



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAPÁ – UNIFAP**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCS**

**NAYARA COSTA DE MELO**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA SOLAR *in vitro* DAS ESPÉCIES  
PAU-MULATO (*Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum) e  
IPÊ-AMARELO (*Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore)**

**MACAPÁ – AP**

**2015**

**NAYARA COSTA DE MELO**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA SOLAR *in vitro* DAS ESPÉCIES  
PAU-MULATO (*Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum) e  
IPÊ-AMARELO (*Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – PPGCS da Universidade Federal do Amapá - UNIFAP, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, na Área de Ensaios Biológicos.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Messias Bezerra.

**MACAPÁ – AP**

**2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá

- 615.32 Melo, Nayara Costa de.  
M528a Avaliação da atividade protetora solar *in vitro* das espécies Paululato (*Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum) e Ipê-amarelo (*Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore)/Nayara Costa de Melo; Orientador, Roberto Messias Bezerra – Macapá, 2015.  
90 f.
- Dissertação (mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.
1. Radiação ultravioleta. 2. FPS *in vitro*. 3. *Calycophyllum spruceanum*. 4. *Tabebuia aurea*. 5. Extratos vegetais I. Bezerra, Roberto Messias, orientador. II. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

**NAYARA COSTA DE MELO****AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA SOLAR *in vitro* DAS ESPÉCIES  
PAU-MULATO (*Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum) e  
IPÊ-AMARELO (*Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – PPGCS da Universidade Federal do Amapá – UNIFAP, como parte dos requisitos necessários para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Ensaios Biológicos

Data da avaliação: 04 / 03 / 2015

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Roberto Messias Bezerra (Orientador)

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Raimundo Nonato Picanço Souto (Membro)

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Fernando Antônio de Medeiros (Membro)

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Henrique Duarte da Fonseca Filho (Membro)

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Alexandre Cezar Florentino (Suplente)

---

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família, em especial à minha mãe Dalva, pelo exemplo de honestidade, luta, pelo amor, carinho, dedicação, educação e força na elaboração deste trabalho.

À minha irmã Nayani pela união, cumplicidade, companheirismo, amor, incentivo e apoio a mim dedicado em todos os momentos. De irmãs, grandes amigas!

Ao meu tio José Maria (tio preto), in memoriam, pelo exemplo de Fé, Perseverança, de Força, Luta e Coragem.

## AGRADECIMENTOS

À DEUS, por compartilhar dos meus momentos de oração e pela minha vida;

Ao meu orientador Prof. Dr. Roberto Messias Bezerra, pela oportunidade, pela boa vontade, simplicidade, disponibilidade, paciência e confiança a mim depositada.

Aos meus tios João, Jova, Manel que sempre me apoiaram e me incentivaram.

Aos meus irmãos Elana, Marcelo e Marcela, que apesar de tudo, se fizeram presentes ao longo dessa jornada;

Ao Edcarlos Vasconcelos da Silva pela força para continuar e incentivos ao longo do Mestrado, pela amizade, pelo apoio nas etapas deste trabalho e pela ajuda nas análises estatísticas;

Ao Junior, pelas palavras de apreço e autoestima, incentivo e força para continuar;

Ao Prof. Hugo Alexandre, pelo incentivo e ajuda no desenvolvimento das formulações;

Aos amigos de longas datas pelo apoio, carinho e amizade, em especial a Pâmela Rabelo de Oliveira e Roseli Guedes;

A amiga Kelem pela força ao longo do mestrado, pela alegria, companheirismo, parceria nas coletas de campo e pelos momentos de descontração;

As amigas Beatriz Martins Sá e Gisele Custódio de Souza pela força, apoio e amizade, desde o tempo da Graduação.

Ao Anderson Pena pelas contribuições neste trabalho;

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde – PPGCS pela oportunidade.

Aos colegas da turma de 2013, pelo companheirismo, apoio nesses 2 anos de curso.

A Professora Silvia Mathes Faustino pela maneira profissional que coordenou o PPGCS, pela amizade com a turma 2013, pela compreensão e pelas palavras de apoio.

A equipe do Laboratório de Absorção Atômica e Bioprospecção – LAAB, em especial a Kelem Costa, France Gibson pela companhia e ajuda nos procedimentos.

Ao Laboratório de Pesquisa em Fármacos da UNIFAP, em especial a Gisele Custódio, Adriana Maciel, Helisson Carvalho;

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado;

À Universidade Federal do Amapá – UNIFAP;

A banca examinadora pelo aceite do convite e disponibilidade;

A todas as pessoas que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, meus agradecimentos.

“Basta-te minha graça, porque é na fraqueza que se revela totalmente a minha força”.

(II CORÍNTIOS, 12:9)

## RESUMO

Intensas exposições aos raios ultravioletas causam sérios danos para o organismo, caso não se tomem os devidos cuidados, como queimadura solar, envelhecimento precoce, câncer de pele, etc. Os efeitos causados a saúde humana devido à ação solar são em sua maioria cumulativos e irreversíveis, tornando-se necessário o uso de preparações para uso tópico, contendo filtros solares, conhecidas como fotoprotetores, podendo ser químicos e físicos. A espécie *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum pertence a família Rubiaceae, é conhecida popularmente como pau-mulato. Na medicina popular é utilizado como cicatrizante, antimicótico, antibacteriano, na eliminação de manchas da pele e prevenção de rugas. A espécie *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore pertence a família Bignoniaceae, é conhecida popularmente como ipê-amarelo. Na medicina popular é utilizada como antianêmico, antirreumático, diurético, expectorante, problemas no estômago e fígado. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade protetora solar pelo método de Mansur et al. (1986a), através das análises espectrofotométricas e o cálculo do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* na faixa de 290 a 320nm (UVB) dos extratos brutos das cascas do caule e folhas de *Calycophyllum spruceanum* e *Tabebuia aurea* e incorporados em emulsão O/A e Gel de Carbopol, utilizando álcool etílico e álcool isopropílico como solventes de diluição. Na análise fitoquímica preliminar foram detectadas a presença de taninos catéquicos, alcalóides, depsídeos e depsídonas para todos os extratos, flavonóides na casca de *C. spruceanum*, esteroides e triterpenoides nas cascas e folhas de *T. aurea* e cumarinas nas folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea*. Nas análises espectrofotométricas, apesar de todas as amostras apresentarem absorvância na região UVB (290-320), nas concentrações e padronizações utilizadas neste estudo, apenas o extrato bruto da casca de *C. spruceanum*, incorporado na emulsão (E + EBCCs), diluídos em álcool etílico, apresentou FPS= 5,99, os extratos brutos da casca de *C. spruceanum* (EBCCs) apresentou FPS=6,74, da casca de *T. aurea* (EBCTa), apresentou FPS=7,09, da folha de *T. aurea* (EBFTa) apresentou FPS= 6,24, quando diluídos em álcool isopropílico e os extratos brutos incorporados na emulsão, como o da folha de *C. spruceanum* (E + EBFCs) que apresentou FPS= 5,59, da casca de *T. aurea* (E + EBCTa) que apresentou FPS= 5,80 e o da folha de *T. aurea* (E + EBFTa) com FPS= 6,02, considerados satisfatórios, conforme Resolução - RDC N° 30 da Anvisa (BRASIL, 2012), que recomenda que para ser considerado potencial protetor solar, o FPS deve ser igual ou superior a 6 (FPS≥6), o que demonstra que estes extratos possuem uma provável atividade fotoprotetora, podendo ser utilizados como possíveis filtros solares naturais isolados e/ou incorporados em emulsão, ou como potencializador de outras formulações.

**PALAVRAS-CHAVE:** radiação ultravioleta; FPS *in vitro*, *Calycophyllum spruceanum*; *Tabebuia aurea*; extratos vegetais.

## ABSTRACT

Intense exposure to ultraviolet rays cause serious damage to the body, if not take proper care, such as sunburn, premature aging, skin cancer, etc. The effects on human health due to solar action are for the most cumulative and irreversible, making it necessary to use preparations for topical use, containing sunscreens, known as sunscreens and can be chemical and physical. The species *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum belongs to Rubiaceae family, is popularly known as pau-mulatto. In folk medicine it is used as healing, antifungal, antibacterial, in removing skin blemishes and wrinkles prevention. The species *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore belongs to Bignoniaceae family, is popularly known as ipe-yellow. In folk medicine it is used as anti-anemic, antirheumatic, diuretic, expectorant, stomach problems and liver. The objective of this study was to evaluate the protective solar activity by the method of Mansur et al. (1986a), through spectrophotometric analysis and the calculation of the Sun Protection Factor (SPF) *in vitro* in the range of 290 to 320nm (UVB) of crude extracts of the stem bark and leaves *Calycophyllum spruceanum* and *Tabebuia aurea* and incorporated into the emulsion O/W and carbopol gel, using ethyl alcohol and isopropyl alcohol as a diluting solvent. Preliminary phytochemical analysis were detected the presence of catechin tannins, alkaloids, and Depsides depsidonas to all extracts, flavonoids in the bark of *C. spruceanum*, steroids and triterpenoids in the bark and leaves of *T. aurea* and coumarin in the leaves of *C. spruceanum* and *T. aurea*. All spectrophotometric analyzes, for all the samples present absorbance in the UVB region (290-320), and patterning the concentrations used in this study, only the crude extract of the bark of *C. spruceanum*, incorporated in the emulsion (E + EBCCs), diluted in Ethanol, presented SPF = 5.99, the crude extracts of *C. spruceanum* bark (EBCCs) presented SPF = 6.74, the *T. aurea* bark (EBCTa) presented SPF = 7.09, leaf *T. aurea* (EBFTa) showed SPF = 6.24, diluted in isopropyl alcohol and crude extracts incorporated in the emulsion, such as *C. spruceanum* leaf (E + EBFCs) showed that SPF = 5.59, bark *T. aurea* (E + EBCTa) who presented SPF = 5.80 and the *T. aurea* leaf (E + EBFTa) with SPF = 6.02, satisfactory, according to Resolution - RDC No. 30 of ANVISA (BRAZIL, 2012) which it recommends to be considered potential sunscreen SPF should be equal to or greater than 6 (FPS≥6), demonstrating that these extracts have a likely sunscreen activity and can be used as natural sunscreen possible isolated and / or incorporated in the emulsion, or as enhancer of other formulations.

**KEYWORDS:** ultraviolet radiation; SPF *in vitro*, *Calycophyllum spruceanum*; *Tabebuia aurea*; plant extracts.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Categorias do IUV .....	22
<b>Figura 2</b> – Índice Ultravioleta em Macapá-AP .....	23
<b>Figura 3</b> – Silibina.....	32
<b>Figura 4</b> – Taninos.....	33
<b>Figura 5</b> – Rio Piaçacá fazendo fronteira entre os Municípios de Santana e Mazagão na Localidade do Matão do Piaçacá.....	39
<b>Figura 6</b> – Posicionamento do local de coleta no mapa do Estado do Amapá.....	40
<b>Figura 7</b> – Posicionamento do local de coleta no mapa do Estado do Amapá .....	
<b>Figura 8</b> – Área de coleta na Unifap .....	41
<b>Figura 9</b> – Processo de concentração de extrato em aparelho evaporador rotativo sob pressão reduzida .....	42
<b>Figura 10</b> – Espectrofotômetro Shimadzu UVmini-1240 utilizado na leitura das absorbâncias das soluções na região UVB (290-320 nm). .....	50
<b>Figura 11</b> – Resultado do preparo da emulsão O/A .....	54
<b>Figura 12</b> – Resultado do preparo do gel de Carpobol.....	55
<b>Figura 13</b> – Espectrograma das curvas de absorbâncias das amostras de extrato bruto das cascas e folhas de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool etílico P.A. ....	60
<b>Figura 14</b> – Espectrograma das curvas de absorbâncias da emulsão + extrato bruto da casca e folha de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool etílico P.A. ....	61
<b>Figura 15</b> – Espectrograma das curvas de absorbâncias do gel + extrato da casca e folha de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool etílico P.A. ....	62
<b>Figura 16</b> – Espectrograma das curvas de absorbâncias para amostras de extrato bruto das cascas e folhas de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool isopropílico P.A. ....	65
<b>Figura 17</b> – Espectrograma das curvas de absorbâncias da emulsão + extrato bruto da casca e folha de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool isopropílico P.A. ....	66
<b>Figura 18</b> – Espectrograma das curvas de absorbâncias do gel + extrato da casca e folha de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool isopropílico P.A.....	67

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

<b>Tabela 1</b> – Expressões orientativas para rotulagens de produtos com FPS.....	28
<b>Tabela 2</b> – Valores da relação $EE(\lambda).I(\lambda)$ .....	30
<b>Quadro 1</b> – Posicionamento taxonômico de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth.) Hook. f. ex K. Schum.....	34
<b>Quadro 2</b> – Posicionamento taxonômico de <i>Tabebuia aurea</i> .....	36
<b>Quadro 3</b> – Composição da emulsão O/A.....	46
<b>Quadro 4</b> – Composição do gel de carbopol.....	47
<b>Tabela 3</b> – Análise fitoquímica qualitativa preliminar dos extratos.....	53
<b>Quadro 5</b> – Resultados das características organolépticas da emulsão e dos extratos incorporados na emulsão analisadas durante o período de 60 dias.....	56
<b>Quadro 6</b> – Resultados das características organolépticas do gel e dos extratos incorporados no gel analisados durante o período de 60 dias.....	57
<b>Tabela 4</b> – Resultados da medição do pH da emulsão e dos extratos incorporados na emulsão analisadas durante o período de 60 dias.....	58
<b>Tabela 5</b> – Resultados da medição do pH do Gel e dos extratos incorporados no gel analisados durante o período de 60 dias.....	59
<b>Tabela 6</b> – Resultados das absorbâncias dos extratos brutos diluídos em álcool etílico P.A. ....	60
<b>Tabela 7</b> – Resultados das absorbâncias da emulsão + extrato bruto da casca e folha de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool etílico .....	61
<b>Tabela 8</b> – Resultados das absorbâncias do Gel + extrato bruto da casca e folha de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool etílico .....	62
<b>Tabela 9</b> – Cálculo do FPS calculados para amostras dos extratos brutos diluídos em álcool etílico.....	63
<b>Tabela 10</b> – Cálculo do FPS calculados para amostras da emulsão + extratos brutos diluídas em álcool etílico.. ..	64
<b>Tabela 11</b> – Cálculo do FPS calculados para amostras do gel + extratos brutos diluídos em álcool etílico. ....	64
<b>Tabela 12</b> – Resultados das absorbâncias dos extratos brutos diluídos em álcool isopropílico. ....	66
<b>Tabela 13</b> – Resultados das absorbâncias da emulsão + extrato bruto da casca e folha de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool isopropílico. ....	67
<b>Tabela 14</b> – Resultados das absorbâncias do Gel + extrato bruto da casca e folha de <i>C. spruceanum</i> e <i>T. aurea</i> diluídas em álcool isopropílico .....	68
<b>Tabela 15</b> – Cálculo do FPS calculados para amostras dos extratos brutos diluídos em álcool isopropílico.....	69
<b>Tabela 16</b> – Cálculo do FPS calculados para amostras da emulsão + extratos brutos diluídas em álcool isopropílico.....	69
<b>Tabela 17</b> – Cálculo do FPS calculados para amostras do gel + extratos brutos diluídas em álcool isopropílico.....	70
<b>Tabela 18</b> – FPS agrupados segundo partes de cada espécie diluídas em álcool absoluto.....	80
<b>Tabela 19</b> – FPS agrupados por partes da planta diluídos álcool isopropílico.....	81
<b>Tabela 20</b> – Comparação de FPS por alcoóis .....	83

**LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

<b>Abs</b>	Absorbância
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>cm</b>	Centímetro
<b>CPTEC</b>	Centro de Previsão do Tempo e Estudos Climáticos
<b>DME</b>	Dose Mínima Eritematógena
<b>DSA</b>	Divisão de Satélites e Sistemas Ambientais
<b>EBCCs</b>	Extrato Bruto da Casca de <i>Calycophyllum spruceanum</i>
<b>EBFCs</b>	Extrato Bruto da Folha de <i>Calycophyllum spruceanum</i>
<b>EBCTa</b>	Extrato Bruto da Casca de <i>Tabebuia aurea</i>
<b>EBFTa</b>	Extrato Bruto da Folha de <i>Tabebuia aurea</i>
<b>EE</b>	Efeito Eritmatogênico
<b>FC</b>	Fator de Correção
<b>Fd</b>	Fator de diluição
<b>FPS</b>	Fator de Proteção solar
<b>INPE</b>	Instituto de Pesquisas Espaciais
<b>IUV</b>	Índice Ultravioleta
<b>mL</b>	Mililitro
<b>µL</b>	Microlitro
<b>µg</b>	Micrograma
<b>NHMET</b>	Núcleo de Hidrometeorologia e Energias Renováveis
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>pH</b>	Potencial Hidrogeniônico
<b>RUV</b>	Radiação Ultravioleta
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>UVA</b>	Ultravioleta A
<b>UVB</b>	Ultravioleta B
<b>UVC</b>	Ultravioleta C
<b>Vis</b>	Visível
<b>λ</b>	Comprimento de onda

