

Figura 3. Estrutura química do fenol (A) e representação de um flavonoide (B) e uma antraquinona (C).



Fonte: Própria do autor, 2021.

Além de possuírem cromóforos, os compostos polifenólicos possuem caráter ácido, dessa forma, em um meio favorável, tendem a liberar o hidrogênio pertencente a hidroxila, de modo que estando em ambiente rico em radicais livres, esse hidrogênio reage com estes e os estabiliza. Entretanto, o polifenol permanece estável, visto que o oxigênio comporta bem cargas negativas e o par de elétrons entra em ressonância com os demais elétrons do grupo aromático.

Em suma, se uma planta tiver abundância em compostos cromóforos, pode-se inferir que também terá uma atividade antioxidante e fotoprotetora notáveis (SOARES, 2002).

Existe hoje na literatura estudos que visam averiguar a possibilidade de extratos de plantas absorverem a RUV em ensaios de fotoproteção, dentre os quais pode-se citar a pesquisa desenvolvida por Alencar Filho e colaboradores (2020) em que se investigou a atividade fotoprotetora por método espectrofotométrico (UV-Vis) de uma formulação gel contendo extrato fluido de *Alternanthera brasiliana* (L.). Nesse estudo, os autores desenvolveram um planejamento fatorial para eleger quais condições permitiam uma maior extração de flavonoides. Posteriormente, incorporaram esse extrato (cujo teor de flavonoides foi de 503.7 ± 14.01 mg EQR/g) em um gel base, o qual apresentou FPS 21.33 ± 1.25

Com metodologia similar, Orlanda e Vale (2015) tiveram resultados exitosos nos seus experimentos de avaliação da atividade fotoprotetora utilizando extratos etanólicos de *Euphorbia tirucalli*, os quais apresentaram FPS entre 6,05 e 19,82, variando a concentração do extrato de 0,01 a 0,1 µg/mL. Ressalta-se, ainda, que os autores investigaram o teor de flavonoides dos extratos etanólicos de *E. tirucalli* foi de $63,57 \pm 2,74$ mg de equivalentes de catequinas por g (mg EqC/g) em média. Além disso, determinaram o teor de fenóis totais, o qual possibilitou um teor médio de $96,18 \pm 1,33$ mg equivalente de ácido gálico por grama (mg EAG/g) (ORLANDA; VALE, 2015).

Nos estudos supracitados, o teor de flavonoides totais e outros compostos fenólicos parece ter influenciado na atividade fotoprotetora investigada, afinal, estes componentes têm atividade notável no que diz respeito à fotoproteção (ALENCAR FILHO *et al.*, 2018).

Nesse contexto das plantas medicinais com compostos fenólicos, destaca-se a *Senna alata* (L.) Roxb (Figura 2) por possuir flavonoides e outros compostos como marcadores químicos e farmacológicos (FATMAWATI *et al.*, 2020). E no que diz respeito a isso, uma pesquisa foi realizada por Pamulaparthi e colaboradores (2016), onde foi determinado o teor de fenóis e flavonoides totais de extratos das folhas de *Senna alata*. Como resultados relevantes, os autores demonstram que o extrato aquoso, apresentou 52.3 ± 0.03 mg EAG/g na dosagem de fenóis totais e 41.6 ± 0.34 mg EQR/g no teor de flavonoides totais (PAMULAPARTHI *et al.*, 2016).

Figura 4. *Senna alata*, evidenciando suas folhas, fruto e inflorescência.



Fonte: Fatmawati e colaboradores (2020).

3.4 PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS, FITOQUÍMICAS E FARMACOLÓGICAS RELATIVAS AO GÊNERO *Senna* E A ESPÉCIE *Senna alata* (L). *Roxb*

Os vegetais do gênero *Senna* (sinonímia botânica – *Cassia*) são plantas pertencentes à um dos maiores grupos da família Fabaceae e são típicas das regiões tropicais, sendo bastante utilizadas pela medicina tradicional de muitas culturas. Essas plantas compartilham muitas semelhanças anatômicas, sendo que a maior parte delas são árvores ou arbustos que contêm inflorescências amarelas comuns a quase todas as espécies (VIEGAS-JUNIOR *et al.*, 2006).

Do ponto de vista do uso medicinal, os estudos etnofarmacológicos constataram a utilização dessas plantas em inúmeras partes do mundo, com atividade antibacteriana, laxativa, hepatoprotetora, anti-malária e como antídotos para toxinas de animais peçonhentos (OLADEJI *et al.*, 2020). Quanto aos aspectos fitoquímicos, os vegetais do gênero *Senna* compartilham a presença de marcadores farmacológicos, sendo que a maioria se trata de flavonoides, saponinas, esteroides, antraquinonas e alcaloides (NEVES *et al.*, 2017).

No Brasil, as plantas do gênero *Senna* têm ampla distribuição na região correspondente a mata atlântica e são utilizadas como plantas medicinais e ornamentais, tendo destaque a *S. spectabilis*, *S. carnavall*, *S. excelsa*, que se assemelham em morfologia, além de serem ricas em alcaloides (MACEDO *et al.*, 2016). Outro destaque é a *Senna alexandrina* Mill (popular sene), sendo um vegetal conhecido pela atividade laxativa. Sene possui antraquinonas como marcadores químicos e é comercializado no Brasil como produto tradicional fitoterápico (BRASIL, 2019).

A *Senna alata* é um arbusto perene que tem de 1 a 4 metros de comprimento, com folhas de formato ovado. O seu fruto consiste em uma vagem poliédrica de cor marrom quando está maduro, além de possuir muitas sementes pequenas e peroladas de formato tetraédrico, possuindo também inflorescências amarelas semelhantes a um candelabro, razão pela qual é denominada em muitas localidades (ABO; FRED-JAIYESIMI; JAIYESIMI, 2008).

Quanto à sua distribuição, localiza-se nas regiões intertropicais, sendo prevalente na Índia, África e Caribe e alguns países da América do Sul (no Brasil, se localiza na região Norte e Nordeste). Na maioria dos países citados, esse vegetal faz parte da medicina tradicional e tem suas propriedades bem exploradas pela população, fazendo parte, hoje, da farmacopeia francesa (NEVES *et al.*, 2017).

Hennebelle e colaboradores (2009) reuniram em uma revisão sistemática os principais usos populares de *Senna alata* segundo estudos etnofarmacológicos. Na maioria dessas investigações com as populações que utilizam a planta, ficou claro que as principais partes utilizadas para fins terapêuticos são as folhas, inflorescências e sementes, essencialmente para o tratamento de infecções cutâneas e para se obter efeito laxativo. Além disso, foram relatadas as suas propriedades anti-ulcerogênicas e uso para o tratamento de doenças respiratórias como a gripe e bronquite (HENNEBELLE *et al.*, 2009).

Confirmando o uso popular, ensaios pré-clínicos utilizando extratos de *S. alata*, demonstraram as atividades antimicrobianas (KHAN; KIHARA; OMOLOSO, 2001; PONNUSAMMY *et al.*, 2010), anti-inflamatória (MORIYAMA, 2003), antitumoral (OLARTE *et al.*, 2013), antidiabética (PIEME *et al.*, 2008), antioxidante (SARKAR *et al.*, 2014), anti-alérgica (SINGH *et al.*, 2012) e anti-helmíntica (KUNDU; ROY; LYDEM, 2012) dessa planta.

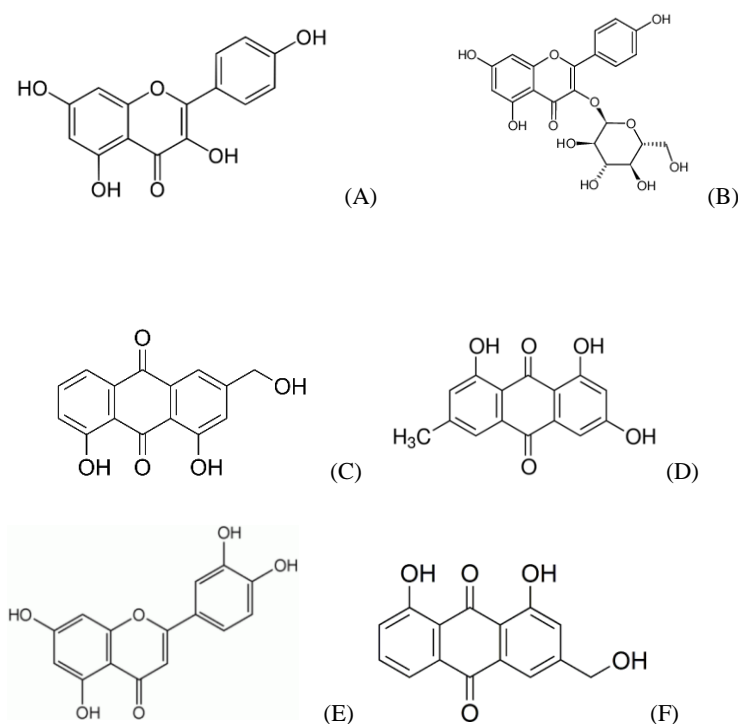
As principais atividades farmacológicas de *Senna alata*, essencialmente a antibacteriana e antifúngica são atribuídas ao flavonoide canferol e derivados como o canferol-3-O- β -D-glucopiranosídeo, bem como outros flavonoides, como a luteolina (HENNEBELLE *et al.*, 2009). Quanto ao mecanismo de ação, supõe-se que os flavonoides (inclusive os que são marcadores de *S. alata*) possuem atividade antimicrobiana por interferir na função do DNA, síntese proteica e gerar danos à membrana de bactérias e fungos (XIE *et al.*, 2015).

Também têm destaque como marcadores farmacológicos as antraquinonas, como a emodina, aloe-emodina e a reína, que são os possíveis responsáveis pelo efeito laxativo (FATMAWATI *et al.*, 2020). Tratam-se de compostos hidroxiantracênicos, os quais tem como possíveis mecanismos de ação a irritação do cólon, estimulando a peristalse por seja por ação direta sobre o músculo liso ou pela inibição da bomba de sódio-potássio-ATPase (Na^+/K^+ -

ATPase) e consequentemente retenção de água e sódio para o intestino (MALIK; MÜLLER, 2016).

Além dos flavonoides e antraquinonas, foram identificadas também cromonas, esteroides, cumarinas, antronas, ácidos fenólicos, ácidos graxos. No tocante a identificação e elucidação estrutural, estas moléculas, foram determinadas através das técnicas de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (CLAE-EM), além de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), bem como Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 e Hidrogênio 1 (RMN- C_{13} e H_1), infravermelho (IV) e ultravioleta (UV) (FATMAWATI *et al.*, 2020). A Figura 3 apresenta alguns das moléculas já identificadas em *Senna alata*.