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>1 OBJETIVOS</b> .....	<b>19</b>
1.1 OBJETIVO GERAL.....	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>20</b>
2.1 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA.....	20
<b>2.1.1 Radiação UVA</b> .....	<b>20</b>
<b>2.1.2 Radiação UVB</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1.3 Radiação UVC</b> .....	<b>21</b>
2.2 ÍNDICE ULTRAVIOLETA – IUUV.....	22
2.3 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E CANCER DE PELE.....	24
2.4 FILTROS SOLARES.....	25
<b>2.4.1 Filtros Orgânicos</b> .....	<b>26</b>
<b>2.4.2 Filtros Inorgânicos</b> .....	<b>26</b>
2.5 O FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS).....	27
<b>2.5.1 A metodologia <i>in vivo</i></b> .....	<b>28</b>
<b>2.5.2 A metodologia <i>in vitro</i></b> .....	<b>29</b>
2.6 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E ATIVIDADE PROTETORA SOLAR.....	31
2.7 AS ESPÉCIES VEGETAIS EM ESTUDO.....	33
<b>2.7.1 Posicionamento taxonômico e características morfológicas de <i>Calycophyllum spruceanum</i> (Benth.) Hook. f. ex K. Schum.</b> .....	<b>33</b>
<b>2.7.2 Posicionamento taxonômico e características morfológicas de <i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth. &amp; Hook. f. ex S. Moore.</b> .....	<b>36</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>39</b>
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE COLETA.....	39
3.2 OBENÇÃO DOS EXTRATOS.....	42
3.3 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	43
<b>3.3.1 Utilizando água destilada como solvente</b> .....	<b>43</b>
<b>3.3.2 Utilizando metanol como solvente</b> .....	<b>43</b>
<b>3.3.3 Utilizando clorofórmio como solvente</b> .....	<b>44</b>
<b>3.3.4 Utilizando éter etílico como solvente</b> .....	<b>44</b>
<b>3.3.5 Utilizando tolueno como solvente</b> .....	<b>45</b>
<b>3.3.6 Utilizando ácido clorídrico como solvente</b> .....	<b>45</b>
3.4 DESENVOLVIMENTODAS FORMULAÇÕES.....	46
<b>3.4.1 Preparo da emulsão</b> .....	<b>46</b>
<b>3.4.2 Preparo do gel</b> .....	<b>47</b>
3.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES.....	48
<b>3.5.1 Teste de centrifugação</b> .....	<b>48</b>
<b>3.5.2 Avaliação das características organolépticas da emulsão</b> .....	<b>48</b>
<b>3.5.3 Determinação do pH</b> .....	<b>49</b>
3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA SOLAR.....	49
<b>3.6.1 Análises espectrofotométricas</b> .....	<b>49</b>
<b>3.6.2 Cálculo do fator de proteção solar (FPS)</b> .....	<b>50</b>
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	51
<b>4 RESULTADOS</b> .....	<b>53</b>
4.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	53

4.2 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES.....	54
4.2.1 Preparo da emulsão.....	54
4.2.2 Preparo do gel.....	54
4.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES.....	55
4.3.1 Avaliação das características organolépticas da emulsão.....	55
4.3.2 Avaliação das características organolépticas do gel.....	56
4.3.3 Determinação do pH da emulsão.....	58
4.3.4 Determinação do pH do gel.....	58
4.4 ANÁLISES ESPECTROFOTOMÉTRICAS.....	59
4.4.1 Absorbâncias dos extratos brutos e incorporados em emulsão e gel diluídos com álcool etílico P.A.....	59
4.4.2 Obtenção do fator de proteção solar (FPS) dos extratos brutos e incorporados em emulsão e gel diluídos com álcool etílico P.A.....	63
4.4.3 Absorbâncias dos extratos brutos e incorporados em emulsão e gel diluídos com álcool isopropílico P.A.....	65
4.4.4 Obtenção do fator de proteção solar (FPS) dos extratos brutos e incorporados em emulsão e gel diluídos com álcool isopropílico P.A.....	68
5 DISCUSSÃO.....	71
5.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	71
5.2 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES.....	72
5.2.1 Preparo da emulsão.....	72
5.2.2 Preparo do gel.....	73
5.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES.....	74
5.3.1 Avaliação das características organolépticas da emulsão.....	74
5.3.2 Avaliação das Características organolépticas do gel.....	75
5.3.3 Determinação do pH da emulsão.....	75
5.3.4 Determinação do pH do gel.....	76
5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA SOLAR.....	76
5.4.1 Análises espectrofotométricas.....	76
5.4.2 Cálculo do Fator de Proteção Solar (FPS).....	77
6 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	80
6.1 FPS DAS AMOSTRAS DILUÍDAS EM ÁLCOOL ETÍLICO P.A.....	80
6.2 FPS DAS AMOSTRAS DILUÍDAS EM ÁLCOOL ISOPROPÍLICO.....	81
6.3 COMPARAÇÕES ENTRE OS SOLVENTES DE DILUIÇÃO.....	82
7 CONCLUSÃO.....	84
REFERÊNCIAS.....	86

## INTRODUÇÃO

O espectro solar que atinge a superfície terrestre é formado predominantemente por radiações ultravioletas (100–400 nm), visíveis (400–800 nm) e infravermelhas (acima de 800 nm).

A radiação ultravioleta é a região do espectro eletromagnético emitido pelo sol entre os comprimentos de onda que varia de 100 a 400 nm, e podem ser divididos em três faixas: UVC (100 a 290nm), UVB (290 a 320nm) e UVA (320 a 400nm) (BRASIL, 2006; FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

A energia da radiação solar aumenta com a redução do comprimento de onda, assim a radiação UV é a de menor comprimento de onda e, conseqüentemente, a mais energética, ou seja, a mais propensa a induzir reações fotoquímicas (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Os efeitos da exposição ao sol trazem benefícios ao ser humano como sensação de bem-estar físico e mental, estímulo à produção de melanina com conseqüentemente bronzeamento da pele, tratamento de icterícia. Porém, exposições intensas aos raios ultravioletas causam sérios danos para o organismo, caso não se tomem os devidos cuidados, como bronzeamento imediato, pigmentação profunda, ressecamento, queimadura solar, envelhecimento precoce, câncer de pele, entre outros. Os efeitos causados a saúde humana devido à ação solar são em sua maioria cumulativos e irreversíveis sendo capazes de produzir alterações normalmente imperceptíveis em curto prazo (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; ROSA et al., 2008).

Por entender que a proteção efetiva contra a radiação ultravioleta é uma realidade indiscutível e fator de importância para a saúde pública, torna-se necessário o uso de protetores solares, que estão disponíveis na forma de preparações para uso tópico, contendo filtros solares, conhecidas como fotoprotetores. Esses produtos têm a capacidade de absorver as radiações ultravioletas que atingem a pele, podendo ser químicos e físicos (ROSA *et al.*, 2008).

Apesar, da preocupação e a divulgação para uso das preparações contendo filtros solares ter se tornado crescente, em relação à proteção da pele contra a radiação solar, o número de pessoas que utilizam fotoprotetores como

forma de proteção em virtude de suas atividades diárias de trabalho e lazer, é muito restrito, isto pode está associado à falta de hábito e dificuldades de acesso a estes produtos.

O conhecimento empírico e o uso de plantas medicinais representam, na maioria das vezes, o único recurso terapêutico. Neste contexto, este trabalho justifica-se pela necessidade de sistematizar o estudo de algumas espécies vegetais, sua identificação e seu possível potencial fotoprotetor, agregando assim, valores e conhecimentos da nossa biodiversidade, tornando o produto mais barato e com potencial irritante menor.

A espécie *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum pertence a família Rubiaceae, é conhecida popularmente como pau-mulato-da-várzea, pau-mulato, mulateiro, mulateiro-da-várzea, escorrega-macaco, pau-marfim e capirona. Ocorre em toda a região amazônica, abrangendo o Brasil, Colômbia, Equador, Peru e Bolívia. (ALMEIDA, 2004).

Algumas partes da planta são usadas na medicina caseira, da casca se faz um emplasto, de uso tópico, para tratar cortes, feridas e queimaduras; o córtex (em infusão/chás) é usado para infecções oculares, diabetes e males do ovário, estômago e intestino; em emplastos são utilizados como cicatrizante e antimicótico; a seiva do caule é considerada antibacteriana, antioxidante, antiparasítica, repelente e inseticida, sendo empregada em cosméticos para eliminação de manchas da pele, cicatrizes celulites e prevenção de rugas (TAYLOR, 2005; ALMEIDA, 2004).

A espécie *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore pertence a família Bignoniaceae, é conhecida popularmente como ipê-amarelo-do-cerrado, ipê-amarelo, paratudo, caraibeira, pau d'arco. Ocorre no cerrado, savana amazônica, várzea de caatinga, do Suriname, Argentina, Paraguai, Bolívia e Peru, e no Brasil, nos Estados do Amapá, Amazonas, Bahia, etc. A espécie é amplamente utilizada para fins medicinais, segundo Almeida et al. (1998) as folhas de tabebuia aurea possuem efeito purgativo. A casca do caule é utilizada pelos ribeirinhos para diversas enfermidades como antianêmico, vermífugo, para problemas no estômago, fígado, contra a hepatite, diabete, febre, malária e catapora (LORENZI e MATOS, 2002). A garrafada da entrecasca é utilizada como diurético e no tratamento de úlceras e o chá como expectorante. A seiva é

considerada antissifilítica e antirreumática. O broto é depurativo e antisséptico. A infusão das raízes servem para os casos de gripe, resfriados e tosses (BRASIL, 2003).

Para tanto, este estudo intitulado “Avaliação da Atividade Protetora Solar *in vitro* das Espécies Pau-mulato (*Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum) e Ipê-amarelo (*Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore)” foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a atividade protetora solar pelo método de Mansur et al. (1986a), através das análises espectrofotométricas e o cálculo do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* na faixa de 290 a 320nm (UVB) dos extratos brutos das cascas do caule e folhas de *Calycophyllum spruceanum* e *Tabebuia aurea* e incorporados em emulsão O/A e Gel de Carbopol, utilizando álcool etílico e álcool isopropílico como solventes de diluição.

## 1 OBJETIVOS

### 1.1 GERAL

Avaliar a atividade protetora solar pelo método de Mansur et al. (1986a), através das análises espectrofotométricas e o cálculo do Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* na faixa de 290 a 320nm (UVB) dos extratos brutos das cascas do caule e folhas de *Calycophyllum spruceanum* e *Tabebuia aurea* e incorporados em emulsão O/A e Gel de Carbopol, utilizando álcool etílico e álcool isopropílico como solventes de diluição.

### 1.2 ESPECÍFICOS

- a) Obter extratos brutos das cascas do caule e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea*;
- b) Realizar uma análise fitoquímica para detecção das classes de metabólitos secundários, como Polissacarídeos, Fenóis e Taninos, Flavonóides, Alcalóides, Cumarinas, Purinas, Esteroides e Triterpenoides e Antraquinonas, através de um processo de prospecção qualitativa.
- c) Desenvolver uma formulação na forma de emulsão O/A e posteriormente, incorporar os extratos brutos das cascas do caule e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea*;
- d) Desenvolver uma formulação na forma de Gel e posteriormente, incorporar os extratos brutos das cascas do caule e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea*;
- e) Obter as absorvâncias na faixa de 290 a 320 (UVB), dos extratos brutos das cascas do caule e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea* e incorporados em emulsão e gel, diluídos com álcool etílico e álcool isopropílico.
- f) Calcular o Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro* dos extratos brutos das cascas do caule e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea* e incorporados em emulsão e gel, que obtiveram absorvância na faixa de 290 a 320 (UVB).

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA**

O espectro solar que atinge a superfície terrestre é formado predominantemente por radiações ultravioletas (100–400 nm), visíveis (400–800 nm) e infravermelhas (acima de 800 nm). Essas radiações são percebidas por nosso organismo de diferentes formas (Figura 1). A radiação infravermelha é percebida sob a forma de calor, a radiação visível através das diferentes cores detectadas pelo sistema óptico e a radiação ultravioleta através de reações fotoquímicas (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; CPTEC/INPE, 2014a).

A radiação ultravioleta é a região do espectro eletromagnético emitido pelo sol entre os comprimentos de onda que varia de 100 a 400 nm, e podem ser divididos em três faixas: UVC (100 a 290nm), UVB (290 a 320nm) e UVA (320 a 400nm) (BRASIL, 2006, 2012).

A energia da radiação solar aumenta com a redução do comprimento de onda, assim a radiação UV é a de menor comprimento de onda e, conseqüentemente, a mais energética, ou seja, a mais propensa a induzir reações fotoquímicas (FLOR; DAVLOS; CORREA, 2007). Esta radiação possui a capacidade de permear a estrutura da pele, e por possuir a menor energia penetra mais profundamente na pele e, ao atingir a derme, é responsável pelo fotoenvelhecimento (MELQUIADES, 2007).

#### **2.1.1 Radiação UVA**

A radiação UVA é menos energética, estende-se de 320 a 400 nm, predominante das 06:30 às 09:30h, provocando danos considerados imediatos e agudos; caracteriza-se por não produzir eritema (queimadura), por apresentar fraca ação bactericida, possuir ação fotossensibilizante, por ser pigmentógena e por ser responsável pelo bronzeamento imediato e de curta duração (CPTEC/INPE, 2014b).

O bronzeamento imediato é um escurecimento transitório da pele, esse escurecimento da pele se torna evidente após 5 a 10 minutos de exposição e

desaparece após uma ou duas horas, ocasionadas por alterações nos processos fotoquímicos causados pela fotoxidação da leucomelanina, situada nas células das camadas externas da epiderme. Após a exposição ao sol, há um aumento da atividade da enzima tirosinas e do número de melanócitos em funcionamento (CPTEC/INPE, 2014b).

A radiação UVA corresponde a mais de 90% da radiação solar, tem o maior comprimento de onda e uma baixa quantidade de energia UV, porém penetra mais profundamente na derme, provocando pigmentação próxima à superfície da pele, tendo como principais efeitos o ressecamento e o envelhecimento precoce (MELQUIADES, 2007).

### **2.1.2 Radiação UVB**

A radiação UVB tem um comprimento de onda menor e uma quantidade de energia maior que a radiação UVA, situa-se na faixa de 290 a 320nm, é predominante das 09:30 às 15:00h, provocando danos considerados tardios e crônicos como queimaduras (eritema), vermelhidão (edema) que é o resultado do aumento do fluxo de sangue, devido à dilatação dos vasos sanguíneos mais superficiais, e bronzeamento tardio e de longa duração (CPTEC/INPE, 2014b).

Esta é responsável pela conversão do 7-deidrocolesterol epidérmico em vitamina D3. O processo de formação dessa vitamina se inicia na conversão, pela radiação UVB, do 7-deidrocolesterol, presente na epiderme, em pré-vitamina D3. A pré-vitamina se isomeriza em vitamina D3 num processo controlado pela temperatura da pele e que se finaliza em até três dias. A vitamina D3 age sobre os ossos, glândulas paratireóides, rins e intestino; regulando o metabolismo da função osteoblástica (produção óssea) e da secreção de PTH (hormônio paratireóide) (CPTEC/INPE, 2014b). A penetração da radiação UVB na pele é menor, porém, pode chegar até a derme papilar e provocar alterações às fibras de elastina e de colágeno (MELQUIADES, 2007).

### **2.1.3 Radiação UVC**

A radiação UVC possui elevada energia e é extremamente lesiva aos seres vivos, se estende na faixa de 100 a 290 nm, porém, é absorvida pelas camadas mais elevadas da atmosfera e estratosfera e a camada de ozônio impedindo que atinjam a superfície terrestre. No entanto, devido a fatores ambientais, a redução na camada de ozônio tem provocado um aumento da radiação na superfície da Terra (SGARBI et. al., 2007).

## 2.2 ÍNDICE ULTRAVIOLETA – IUV

O Índice Ultravioleta (IUV) é uma medida da intensidade da radiação UV, relevante aos efeitos sobre a pele humana, incidente sobre a superfície da Terra. O IUV é apresentado como um número inteiro. Representa o valor máximo diário da radiação ultravioleta. Isto é, no período referente ao meio-dia solar, o horário de máxima intensidade de radiação solar (CPTEC/INPE, 2014c).

De acordo com recomendações da Organização Mundial da Saúde, esses valores são agrupados em categorias de intensidades (quadro 1) (CPTEC/INPE, 2014c).

**Figura 1 – Categorias do IUV**

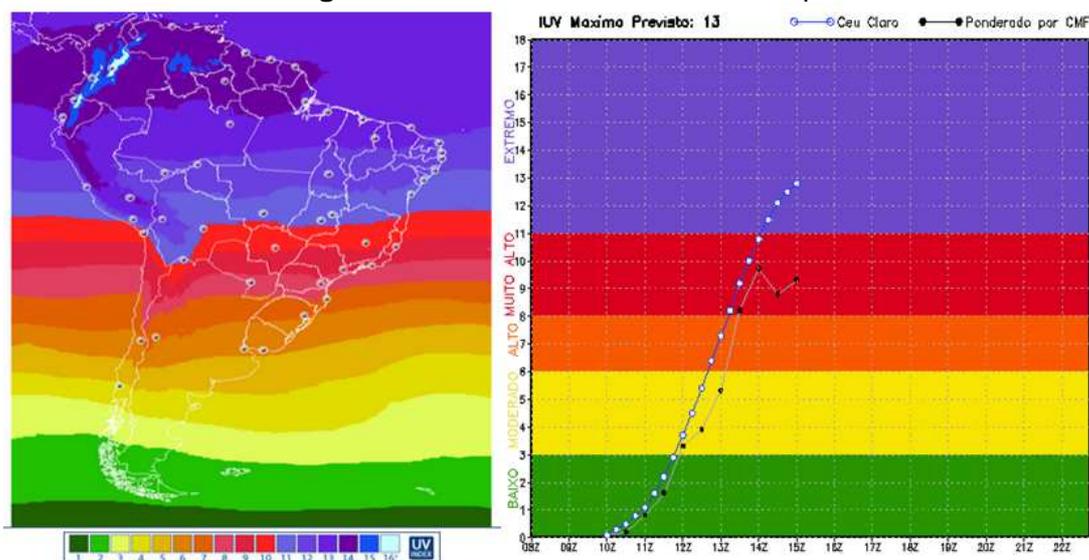
CATEGORIA	ÍNDICE ULTRAVIOLETA
BAIXO	< 2
MODERADO	3 a 5
ALTO	6 a 7
MUITO ALTO	8 a 10
EXTREMO	> 11

**Fonte:** CPTEC/INPE, 2014c

O índice de radiação UV de 1 a 2 são considerados baixos; de 3 a 5 são apontados como moderados; 6 e 7 são altos; já entre 8 e 10 são considerados muito alto; enquanto os superiores a dez são apontados como extremos CPTEC/INPE, 2014c. O Amapá se encaixa na faixa extrema, porque normalmente o que chega aqui é de 11 a 15 e no verão chega de 13 a 14. Quanto mais alto for o IUV, maior o risco de danos à pele e de aparecimento de câncer.

Este índice pode ser verificado diariamente como parte integrante da previsão do tempo. O IUV calculado para Macapá em Janeiro de foi 13, portanto, classificado na categoria Extremo, o que caracteriza uma radiação de alta intensidade para esta região (DSA/CPTEC/INPE, 2015d).

**Figura 2 – Índice Ultravioleta em Macapá-AP**



Fonte: DSA/CPTEC/INPE, 2015d

Existem vários fatores que podem influenciar os níveis de radiação ultravioleta que chegam à superfície terrestre:

- Posição Geográfica da Localidade: o fluxo de radiação UV diminui com o aumento da distância ao Equador. Ou seja, regiões mais próximas à linha imaginária do Equador recebem maior quantidade de energia solar (CPTEC/INPE, 2014c).
- Horário do dia: a quantidade de radiação recebida varia com os ângulos de incidência com que esta radiação chega à superfície terrestre. No horário de 6:30 às 09:30h observa-se maior incidência dos raios UVA e das 9:30h às 15:00h maior incidência dos raios UVB (BRASIL, 2006; CPTEC/INPE, 2014c).
- Clima: há uma grande variação na quantidade de raios UV que chegam à superfície terrestre, nas regiões de clima temperado. Esta variação é muito menor que nas regiões próximas ao Equador (BRASIL, 2006; CPTEC/INPE, 2014c).
- Latitude: A irradiância (quantidade de energia por área) UVB diária em torno de 20° de latitude aumenta cerca de 25% no verão e diminui de 30% no inverno. Em

zonas de maior latitude (cerca de 40°), esses valores correspondem a mais 70% e menos de 70%, respectivamente (BRASIL, 2006; CPTEC/INPE, 2014c).

– Altitude da Superfície: quanto mais alta é a localidade, menor é o conteúdo de ozônio integrado na coluna atmosférica e, conseqüentemente, maior a quantidade de energia ultravioleta incidente na superfície. A maior irradiação ocorre na linha do equador em elevadas altitudes (BRASIL, 2006; CPTEC/INPE, 2014c).

– Presença de nuvens: a presença de nuvens atenua a quantidade de radiação UV em superfície. Porém, parte dessa radiação não é absorvida ou refletida por esses elementos e atinge a superfície terrestre. Em dias nublados, recebe-se aproximadamente 10% a menos da radiação UVB do que em dias ensolarados. Deste modo, dias nublados também podem oferecer perigo, principalmente para as pessoas de pele sensível (BRASIL, 2006; CPTEC/INPE, 2014c).

### 2.3 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA E CÂNCER DE PELE

Exposições intensas à radiação UV pode causar queimaduras, doenças e câncer de pele. Uma pessoa com exposição cumulativa à radiação UV com um número de queimaduras graves recebidas, especialmente durante a infância, tem o risco aumentado de desenvolver câncer de pele (BRASIL, 2006).

A exposição ao sol faz com que as camadas exteriores da pele engrossem e em longo prazo pode causar enrugamento e enrijecimento. Os melanócitos são células responsáveis pela proteção da pele à radiação solar. Quanto mais melanócitos na superfície da pele, maior proteção aos raios UV. As mudanças na distribuição dos melanócitos podem ocasionar o desenvolvimento de lesões precursoras do câncer de pele, melanoma de crescimento radial, melanoma de crescimento vertical e melanoma metastático (BRASIL, 2006).

A radiação solar foi classificada no Grupo I, com evidência suficiente de carcinogenicidade em seres humanos. Estes tumores ocorrem predominantemente na face e no pescoço, e estão relacionados à exposição solar, embora a distribuição de carcinomas baso-celulares não esteja estritamente relacionada à exposição ao sol como a dos carcinomas espino-celulares (BRASIL, 2006).

Existem dois grupos distintos de câncer da pele: o não melanoma, mais frequente e menos agressivo, e os melanomas, mais agressivos, porém muito raros. O câncer da pele não melanoma é uma doença que acomete mais as populações de pele clara, do tipo que queima e não bronzeia. Hispânicos, asiáticos e negros desenvolvem menos esse tipo de câncer (BRASIL, 2011).

O câncer da pele não melanoma é o mais incidente em homens nas regiões Centro-Oeste (124/100 mil), Sul (80/100 mil) e Norte (38/100 mil), enquanto, nas regiões Sudeste (73/100 mil) e Nordeste (39/100 mil), é o segundo mais frequente. Nas mulheres é o mais frequente em todas as regiões, com um risco estimado de 109/100 mil na região Centro-Oeste, 91/100 mil na região Sudeste, 68/100 mil na região Sul, 43/100 mil na região Norte e 42/100 mil na região Nordeste (BRASIL, 2011).

O melanoma da pele é menos frequente do que os outros tumores da pele, porém sua letalidade é mais elevada. Acomete principalmente os caucasianos que moram em países com alta intensidade de radiação ultravioleta. No entanto, esse tipo de câncer afeta todos os grupos étnicos em alguma proporção (BRASIL, 2011). Em 2012, estimou-se, para o Brasil, 62.680 casos novos de câncer da pele não melanoma entre homens e 71.490 em mulheres. Esses valores correspondem a um risco estimado de 65 casos novos a cada 100 mil homens e 71 para cada 100 mil mulheres. Sendo que para o estado do Amapá foram de 150, que destes 100 foram apontados para a capital Macapá (BRASIL, 2011).

A exposição excessiva ao sol é o principal fator de risco para o surgimento dos cânceres da pele não melanoma. Em geral, para o melanoma, um maior risco inclui história pessoal ou familiar de melanoma. Outros fatores de risco para todos os tipos de câncer da pele incluem sensibilidade da pele ao sol, doenças imunossupressoras e exposição ocupacional (BRASIL, 2011).

## 2.4 FILTROS SOLARES

O filtro solar é uma substância de uso tópico que tem a capacidade de refletir ou absorver as radiações ultravioletas que atingem a pele, minimizando assim os efeitos danosos dessas radiações sobre a mesma, quando absorvem os

raios UV são denominados filtros orgânicos (químicos) e quando refletem os raios UV são chamados de filtros inorgânicos (físicos) (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; SILVA, 2007).

#### **2.4.1 Filtros Orgânicos**

Os filtros orgânicos, em sua maioria, são compostos aromáticos, dissustituídos, com um grupamento carbonila (do tipo cetona ou éster), e um substituinte com par de elétrons livres (amina ou metoxila) doadores de elétrons, normalmente em posição *orto* ou *para* ao grupamento carbonila. (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

A configuração citada acima apresenta substâncias que absorvem a radiação ultravioleta de menor comprimento de onda, ou seja, comprimento de onda que transporta alta energia, e liberam esta energia na forma de uma radiação de elevado comprimento de onda, ou seja, baixa energia. A energia absorvida da radiação ultravioleta corresponde à energia requerida para causar uma excitação fotoquímica na molécula do filtro solar (BRASIL, 2006).

Os filtros solares orgânicos são classificados em filtros solares UVA e UVB dependendo do tipo de radiação a qual eles conferem proteção: filtros solares UVA absorvem radiação entre 320 a 400 nm. Exemplo: benzofenonas e antranilatos; filtros solares UVB absorvem radiação entre 290 e 320 nm. Exemplo: PABA, salicilatos e cinamatos (MONTEIRO, 2008).

#### **2.4.2 Filtros Inorgânicos**

Os filtros solares inorgânicos, dióxido de titânio e dióxido de zinco, refletem e dispersam a radiação ultravioleta e visível. Porém, dependendo do tamanho da partícula, também podem absorver a radiação ultravioleta. Estes filtros são muito foto-estáveis e devido as suas propriedades de espalhamento de luz; apresentam menor variabilidade no seu efeito fotoprotetor quando comparados aos filtros orgânicos. Além disso, não apresentam propriedades irritantes nem sensibilizantes a pele humana (MONTEIRO, 2008).

Os filtros inorgânicos são cosmeticamente inaceitáveis devido a sua opacidade e oclusividade, pois proporcionam uma película branca leitosa sobre a pele. Recentemente, têm-se desenvolvido filtros solares inorgânicos micronizados e encapsulados de alta qualidade. Com a redução do tamanho das partículas para 10-50 nm ocorre a diminuição do espalhamento da luz visível, levando ao desenvolvimento de um produto cosmético esteticamente mais aceitável (FLOR FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007; SILVA, 2007).

As preparações fotoprotetoras que contêm somente filtros inorgânicos são geralmente recomendadas para crianças, isto ocorre devido à baixa penetração e subsequente degradação destas substâncias no corpo. Observa-se ausência de relatos de casos de fotoalergia e de fototoxicidade *in vivo* com estes tipos de preparações (MONTEIRO, 2008).

## 2.5 O FATOR DE PROTEÇÃO SOLAR (FPS)

FPS significa fator de proteção solar, sendo uma unidade utilizada para medir o grau de proteção que um filtro solar apresenta. O FPS mede o grau de proteção de um filtro para as radiações UVB, responsáveis pela queimadura solar, contudo, não serve para medir a proteção contra a radiação UVA, logo, mesmo com o filtro, a exposição ao sol deve ser moderada (BRASIL, 2006).

A determinação do FPS é uma técnica que comprova a eficácia dos filtros solares para a porção UVB do espectro eletromagnético. Como o UVB é o responsável por causar eritema na pele, um filtro bastante eficaz é aquele que é capaz de proteger a pele exposta contra a queimadura solar (RIBEIRO, 2004).

Para se calcular o FPS a literatura apresenta os métodos *in vivo*, quando se utiliza voluntários humanos ou animais (MANSUR, et al., 1986a; BRASIL, 2002; RIBEIRO, 2004; SILVA, 2007; MONTEIRO, 2008) e *in vitro*, quando se utilizam métodos laboratoriais para chegar aos valores de FPS, pelo método espectrofotométrico de Mansur et al. (1986) e citado por outros autores (FERRARI et al., 2007; ROSA et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2009; VIOLANTE et al., 2009; ALVES, et al., 2010; NETO, et al., 2010; RAMOS, SANTOS E DELLAMORA-ORTIZ, 2010; MUNHOZ et al., 2012; SOUZA, CAMPOS e PACKER, 2013; SPONCHIADO et al., 2013).

### 2.5.1 A metodologia *in vivo*

Na metodologia *in vivo*, um dos modelos utilizados para obtenção do FPS é determinado a partir de um cálculo que tem como variáveis o tempo mínimo necessário para detectar eritemas com ou sem proteção, de acordo com a equação (MANSUR, et al., 1986b; BRASIL, 2002; PASSOS, 2003; SILVA, 2007):

$$\text{FPS} = \frac{\text{tempo de aparecimento da DME na pele protegida}}{\text{tempo de aparecimento da DME na pele desprotegida}}$$

**Equação 1:** Equação para o cálculo do FPS *in vivo*.

Onde DME é a Dose Mínima Eritematógena, quantidade mínima de radiação UV para se produzir uma queimadura visível (MANSUR, et al., 1986b; SILVA, 2007).

A tabela a seguir apresenta alguns valores de referências para FPS e varia conforme o tipo de pele:

**Tabela 1** – Expressões orientativas para rotulagens de produtos com FPS

Nível FPS	Tipo de pele	Observação
Baixa – (6 ≤ FPS < 15)	Pele pouco sensível	Oferece Baixa proteção contra queimaduras solares
Moderada – (15 ≤ FPS < 30)	Pele sensível	Oferece Moderada proteção contra queimaduras solares
Alto – (30 ≤ FPS < 50)	Pele muito sensível	Oferece Alta proteção contra queimaduras solares
Muito Alta – (50 ≤ FPS < 100)	Pele extremamente sensível	Oferece Muito Alta proteção contra queimaduras solares

**Fonte:** adaptado de ANVISA (BRASIL, 2012)

No Brasil, e, de acordo com a Resolução RDC Nº 30 de 1º de Junho de 2012 da ANVISA, os produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes que proclamem um valor de FPS ou atividade de proteção solar, mesmo que não sejam enquadrados como protetores solares, deverão comprovar o declarado, e devem conter um FPS ≥ 6 (BRASIL, 2012).

### 2.5.2 A metodologia *in vitro*

Este método é realizado por meio da espectrofotometria na região UV. Essa técnica baseia-se na medida de transmitância ou absorvância (Abs) de uma radiação monocromática que atravessa uma solução contendo uma substância absorvente e na relação entre estas medidas e a concentração da espécie absorvente. Essa energia absorvida pela substância em análise provoca a excitação dos elétrons do seu estado fundamental ou normal a estados de maior energia ou estado excitado, este fenômeno é conhecido como transição eletrônica (MONTEIRO, 2008).

A metodologia *in vitro* ganha força atualmente por razões éticas e variabilidades de resultados e também pelos custos envolvendo estudos com seres humanos (MONTEIRO, 2008). Este método tem grande aplicação na previsão do fator de proteção antes de se realizarem os testes em seres humanos. Além disso, este método demonstrou ser um processo simples, eficaz, rápido, barato e sem riscos, além de apresentar uma boa correlação com os resultados *in vivo*. Claro que é ignorada a capacidade de aderência, penetração e distribuição dos produtos na pele, mas, na prática, este método demonstrou ter uma boa correlação com os testes em seres humanos, pois funciona como um pré-teste para a determinação do FPS antes de se realizarem testes em seres humanos, diminuindo os riscos de queimaduras, aumentando sua eficácia e garantia do processo durante a fabricação de formulações fotoprotetoras (MANSUR, et al., 1986a).

Pela análise espectrofotométrica, pode-se facilmente verificar a transmitância ou a absorvância dos filtros solares. Basta diluir o produto em um solvente transparente ao ultravioleta como o metanol e o isopropanol e fazer a leitura comparativa com um frasco contendo apenas o solvente (MANSUR, et al., 1986a).

O FPS estimado por espectrofotometria é um número que avalia o filtro de acordo com a altura, largura e localização da sua curva de absorção dentro do espectro do ultravioleta (MANSUR, et al., 1986a).

O Filtro solar tem que ser avaliado dentro do amplo espectro do ultravioleta, é necessário a determinação da curva de transmitância ou da curva

de absorvância em função do comprimento de onda. Portanto, para avaliarmos um bronzeador pela espectrofotometria, não basta vermos a curva de absorção, temos que calcular o fator de proteção solar (MANSUR, et al., 1986a).

Mede-se a absorvância de vários comprimentos de onda, e, em seguida, utiliza-se a equação desenvolvida por Mansur et. al., (1986a) apresentada a seguir:

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda)$$

**Equação 2:** Equação para o cálculo do FPS *in vitro*.

Onde:

FC = fator de correção (igual a 10)

EE ( $\lambda$ ) = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda ( $\lambda$ ) ;

I ( $\lambda$ ) = intensidade da luz solar no comprimento de onda ( $\lambda$ );

Abs ( $\lambda$ ) = leitura espectrofotométrica da absorvância da solução no comprimento de onda ( $\lambda$ ).