Figura 5. Estrutura molecular dos marcadores de *Senna alata*.



(A) Canferol; (B) canferol-3-O- β -D-glucopiranosídeo; (C) Aloe-emodina; (D) Emodina; (E) Luteolina (F) Reína

Fonte: Própria do autor, 2021

Além dos ensaios farmacológicos, existem alguns ensaios de toxicidade aguda e subaguda em ratos *Wistar* foram realizados por Ugbogu e colaboradores (2016) e Igbe e colaboradores (2016). Em ambas as pesquisas, os autores visaram averiguar eventuais danos sistêmicos atribuídos aos extratos de *Senna alata* em concentrações diferentes (100 a 1000 mg/kg) e demonstraram que nos animais não houveram lesões hepáticas, renais, cardíacas e em

outros órgãos, sugerindo pelo menos em âmbito pré-clínico, a segurança dessa planta para uso medicinal. (UGBODU *et al.*, 2016; IGBE *et al.*, 2016).

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO E LOCAL DA PESQUISA

Trata-se de uma pesquisa básica, de caráter exploratório e de cunho laboratorial que foi realizada no laboratório de Bioquímica da Faculdade Irecê (FAI) e no laboratório da Central de Análise de Fármacos, Medicamentos e Alimentos da Universidade Federal do Vale do São Francisco (CAFMA/UNIVASF).

4.2 COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal foi coletado na cidade de São Gabriel, Bahia, Brasil, cuja localização exata segundo GPS foi de 11°18'32,75" latitude sul e 41°51'11,43" em longitude oeste. Após isso, foi coletada uma amostra da espécie vegetal contendo caule, folhas, inflorescências e fruto da planta para confecção de uma exsicata (Figura 4).

Por fim, foram coletadas as folhas de *S. alata* para a realização da pesquisa e o material vegetal foi seco ao natural até peso constante. O material vegetal foi identificado pela professora Dra. Ivânia Batista Oliveira Farias, botânica vinculada à Faculdade Irecê – FAI.

Figura 6. Exsicata de *Senna alata*.



Fonte: Própria do autor, 2021.

4.3 DESENHO EXPERIMENTAL DA EXTRAÇÃO UTILIZANDO PLANEJAMENTO FATORIAL

Adotando a metodologia similar a Migliato e colaboradores (2011), foi realizado um planejamento fatorial completo 2^2 para realização da extração. Para tanto, foram considerados dois níveis e dois fatores, perfazendo o total de quatro extratos ($2^2 = 4$). Dessa forma, os fatores considerados para o experimento foram: (1) Teor de propilenoglicol (PGL); e (2) agitação do sistema (extração com ou sem agitação).

Para fins experimentais, os níveis correspondentes aos fatores foram dois sistemas de solventes constituídos de água e propilenoglicol (PGL) (X_1) na proporção 1:1 (50% - PGL50), sendo este o nível alto (+1) e na proporção 3:7 (30% - PGL30), ou seja, o nível baixo (-1). No tocante ao grau de agitação (X_2) os níveis considerados foram a presença de rotação a 300 rpm (+1), e ausência de agitação (-1). O quadro 2 apresenta a matriz que resume o planejamento de extração considerando as variáveis e os níveis utilizados.

Quadro 2. Planejamento fatorial de extração dos extratos de *Senna alata*.

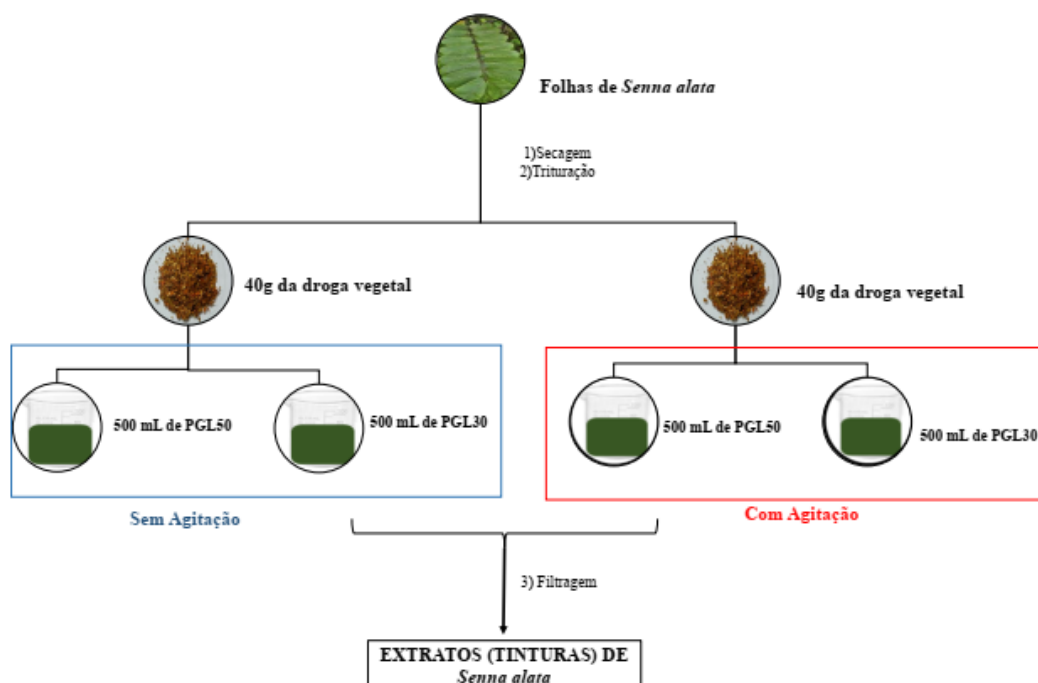
Extrato	Teor de propilenoglicol (X_1)	Agitação (X_2)
E₁	+1	+1
E₂	-1	+1
E₃	+1	-1
E₄	-1	-1

Fonte: Própria do autor, 2021.

O preparo dos extratos foi realizado conforme descrito por Savero e colaboradores (2013) com modificações (Figura 5).

Logo após a secagem das folhas para obtenção da droga vegetal, estas foram pulverizadas com o auxílio de um gral e pistilo a fim de reduzir o tamanho das partículas. A partir daí foram preparados quatro extratos segundo o proposto pela matriz de planejamento fatorial completo descrita no Quadro 1. Para tanto, foram pesados 40 g da droga vegetal em quatro béqueres e posteriormente foram adicionados 500 mL de PGL50 nos béqueres correspondentes aos extratos E₁ e E₃, e 500 mL de PGL30 nos demais (sistemas de extração E₂ e E₄).

Figura 7. Fluxograma com as etapas da preparação dos extratos de *Senna alata* (L.) Roxb.



Fonte: Própria do autor, 2021.

Por fim, foi acoplado um agitador mecânico (FISATOM – modelo 711) aos sistemas de extração E₁ e E₂ em rotação na frequência de 300 rpm. O processo de extração em todos os ensaios teve duração de 2 h (Figura 6). Em seguida, os extratos (tinturas) obtidos foram filtrados em funil e papel filtro e armazenados em geladeira em frascos âmbar.

Figura 8. Processo de otimização da extração por planejamento fatorial completo.

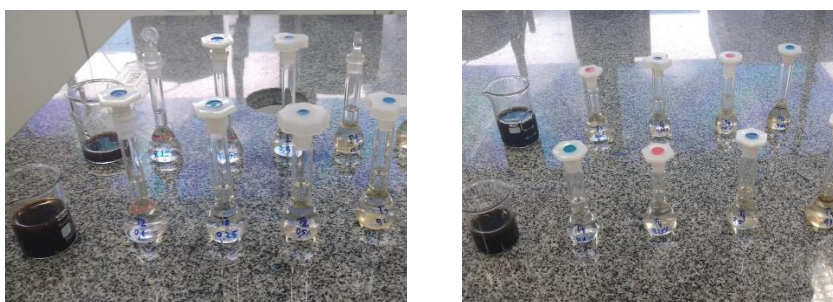


Fonte: Própria do autor, 2021.

4.4 INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE FOTOPROTETORA POR ESPECTROFOTOMETRIA

Para avaliação da atividade fotoprotetora *in vitro*, foram realizados os procedimentos experimentais propostos por Mansur e colaboradores (1978). Para tanto, os extratos das folhas de *Senna alata* previamente obtidos (Tópico 4.3) foram utilizados para elaboração de 10 mL de quatro soluções-teste, nas concentrações de 1%, 0,75%, 0,5% e 0,25% (v/v) utilizando como solvente etanol absoluto (99,5%) (Figura 7).

Figura 9. Soluções-teste dos extratos de *S. alata*.



Fonte: Própria do autor, 2021.

A partir de então, os extratos nessas concentrações foram submetidos à leitura espectrofotométrica em espectrofotômetro de varredura UV-Vis (Shimadzu 2600) – Figura 8 - em comprimento de onda de 200 a 400 nm, variando de 1 nm em 1 nm, utilizando para os ensaios cubetas de quartzo de caminho óptico de 1 cm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Figura 10. Espectrofotômetro de varredura UV-Vis (Shimadzu 2600).



Fonte: Própria do autor, 2021.

Além da varredura nos comprimentos de onda supracitados, a atividade fotoprotetora foi determinada em termos de FPS, nos comprimentos de onda de 290 nm a 320nm (considerando intervalo de 5nm em 5 nm) a partir da fórmula ilustrada na Equação 1.

Equação 1. Equação para determinação do Fator de Proteção Solar UVB (FPS-UVB).

$$\text{FPS} = F_c \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

F_c = fator de correção igual a 10 ($F_c = 10$)

$\text{EE}(\lambda)$ = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda (λ) nm

$I(\lambda)$ = intensidade da radiação solar no comprimento de onda (λ) nm

$\text{Abs}(\lambda)$ = leitura espectrofotométrica da absorbância da solução do extrato no comprimento de onda (λ) nm

Fonte: SOUZA, 2016 (adaptado).

Na equação acima, a correlação entre $\text{EE}(\lambda) \times I(\lambda)$ pode ser adotada como uma constante para os referidos comprimentos de onda analisados (290-320), visto que já foi determinado por Sayre e colaboradores (1979), esses valores estão descritos no Quadro 2.

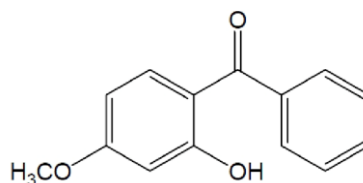
Quadro 3. Valores da relação $\text{EE}(\lambda) \times I(\lambda)$ em função dos comprimentos de onda de 290 a 320.