Os valores ponderais de EE ( $\lambda$ ).I ( $\lambda$ ) já foram calculados por Sayre et al. (1979) citado por Mansur et al. (1986a) e encontram-se descritos na tabela O produto EE ( $\lambda$ ).I ( $\lambda$ ) do efeito eritematogênico pela intensidade da radiação solar estão relacionados com ( $\lambda$ ) segundo a tabela abaixo:

**Tabela 2 – Valores da relação EE( $\lambda$ ).I( $\lambda$ )**

Comprimento de Onda	EE( $\lambda$ ).I( $\lambda$ )
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,018
Total	<b>1</b>

**Fonte:** Mansur et al. (1986a)

Com esta fórmula pode-se calcular o fator de proteção solar: basta multiplicar os valores da absorvância de faixas de 5 em 5nm, entre 290 e 320nm,

pelos respectivos valores ponderais da relação do EE ( $\lambda$ ).I ( $\lambda$ ) (Tabela 3). Multiplica-se o somatório final por 10 (Fator de Correção) (MANSUR, et al., 1986a).

## 2.6 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS E ATIVIDADE PROTETORA SOLAR

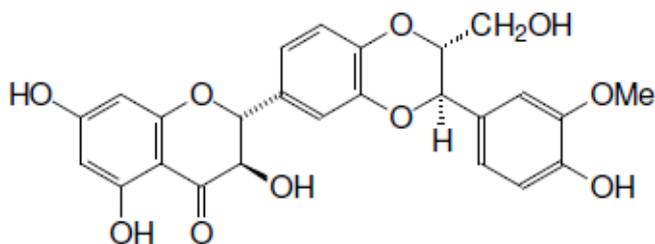
Extratos vegetais ricos em constituintes fenólicos, como flavonóides, vêm sendo empregados em formulações fotoprotetoras associadas aos filtros UV, uma vez que, comprovada sua capacidade de: absorver a radiação solar e antioxidante podem intensificar a proteção final do produto e ou neutralizar os radicais livres produzidos na pele após exposição ao sol (NASCIMENTO et al., 2009).

Dentre as substâncias ativas presentes nos vegetais que podem ser empregadas a fim de proporcionar uma fotoproteção cutânea mais ampla à formulação, estão os antioxidantes como as vitaminas C e a E, os taninos, alcalóides e flavonóides (SIMÕES, 2007; VIOLANTE et al., 2008).

Plantas que possuem constituintes como flavonóides, carotenóides, terpenos e tocoferol, contribuem para a prevenção contra os efeitos deletérios da radiação ultravioleta. Tópicamente ou através da administração oral, alguns extratos exibem uma redução no foto dano (VIOLANTE, et al., 2008).

### **a) Flavonóides**

Flavonóides compreendem uma das classes de compostos químicos mais largamente distribuída entre as plantas, ocorrendo no estado livre ou na forma heterosídica, bem como variações como derivados metilados, acilados, prenilados ou sulfatados. Devido a grande variação química apresentam-se distribuídos em categorias (flavonas, flavanonas, flavanóis, antocianidinas, isoflavonas, auronas, chalconas), exibindo propriedades químicas e físicas ligeiramente diferentes. Dentre as propriedades farmacológicas podemos citar ação protetora sobre os capilares sanguíneos (rutina, hesperidina), ação em distúrbios circulatórios (ginkgolídeos), ação antiespasmódica, hepatoprotetora (silibina – figura abaixo) e ação antioxidante (FONSECA, 2005).

**Figura 3 – Silibina**

**Fonte:** Fonsêca (2005)

A presença de flavonóides produzidos por uma planta é considerado fator importante de proteção para as plantas contra a radiação ultravioleta. Por exemplo, o anel B de orto-dihidroxi flavonas, como a luteolina, em relação ao anel B de mono-hidroxi flavonas, como a apigenina, pode ser mais efetivo em anular os efeitos potencialmente deletérios de radicais livres produzidos no tecido pela radiação ultravioleta (BOBIN, et al., 1995).

Os flavonóides não apresentam tendência à absorção cutânea, assim interpreta-se que a atividade seria exercida nas camadas superficiais da pele, ação desejada para os filtros solares (BOBIN, et al., 1995).

### **b) Alcalóides**

Os alcaloides são substâncias orgânicas, nitrogenadas, não proteicas, que apresentam potente efeito fisiológico sobre os mamíferos ou outros organismos. Por não se apresentar em grupos homogêneos, tanto do ponto de vista químico, bioquímico ou fisiológico, os alcaloides são dificilmente definidos.

As plantas são uma fonte rica de Alcalóides, que também podem ser encontrados em animais, fungos e bactérias. As melhores fontes de alcalóides são as espécies das famílias *apocinaceae*, *Papaveraceae*, *Ranunculaceae*, *Rubiaceae*, *Solanaceae* e *Berberidaceae* (FONSÊCA, 2005).

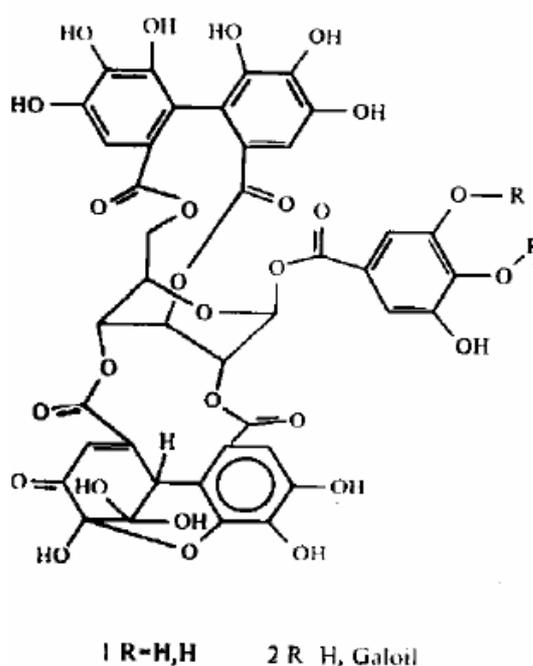
### **c) Taninos**

Os taninos compreendem um grande grupo de substâncias complexas que estão largamente distribuídas no reino vegetal. Quimicamente ocorrem como

misturas de polifenóis difíceis de serem separados pelo fato de não cristalizarem. Os taninos são costumeiramente divididos em duas classes químicas: os taninos hidrolisáveis (produzem ácidos fenólicos e açúcar) e taninos condensados ou não hidrolisáveis, chamados também de proantocianidinas.

Quando aplicados aos tecidos vivos, a reação com as proteínas resulta em uma ação denominada de adstringência, por isso são aplicados na terapêutica, como o da estrutura abaixo, extraído das folhas e talos da *Spondias mombim* Jacq. Alguns taninos também são encontrados na aroeira do sertão (*Myracrodruon urundeuva*), Hamamelis (*Hamamelis virginiana* L.) e cajazeira (*spondias mombin* Jacq.) (FONSÊCA,2005).

**Figura 4 – Taninos**



Fonte: Fonsêca (2005)

## 2.7 AS ESPÉCIES VEGETAIS EM ESTUDO

### 2.7.1 Posicionamento Taxonômico e Características Morfológicas de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum

O posicionamento taxonômico de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum, está demonstrado no Quadro 1.

**Quadro 1** – Posicionamento taxonômico de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum

POSICIONAMENTO TAXONÔMICO	
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Asteridade
Ordem	Gentianales
Família	Rubiacea
Gênero	<i>Calycophyllum</i>
Espécie	<i>Calycophyllum spruceanum</i>

**Fonte:** Taylor (2005)

A espécie *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum é conhecida popularmente como pau-mulato-da-várzea, pau-mulato, mulateiro, mulateiro-da-várzea, escorrega-macaco, pau-marfim e capirona. Esta espécie possui a seguinte sinonímia botânica: *Eukylista spruceana* Benth. Ocorre em toda a região amazônica, abrangendo o Brasil, Colômbia, Equador, Peru e Bolívia (ALMEIDA, 2004).

Esta planta é perenifólia, heliófita e higrófito. É difundida ao longo do Rio Amazonas, onde é encontrada em agrupamentos quase homogêneos, chamados matas-de-pau-mulato ou capironais. Sua ocorrência está em grande parte condicionada à dinâmica dos rios, frequentemente em praias de várzeas e em clareiras de matas de solos argilosos (ALMEIDA, 2004).

A sua ocorrência está relacionada com a dinâmica dos rios, pela formação de praias ou pela queda de árvores que proporcionam condições para a sua ocupação e desenvolvimento. No Amapá é uma espécie nativa da região estuarina com influência de maré (APPLEGATE *et al.*, 2000).

O mulateiro atinge 20 a 35m de altura e 0,7 a 1,8m de diâmetro à altura do peito. O tronco retilíneo é ramificado somente no ápice. A casca é fina e quando nova é de coloração esverdeada, tornando-se pardacenta até castanho-escura; descama anualmente em longas tiras, deixando exposta a camada interna avermelhada (ALMEIDA, 2004).

As folhas são simples, opostas, glabras, subcoriáceas, oblongas ou ovado-oblongas, medindo 9 a 17 cm de comprimento e 6 a 7cm de largura; o ápice é agudo ou obtuso; a base é pouco atenuada. As flores são agrupadas em cimeiras

triflorais envolvidas; o cálice é denticulado e provido de longos pêlos flexuosos e macios; a corola tubular apresenta limbo curto; os estames são numerosos (ALMEIDA, 2004).

O fruto é uma cápsula elipsoidal deiscente de 10 mm de comprimento, com lenticelas, pêlos esparsos e duas valvas. As sementes numerosas possuem em torno de 4mm de comprimento e 0,8mm de largura e apresentam coloração parda escura; são aladas em ambas as extremidades (ALMEIDA, 2004).

No Acre, floresce nos meses de abril a junho (final da época chuvosa) e frutifica de agosto a setembro na época de estiagem (ALMEIDA, 2004). Está entre as 5 espécies mais serradas pelos ribeirinhos das várzeas do município de Mazagão (QUEIROZ, 2007). O pau-mulato é uma das espécies florestais utilizadas para produção de madeira e construção das casas e canoas dos ribeirinhos.

Algumas partes da planta são usadas na medicina caseira, da casca se faz um emplasto, de uso tópico, para tratar cortes, feridas e queimaduras; o córtex (em infusão/chás) é usado para infecções oculares, diabetes e males do ovário, estômago e intestino; em emplastos são utilizados como cicatrizante e antimicótico (TAYLOR, 2005; ALMEIDA, 2004).

A seiva do caule é considerada antibacteriana, antioxidante, antiparasítica, repelente e inseticida, sendo empregada em cosméticos para eliminação de manchas da pele, cicatrizes, celulites e prevenção de rugas (TAYLOR, 2005; ALMEIDA, 2004).

Os índios usam um chá feito com a casca sobre seus corpos após o banho, então ficam no sol, posteriormente secam-se, acredita-se que isto ajuda a combater os efeitos deletérios do sol, da idade, de parasitas e de infecções fúngicas (TAYLOR, 2005).

Esta planta possui fenóis e ácidos orgânicos. Os fenóis isolados demonstraram atividade antioxidante, o que pode explicar seu uso tradicional contra o envelhecimento da pele (TAYLOR, 2005).

### **2.7.2 Posicionamento Taxonômico e Características Morfológicas de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore**

O posicionamento taxonômico de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore, está demonstrado no Quadro 2.

**Quadro 2** – Posicionamento taxonômico de *Tabebuia aurea*.

POSICIONAMENTO TAXONÔMICO	
Divisão	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Asteridade
Ordem	Lamiales
Família	Bignoniaceae
Gênero	<i>Tabebuia</i>
Espécie	<i>Tabebuia aurea</i>

**Fonte:** Lorenzi (1992)

A espécie *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore é conhecida popularmente como ipê-amarelo-do-cerrado, ipê-amarelo, paratudo, caraibeira, pau d'arco. Esta espécie possui a seguinte sinonímia: *Tabebuia caraíba* (Mart.) Bureau. É nativa dos cerrados, da caatinga e do Pantanal mato-grossense brasileiro (LORENZI; MATOS, 2002). Ocorre no cerrado, savana amazônica, várzea de caatinga, do Suriname, Argentina, Paraguai, Bolívia e Peru (BRASIL, 2003), e no Brasil, nos Estados do Amapá, Amazonas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Pernambuco, Roraima, São Paulo, Tocantins, Alagoas, Paraíba, Paraná, Piauí e Rio Grande do Norte (ALMEIDA et al., 1998).

Esta planta é melífera, perenifólia ou semidecídua, heliófita e seletiva higrófila. Ocorre de maneira esparsa e em terrenos bem drenados no cerrado e, em agrupamentos quase homogêneos em solos muito úmidos ou até pantanosos no pantanal e na caatinga. Forma os extensos paratudais, a sua presença é sinal de terra boa para pasto (LORENZI, 1992).

Esta espécie possui 12 a 20 m de altura, geralmente com tronco cilíndrico, de 40 a 60 cm de diâmetro, com base dilatada e casca externa fissurada de cor castanho-acinzentada. Integra a flora dos cerrados e cerradões de quase todo o Brasil (LORENZI, 1992)..

Suas folhas são compostas, opostas-cruzadas, de consistência cartácea a coriácea, com pecíolo de 2,5 a 8 cm de comprimento. Geralmente com 5 a 7 folíolos, quando jovens, densamente pilosos em ambas as faces; quando adultos, glabros na face adaxial e denso tomentosos, prateado ou esbranquiçado na face abaxial. Medem de 7 a 18 cm de comprimento, por 2 a 9 cm de largura, com ápice agudo, base arredondada e margem serreada (ALMEIDA et al., 1998).

Suas flores são pentâmeras, diclamídeas, com cálice densamente piloso, corola amarela de 8 a 10 cm de comprimento por até 5 cm diâmetro. Agrupam-se em inflorescências terminais com 10 a 20 cm de comprimento. A floração aparece antes do surgimento das folhas, entre os meses de julho a outubro (LORENZI, 1992).

Os frutos são cápsulas cilíndricas, com pêlos cor de couro velho, de 15 a 25 cm de comprimento e com muitas sementes marrons com asas brancas de 2 a 3 cm de comprimento. A frutificação ocorre de novembro a janeiro (LORENZI, 1992; ALMEIDA et al., 1998).

A espécie é amplamente utilizada para fins medicinais, em paisagismo e arborização, na produção de corante natural, produção de pasta de papel e na recuperação de ecossistemas degradados. Segundo Almeida et al. (1998) as folhas de tabebuia aurea possuem efeito purgativo e são consideradas anti-sifilíticas (LORENZI; MATOS, 2002), e tostadas são ainda utilizadas como estimulante, substituindo o mate (Brasil, 2003). A casca do caule é utilizada pelos ribeirinhos para diversas enfermidades como antianêmico, vermífugo, para problemas no estômago, fígado, contra a hepatite, diabete, febre, malária e catapora (LOREZI; MATOS, 2002).

A garrafada da entrecasca é utilizada como diurético e no tratamento de úlceras e o chá como expectorante. A seiva é considerada antissifilítica e antirreumática e utilizada nas frieiras (BRASIL, 2003). O broto é depurativo e antisséptico (ALMEIDA et al., 1998). A infusão das raízes servem para os casos de gripe, resfriados e tosses (BRASIL, 2003).

Lorenzi e Matos (2002) detectaram a presença de naftoquinonas e sesquiterpenoides, como o lapachol. Nas folhas foi encontrado o Alcaloide carobina (Almeida et al., 1998). Em estudos farmacológicos desenvolvidos com a

Tabebuia revelaram fraca atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria straminea* (LORENZI; MATOS, 2002).

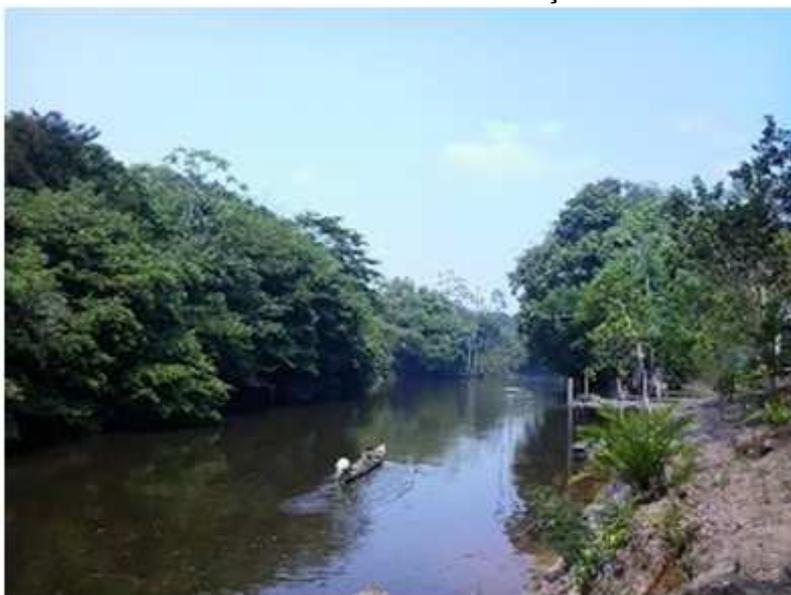
### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA ÁREA DE COLETA

As cascas do caule (650 g) e folhas (433,75 g) de *Calycophyllum spruceanum* foram coletadas no mês de Agosto, na várzea do estuário amazônico, próximo ao rio Piaçacá (figura 5), da localidade do Matão do Piaçacá, localizado a 90 km da capital, Macapá, fazendo fronteira entre os Municípios de Santana e Mazagão, sob as coordenadas N 00°13'59.7" (latitude) e 051°32'54.2" W (longitude) (figura 6). As partes frescas de *C. spruceanum* para confeccionar as exsiccatas foram prensadas em prensas de madeira, ainda no local de coleta. As exsiccatas obtidas foram depositadas no Herbário Amapaense do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado do Amapá – HAMAB/IEPA.