$\lambda(\text{nm})$	$\text{EE}(\lambda) \times I(\lambda)$
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

Fonte: Sayre e colaboradores, 1979 (adaptado).

Além do FPS-UVB dos extratos nas concentrações estabelecidas, realizou-se também uma comparação da atividade fotoprotetora dos extratos com um controle positivo (CP). Para tanto, o comportamento (absorbância) das soluções-teste frente ao espectro UVB das soluções-teste foram comparadas ao da Benzofenona-3 (BZF-3) – Figura 9 – sendo este filtro químico o controle positivo.

Figura 11. Estrutura química da benzofenona-3.



Fonte: Própria do autor, 2021.

Para tanto, preparou-se uma solução de BZF-3 a 0,01% utilizando etanol absoluto como solvente. Em seguida, os valores das absorvâncias em UVB e FPS da BZF-3 foram analisados. Ressalta-se que o etanol absoluto foi utilizado com branco para a leitura espectrofotométrica.

Por fim, após normalização dos dados, adotou-se atividade fotoprotetora da BZF-3 parâmetro (correspondente a 100% da atividade fotoprotetora), sendo o percentual das soluções-teste contendo os extratos de *Senna alata* equiparados comparada e proporcionalmente e expressos em atividade fotoprotetora da BZF-3.

4.5 TRATAMENTO E INTERPRETAÇÃO DOS DADOS

Para correlacionar os resultados do potencial fotoprotetor dos extratos obtidos no planejamento fatorial, foram plotados gráficos superfície-resposta e gráfico de Pareto para determinar qual(is) fatores foram significativas na resposta investigada (FPS). Além disso, uma relação gráfica de concentração pela absorvância (% (v/v) x Abs) foi construída para demonstrar o perfil e bandas de absorção do espectro da radiação UV (200nm a 400 nm) das soluções-teste.

Para reiterar as análises dos dados, os valores da atividade fotoprotetora foram tabulados e demonstrados a partir de gráficos concentração/resposta para as respectivas soluções-teste comparadas ao controle positivo (BZF-3).

Quanto os testes estatísticos aplicados, utilizou-se a Análise de Variância Simples (ANOVA One-Way) seguido de teste de Tukey, a fim de verificar as eventuais diferenças estatísticas (valor de p inferior a 0,05 – $p < 0,05$) das absorvâncias e do FPS dos extratos nas respectivas concentrações analisadas.

A aplicação dos métodos estatísticos, bem como a construção dos gráficos foram realizadas com a utilização dos softwares Graphpad Prism® versão 8.0, Origin® 2018 e STATISTICA®.

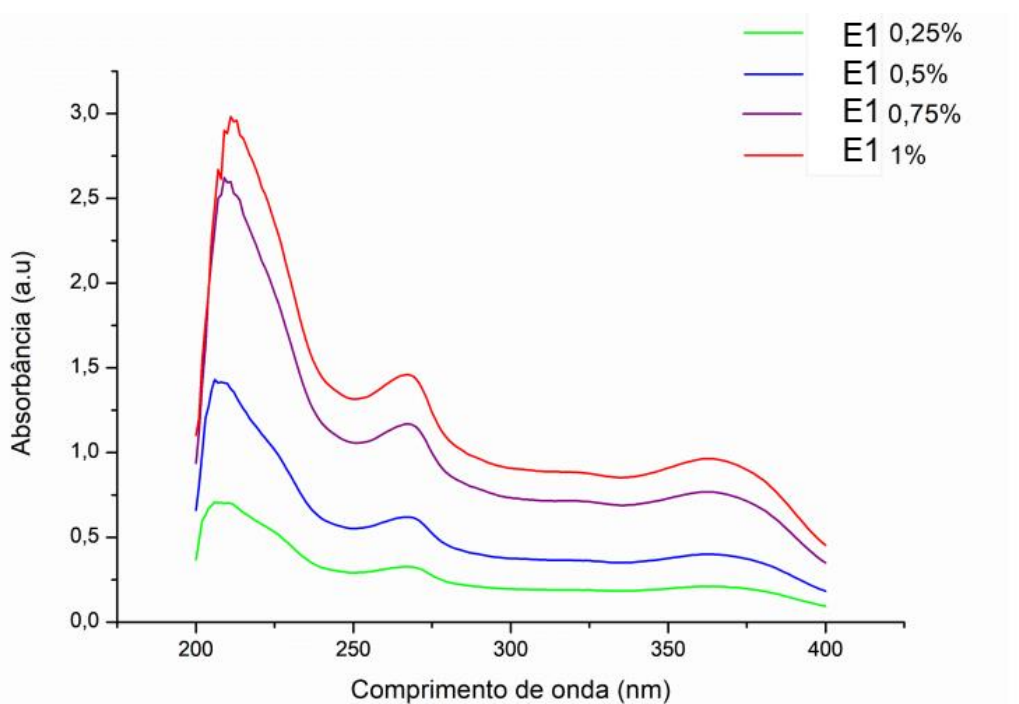
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CURVAS DE ABSORÇÃO DOS EXTRATOS DE *Senna alata* (L). Roxb NOS COMPRIMENTOS DE ONDA REFERENTES À RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

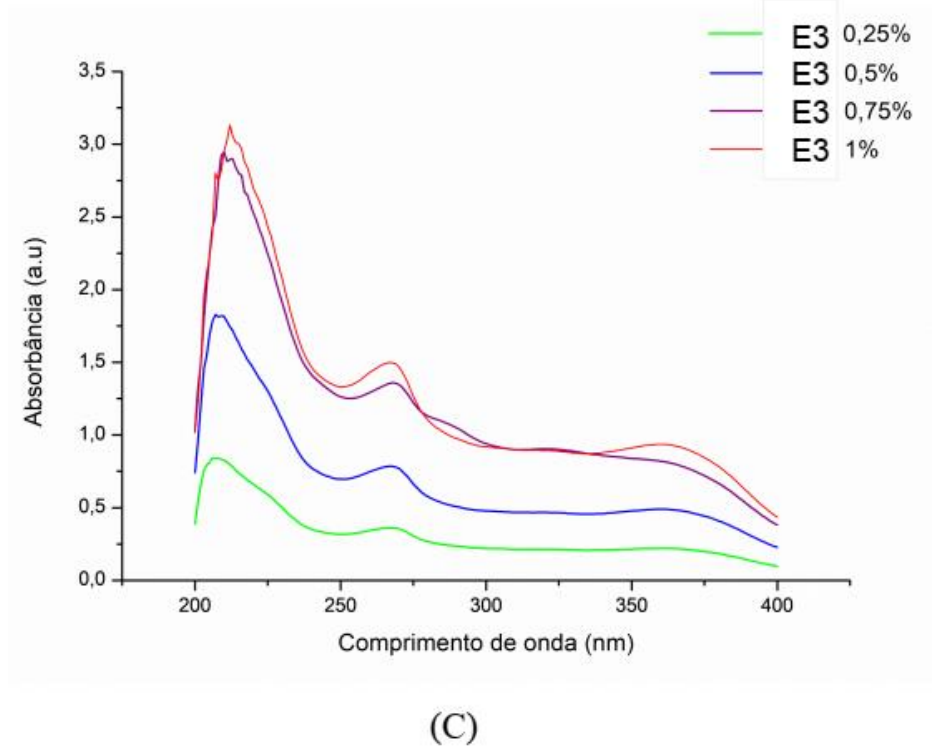
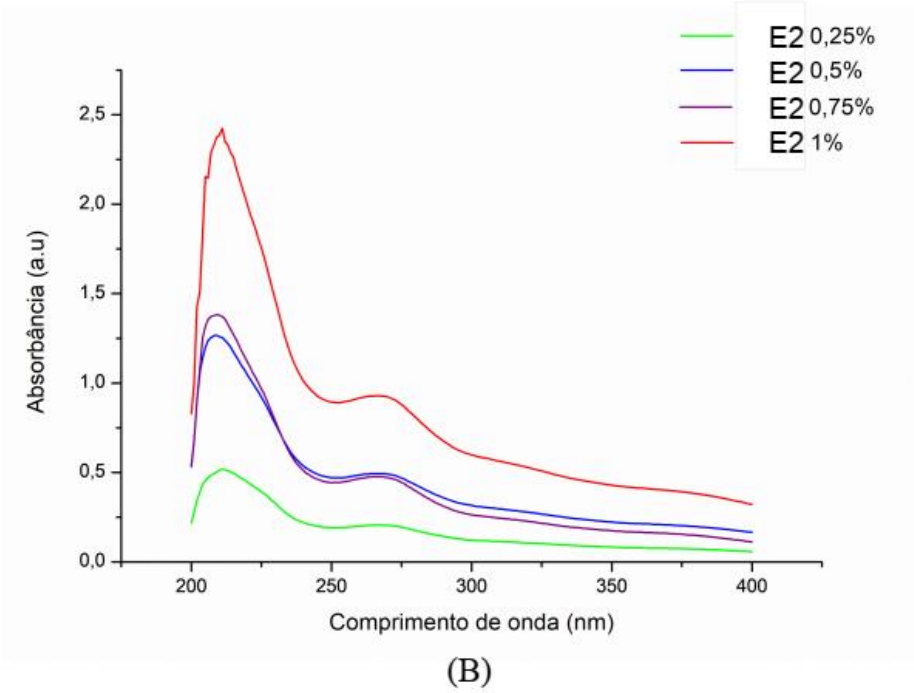
A partir da análise do gráfico representado na Figura 12A, observa-se que a solução-teste referente ao extrato E1 a 1% apresentou os maiores valores de absorção, sendo dois nos comprimentos de onda referentes a UVC (211 nm e 267 nm) e um pico em UVA (367 nm). Nas outras concentrações, os extratos reproduzem os picos de absorbância nos comprimentos de onda correspondentes ou aproximados.