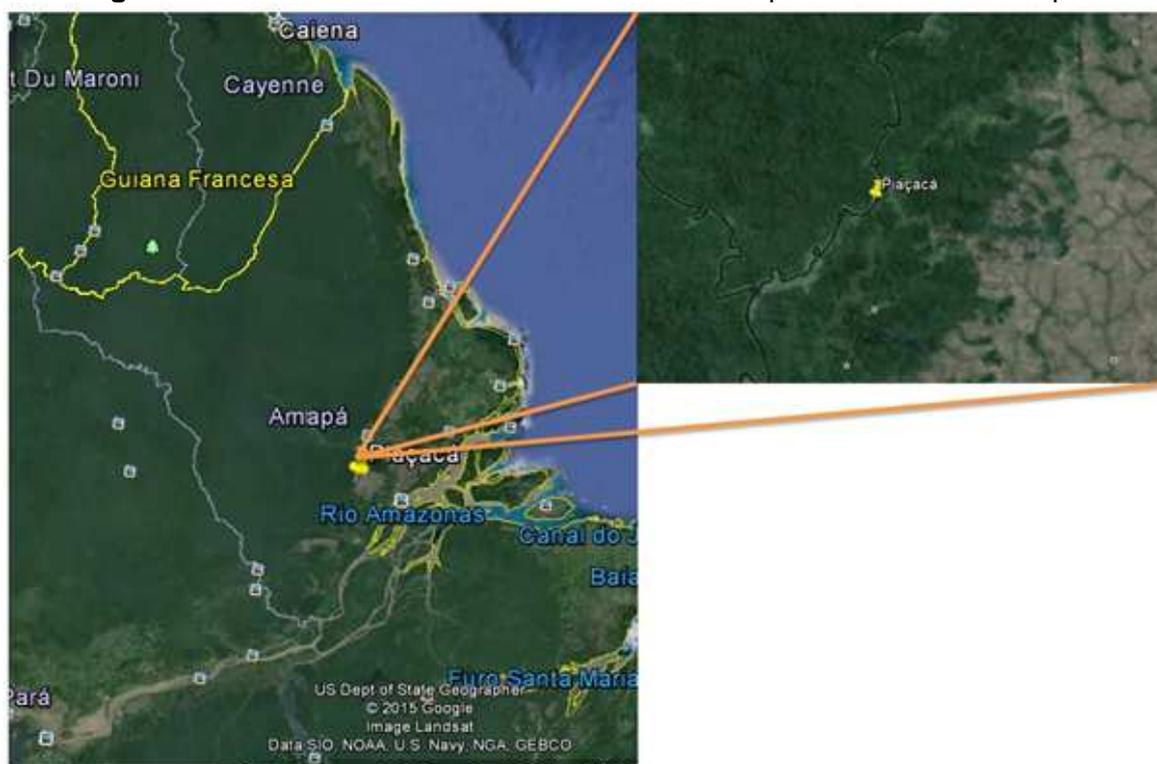
A tipologia da vegetação de florestas de várzea é Floresta Ombrófila Densa Aluvial (IBGE, 2012). O clima da região é do tipo Am, equatorial super úmido, segundo a classificação climática de Köppen. A temperatura média mínima é de 23°C e máxima de 38°C, com umidade relativa média acima de 80%. A precipitação pluviométrica anual oscila de 2.000 a 2.500 mm (GAZEL FILHO, et al., 2008). O solo é classificado como Gleissolo (SANTOS; TARDIN, 2003).

**Figura 5** – Rio Piaçacá fazendo fronteira entre os Municípios de Santana e Mazagão na Localidade do Matão do Piaçacá.



**Fonte:** Kardec (2014)

**Figura 6** – Posicionamento do local de coleta no mapa do Estado do Amapá.



Fonte: Google (2015)

As cascas do caule (323,43 g) e folhas (180,62 g) de *Tabebuia aurea* foram coletadas no Mês de setembro (período menos chuvoso) no Cerrado do Campus da Universidade Federal do Amapá, localizado na Rodovia Juscelino Kubitschek, km-02, S/N, Zerão, no Município de Macapá, Amapá, Brasil, sob as coordenadas N 0°00'34.52" (latitude) e 51°04'56.85" W (longitude), conforme (figura 7). As partes frescas de *T. aurea* para confeccionar as exsicatas foram prensadas em prensas de madeira, ainda no local de coleta. As exsicatas obtidas foram depositadas no Herbário Amapaense do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado do Amapá – HAMAB/IEPA.

A área de coleta possui fitofisionomia “aberta” de cerrado, com menor incidência de arbustos e árvores baixas, conforme (figura 8).

O clima da região é do tipo Af, tropical úmido, segundo a classificação climática de Köppen. A temperatura média mínima é de 23°C e máxima de 38°C, com umidade relativa média acima de 80%. A precipitação pluviométrica anual é de 2.000 mm. Possui estrato herbáceo permanente (SEMA, 2009).

**Figura 7** – Posicionamento do local de coleta no mapa do Estado do Amapá.



Fonte: Google (2015)

**Figura 8** – Área de coleta na Unifap



Fonte: A autora

### 3.2. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

As cascas e folhas de cada espécie foram limpas por meio de água corrente, com posterior secagem em estufa de ar circulante a 40°C, durante duas semanas, posteriormente, o material foi triturado em moinho de facas. O material triturado foi submetido à extração por maceração durante 7 dias em álcool etílico a 70%, na proporção de 1:5, à temperatura ambiente. O macerado foi evaporado lentamente, sob pressão reduzida, à temperatura de 40°C, em aparelho evaporador rotativo, modelo QUIMIS - Q. 218.2 (Figura 9), até a eliminação do solvente (VIOLANTE et al, 2009).

Os extratos secos foram obtidos pela retirada completa do solvente sob aquecimento em estufa, em temperatura inferior a 40°C, posteriormente pesado, obtendo-se 33,41 g de extrato seco das cascas do caule de *C. spruceanum* (pau-mulato), 51,30 g das folhas de *C. spruceanum* (pau-mulato), 15,87 g das cascas de *T. aurea* (ipê-amarelo) e 9,51 g das folhas de *T. aurea* (ipê-amarelo) (VIOLANTE et al., 2009).

**Figura 9** – Processo de concentração de extrato em aparelho evaporador rotativo sob pressão reduzida



Fonte: A autora

### 3.3 ANÁLISE FITOQUÍMICA QUALITATIVA PRELIMINAR

Os extratos foram submetidos a uma pesquisa fitoquímica para detecção das classes de metabólitos secundários, como Polissacarídeos, Fenóis e Taninos, Flavonóides, Esteroides e Triterpenoides, Depsídios e Depsidonas, Cumarinas, Antraquinonas, Alcalóides e Purinas através de uma análise fitoquímica qualitativa preliminar, com adaptações, segundo a metodologia de Barbosa (2001).

#### 3.3.1 Utilizando água destilada como solvente

Uma solução mãe foi preparada com 300 mg de cada extrato seco e 70 mL de água destilada separadamente. A solução do extrato ao solvente foi cuidadosamente solubilizada e em seguida, filtrada. Esta solução foi utilizada para a realização de testes para identificação de polissacarídeos, fenóis e taninos (BARBOSA, 2001).

##### a) Polissacarídeos

Em três tubos de ensaio foram colocados 5 mL de solução-mãe e adicionados 2 gotas de lugol em cada. O aparecimento de coloração azul indica resultado positivo.

##### b) Fenóis e Taninos

Em três tubos de ensaio adicionou-se 5 mL de solução-mãe e posteriormente 2 gotas de solução alcoólica de  $\text{FeCl}_3$  a 1%. O indicativo de reação positiva é o surgimento de coloração entre o azul e o vermelho (fenóis) e precipitados de tonalidade azul (taninos pirogálicos) e verde (taninos catéquicos).

#### 3.3.2 Utilizando metanol como solvente

Uma solução mãe foi preparada com 300 mg dos extratos secos e 70 mL de metanol. Utilizou-se um bastão de vidro para solubilizar o extrato ao solvente,

e em seguida, foi filtrado. Esta solução foi utilizada nos testes para identificação de flavonóides (BARBOSA, 2001).

#### **a) Flavonóides**

Adicionou-se 10 mL da solução mãe em tubo de ensaio, acrescentando-se 5 gotas de HCl concentrado ao filtrado, em seguida algumas miligramas de Óxido de magnésio ao tubo. O surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva.

#### **3.3.3 Utilizando Clorofórmio como solvente**

Uma solução mãe foi preparada com 250 mg dos extratos secos e 50 mL de clorofórmio. Esta solução foi usada para identificar esteróides e triterpenóides (BARBOSA, 2001).

#### **a) Esteróides e Triterpenóides**

Adicionou-se 10 mL da solução mãe em tubo de ensaio, filtrado sobre carvão ativado, e ao filtrado foi adicionado 1 mL de anidrido acético seguido de agitação. Adicionaram-se três gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado. Os procedimentos foram realizados em capela e tornou-se a agitar. Havendo um rápido desenvolvimento de cores, que vão do azul evanescente, ao verde persistente indica que o resultado é positivo.

#### **3.3.4 Utilizando éter etílico como solvente**

Foi preparada uma solução mãe com 170 mg dos extratos secos e 30 mL de éter etílico. Esta solução foi utilizada para identificação de depsídeos e depsídonas, e derivados da cumarina (BARBOSA, 2001).

#### **a) Depsideos e depsídonas**

Transferiu-se para um tubo de ensaio 5 mL da solução mãe. Todo o éter foi evaporado em banho Maria e ao resíduo foram acrescentados 3 mL de metanol. Agitaram-se e adicionaram-se 3 gotas de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) 1%. O aparecimento de coloração verde, azul ou cinza, indica reação positiva.

#### **b) Derivados da Cumarina**

Colocou-se em tubo de ensaio 5 mL da solução mãe. Evaporou-se em banho Maria até uma quantidade de 0,5 mL. Em papel filtro foram aplicadas gotas de solução etérea, de modo a formar duas manchas de aproximadamente 1 centímetro de diâmetro cada. A uma destas, adicionou-se 1 gota de solução NaOH 1N. O papel filtro foi levado à câmara de UV, onde a metade da mancha que continha NaOH 1N estava coberta com papel escuro. Fluorescência azul na parte exposta da mancha indica reação positiva.

#### **3.3.5 Utilizando tolueno como solvente**

Foi preparada uma solução mãe com 50 mg dos extratos secos e 25 mL de tolueno. Esta solução foi utilizada para identificação de Antraquinonas (BARBOSA, 2001).

#### **a) Antraquinonas**

Adicionou-se 5 mL da solução mãe, que foi filtrado e em seguida adicionado 2 mL de solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  a 10%. Agitou-se suavemente. O aparecimento de coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva.

#### **3.3.6 Utilizando ácido clorídrico como solvente**

Foi preparada uma solução mãe com 170 mg dos extratos secos e 30 mL de HCl a 5%. Esta solução foi utilizada para identificação de alcalóides e purinas (BARBOSA, 2001).

### a) Alcalóides

Adicionou-se 5 mL da solução mãe e por filtração simples, separaram-se quatro porções de 1 mL em tubos de ensaio e adicionaram-se gotas de reativo de Bouchardat, de reativo de Dragendorff e reativo de Mayer. Na presença de alcalóides ocorre:

- a) Reativo de Bouchardat: precipitado laranja avermelhado
- b) Reativo de Dragendorff: precipitado vermelho tijolo
- c) Reativo de Mayer: precipitado branco

### b) Purinas

Em uma cápsula de porcelana, adicionou-se 5 mg de extrato seco, 3 gotas de solução de HCl 6N e 2 gotas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrado, sendo evaporado em banho Maria. Adicionou-se 3 gotas de solução de NH<sub>4</sub>OH 6N. O surgimento de coloração violeta indica reação positiva.

## 3.4 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

### 3.4.1 Preparo da emulsão

A emulsão foi preparada de acordo com a composição descrita e detalhada no Quadro 3.

**Quadro 3 – Composição da emulsão O/A**

<b>Componentes</b>	<b>Quantidade (%p/p)</b>	<b>Fase</b>	<b>Finalidade</b>
EDTA dissodico	0,1	A	Quelante
Metilparabeno	0,1	A	Conservante
Glicerina	3,0	A	Umectante
Água Destilada	455 mL	A	Solvente
Cera Auto Emulsionante Não Iônica (Polawax)	12	B	Base Emulsionante
Propilparabeno	0,05	B	Conservante
Vaselina Líquida	2	B	Emoliente

Legenda: A – Fase Aquosa (Hidrossolúvel); B – Fase Oleosa (Lipossolúvel).

**Fonte:** Adaptado de Ferreira (2002)

Para a preparação da emulsão, foram separados os constituintes hidrossolúveis (Fase A – Aquosa), dos lipossolúveis (Fase B – Oleosa).

A fase A e B foram aquecidas concomitantemente, separadamente até a temperatura atingir 75°C. Logo após, suspendeu-se o aquecimento e verteu-se a fase A sobre a fase B lentamente, sob agitação constante (agitador magnético TE 085) até a temperatura atingir 40°C, obtendo-se uma emulsão base de caráter não iônico (FERREIRA, 2002).

O tipo de emulsão foi realizado através do teste de diluição (PRISTA et al., 1996), adotado por outros autores (FERRARI et al., 2007; MELO e SIQUEIRA, 2012).

Os extratos brutos das cascas do caule e folhas de *T. aurea* e *C. spruceanum* foram incorporados a 10%, pelo método a frio na emulsão O/A (NASCIMENTO et al., 2009).

### 3.4.2 Preparo do gel

O gel foi preparado de acordo com a composição descrita no Quadro 4.

**Quadro 4** – Composição do gel de carbopol

Componentes	Quantidade (%p/p)	Finalidade
Carbopol 940®	1	Gelificante
Propilenoglicol	5	Umectante
Metilparabeno	0,15	Conservante
Trietanolamina	pH 6~7	Acalinizante
Água Destilada	455 mL	Solvente

**Fonte:** Adaptado de Ferreira (2002)

Para a preparação do gel, foi solubilizado o metilparabeno em água. Logo em seguida, foi homogeneizado o propilenoglicol. O carbopol 940 foi disperso lentamente, sob agitação constante (agitador magnético TE 085). Essa mistura foi aquecida até a temperatura de 60°C, sob agitação manual constante até a formação do gel. O gel foi deixado em repouso até a completa hidratação do carbopol. Logo após, neutralizou-se com trietanolamina, com pH em torno de 6,0-7,0 (FERREIRA, 2002).

Os extratos brutos das cascas do caule e folhas de *T. aurea* e *C. spruceanum* foram incorporados a 10%, pelo método a frio no gel de carbopol (NASCIMENTO et al., 2009).

### 3.5 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES

Após a incorporação dos extratos, as formulações foram acondicionadas em frascos de polietileno tipo bisnaga, deixadas em repouso por 24h em temperatura ambiente para posterior análise. Inicialmente, foi realizado o teste em centrífuga e posteriormente, avaliação das características organolépticas e determinação do PH (BRASIL, 2004).

#### 3.5.1 Teste de Centrifugação

As formulações foram submetidas inicialmente ao teste de centrifugação em centrífuga 4 K 15 SIGMA, pesando-se 5g de cada formulação em balança eletrônica FA2104N, centrifugando-as a 3000 rpm, a 25°C por 30 minutos (BRASIL, 2004).

#### 3.5.2 Avaliação das Características Organolépticas

A emulsão (E), o extrato da casca de *C. spruceanum* incorporado na emulsão (E + ECCs), o extrato da folha de *C. spruceanum* incorporado na emulsão (E + EFCs), o extrato da casca de *T. aurea* incorporado na emulsão (E+ ECTa), o extrato da folha de *T. aurea* incorporado na emulsão (E + EFTa), o gel (G), o extrato da casca de *C. spruceanum* incorporado no gel (G + ECCs), o extrato da folha de *C. spruceanum* incorporado no gel (G + EFCs), o extrato da casca de *T. aurea* incorporado no gel (G+ ECTa) e o extrato da folha de *T. aurea* incorporado no gel (G + EFTa) foram submetidos a condições variáveis de temperatura: temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), geladeira ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e estufa ( $45 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

As formulações foram avaliadas durante 60 dias, nos seguintes intervalos de tempo: 0, 15, 30 e 60 dias (BRASIL, 2004).

As características organolépticas dessas formulações foram realizadas observando o aspecto, cor e odor.

### 3.5.3 Determinação do pH

Na determinação do pH, uma solução de cada formulação a 10% (m/v) foi preparada em água destilada. As determinações foram realizadas nas amostras armazenadas à temperatura ambiente, geladeira e estufa, em phmetro digital (pH meter 009), previamente calibrado com soluções tampão pH 4 e 7. Os resultados correspondem a média de três determinações (ISAAC et al., 2008).

## 3.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA SOLAR

### 3.6.1 Análises Espectrofotométricas

As análises foram determinadas de acordo com o método espectrofotométrico descrito por Mansur et al. (1986) e citado por outros autores (FERRARI et al., 2007; ROSA et al., 2008; NASCIMENTO et al., 2009; VIOLANTE et al., 2009; ALVES, et al., 2010; NETO, et al., 2010; RAMOS, SANTOS E DELLAMORA-ORTIZ, 2010; MUNHOZ et al., 2012; SOUZA, CAMPOS e PACKER, 2013; SPONCHIADO et al., 2013)

Como veículos foram utilizados os extratos brutos das cascas do caule e folhas de *Calycophyllum spruceanum* e *Tabebuia aurea*, os extratos brutos das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea* incorporados na emulsão e no gel.

Como padrão e controle da técnica foi utilizado uma formulação fotoprotetora comercial de FPS conhecido. O protetor solar FPS 15 SUNDOWN® UVA+UVB balanceado trata-se de uma associação do Benzoato de Alquila C12-15, Salicilato de Etilexila (SE), Benzofenona-3, Triazona Etilexil e Butil Metoxidibenzoilmetano (BMDM).

Como branco foi utilizado o álcool etílico P.A e o álcool isopropílico P.A.

A emulsão, sem a incorporação dos extratos, também foi submetida à varredura nas mesmas condições padronizadas para a emulsão incorporada aos extratos.

Alíquotas de 1 mL de cada formulação foram preparadas, obtendo-se soluções com concentração final de 0,2  $\mu\text{L/mL}$ . Para tanto, pesaram-se exatamente 0,25g das formulações em balões volumétricos de 50 mL contendo 25 mL de álcool isopropílico P.A, em seguida, solubilizados.

O volume dos balões foi completado com álcool isopropílico P.A e 1 mL de cada volume final foi transferido para balões de 25 mL, que foram ajustados com álcool isopropílico, resultando em soluções de concentração de 0,2  $\mu\text{L/mL}$ .

As absorbâncias dos extratos brutos, dos extratos incorporados na emulsão e gel foram determinadas em espectrofotômetro Shimadzu UVmini-1240 (Figura 10), em cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico, na faixa de comprimento de onda de 290 a 320 nm (UVB), com intervalos de 5 nm. As leituras foram realizadas em triplicata.

**Figura 10** – Espectrofotômetro Shimadzu UVmini-1240 utilizado na leitura das absorbâncias das soluções na região UVB (290-320 nm).



Fonte: A autora

### 3.6.2 Cálculo do Fator de Proteção solar (FPS)

Para o cálculo do FPS foi utilizado a fórmula de Mansur et al. (1986) conforme Equação 2 e os valores ponderais de  $EE(\lambda)$  e  $I(\lambda)$  que já foram calculados por Sayre et al. (1979) citado por Mansur et al. (1986) e que encontram-se descritos na Tabela 2.

$$FPS = FC \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot Abs(\lambda)$$

**Equação 2:** Equação para o cálculo do FPS *in vitro*.

Onde:

FC = fator de correção (igual a 10)

EE ( $\lambda$ ) = efeito eritemogênico da radiação de comprimento de onda ( $\lambda$ );

I ( $\lambda$ ) = intensidade da luz solar no comprimento de onda ( $\lambda$ );

Abs ( $\lambda$ ) = leitura espectrofotométrica da absorbância da solução no comprimento de onda ( $\lambda$ ).

**Tabela 2** – Valores da relação EE( $\lambda$ ).I( $\lambda$ )

Comprimento de Onda	EE( $\lambda$ ).I( $\lambda$ )
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,018
Total	<b>1</b>

**Fonte:** Mansur et al. (1986)

Conforme Mansur et al. (1986a), com esta fórmula (equação 2), é possível calcular o FPS *in vitro*, basta multiplicar os valores das absorbâncias no intervalo de 5 nm, na faixa de comprimento de onda de 290 a 320 nm (tabela 5), pelos respectivos valores ponderais de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) já calculados (Tabela 2). Multiplique-se o somatório final por 10, referente ao valor do FC (fator de correção).

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados foi realizada através dos *softwares Excel e Bioestat 5.0*. Os resultados foram expressos através da média  $\pm$  desvio padrão. A análise dos dados foi realizada com o uso do teste de variância ANOVA. Este é um teste empregado quando desejamos comparar três ou mais

médias de grupos de amostras independentes (também chamados de tratamentos  $k$ ).

Para que seja aplicado o teste de variância ANOVA é necessário que os dados atendam o pressuposto de normalidade, tendo em vista que o teste ANOVA pertence à denominada estatística paramétrica, nesse sentido, as amostras foram submetidas ao teste de normalidade chamado de *Lilliefors*, a escolha desse teste se deu em função de que ele pode ser empregado para  $k$  amostras distintas, ou seja, vários grupos ao mesmo tempo, atendendo portanto, as necessidades deste experimento.

O teste de *Lilliefors* apresentou resultado não-significativo para todas as amostras ( $p$ -valor  $> 0.05$ ), ou seja, ao nível de 5% todas as amostras desse experimento apresentam distribuição normal em torno de suas respectivas médias, o que respalda o uso do teste ANOVA.

O nível de significância utilizado neste estudo foi de 5%, onde valores críticos menores que 0.05 ( $p < 0,05$ ) foram considerados significativos. O teste de Tukey foi utilizado para determinação de diferenças estatisticamente significativas entre os extratos brutos da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* e incorporados em emulsão e gel, diluídos em álcool etílico e álcool isopropílico.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR

Os resultados obtidos na análise fitoquímica de grupos de metabólitos secundários dos extratos brutos das cascas e folhas das espécies *C. spruceanum* e *T. aurea*, estão representados na Tabela 3.

A análise fitoquímica no extrato bruto das cascas do caule de *C. spruceanum* (EBCCs) revelou a presença de taninos catéquicos, flavonóides, depsídeos e depsidonas, alcalóides. No extrato bruto das folhas de *C. spruceanum* (EBFCs) revelou a presença de taninos catéquicos, depsídeos e depsidonas, derivados da cumarina, alcalóides.

A análise fitoquímica no extrato bruto das cascas do caule de *T. aurea* (EBCTa) revelou a presença de taninos catéquicos, esteroides e triterpenoides, depsídeos e depsidonas, alcalóides. No extrato bruto das folhas de *T. aurea* (EBFTa) revelou a presença de taninos catéquicos, esteróides e triterpenoides, depsídeos e depsidonas, derivados da cumarina e alcalóides.

Em todos os extratos não foi detectada a presença de polissacarídeos, purinas e antraquinonas.

**Tabela 3** – Análise fitoquímica qualitativa preliminar dos extratos

Classe de Metabólito secundário	EBCCs	EBFCs	EBCTa	EBFTa
Polissacarídeos	-	-	-	-
Fenóis e Taninos	+	+	+	+
Flavonóides	+	-	-	-
Esteroides e Triterpenoides	-	-	+	+
Depsídeos e Depsidonas	+	+	+	+
Cumarinas	-	+	-	+
Antraquinonas	-	-	-	-
Alcalóides	+	+	+	+
Purinas	-	-	-	-

**Legenda:** + = presente; - = ausente; EBCCs= extrato bruto da casca de *C. spruceanum*; EBFCs= extrato bruto da folha de *C. spruceanum*; EBCTa= extrato bruto da casca de *T. aurea*; EBFTa= extrato bruto da folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

## 4.2 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

### 4.2.1 Preparo da Emulsão

A emulsão preparada sem os extratos apresentou aspecto normal e homogêneo, com coloração branca e odor característico dos componentes da emulsão, conforme figura 11. As emulsões incorporadas com os extratos das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea* apresentaram aspecto normal, com coloração e odor característicos de cada extrato.

**Figura 11** – Resultado do preparo da emulsão O/A



**Fonte:** A autora

### 4.2.2 Preparo do Gel

O gel preparado sem os extratos apresentou aspecto homogêneo e granuloso, cor transparente e odor característico dos componentes do gel, conforme figura 12.

Os géis incorporados com os extratos das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea* apresentaram aspecto homogêneo, com coloração e odor característicos de cada extrato.

**Figura 12** – Resultado do preparo do gel de Carpolol



**Fonte:** a autora

### 4.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES

#### 4.3.1 Avaliação das Características Organolépticas da emulsão

A Emulsão sem extrato (E), Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum* (E+ EBCCs), Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum* (E+ EBFCs), Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea* (E+ EBCTa) e Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea* (E+ EBF<sub>Ta</sub>) foram avaliadas durante um período de armazenamento de 60 dias (0, 15, 30 e 60) em três condições de temperatura: ambiente (25° C), geladeira (5° C) e estufa (45° C), conforme os resultados descritos no Quadro 5.

As características organolépticas da emulsão e dos extratos incorporados na emulsão foram avaliadas, através da observação, levando em consideração qualquer alteração no aspecto, cor e odor, baseado nos seguintes critérios: Aspecto: Normal (N), Leve Modificação no Aspecto (LMA), Modificação no Aspecto (MA), Intensamente Modificada no Aspecto (IMA); Cor: Normal (N), Leve Modificação da cor (LMC), Modificação da Cor (MC), Intensamente Modificada da Cor (IMC); Odor: Normal (N), Leve Modificação do Odor (LMO), Modificação do Odor (MO) e Intensamente Modificada do Odor (IMO) (BRASIL, 2004; ISAAC et al., 2008).

**Quadro 5** – Resultados das características organolépticas da emulsão e dos extratos incorporados na emulsão analisadas durante o período de 60 dias.

FORMULAÇÕES	TEMPO	CONDIÇÕES AMBIENTAIS								
		Ambiente (25±2°C)			Geladeira (5±2°C)			Estufa (45±2°C)		
		PARÂMETRO AVALIADO								
		Aspecto	Cor	Odor	Aspecto	Cor	Odor	Aspecto.	Cor	Odor
E	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N
	60	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N
E + EBCCs	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N
	60	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N
E + EBFCs	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N
	60	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N
E + EBCTa	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N
	60	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N
E + EBFTa	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N
	60	N	N	N	N	N	N	LMA	N	N

**Legenda:** E= Emulsão sem extrato; E+ EBCCs= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; E+ EBFCs= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; E+ EBCTa= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; E+ EBFTa= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** A autora

Conforme os resultados observados no Quadro 5, todas as formulações armazenadas em temperatura ambiente (25° C) não sofreram alterações quanto ao aspecto, cor e odor. As formulações acondicionadas em geladeira (5° C) também não sofreram nenhuma alteração no aspecto, cor e odor, ou seja, não apresentaram instabilidade, mantendo-se estável durante os 60 dias. Entretanto, todas as formulações que foram acondicionadas em estufa (45° C) apresentaram leve modificação no aspecto (LMA) no tempo 30 e 60, devido o enrijecimento da superfície da emulsão.

#### 4.3.2 Avaliação das Características Organolépticas do Gel

O Gel sem extrato (G), Gel + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum* (G+ EBCCs), Gel + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum* (G+ EBFCs), Gel +

Extrato Bruto da Casca de *T. aurea* (G+ EBCTa) e Gel + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea* (G+ EBFTa) foram avaliadas durante um período de armazenamento de 60 dias (0, 15, 30 e 60) em três condições de temperatura: ambiente (25° C), geladeira (5° C) e estufa (45° C), conforme os resultados descritos no Quadro 6.

As características organolépticas do gel e dos extratos incorporados no gel foram avaliadas, através da observação, levando em consideração qualquer alteração no aspecto, cor e odor, pelos seguintes critérios: Aspecto: Normal (N), Leve Modificação no Aspecto (LMA), Modificação no Aspecto (MA), Intensamente Modificado no Aspecto (IMA); Cor: Normal (N), Leve Modificação da cor (LMC), Modificação da Cor (MC), Intensamente Modificado da Cor (IMC); Odor: Normal (N), Leve Modificação do Odor (LMO), Modificação do Odor (MO) e Intensamente Modificado do Odor (IMO) (BRASIL, 2004; ISAAC et al., 2008).

**Quadro 6** – Resultados das características organolépticas do gel e dos extratos incorporados no gel analisados durante o período de 60 dias.

FORMULAÇÕES	TEMPO	CONDIÇÕES AMBIENTAIS									
		Ambiente (25±2°C)			Geladeira (5±2°C)			Estufa (45±2°C)			
		PARÂMETRO AVALIADO									
		Aspecto	Cor	Odor	Aspecto	Cor	Odor	Aspecto.	Cor	Odor	
G	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	60	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
G + EBCCs	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	N	LMC	LMO	
	60	N	N	N	N	N	N	N	LMC	LMO	
G + EBFCs	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	N	LMC	LMO	
	60	N	N	N	N	N	N	N	LMC	LMO	
G + EBCTa	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	N	LMC	LMO	
	60	N	N	N	N	N	N	N	LMC	LMO	
G + EBFTa	0	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	15	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
	30	N	N	N	N	N	N	N	LMC	LMC	
	60	N	N	N	N	N	N	N	LMC	LMC	

**Legenda:** G= Gel sem extrato; G+ EBCCs= Gel + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; G+ EBFCs= Gel + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; G+ EBCTa= Gel + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; G+ EBFTa= Gel + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

Conforme os resultados observados no Quadro 6, todas as formulações armazenadas em temperatura ambiente (25° C) não sofreram alterações quanto ao aspecto, cor e odor. As formulações acondicionadas em geladeira (5° C) também não sofreram nenhuma alteração no aspecto, cor e odor. Já todas as formulações que foram acondicionadas em estufa (45° C), no tempo 30 e 60, apresentaram leve modificação no aspecto (LMA), apresentando-se pouco viscoso, aparentemente líquido, leve modificação na cor (LMC) e leve modificação no odor.

#### 4.3.3 Determinação do pH da emulsão

Os valores de pH das formulações armazenadas em temperatura ambiente situaram-se na faixa de 6,1 a 6,6 mantendo a estabilidade. Os valores de pH das formulações armazenadas na geladeira situaram-se na faixa de 6,0 a 6,5. E quando armazenadas em estufa os valores de pH das formulações situaram-se na faixa de 6,2 a 6,8, conforme Tabela 4.

**Tabela 4** – Resultados da medição do pH da emulsão e dos extratos incorporados na emulsão analisadas durante o período de 60 dias.

FORMULAÇÕES	CONDIÇÕES AMBIENTAIS											
	Ambiente (25 ± 2°C)				Geladeira (5 ± 2°C)				Estufa (45 ± 2°C)			
	DIAS											
	0	15	30	60	0	15	30	60	0	15	30	60
E	6,1	6,1	6,2	6,2	6,0	6,0	6,1	6,1	6,2	6,2	6,3	6,3
E+ EBCCs	6,2	6,2	6,3	6,3	6,1	6,1	6,2	6,2	6,3	6,3	6,4	6,4
E+ EBFCs	6,3	6,3	6,4	6,4	6,2	6,2	6,3	6,3	6,4	6,4	6,5	6,5
E+ EBCTa	6,4	6,4	6,5	6,5	6,3	6,3	6,4	6,4	6,5	6,5	6,6	6,6
E+ EBFTa	6,5	6,5	6,6	6,6	6,4	6,4	6,5	6,5	6,6	6,6	6,7	6,8

**Legenda:** E= Emulsão sem extrato; E+ EBCCs= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; E+ EBFCs= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; E+ EBCTa= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; E+ EBFTa= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

#### 4.3.4 Determinação do pH do gel

Os valores de pH das formulações armazenadas em temperatura ambiente situaram-se na faixa de 6,0 a 6,5 mantendo a estabilidade. Os valores de pH das formulações armazenadas na geladeira situaram-se na faixa de 5,9 a 6,4. E quando armazenadas em estufa os valores de pH das formulações situaram-se na faixa de 5,5 a 6,1 conforme Tabela 5.