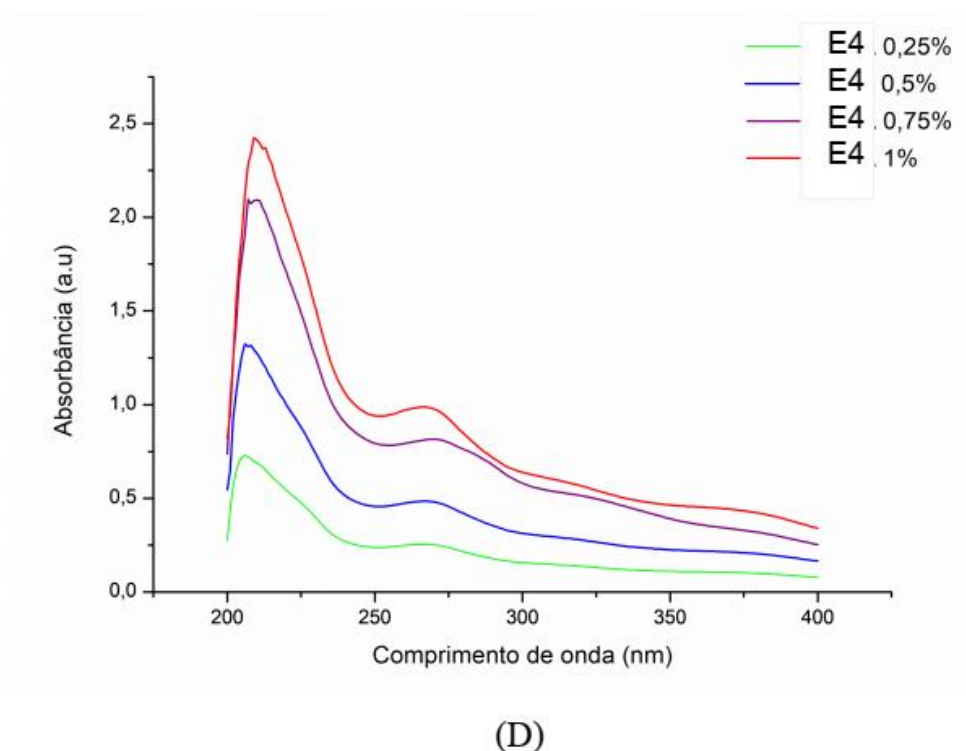
Resultado semelhante se observou nas solução-teste a 1% do E3 (Figura 12C) onde os picos de absorbância da radiação UVC ocorreram em três pontos, mais especificamente nos comprimentos de onda 207 nm, 212 nm e 267 nm, sendo o pico de absorção observado em 361 nm (referente à UVA). Da mesma forma que as soluções-teste de E1, as outras soluções-teste de E3 apresentaram perfil de absorbância semelhantes, denotando reprodutibilidade dos resultados.

Figura 12. Representação gráfica das absorbâncias das soluções-teste dos extratos E1 (A), E2 (B), E3 (C) e E4 (D) de *Senna alata* nos comprimentos de onda referentes ao espectro ultravioleta



(A)





Fonte: Própria, 2021

Verificou-se também que a solução do extrato E2 na concentração de 1% apresentou dois picos de absorção (Figura 12B), porém, apenas em UVC (211 nm e 267 nm) não sucedendo mais nenhum pico da absorvância nos outros comprimentos de onda. Do mesmo modo que as soluções, as outras concentrações apresentaram picos semelhantes nos comprimentos de onda próximos ou equivalentes.

Analogamente, as soluções de E4 (Figura 12D) apresentam apenas dois picos em UVC, sendo os picos da concentração 1% em 209 nm e 267 nm e das demais soluções em faixas de comprimento próximas ou equivalentes.

De modo geral, pela análise das soluções-teste, nenhum dos extratos apresentou picos de absorção em UVB, embora nos extratos que foram planejados com PGL50 (E1 e E3) as absorvâncias se encontraram na faixa de 0,800 a 0,980.

Existem poucos estudos publicados na literatura que relatem sobre análise espectrofotométrica em plantas do gênero *Senna*. Um deles, desenvolvido por Silva (2017) que averiguou a atividade fotoprotetora de extratos metanólicos, hexânicos, aquosos e diclorometânicos das partes aéreas de *Senna splendida*. Os extratos hexânicos apresentaram baixa absorção no espectro UV sem presença de picos, os metanólicos demonstraram absorvâncias características entre 260 nm e 280 nm, enquanto os extratos aquosos e

diclorometânicos apresentaram absorbância relevante entre 250 a 280 nm. Todos e os mais relevantes picos ocorreram no espectro UVC (SILVA, 2017).

Além desse trabalho, Patil e colaboradores (2020) utilizaram as vagens de *Senna siamea* para obtenção de um corante a partir dessa matéria-prima em diferentes condições experimentais. Esse extrato teve uma absorbância significativa (1,563) no espectro UVB, no comprimento de 287 nm (PATIL *et al.*, 2020)

Apesar disso, quando se trata de vegetais da família na qual a *Senna alata* pertence, a Fabaceae, existe um volume significativo de trabalhos publicados sobre o perfil de absorção de extratos de plantas no espectro UV. Um das justificativas para estudar plantas dessa família está embasada no teor de flavonoides e outros compostos já isolados encontrados nas espécies desse grupo, inclusive em *Senna alata* (ALI *et al.*, 2010; CANZI *et al.*, 2014).

A exemplo de pesquisas envolvendo a estudo de fotoproteção, existe a que foi desenvolvida por Shenoy e colaboradores (2010), a qual preparou extratos aquosos, metanólicos e de acetona das folhas de *Pongamia Pinnata*. Os extratos aquoso e metanólico apresentaram picos de absorção em UVC, com absorbâncias significativas em UVB, ao passo que o extrato que foi preparado utilizando acetona como solvente não apresentou absorbância em UVB e UVC, apresentando um importante pico e platô na região do UVA, nesse ponto os autores discorrem sobre a polaridade dos sistema de solventes na extração de compostos com fotoabsortividade (SHENOY *et al.*, 2010).

5.3 ATIVIDADE FOTOPROTETORA DOS EXTRATOS DE *Senna alata* (L). Roxb

Analizando os valores de FPS-UVB dos extratos (expressos anteriormente na Tabela 1) observa-se que FPS dos extratos E1, E2 e E4 aumentaram numa relação concentração-dependente, havendo significância estatística ($p < 0,05$). Em contrapartida, a solução a 0,75% de E3 apresentou um FPS superior ao da concentração de 1% para o mesmo extrato, além disso, a solução nessa concentração representou o maior FPS em comparação às outras soluções ($9,25 \pm 0,01$).

Sabendo disso e tomando como base a Resolução nº 30 de 1 de junho de 2012 da Reunião de Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que determina a necessidade de um FPS-UVB mínimo de 6 em fotoprotetores (BRASIL, 2012), conforme os dados da Tabela 1, pode-se observar que as soluções dos extratos E1 e E3 na concentração de 0,75% e 1% e E4 a 1% foram superiores a 6 e atendem os requisitos mínimos

para serem incorporados em formulações protetoras solares, com possibilidade de incremento de fotoproteção.

Dessa forma, a partir desses resultados, observou-se que em baixas concentrações (0,75 e 1%), os extratos de *S. alata* citados acima apresentaram a proteção mínima exigida pela autoridade sanitária brasileira, e possivelmente com a incorporação de maiores quantidades destes em uma base (levando em consideração as características formulação) a proteção poderia ser aumentada ao se empregar maiores concentrações.

Outro fato que merece relevância nessa pesquisa é o tempo de extração adotada para obtenção dos extratos de *Senna alata*. Apesar da maceração ser um procedimento de fácil execução e barato, tem como principais desvantagens o fato de prescindir de quantidades consideráveis de líquidos extratores, além de levar horas ou semanas para ocorrer, o que representa uma desvantagem operacional em nível industrial (RASUL *et al.*, 2018).

Partindo das premissas citadas, analisando os valores de FPS obtidos de extratos de outras plantas do gênero *Senna* (até a presente data com publicações limitadas) e da família Fabaceae relevantes já divulgados, bem como correlacionando aos métodos extrativos e as concentrações adotadas, reforça-se a expressividade dos valores de FPS dos extratos de *Senna alata*.

Exemplo disso é a pesquisa desenvolvida por Silva (2017), que visou determinar a atividade fotoprotetora de *Senna splendida*. O processo de extração durou 72 h (maceração exaustiva) para obtenção do extrato metanólico bruto e tanto este quanto os outros extratos obtidos, obtiveram valores de FPS de 4,72 a 10,76, sendo que a concentração das soluções-teste empregadas no estudo foi de 100 µg/mL.

Nunes e colaboradores (2018) realizaram ensaios de fotoproteção com vegetais oriundos da Caatinga. Nessa pesquisa, foram preparados extratos secos de nove vegetais, entre eles dois da família Fabaceae, *Amburana cearensis* A. C. Smith e *Dimorphandra gardneriana* Tull. Os extratos dessas plantas foram preparados na concentração de 0,1 a 1 mg/mL e tiveram FPS de 17,60 e 20,12, respectivamente. Ressalta-se que o processo de extração foi maceração e durou sete dias.

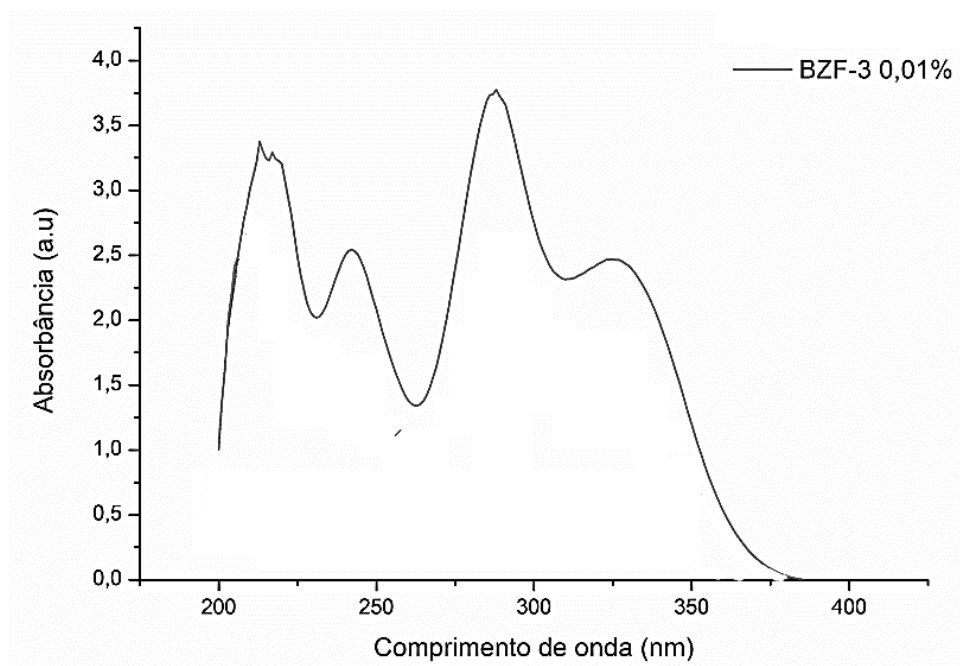
Nesta pesquisa, além dos dados brutos de FPS, as amostras foram comparadas ao controle positivo BZF-3. A partir dessa comparação, observou-se valores significativos considerando a ampla proteção UVB desse padrão e as concentrações das amostras de *Senna alata*.