**Tabela 5** – Resultados da medição do pH do Gel e dos extratos incorporados no gel analisados durante o período de 60 dias

FORMULAÇÕES	CONDIÇÕES AMBIENTAIS											
	Ambiente (25 ± 2°C)				Geladeira (5 ± 2°C)				Estufa (45 ± 2°C)			
	DIAS											
	0	15	30	60	0	15	30	60	0	15	30	60
G	6,0	6,0	6,1	6,1	5,9	5,9	6,0	6,0	6,1	6,1	6,2	6,2
G+ EBCCs	6,1	6,1	6,2	6,2	6,2	6,2	6,3	6,3	5,5	5,5	5,6	5,6
G+ EBFCs	6,2	6,2	6,3	6,3	6,1	6,1	6,2	6,2	5,7	5,7	5,8	5,8
G+ EBCTa	6,3	6,3	6,4	6,4	6,2	6,2	6,3	6,3	5,8	5,8	5,9	5,9
G+ EBFTa	6,4	6,4	6,5	6,5	6,3	6,3	6,4	6,4	5,9	5,9	6,0	6,0

**Legenda:** G= Gel sem extrato; G+ EBCCs= Gel + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; G+ EBFCs= Gel + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; G+ EBCTa= Gel + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; G+ EBFTa= Gel + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

#### 4.4 ANÁLISES ESPECTROFOTOMÉTRICAS

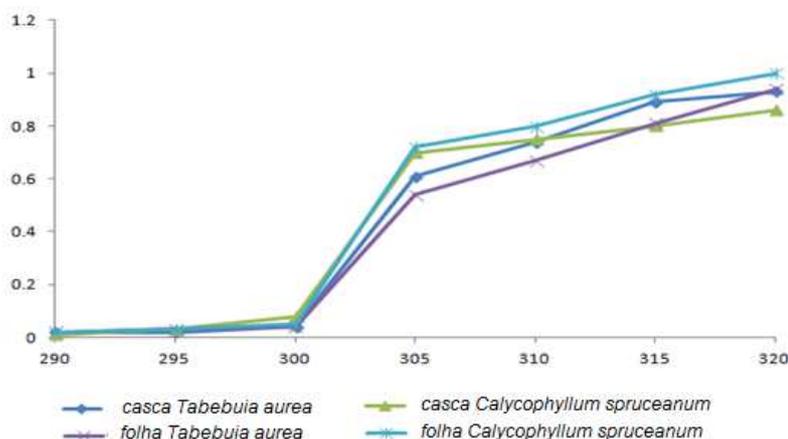
##### 4.4.1 Absorbâncias dos extratos brutos e incorporados em emulsão e gel diluídos com álcool etílico P.A

Nas análises espectrofotométricas todas as amostras apresentaram absorbância na região UVB (290-320 nm). O registro das absorbâncias é importante para o cálculo do FPS, pois, são elas que determinam o valor de cada FPS que se deseja encontrar.

A Figura 13 mostra os resultados do espectrograma da varredura no espectrofotômetro com as curvas de absorbâncias do extrato bruto das cascas do caule de *C. spruceanum* (EBCCs), do extrato bruto das folhas de *C. spruceanum*

(EBFCs), do extrato bruto das cascas do caule de *T. aurea* (EBCTa) e do extrato bruto das folhas de *T. aurea* (EBFTa).

**Figura 13** – Espectrograma das curvas de absorvâncias das amostras de extrato bruto das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool etílico.



Fonte: A autora

Conforme a Figura 13 as amostras de extrato bruto apresentaram absorvância na região UVB. Na tabela 6, estão descritos os valores das absorvâncias, destes valores, uma média e desvio padrão foram calculados, na faixa de 290 a 320 nm (UVB). Estes valores são utilizados posteriormente no cálculo do FPS *in vitro*, conforme Mansur et al. (1986a).

**Tabela 6** – Resultados das absorvâncias dos extratos brutos diluídos em álcool etílico.

$\lambda$ / nm	EBCCs	EBFCs	EBCTa	EBFTa	Padrão
290	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02
295	0.03	0.03	0.02	0.03	0.03
300	0.08	0.05	0.04	0.04	0.06
305	0.7	0.72	0.61	0.54	2.42
310	0.75	0.8	0.74	0.67	2.44
315	0.8	0.92	0.89	0.81	2.37
320	0.86	1	0.93	0.94	2.17
<b>Média</b>	0.4614	0.5057	0.4643	0.4357	1.3586
<b>Desvio Padrão</b>	0.3977	0.4506	0.4223	0.3988	

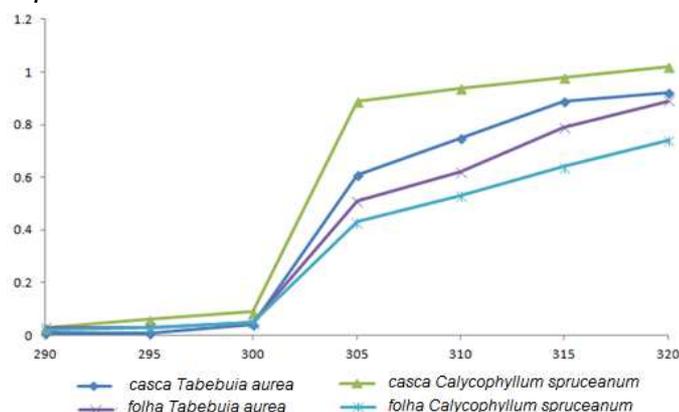
**Legenda:** EBCCs= Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; EBFCs= Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; EBCTa= Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; EBFTa= Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

Fonte: a autora

A Figura 14 mostra os resultados do espectrograma da varredura no espectrofotômetro com as curvas de absorvâncias da Emulsão + Extrato Bruto da

Casca de *C. spruceanum* (E+ EBCCs), Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum* (E+ EBFCs), Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea* (E+ EBCTa) e Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea* (E+ EBFTa).

**Figura 14** – Espectrograma das curvas de absorvâncias da emulsão + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool etílico.



Fonte: A autora

Conforme a Figura 14 as amostras de extrato da emulsão + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* apresentaram absorvância na região UVB. Na tabela 7, estão descritos os valores das absorvâncias, destes valores, uma média e desvio padrão foram calculados, na faixa de 290 a 320 nm (UVB). Estes valores são utilizados posteriormente no cálculo do FPS *in vitro*, conforme Mansur et al. (1986a).

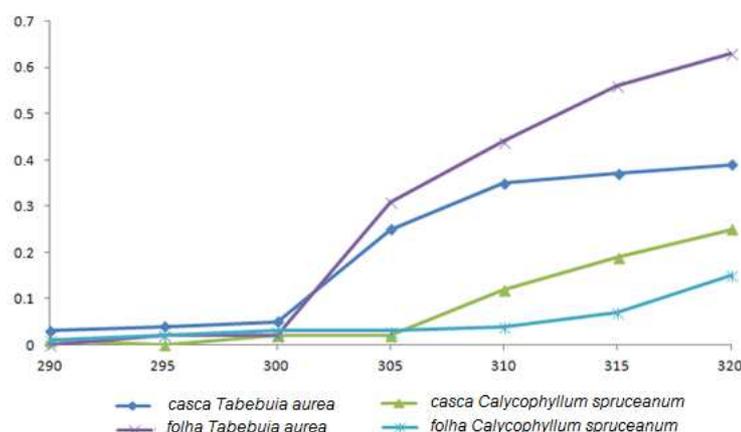
**Tabela 7** – Resultados das absorvâncias da emulsão + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool etílico.

λ / nm	E + EBCCs	E + EBFCs	E + EBCTa	E + EBFTa
290	0.03	0.02	0.01	0.03
295	0.06	0.03	0.01	0.03
300	0.09	0.05	0.04	0.05
305	0.89	0.43	0.61	0.51
310	0.94	0.53	0.75	0.62
315	0.98	0.64	0.89	0.79
320	1.02	0.74	0.92	0.89
<b>Média</b>	0.5729	0.3486	0.4614	0.4171
<b>Desvio Padrão</b>	0.4817	0.3099	0.4251	0.3757

**Legenda:** E+ EBCCs= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; E+ EBFCs= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; E+ EBCTa= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; E+ EBFTa= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*. **Fonte:** a autora

A Figura 15 mostra os resultados do espectrograma da varredura no espectrofotômetro com as curvas de absorvâncias dos resultados das curvas de absorvâncias do Gel + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum* (G+ EBCCs), Gel + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum* (G+ EBFCs), Gel + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea* (G+ EBCTa) e Gel + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea* (G+ EBFTa).

**Figura 15** – Espectrograma das curvas de absorvâncias do gel + extrato da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool etílico.



Fonte: A autora

Conforme a Figura 15 as amostras do Gel + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* apresentaram absorvância na região UVB. Na tabela 8, estão descritos os valores das absorvâncias, destes valores, uma média e desvio padrão foram calculados, na faixa de 290 a 320 nm (UVB). Estes valores são utilizados posteriormente no cálculo do FPS *in vitro* conforme Mansur et al. (1986a).

**Tabela 8** – Resultados das absorvâncias do Gel + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool etílico.

λ / nm	G + EBCCs	G + EBFCs	G + EBCTa	G + EBFTa
290	0.01	0.01	0.03	0
295	0	0.02	0.04	0.02
300	0.02	0.03	0.05	0.02
305	0.02	0.03	0.25	0.31
310	0.12	0.04	0.35	0.44
315	0.19	0.07	0.37	0.56
320	0.25	0.15	0.39	0.63
<b>Média</b>	0.0871	0.0500	0.2114	0.2829
<b>Desvio Padrão</b>	0.1006	0.0480	0.1664	0.2711

**Legenda:** G+ EBCCs= Gel + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; G+ EBFCs= Gel + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; G+ EBCTa= Gel + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; G+ EBFTa= Gel + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

#### 4.4.2 Obtenção do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* dos extratos brutos e incorporados em emulsão e gel diluídos com álcool etílico P.A

Para o cálculo do FPS foi utilizado a fórmula de Mansur et al. (1986a), conforme Equação 2. Os valores ponderais de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) utilizados neste cálculo, foram os mesmos pré-definidos por Sayre et al. (1979) na Tabela 2.

Conforme Mansur et al. (1986a), com esta fórmula (equação 2), é possível calcular o FPS *in vitro*, basta multiplicar os valores das absorvâncias que foram geradas no espectrofotômetro no intervalo de 5 nm, na faixa de comprimento de onda de 290 a 320 nm, pelos respectivos valores ponderais de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ). Multiplica-se o somatório final por 10, referente ao valor do FC (fator de correção).

Na tabela 9, estão agrupados os produtos de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) pelas absorvâncias (Abs.), dos extratos brutos das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea* e o padrão gerados em espectrofotômetro e descritos na tabela 6 no tópico anterior. Estes produtos foram somados e multiplicados por 10, resultando no FPS *in vitro*.

**Tabela 9** – Cálculo do FPS calculados para amostras dos extratos brutos diluídos em álcool etílico.

$\lambda$ / nm	EEI	(EEI)xAbs. EBCCs	(EEI)xAbs. EBFCs	(EEI)xAbs. EBCTa	(EEI)xAbs. EBFTa	Padrão
290	0.015	0.000150	0.000300	0.000300	0.000300	0.000300
295	0.0817	0.002451	0.002451	0.001634	0.002451	0.002451
300	0.2874	0.022992	0.014370	0.011496	0.011496	0.017244
305	0.3278	0.229460	0.236016	0.199958	0.177012	0.793276
310	0.1864	0.139800	0.149120	0.137936	0.124888	0.454816
315	0.0839	0.067120	0.077188	0.074671	0.067959	0.198843
320	0.018	0.015480	0.018000	0.016740	0.016920	0.039060
<b>Soma</b>		0.477453	0.497445	0.442735	0.401026	1.505990
<b>FPS</b>		<b>4.77</b>	<b>4.97</b>	<b>4.43</b>	<b>4.01</b>	<b>15.06</b>

**Legenda:** EBCCs= Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; EBFCs= Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; EBCTa= Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; EBFTa= Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

Na tabela 10, estão agrupados os produtos de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) pelas absorvâncias (Abs.), da emulsão + extratos brutos das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea*, geradas em espectrofotômetro e descritas na tabela 7 no tópico anterior. Estes produtos foram somados e multiplicados por 10, resultando no FPS *in vitro*.

**Tabela 10** – Cálculo do FPS calculados para amostras da emulsão + extratos brutos diluídas em álcool etílico.

$\lambda$ / nm	EExI	(EExI)xAbs. E + EBCCs	(EExI)xAbs. E + EBFCs	(EExI)xAbs. E + EBCTa	(EExI)xAbs. E + EBF7a
290	0.015	0.000450	0.000300	0.000150	0.000450
295	0.0817	0.004902	0.002451	0.000817	0.002451
300	0.2874	0.025866	0.014370	0.011496	0.014370
305	0.3278	0.291742	0.140954	0.199958	0.167178
310	0.1864	0.175216	0.098792	0.139800	0.115568
315	0.0839	0.082222	0.053696	0.074671	0.066281
320	0.018	0.018360	0.013320	0.016560	0.016020
<b>Soma</b>		0.598758	0.323883	0.443452	0.382318
<b>FPS</b>		<b>5.99</b>	<b>3.24</b>	<b>4.43</b>	<b>3.82</b>

**Legenda:** E= Emulsão sem extrato; E+ EBCCs= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; E+ EBFCs= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; E+ EBCTa= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; E+ EBF7a= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

Na tabela 11, estão agrupados os produtos de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) pelas absorvâncias (Abs.), do gel + extratos brutos das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea*, geradas em espectrofotômetro e descritas na tabela 8 no tópico anterior. Estes produtos foram somados e multiplicados por 10, resultando no FPS *in vitro*.

**Tabela 11** – Cálculo do FPS calculados para amostras do gel + extratos brutos diluídos em álcool etílico.

$\lambda$ / nm	EExI	(EExI)xAbs. G + EBCCs	(EExI)xAbs. G + EBFCs	(EExI)xAbs. G + EBC7a	(EExI)xAbs. G + EBF7a
290	0.015	0.000150	0.000150	0.000450	0.000000
295	0.0817	0.000000	0.001634	0.003268	0.001634
300	0.2874	0.005748	0.008622	0.014370	0.005748
305	0.3278	0.006556	0.009834	0.081950	0.101618
310	0.1864	0.022368	0.007456	0.065240	0.082016
315	0.0839	0.015941	0.005873	0.031043	0.046984
320	0.018	0.004500	0.002700	0.007020	0.011340

<b>Soma</b>	0.055263	0.036269	0.203341	0.249340
<b>FPS</b>	<b>0.55</b>	<b>0.36</b>	<b>2.03</b>	<b>2.49</b>

**Legenda:** G+ EBCCs= Gel + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; G+ EBFCS= Gel + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; G+ EBCTa= Gel + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; G+ EBFTa= Gel + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

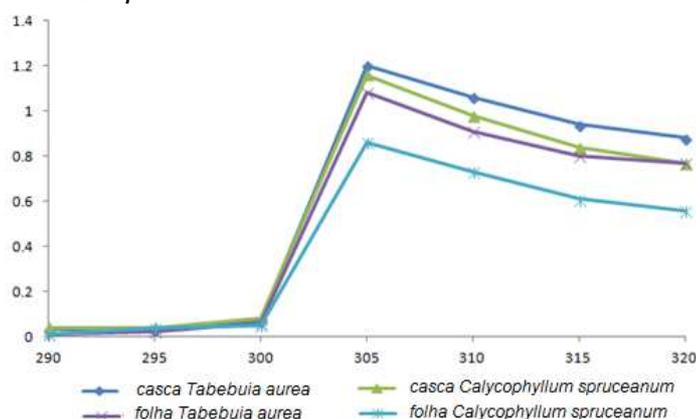
**Fonte:** a autora

#### 4.4.3 Absorbância dos extratos brutos e incorporados em emulsão e gel diluídos com álcool isopropílico P.A

Nas análises espectrofotométricas das formulações diluídas com álcool isopropílico todas as amostras apresentaram absorbância na região UVB (290-320 nm). O registro das absorbâncias é importante para o cálculo do FPS, pois, são elas que determinam o valor de cada FPS que se deseja encontrar.

A Figura 16 mostra os resultados do espectrograma da varredura no espectrofotômetro com as curvas de absorbâncias do extrato bruto das cascas do caule de *C. spruceanum* (EBCCs), do extrato bruto das folhas de *C. spruceanum* (EBFCs), do extrato bruto das cascas do caule de *T. aurea* (EBCTa) e do extrato bruto das folhas de *T. aurea* (EBFTa).

**Figura 16** – Espectrograma das curvas de absorbâncias para amostras de extrato bruto das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool isopropílico.



**Fonte:** A autora

Conforme a Figura 16 as amostras do extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* apresentaram absorbância na região UVB. Na tabela 12, estão descritos os valores das absorbâncias, destes valores, uma média e desvio padrão foram calculados, na faixa de 290 a 320 nm (UVB). Estes valores são

utilizados posteriormente no cálculo do FPS *in vitro*, conforme Mansur et al. (1986a).