A amostra contendo BZF-3 a 0,01% apresentou FPS de $25,78 \pm 0,01$, além de cinco picos de absorção (213 nm, 217 nm, 242 nm, 288 nm e 325 nm), apresentado na figura 12. Sabe-se que a BZF-3 é um filtro químico de atividade fotoprotetora (sobretudo no espectro UVB) bastante notória, prescindindo de pequenas concentrações nas formulações para que haja um fator de proteção considerável. Ainda assim, a legislação brasileira diz que os valores máximos de BZF-3 presentes nas formulações não devem exceder o valor de 10%, ainda, concentrações maiores de 0,5% devem ser notificadas no rótulo (BRASIL, 2016).

Apesar dos seus benefícios, existem algumas controvérsias e argumentos sobre danos à saúde humana provocada pelos filtros, embora até hoje sejam notificados apenas fotossensibilização (comuns a muitos filtros químicos) e hipersensibilidade (CDCP, 2017).

Estudos em animais revelam que a BZF-3 e seus metabólitos (benzofenona-1; 2,3,4-trihidroxibenzofenona e 2.2'-didroxi-4-metibenzofenona) causaram efeitos estrogênicos e antiestrogênicos, ressaltando que possuem rápida absorção pela via oral e tópica em modelos murinos. Além disso, já foram reportados em outros estudos os impactos da BZF-3 ao meio ambiente, sobretudo o aquático (KIM; CHOI, 2014).

Figura 12. Representação gráfica das absorbâncias da benzofenona-3 (BZF-3) nos comprimentos de onda referentes ao espectro ultravioleta.



Fonte: Própria do autor, 2021.

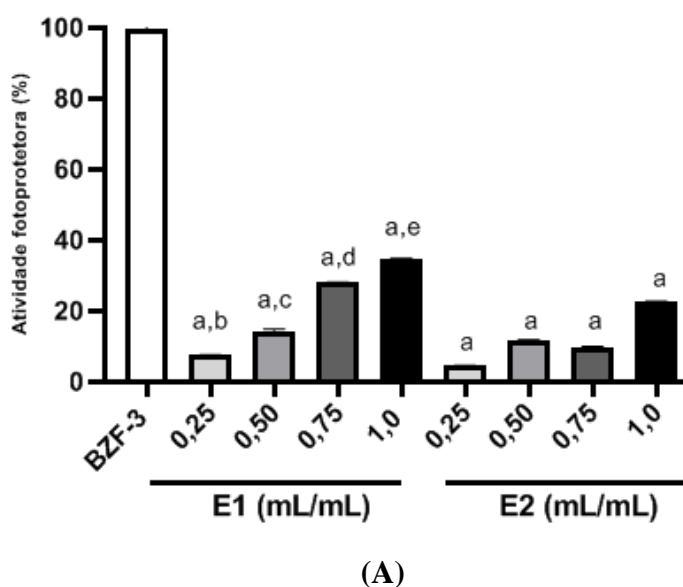
Os gráficos concentração-resposta da figura 13, em consonância com os dados da tabela 2, descrevem a atividade fotoprotetora das soluções-teste nas concentrações pré-definidas, comparando-as com ao controle positivo. Os valores de fotoproteção da BZF-3 foram normalizados e adotados como 100% para que fosse possível uma visualização comparativa da atividade protetora dos extratos nas respectivas concentrações em relação ao controle.

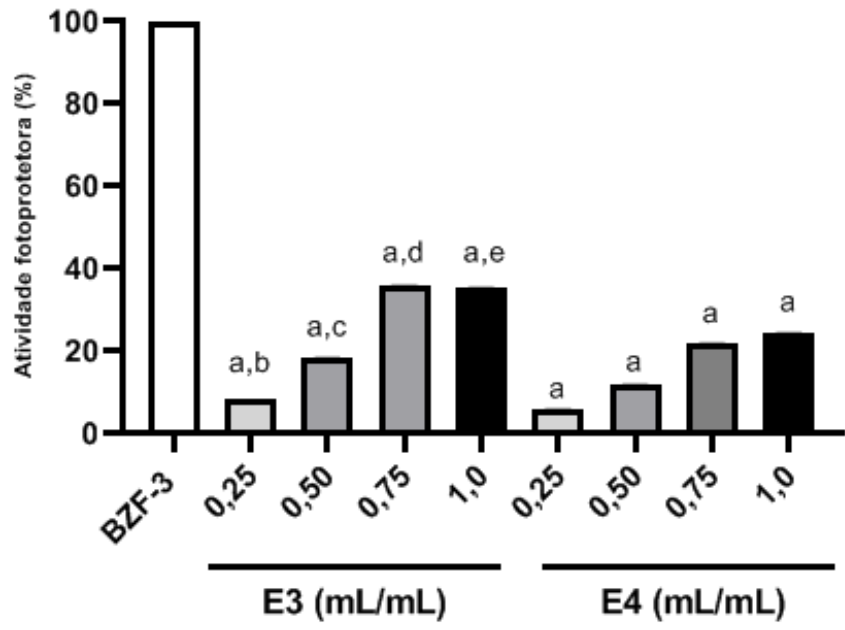
Tabela 2. Atividade fotoprotetora (%) das soluções-teste dos extratos de *Senna alata* em comparação ao controle positivo (BZF-3).

Concentração das soluções-teste % (mL/mL)	ATIVIDADE FOTOPROTETORA (%)			
	E1 (+1) , (+1)	E2 (-1) , (+1)	E3 (+1) , (-1)	E4 (-1) , (-1)
0,25	7,53% \pm 0,04	4,62% \pm 0,02	8,46% \pm 0,02	5,94% \pm 0,02
0,5	14,43% \pm 0,25	11,87% \pm 0,02	18,35% \pm 0,02	11,83% \pm 0,02
0,75	28,16% \pm 0,02	9,89% \pm 0,02	35,88% \pm 0,02	21,80% \pm 0,02
1	34,95% \pm 0,02	22,65% \pm 0,09	35,34% \pm 0,02	24,32% \pm 0,02

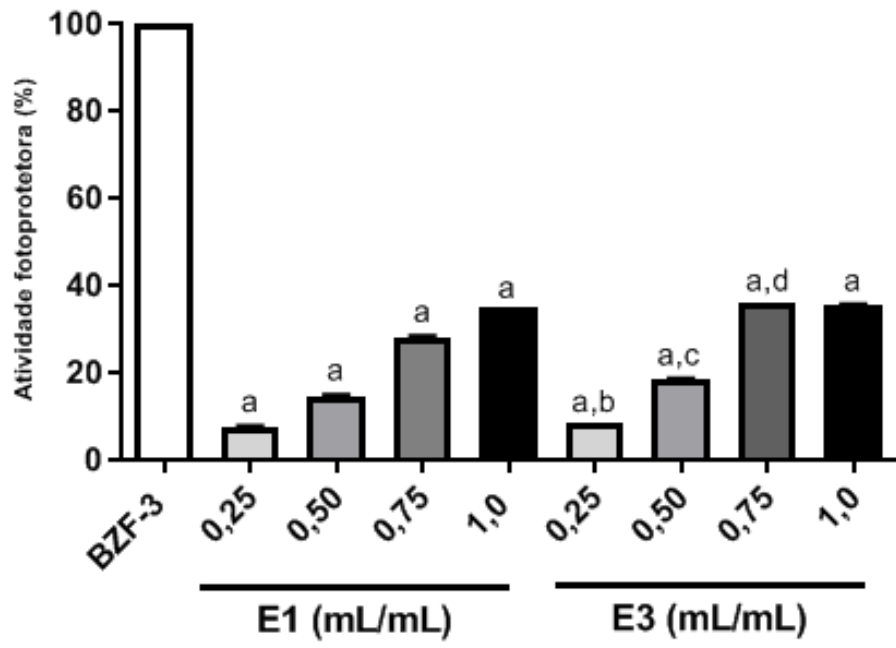
Fonte: Própria do autor, 2021.

Figura 13. Gráficos concentração-resposta relacionando a atividade fotoprotetora dos extratos (%) em comparação a benzofenona-3.

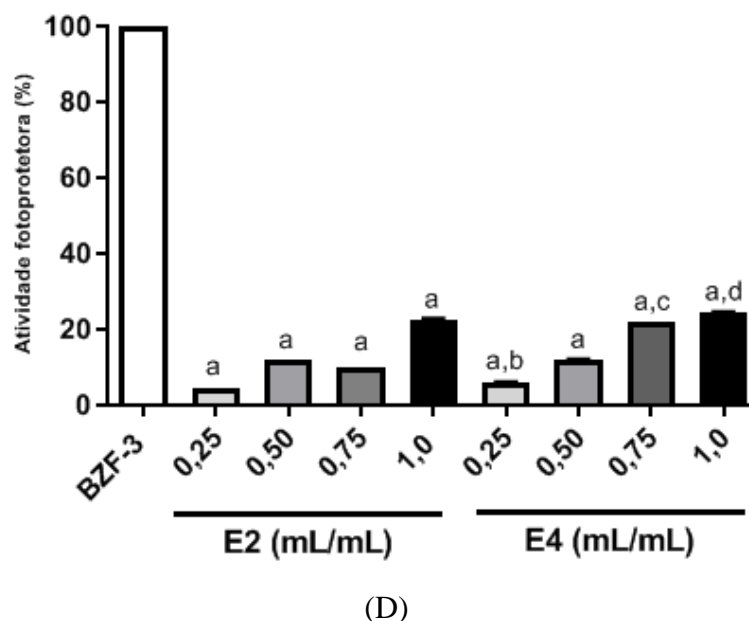




(B)



(C)



a – Diferença estatística significativa do controle (BZF-3) em relação aos extratos

b, c, d, e – Diferença estatística entre as concentrações (0,25%, 0,5%, 0,75% e 1%) dos extratos

Fonte: Própria do autor, 2021.

Os extratos que melhor apresentaram atividade fotoprotetora em relação ao controle foram E3 na concentração a 0,75 (35,88%), E3 na concentração a 0,75% (35,34%) e E1 na concentração a 1% (34,95%). Pela representação gráfica da figura 13, observa-se que existe diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre as atividades fotoprotetoras das soluções dos extratos e o controle positivo (a).

Os gráficos das figuras 13A e 13B representam a atividade fotoprotetora dos extratos comparando com o controle e as soluções-teste entre si, enfatizando o efeito do teor de propilenoglicol do sistema de solventes na resposta. Na medida que os gráficos das figuras 13C e 13D correlacionam as atividades fotoprotetoras dos extratos comparando o efeito da agitação do sistema naqueles que possuíam o mesmo grau de hidratação do sistema de solventes (PGL50 e PGL30).

Na comparação da atividade fotoprotetora dos extratos E1 e E2, bem como E3 e E4, houve diferença significativa entre as respostas de E1 em detrimento de E2, e E3 em relação a E4, demonstrando que o efeito da concentração do solvente foi significativo nos resultados de FPS.

A atividade fotoprotetora das soluções-teste de E3 foi relevante em comparação a E1, havendo diferença estatística entre elas ($p < 0,05$), com exceção da concentração dos extratos a 1%. As soluções-teste de E4 possuíam atividade fotoprotetora maior que as de E2 com exceção das concentrações de 0,5% de ambos os extratos, os quais não diferiram estatisticamente.

Dessa forma, em relação ao controle, observa-se que os extratos de *Senna alata* possuíam atividade fotoprotetora significativa devido ao fato de se tratar deste filtro químico ser um padrão puro e o extrato estar em baixas concentrações (0,75% e 1%).

Outros autores compararam também os seus extratos ao controle positivo BZF-3 de modo a comparar a atividade fotoprotetora, adotando também, pequenas quantidades do ativo. Por exemplo, Oliveira-Júnior e colaboradores (2017), com metodologia similar, realizaram uma comparação entre os extratos fluídos de *Neoglaziovia variegata*, adotando como controle positivo a BZF-3 (10 mg/L) e quercetina (10 mg/L). Os extratos na concentração 0,5% e 1,0% apresentaram FPS de $5,43 \pm 0,07$ e $11,73 \pm 0,04$ respectivamente, enquanto a BZF-3 apresentou FPS de $5,10 \pm 0,15$ e a quercetina $2,45 \pm 0,13$ (OLIVEIRA-JÚNIOR *et al.*, 2017).

De modo parecido, outra pesquisa desenvolvida por Oliveira e colaboradores (2021), investigaram a fotoproteção intrínseca a um extrato seco das cascas de *Hymenaea martiana*, (Fabaceae). As amostras apresentaram uma significativa absorbância nos comprimentos de onda UVB (sobretudo na faixa de 310 nm a 320 nm) na concentração de 100 mg/L, com absorbâncias similares a dois controles positivos (quercetina e benzofenona-3) na concentração de 10 mg/L. Quanto aos valores de FPS, o extrato bruto de *H. martiana* apresentou FPS de $12,43 \pm 1,25$, enquanto os controles quercetina e BZF-3 apresentaram FPS de $12,12 \pm 0,02$ e $8,45 \pm 0,06$ (OLIVEIRA *et al.*, 2021).

5.2. EFEITOS DA OTIMIZAÇÃO DA EXTRAÇÃO NOS VALORES DE FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR UVB (FPS-UVB) DOS EXTRATOS DE *Senna alata* (L). Roxb

Sob a perspectiva de se obter melhores condições que favoreçam a extração dos metabólitos secundários de *Senna alata*, essa pesquisa analisou duas variáveis dependentes que, em tese, podem contribuir para uma extração eficaz, a qual é mensurada por resultados de uma resposta, que nesse caso é o FPS-UVB.

A principal justificativa para isso é que a utilização de um sistema de solventes reflete diretamente na extração de compostos (polares ou apolares) podendo influenciar na atividade biológica investigada (CAMARGOS TAVARES *et al.*, 2013), ao passo que a agitação, confere

otimização da velocidade de extração, por fornecer maior exposição da superfície de contato do material vegetal aos solventes utilizados (FRANCO, 2007).

Apesar disso, a análise dos resultados do FPS-UVB evidenciou que a agitação do sistema de extração não proporcionou incremento à resposta, provavelmente pela saturação do sistema de solventes, algo que pode estar relacionado ao tempo de extração (2h).

Quanto ao teor de PGL nos extratos, foi notado que o sistema de extração que continha PGL50 evidenciou maiores valores de FPS-UVB, provavelmente pela maior extração dos compostos com atividade fotoprotetora confirmada (flavonoides e compostos hidroxiantracênicos). A Tabela 1 demonstra os valores de FPS-UVB dos extratos (E1 a E4) nas respectivas concentrações analisadas.

Tabela 1. Valores de FPS-UVB dos extratos E1 a E4 de *S. alata* (média \pm desvio padrão da média).

Concentração das soluções- teste % (v/v)	FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)			
	E1 (+1) , (+1)	E2 (-1) , (+1)	E3 (+1) , (-1)	E4 (-1) , (-1)
0,25	1,94 \pm 0,2	1,19 \pm 0,01	2,18 \pm 0,01	1,53 \pm 0,01
0,5	3,72 \pm 0,11	3,06 \pm 0,01	4,73 \pm 0,01	3,05 \pm 0,01
0,75	7,26 \pm 0,01	2,55 \pm 0,01	9,25 \pm 0,01	5,62 \pm 0,01
1	9,01 \pm 0,01	5,84 \pm 0,04	9,11 \pm 0,01	6,27 \pm 0,01

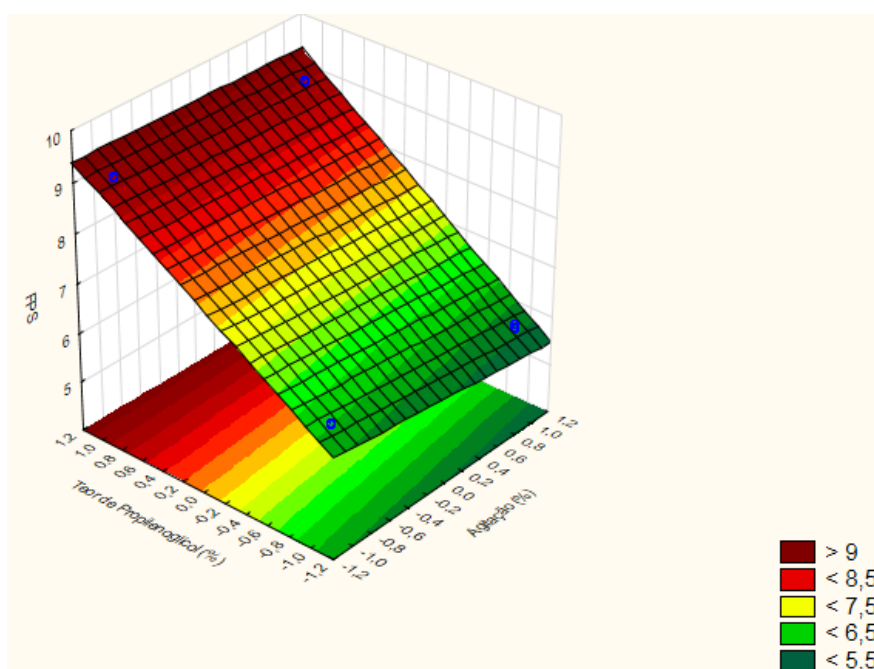
Fonte: Própria do autor, 2021.

Reiterando essa ideia, pela observação do gráfico superfície-resposta (Figura 11A) e de Pareto (Figura 11B), há uma demonstração visual que explica os resultados supracitados em detrimento das variáveis dependentes. Em ambas as representações, nota-se que os maiores valores de FPS foram obtidos nos extratos no nível alto no que tange ao teor de propilenoglicol no sistema de solventes, onde o PGL50 garantiu um incremento positivo e significativo ($p < 0,05$) na resposta, possivelmente pela maior extração de compostos fenólicos presentes em *S. alata*.

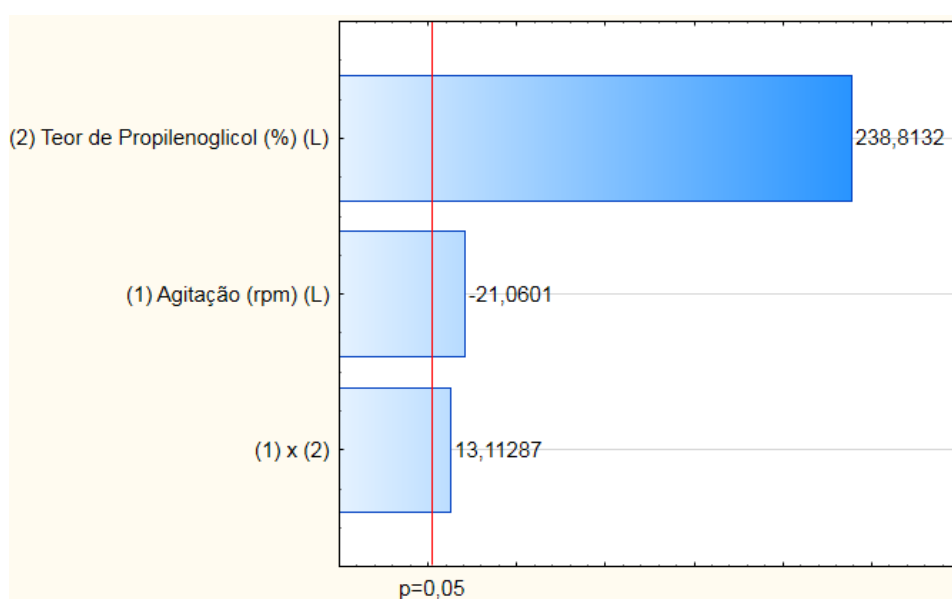
Em contrapartida, a agitação produziu efeito negativo expressivo no FPS para todas as concentrações do extrato. Ressalta-se ainda que a interação entre os fatores contribuiu positiva e significativamente para o incremento no FPS, porém, em menor escala comparada aos sistemas que possuíam PGL50.

A maior parte dos estudos publicados que possuem desenho experimental de extração por planejamento fatorial que utilizaram a agitação do sistema como um dos fatores, tiveram êxito na otimização da resposta final requisitada (SEVERO *et al.*, 2013; MARTINS *et al.*, 2017) demonstrando que essa variável de fato possui relevância do ponto de vista experimental para a extração de substâncias, porém, isso não foi observado nessa pesquisa.

Figura 11. Gráfico superfície-resposta (A) e gráfico de Pareto (B) evidenciando os resultados de FPS (variável dependente) em função das variáveis independentes da pesquisa.



(A)



(B)

Fonte: Própria do autor, 2021.

Quanto aos sistemas de solventes, no contexto do planejamento de extrações, existem resultados diferentes que giram em torno da escolha dos solventes e da forma como eles contribuirão mutualmente para a extração das moléculas de interesse, que na maioria das vezes demonstra que o teor de água do sistema de solventes possibilita maior extração de compostos de interesse no efeito investigado (AZIMIR *et al.*, 2013).

Sobre o sistema de solventes utilizado nesse estudo (água e propilenoglicol) existem poucos relatos na literatura sobre o potencial de extração do propilenoglicol ou ainda sobre a contribuição desse solvente no incremento da polaridade da água no processo de extração. Apesar disso, utilizar esse tipo de solvente em cosméticos é vantajoso, haja vista as propriedades que o PGL pode fornecer ao produto acabado como umectação, embora possa ser necessário a incorporação de conservantes para evitar o crescimento microbiano (BRASIL, 2019). Apesar disso, vale ressaltar que já foram relatadas dermatites de contato em cosméticos que possuíam o PGL (MCGOWMAN; SCHEMAN; JACOB, 2018).

Uma das poucas pesquisas que relatam sobre a utilização de um sistema de solventes contendo água e propilenoglicol é a que foi desenvolvida por Ardisson e colaboradores (2002). Nesse estudo, os autores objetivaram verificar em que proporção de propilenoglicol e água haveria maior extração de fitoquímicos de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). A partir da análise, observaram que o sistema de solventes que melhor promoveu a resposta investigada foi a que continha PGL na concentração de 70%, porém, o extrato glicólico com PGL a 80% promoveu a maior extração de taninos (principais ativos da espécie vegetal) (ARDISSON *et al.*, 2002).

6 CONCLUSÕES

No que diz respeito ao delineamento experimental que foi executado nesse estudo, pode-se notar a importância do planejamento fatorial para a obtenção de resultados significativos, como os FPS-UVB nos extratos de *Senna alata*. Como principais vantagens desse método, pode-se afirmar ser um processo rápido, exequível, econômico do ponto de vista de tempo e de reagentes, além de ser eficaz em pequena escala pensando em uma perspectiva maior (como uma indústria).

Reforça-se, ainda, o método para determinação da atividade fotoprotetora, o método de Mansur, sendo um método de baixo custo, de fácil execução e alternativo aos estudos *in vivo* com animais, onde já foi comprovado que reproduzem bem os resultados, entretanto, estudos *in vivo* seriam necessários para averiguar a real atividade fotoprotetora dos extratos.

Nesse sentido, foi possível observar que em baixas concentrações (0,75% e 1%) e em pequeno tempo de extração (2 h) os extratos apresentaram valores de FPS significativos (E3 a 075% = $9,25 \pm 0,01$, E3 a 1% = $9,11 \pm 0,01$ e E1 a 1% = $9,01 \pm 0,01$), dessa forma, acredita-se que a incorporação de quantidades maiores do extrato, por exemplo, em uma formulação semissólida, como um gel fotoprotetor, possibilitaria a obtenção de um fotoprotetor eficaz, afinal, atende os requisitos mínimos da legislação vigente (fator de proteção mínimo 6).

Quanto a contribuição do planejamento fatorial observou-se que o teor de propilenoglicol (PGL50%) inferiu diretamente nos resultados por possivelmente extrair da matriz vegetal compostos fenólicos com atividade fotoprotetora, ao passo que a agitação não trouxe contribuições significativas para a extração e para os valores de FPS, diferentemente do que se observa em muitos estudos descritos na literatura.

Dessa maneira, como resultados desse estudo pode-se considerar que os extratos de *Senna alata* possuem atividade fotoprotetora, sob a óptica da metodologia espectrofotométrica e nas condições experimentais delineadas nesse estudo, afinal as soluções-teste apresentaram valores de FPS consideráveis, principalmente comparando-se esses resultados aos outros estudos publicados (muitos com diferentes condições de extração, por exemplo, tempo de extração maiores).

Além da idealização de uma formulação fotoprotetora, como perspectiva futura, outros delineamentos experimentais poderiam ser feitos, utilizando mais fatores ou níveis para verificar, quais outros além do que foi estudado nessa pesquisa, promoveria eventualmente um

incremento na fotoproteção dos extratos de *Senna alata*. Além disso, é necessário se pensar em outros aspectos importantes como a determinação do teor de fenóis e flavonoides totais.

REFERÊNCIAS

- ABO, K. A.; FRED-JAIYESIMI, A. A.; JAIYESIMI, A. E. A. Ethnobotanical studies of medicinal plants used in the management of diabetes mellitus in South Western Nigeria. **Journal of ethnopharmacology**, v. 115, n. 1, p. 67-71, 2008
- AGATI, Giovanni *et al.* Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance. **Plant science**, v. 196, p. 67-76, 2012.
- ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; OLALERE, O. A. Ethanolic extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design. **Journal of King Saud University-Science**, v. 32, n. 1, p. 7-16, 2020.
- ALBERTS, B. *et al.* Biologia Molecular da Célula, 6.ed. Porto Alegre : Artmed, 2017
- ALBU, S. *et al.* Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. **Ultrasonics sonochemistry**, v. 11, n. 3-4, p. 261-265, 2004.
- ALENCAR FILHO, J.M.T *et al.* Flavonoids as photoprotective agents: a systematic review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 10, n. 47, p. 848-864, 2016.
- ALI, M. *et al.* Flavonoids from *Erythrina vogelii* (Fabaceae) of Cameroon. *Natural product communications*, v. 5, n. 6, p. 1934578X1000500613, 2010.
- ARDISSON, L. *et al.* Preparação e caracterização de extratos glicólicos enriquecidos em taninos a partir das cascas de *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 27-34, 2002.
- AUSTIN, E. *et al.* Electronic device generated light increases reactive oxygen species in human fibroblasts. **Lasers in surgery and medicine**, v. 50, n. 6, p. 689-695, 2018.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S; BRUNS, R.E. Como fazer experimentos, Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 2.ed. Campinas: Editora Unicamp, 2001
- BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, **Farmacopeia Brasileira**, 6ª edição - Volume I, Brasília: DF, 2019
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Ministério da Saúde. RDC nº 69, DE 23 de março de 2016 - **Dispõe sobre o “Regulamento técnico mercosul sobre lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes”**.Brasília: Brasil, 2016
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Ministério da Saúde. RDC Nº 30, de 1º de Junho de 2012. **Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências..**Brasília: Brasil, 2016
- BRASIL, Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo (CRF-SP). Departamento de Apoio Técnico e Educação Permanente. Comissão Assessora de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Plantas Medicinais e Fitoterápicos. / **Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo**. – São Paulo: Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo, 4.ed. 2019.

BRASIL, J. *et al.*, Planejamento estatístico de experimentos como uma ferramenta para otimização das condições de bioextração de Cu(II) em batelada utilizando-se casca de nozes pecã como bioextraente. **Química Nova**, [S.L.], v. 30, n. 3, p. 548-553, jun. 2007

BRENNER, M.; HEARING, V. J. The protective role of melanin against UV damage in human skin. **Photochemistry and photobiology**, v. 84, n. 3, p. 539-549, 2008.

CAMARGOS TAVARES, S.R. *et al.* Influência da polaridade do solvente na extração de capsaicina do pimentão. **BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports**, v. 2, n. 2esp, p. 79-84, 2013.

CANZI, E.F. *et al.* Prenylated flavonoids from roots of *Dahlstedtia glaziovii* (Fabaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 995-1001, 2014.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Benzophenone-3 (BP-3) Factsheet (2017). Disponível em: <https://www.cdc.gov/biomonitoring/Benzophenone-3_FactSheet.html>. Acesso em: 27 de nov. 2021

CHEN, X. *et al.*, Ultraviolet B radiation down-regulates ULK1 and ATG7 expression and impairs the autophagy response in human keratinocytes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 2018, 178: 152-164.

DONG, K. K. *et al.* UV-induced DNA damage initiates release of MMP-1 in human skin. **Experimental dermatology**, v. 17, n. 12, p. 1037-1044, 2008.

D'ORAZIO, J. *et al.* UV radiation and the skin. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 6, p. 12222-12248, 2013.

DRAELOS, Z.D. *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*. 2.ed, Wiley Blackwell, 2016

DURAKOVIC, B. Design of experiments application, concepts, examples: State of the art. **Periodicals of Engineering and Natural Sciences (PEN)**, v. 5, n. 3, 2017.

FATMAWATI, S. *et al.* Chemical constituents, usage and pharmacological activity of *Cassia alata*. **Heliyon**, v. 6, n. 7, p. e04396, 2020.

FOOD DRUG AMERICAN (FDA). Sun Protection Factor (SPF), 2017. Disponível em: <<https://www.fda.gov/about-fda/center-drug-evaluation-and-research-cder/sun-protection-factor-spf>>. Acesso em: 14 de ago. 2021

FOOD DRUG AMERICAN (FDA). Sunscreen: How to Help Protect Your Skin from the Sun. 2019. Disponível em: <<https://www.fda.gov/drugs/understanding-over-counter-medicines/sunscreen-how-help-protect-your-skin-sun>>. Acesso em: 19 de set. 2021

FRANCO, D. *et al.* Processing of *Rosa rubiginosa*: Extraction of oil and antioxidant substances. **Bioresource technology**, v. 98, n. 18, p. 3506-3512, 2007.

GANDINI, S. *et al.* Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. **European journal of cancer**, v. 41, n. 1, p. 45-60, 2005.

GRAY-SCHOPFER, V.; WELLBROCK, C.; MARAIS, R. Melanoma biology and new targeted therapy. **Nature**, v. 445, n. 7130, p. 851-857, 2007.

GUNST, R. F.; MASON, R. L. Fractional factorial design. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, v. 1, n. 2, p. 234-244, 2009.

GUY JR, G. P. *et al.* Prevalence and costs of skin cancer treatment in the US, 2002– 2006 and 2007– 2011. **American journal of preventive medicine**, v. 48, n. 2, p. 183-187, 2015.

HECK, D. E. *et al.* Solar ultraviolet radiation as a trigger of cell signal transduction. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 195, n. 3, p. 288-297, 2004.

HENNEBELLE, T. *et al.* Senna alata. **Fitoterapia**, v. 80, n. 7, p. 385-393, 2009.

ICHIHASHI, M. *et al.* UV-induced skin damage. **Toxicology**, v. 189, n. 1-2, p. 21-39, 2003.

IGBE, I.; EDOSUYI, O. Toxicity profile of aqueous extract of *Cassia alata* flower in Wistar rats. **Journal of Pharmacy and Bioresources**, v. 13, n. 2, p. 92-102, 2016.

KARIMKHANI, C. *et al.* It's time for “keratinocyte carcinoma” to replace the term “nonmelanoma skin cancer”. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 72, n. 1, p. 186-187, 2015.

KHAN, M. R.; KIHARA, M.; OMOLOSO, A. D. Antimicrobial activity of *Cassia alata*. **Fitoterapia**, v. 72, n. 5, p. 561-564, 2001.

KIM, S.; CHOI, K. Occurrences, toxicities, and ecological risks of benzophenone-3, a common component of organic sunscreen products: a mini-review. **Environment international**, v. 70, p. 143-157, 2014.

KULLAVANIJAYA, P.; LIM, H. W. Photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 52, n. 6, p. 937-958, 2005.

KUNDU, S.; ROY, S.; LYNDEN, L. M. *Cassia alata* L: potential role as anthelmintic agent against *Hymenolepis diminuta*. **Parasitology research**, v. 111, n. 3, p. 1187-1192, 2012.

LADEMANN, J. *et al.* Synergy effects between organic and inorganic UV filters in sunscreens. **Journal of biomedical optics**, v. 10, n. 1, p. 014008, 2005.

LATHA, M. S. *et al.*, Sunscreening agents: a review. **The Journal of clinical and aesthetic dermatology**, v. 6, n. 1, p. 16, 2013.

LENS, M. B.; DAWES, M. Global perspectives of contemporary epidemiological trends of cutaneous malignant melanoma. **British Journal of Dermatology**, v. 150, n. 2, p. 179-185, 2004.

LIMA, B. S. *et al.* Development of standardized extractive solution from *Lippia sidoides* by factorial design and their redox active profile. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 301-306, 2015.

LIPS, P. *et al.*, The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. **Journal of internal medicine**, v. 260, n. 3, p. 245-254, 2006.

LIU, D. *et al.*, UVA irradiation of human skin vasodilates arterial vasculature and lowers blood pressure independently of nitric oxide synthase. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 134, n. 7, p. 1839-1846, 2014.

LIU, L. H. *et al.*, Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 495-500, 2009.

LÓPEZ-CAMARILLO, C. *et al.*, Protein kinases and transcription factors activation in response to UV-radiation of skin: implications for carcinogenesis. **International journal of molecular sciences**, v. 13, n. 1, p. 142-172, 2012.

MACEDO, E. M. S. *et al.* Quimiodiversidade e propriedades biofarmacológicas de espécies de Senna nativas do Nordeste do Brasil. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 169-195, 2016.

MARTINS, P. M. *et al.* Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 510-518, 2017.

MARTINS, P. M. *et al.*, Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, p. 510-518, 2017.

MATSUMURA, Y.; ANANTHASWAMY, H. N. Short-term and long-term cellular and molecular events following UV irradiation of skin: implications for molecular medicine. **Expert reviews in molecular medicine**, v. 4, n. 26, p. 1-22, 2002.

MCGOWAN, Maria A.; SCHEMAN, Andrew; JACOB, Sharon E. Propylene glycol in contact dermatitis: a systematic review. **Dermatitis**, v. 29, n. 1, p. 6-12, 2018.

MELONI, M.; FARINA, A.; DE SERVI, B.. Molecular modifications of dermal and epidermal biomarkers following UVA exposures on reconstructed full-thickness human skin. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 9, n. 4, p. 439-447, 2010.

MIGLIATO, K.F. *et al.*, Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* (L.) skeels. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 695-699, 2011.

MORIYAMA, H. *et al.* Antiinflammatory activity of heat-treated *Cassia alata* leaf extract and its flavonoid glycoside. **Yakugaku Zasshi**, v. 123, n. 7, p. 607-611, 2003.

NEVES, A. M. *et al.* Caracterização química e o potencial antimicrobiano de espécies do gênero Senna Mill (Fabaceae). **Rev. Virtual Quím**, v. 9, p. 2506-2538, 2017.

NEVES, C.F.C ; SCHVARTZMAN, M.M.A.M ; JORDÃO, E.. Técnica para seleção de variáveis aplicada à separação de gases. **Química Nova**, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 327-329, maio 2002.

NUNES, A.R *et al.* Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, 2018, 189: 119-123.

OLADEJI, O.S *et al.*, Ethnobotanical description and biological activities of *Senna alata*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.

OLARTE, E. *et al.* In vitro antitumor properties of an isolate from leaves of *Cassia alata* L. **Asian Pacific journal of cancer prevention**, v. 14, n. 5, p. 3191-3196, 2013.

OLIVEIRA, F.G.S *et al.* Photoprotective activity and HPLC-MS-ESI-IT profile of flavonoids from the barks of *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae): development of topical

formulations containing the hydroalcoholic extract. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 35, n. 1, p. 504-516, 2021.

OLIVEIRA-JÚNIOR, R.G de et al. Development and evaluation of photoprotective O/W emulsions containing hydroalcoholic extract of *Neoglaziovia variegata* (Bromeliaceae). **The Scientific World Journal**, v. 2017, 2017.

OLIVEIRA, G.A.R. Otimização de Processos de Extração de Princípios Ativos de Plantas. Otimização de Processos de Extração, Anápolis: Revista Científica da Faculdade de Tecnologia SENAI Roberto Mange, v. 8, n. 16, p. 33-41, dez. 2014.

ORLANDA, J. F. F.; VALE, V. V. Análise fitoquímica e atividade fotoprotetora de extrato etanólico de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, p. 730-736, 2015.

PATIL, S.H; KURLAPKAR, D.D; GAIKWAD, D. Phytochemical Characterization of Natural Dye Extracted from *Senna siamea* Pods. **Open Access Library Journal**, v. 7, n. 4, p. 1-11, 2020.

PERALTA-ZAMORA, P.; MORAIS, J.L ; NAGATA, N. Por que otimização multivariada? **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 106-110, 2005.

PIEME, C. A. *et al.* In vivo Antioxidant and Potential Antitumor Activity of Aqueous Ethanol Extract of Leaves of *Senna alata* (L.) Roxb (Cesalpiniaceae) on Bearing Carcinomatous Cells. **International Journal of Pharmacology**, v. 4, n. 4, p. 245-251, 2008.

PIEPHO, H. P.; EDMONDSON, R. N. A tutorial on the statistical analysis of factorial experiments with qualitative and quantitative treatment factor levels. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 204, n. 5, p. 429-455, 2018.

PONNUSAMY, K. *et al.* In vitro antifungal activity of indirubin isolated from a South Indian ethnomedicinal plant *Wrightia tinctoria* R. Br. **Journal of ethnopharmacology**, v. 132, n. 1, p. 349-354, 2010.

QUAN, T. *et al.*, Matrix-degrading metalloproteinases in photoaging. In: **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**. Elsevier, 2009. p. 20-24.

RAKIĆ, T. *et al.*, Comparison of full factorial design, central composite design, and box-behnken design in chromatographic method development for the determination of fluconazole and its impurities. **Analytical Letters**, v. 47, n. 8, p. 1334-1347, 2014.

RASTOGI, S.C. UV filters in sunscreen products– a survey. **Contact dermatitis**, v. 46, n. 6, p. 348-351, 2002.

RASUL, M.G. Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their Advantages and Disadvantages. **Int J Basic Sciences App Computing**, 2018, 2.6: 10-14.

RAY, A.; GUPTA, S. D; GHOSH, S. Isolation and characterization of potent bioactive fraction with antioxidant and UV absorbing activity from *Aloe barbadensis* Miller gel. **Journal of plant biochemistry and biotechnology**, v. 22, n. 4, p. 483-487, 2013.

RINNERTHALER, M. *et al.*, Oxidative stress in aging human skin. **Biomolecules**, v. 5, n. 2, p. 545-589, 2015.

- RYU, J. *et al.*, Protective effect of porphyrin-334 on UVA-induced photoaging in human skin fibroblasts. **International journal of molecular medicine**, v. 34, n. 3, p. 796-803, 2014.
- SARKAR, B. *et al.* HPLC analysis and antioxidant potential of plant extract of *Cassia alata*. **Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology**, v. 4, n. 1, p. 4-7, 2014.
- SEKULIC, A. *et al.*, Efficacy and safety of vismodegib in advanced basal-cell carcinoma. **New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 23, p. 2171-2179, 2012.
- SETYAWAN, E.I *et al.*, Application of factorial design on the extraction of green tea leaf (*Camellia sinensis* L.). **J Appl Pharm Sci**, v. 8, n. 4, p. 131-8, 2018.
- SHARMA, A.; GURUPRASAD, K. N. Similarities in the biochemical changes between solar UV exclusion and GA application in *Amaranthus caudatus*. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v. 15, n. 4, p. 367-370, 2009.
- SHENOY, P. A. *et al.* Study of sunscreen activity of aqueous, methanol and acetone extracts of leaves of *Pongamia pinnata* (L.) pierre, fabaceae. **International Journal of Green Pharmacy (IJGP)**, v. 4, n. 4, 2010.
- SILVA, T.S *et al.*, Estudo químico, atividade antioxidante e fotoprotetora de *Chamaecrista* sp. e *Senna splendida*. 2017.
- SINGH, B. *et al.* The hydroalcoholic extract of *Cassia alata* (Linn.) leaves and its major compound rhein exhibits antiallergic activity via mast cell stabilization and lipoxygenase inhibition. **Journal of ethnopharmacology**, v. 141, n. 1, p. 469-473, 2012.
- SOLANO, F. Photoprotection and skin pigmentation: Melanin-related molecules and some other new agents obtained from natural sources. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1537, 2020.
- UGBOGU, A. E. *et al.*, Toxicity evaluation of the aqueous stem extracts of *Senna alata* in wistar rats. **American Journal of Biomedical Research**, v. 4, n. 4, p. 80-86, 2016.
- UZUN, M. *et al.*, Matrix metalloproteinase inhibitor and sunscreen effective compounds from *Rumex crispus* L.: isolation, identification, bioactivity and molecular docking study. **Phytochemical Analysis**, v. 31, n. 6, p. 818-834, 2020.
- VERSCHOOTEN, L.; DECLERCQ, L.; GARMYN, M. Adaptive response of the skin to UVB damage: role of the p53 protein. **International journal of cosmetic science**, v. 28, n. 1, p. 1-7, 2006.
- VIEGAS JUNIOR, C. *et al.* Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1279-1286, 2006.
- WEN, X. *et al.* Deconvoluting the role of reactive oxygen species and autophagy in human diseases. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 65, p. 402-410, 2013.
- WINKEL-SHIRLEY, Brenda. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. **Current opinion in plant biology**, v. 5, n. 3, p. 218-223, 2002.
- WITTGEN, H.G.M; VAN KEMPEN, L. Reactive oxygen species in melanoma and its therapeutic implications. **Melanoma research**, v. 17, n. 6, p. 400-409, 2007.

WONG, W.H *et al.*, Two level half-factorial design for the extraction of phenolics, flavonoids and antioxidants recovery from palm kernel by-product. **Industrial Crops and Products**, v. 63, p. 238-248, 2015.

YOUNG, A. R.; CLAVEAU, J.; ROSSI, A.B. Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 76, n. 3, p. S100-S109, 2017.