**Tabela 12** – Resultados das absorvâncias dos extratos brutos diluídos em álcool isopropílico.

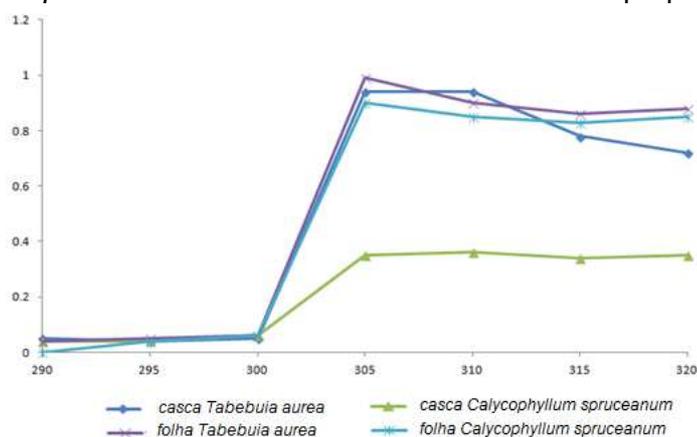
$\lambda$ / nm	EBCCs	EBFCs	EBC $T_a$	EBF $T_a$	Padrão
290	0.04	0.01	0.03	0.01	0
295	0.04	0.04	0.03	0.02	0.02
300	0.08	0.05	0.07	0.06	0.07
305	1.16	0.86	1.2	1.08	2.46
310	0.98	0.73	1.06	0.91	2.49
315	0.84	0.61	0.94	0.8	2.06
320	0.77	0.56	0.88	0.77	2.01
<b>Média</b>	0.5586	0.4086	0.6014	0.5214	1,3014
<b>Desvio Padrão</b>	0.4882	0.3638	0.5317	0.4705	

**Legenda:** EBCCs= Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; EBFCs= Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; EBC $T_a$ = Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; EBF $T_a$ = Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

A Figura 17 mostra os resultados do espectrograma da varredura no espectrofotômetro com as curvas de absorvâncias da Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum* (E+ EBCCs), Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum* (E+ EBFCs), Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea* (E+ EBC $T_a$ ) e Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea* (E+ EBF $T_a$ ).

**Figura 17** – Espectrograma das curvas de absorvâncias da emulsão + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool isopropílico.



**Fonte:** A autora

Conforme a Figura 17 as amostras da emulsão + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea*, apresentaram absorvância na região UVB. Na

tabela 13, estão descritos os valores das absorvâncias, destes valores, uma média e desvio padrão foram calculados, na faixa de 290 a 320 nm (UVB). Estes valores são utilizados posteriormente no cálculo do FPS *in vitro*, conforme Mansur et al. (1986a).

**Tabela 13** – Resultados das absorvâncias da emulsão + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool isopropílico P.A.

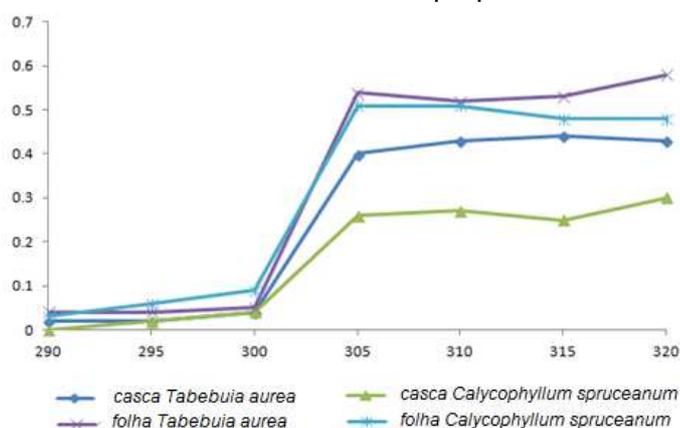
$\lambda$ / nm	E + EBCCs	E + EBFCs	E + EBCTa	E + EBF7a
290	0.04	0	0.05	0.04
295	0.04	0.04	0.04	0.05
300	0.06	0.06	0.05	0.06
305	0.35	0.9	0.94	0.99
310	0.36	0.85	0.94	0.9
315	0.34	0.83	0.78	0.86
320	0.35	0.85	0.72	0.88
<b>Média</b>	0.2200	0.5043	0.5029	0.5400
<b>Desvio Padrão</b>	0.1624	0.4414	0.4341	0.4602

**Legenda:** E= Emulsão sem extrato; E+ EBCCs= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; E+ EBFCs= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; E+ EBCTa= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; E+ EBF7a= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

A Figura 18 mostra os resultados do espectrograma da varredura no espectrofotômetro com as curvas de absorvâncias do Gel + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum* (G+ EBCCs), Gel + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum* (G+ EBFCs), Gel + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea* (G+ EBCTa) e Gel + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea* (G+ EBF7a).

**Figura 18** – Espectrograma das curvas de absorvâncias do gel + extrato da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool isopropílico.



**Fonte:** A autora

Conforme a Figura 18 as amostras da emulsão + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* apresentaram absorvência na região UVB. Na tabela 14, estão descritos os valores das absorvências, destes valores, uma média e desvio padrão foram calculados, na faixa de 290 a 320 nm (UVB). Estes valores são utilizados posteriormente no cálculo do FPS *in vitro*, conforme Mansur et al. (1986a).

**Tabela 14** – Resultados das absorvências do Gel + extrato bruto da casca e folha de *C. spruceanum* e *T. aurea* diluídas em álcool isopropílico P.A.

$\lambda$ / nm	Gel + EBCCs	Gel + EBFCS	Gel + EBCTa	Gel + EBFTa
290	0	0.03	0.02	0.04
295	0.02	0.06	0.02	0.04
300	0.04	0.09	0.04	0.05
305	0.26	0.51	0.4	0.54
310	0.27	0.51	0.43	0.52
315	0.25	0.48	0.44	0.53
320	0.3	0.48	0.43	0.58
<b>Média</b>	0.1629	0.3086	0.2543	0.3286
<b>Desvio Padrão</b>	0.1350	0.2335	0.2134	0.2675

**Legenda:** G= Gel sem extrato; G+ EBCCs= Gel + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; G+ EBFCS= Gel + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; G+ EBCTa= Gel + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; G+ EBFTa= Gel + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

#### 4.4.4 Obtenção do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* dos extratos brutos e incorporados em emulsão e gel diluídos com álcool isopropílico P.A.

Para o cálculo do FPS foi utilizado a fórmula de Mansur et al. (1986a), conforme Equação 2. Os valores ponderais de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) utilizados neste cálculo, foram os mesmos pré-definidos por Sayre et al. (1979) na Tabela 2.

Conforme Mansur et al. (1986a), com esta fórmula (equação 2), é possível calcular o FPS *in vitro*, basta multiplicar os valores das absorvências que foram geradas no espectrofotômetro no intervalo de 5 nm, na faixa de comprimento de onda de 290 a 320 nm, pelos respectivos valores ponderais de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ). Multiplica-se o somatório final por 10, referente ao valor do FC (fator de correção).

Na tabela 15, estão agrupados os produtos de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) pelas absorvências (Abs.), dos extratos brutos das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea* e do padrão geradas em espectrofotômetro e descritas na tabela 12 no

tópico anterior. Estes produtos foram somados e multiplicados por 10, resultando no FPS *in vitro*.

**Tabela 15** – Cálculo do FPS calculados para amostras dos extratos brutos diluídos em álcool isopropílico.

$\lambda$ / nm	EExI	(EExI)xAbs. EBCCs	(EExI)xAbs. EBFCs	(EExI)xAbs. EBCTa	(EExI)xAbs. EBFTa	Padrão
290	0.015	0.000600	0.000150	0.000450	0.000150	0.000000
295	0.0817	0.003268	0.003268	0.002451	0.001634	0.001634
300	0.2874	0.022992	0.014370	0.020118	0.017244	0.020118
305	0.3278	0.380248	0.281908	0.393360	0.354024	0.806388
310	0.1864	0.182672	0.136072	0.197584	0.169624	0.464136
315	0.0839	0.070476	0.051179	0.078866	0.067120	0.172834
320	0.018	0.013860	0.010080	0.015840	0.013860	0.036180
<b>Soma</b>		0.674116	0.497027	0.708669	0.623656	1.501290
<b>FPS</b>		<b>6.74</b>	<b>4.97</b>	<b>7.09</b>	<b>6.24</b>	<b>15.01</b>

**Legenda:** EBCCs= Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; EBFCs= Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; EBCTa= Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; EBFTa= Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

Na tabela 16, estão agrupados os produtos de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) pelas absorvâncias (Abs.), da emulsão + extratos brutos das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea*, geradas em espectrofotômetro e descritas na tabela 13 no tópico anterior. Estes produtos foram somados e multiplicados por 10, resultando no FPS *in vitro*.

**Tabela 16** – Cálculo do FPS calculados para amostras da emulsão + extratos brutos diluídas em álcool isopropílico.

$\lambda$ / nm	EExI	(EExI)xAbs. E + EBCCs	(EExI)xAbs. E + EBFCs	(EExI)xAbs. E + EBCTa	(EExI)xAbs. E + EBFTa
290	0.015	0.000600	0.000000	0.000750	0.000600
295	0.0817	0.003268	0.003268	0.003268	0.004085
300	0.2874	0.017244	0.017244	0.014370	0.017244
305	0.3278	0.114730	0.295020	0.308132	0.324522
310	0.1864	0.067104	0.158440	0.175216	0.167760
315	0.0839	0.028526	0.069637	0.065442	0.072154
320	0.018	0.006300	0.015300	0.012960	0.015840
<b>Soma</b>		0.237772	0.558909	0.580138	0.602205
<b>FPS</b>		<b>2.38</b>	<b>5.59</b>	<b>5.80</b>	<b>6.02</b>

**Legenda:** E= Emulsão sem extrato; E+ EBCCs= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; E+ EBFCs= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; E+ EBCTa= Emulsão + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; E+ EBFTa= Emulsão + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

Na tabela 17, estão agrupados os produtos de EE ( $\lambda$ ) e I ( $\lambda$ ) pelas absorvâncias (Abs.), dos extratos brutos das cascas e folhas de *C. spruceanum* e *T. aurea*, geradas em espectrofotômetro e descritas na tabela 14 no tópico anterior. Estes produtos foram somados e multiplicados por 10, resultando no FPS *in vitro*.

**Tabela 17** – Cálculo do FPS calculados para amostras do gel + extratos brutos diluídas em álcool isopropílico.

$\lambda$ / nm	EExI	(EExI)xAbs. G + EBCCs	(EExI)xAbs. G + EBFCs	(EExI)xAbs. G + EBCTa	(EExI)xAbs. EBFTa
290	0.015	0.000000	0.000450	0.000300	0.000600
295	0.0817	0.001634	0.004902	0.001634	0.003268
300	0.2874	0.011496	0.025866	0.011496	0.014370
305	0.3278	0.085228	0.167178	0.131120	0.177012
310	0.1864	0.050328	0.095064	0.080152	0.096928
315	0.0839	0.020975	0.040272	0.036916	0.044467
320	0.018	0.005400	0.008640	0.007740	0.010440
<b>Soma</b>		0.175061	0.342372	0.269358	0.347085
<b>FPS</b>		<b>1.75</b>	<b>3.42</b>	<b>2.69</b>	<b>3.47</b>

**Legenda:** G+ EBCCs= Gel + Extrato Bruto da Casca de *C. spruceanum*; G+ EBFCs= Gel + Extrato Bruto da Folha de *C. spruceanum*; G+ EBCTa= Gel + Extrato Bruto da Casca de *T. aurea*; G+ EBFTa= Gel + Extrato Bruto da Folha de *T. aurea*.

**Fonte:** a autora

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR

A análise fitoquímica tem como objetivo conhecer os constituintes químicos dos vegetais e identificar os grupos de metabólitos secundários relevantes (SIMÕES, 2007).

Uma variedade de extratos e óleos de plantas têm sido utilizados em produtos cosméticos, como filtros solares, devido a sua absorção ao UV, indicando que os mesmos apresentam em sua composição, moléculas com estruturas semelhantes as dos filtros químicos sintéticos. A absorção máxima proveniente desses produtos não é muito bem conhecida, porque se tratam de misturas de diferentes moléculas mais ou menos ativas (FERRARI, 2002; FERRARI et al., 2007; DE PAOLA, 2001).

Quanto a presença de taninos catéquicos, flavonóides, depsídeos e depsidonas, alcalóides, nas cascas do caule de *C. spruceanum* (EBCCs) e a presença de taninos catéquicos, depsídeos e depsidonas, derivados da cumarina, alcalóides no extrato bruto das folhas de *C. spruceanum* (EBFCs), taninos catéquicos, esteroides e triterpenoides, depsídeos e depsidonas, alcalóides no extrato bruto das cascas do caule de *T. aurea* (EBCTa) e presença de taninos catéquicos, esteróides e triterpenoides, depsídeos e depsidonas, derivados da cumarina e alcalóides também foi observado na pesquisa de Rosa et al., (2008), que teve como objetivo avaliar espectrofotometricamente extratos de plantas e sua potencial aplicação como possíveis fitocosméticos utilizando a metodologia de Mansur et al. (1986).

Para Simões (2004) os flavonóides e taninos, presentes na maioria das angiospermas que absorvem na região UV, podem apresentar altas absorvidades molares para comprimentos de onda que resultam em valores de FPS efetivos.

Segundo Bobin, Raymond e Martini (1994) a presença de flavonóides produzidos por uma planta é considerado fator importante de proteção para as plantas contra a radiação ultravioleta. Por exemplo, o anel B de ortodihidroxi-flavonas, como luteolina, em relação ao anel B de mono-hidroxi-flavonas,

como a apigenina, pode ser mais efetivo em anular os efeitos potencialmente deletérios de radicais livres produzidos no tecido pela radiação ultravioleta. Além disso, os flavonóides não apresentam tendência à absorção cutânea, assim, essa atividade seria exercida nas camadas superficiais da pele, ação desejada para os filtros solares.

Na pesquisa desenvolvida por Violante et al. (2009), que teve como objetivo avaliar a atividade fotoprotetora de espécies de diferentes famílias do cerrado mato-grossense foi observada taninos, flavonóides e alcalóides, corroborando com este estudo.

Os alcalóides são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos. Estes possuem diversas funções, entre elas, uma possível proteção contra a radiação UV, que em sua maior parte, são compostos com núcleos aromáticos altamente absorvedores dessa radiação (HENRIQUES, KERBER, MORENO, 2000).

## 5.2 DESENVOLVIMENTO DAS FORMULAÇÕES

### 5.2.1 Preparo da Emulsão

Para preparar um protetor solar é necessária a presença de dois componentes básicos: os ingredientes ativos (filtros orgânicos e/ou inorgânicos) e os veículos (loções hidroalcoólicas, cremes e loções emulsionadas e os géis) (FLOR; DAVOLOS; CORREA, 2007).

Logo que determinadas as substâncias ativas, deve-se selecionar o veículo, que é tão importante quanto a escolha dos filtros, pois os solventes, os agentes emolientes e emulsionantes devem minimizar e impedir a penetração das substâncias ativas, além de interferir no resultado final, aumentando ou diminuindo a eficácia da formulação, determinada pelo FPS (MILESI, 2002; SURMAN et al., 2009).

Quanto ao desenvolvimento das formulações, como veículo, optou-se por uma emulsão e pelo gel de carbopol para posteriores comparações. As formulações, geralmente, apresentam-se na forma de géis ou de emulsões, sendo

as emulsões os veículos mais utilizados para filtros solares, tanto na forma de cremes como também em loções (NETO et al., 2010).

As emulsões constituem o melhor veículo para os filtros solares, sendo constituídas de componentes tanto apolares (lipossolúveis) quanto polares (hidrossolúveis) (FLOR, DAVOLOS, CORREA, 2007).

Pelo teste de diluição verificou-se que as emulsões apresentaram-se do tipo O/A, pois, foi observado que a mistura das formulações com a água promoveu diluição, aspecto homogêneo, com ausência de separação de fases, enquanto que a diluição em óleo notou-se um aspecto heterogêneo, com grânulos visíveis a olho nu (FLOR, DAVOLOS, CORREA, 2007; PROENÇA, 2009).

Tais sistemas podem ser O/A (óleo em água) ou A/O (água em óleo), características que podem conduzir a preparações mais ou menos protetoras. As emulsões óleo em água (O/A) são os mais utilizados por serem, sensorialmente, mais agradáveis ao usuário, além de apresentar custo relativo menor, as emulsões são formas cosméticas apropriadas para incorporar filtro solar, devido a sua versatilidade, elegância cosmética e baixo custo (FLOR, DAVOLOS, CORREA, 2007; PROENÇA, 2009).

Como emulsionante foi utilizado o polowax, formado a partir de álcool cetostearílico etoxilado e álcool cetostearílico, que, proporciona maior estabilidade para as emulsões, por ser uma cera de caráter não iônico, que apresenta baixa toxicidade e irritabilidade, além ser mais compatível que os emulsionantes aniônicos ou catiônicos em diversas substâncias (PROENÇA, 2009).

O emoliente escolhido neste estudo foi a vaselina líquida que contribui com a solubilização e com as interações com os demais componentes da formulação, favorecendo a formação da emulsão e oferecendo estabilidade ao fotoprotetor (MELO; SIQUEIRA, 2009; RIBEIRO, 2004).

### **5.2.2 Preparo do Gel**

Segundo Corrêa et al. (2005) os géis são os veículos obtidos através de um espessante hidrofílico, que podem ser naturais (gomas e alginatos) ou sintéticos (polímeros e copolímeros de acrilamida), mas, geralmente, não oferecem os mesmos níveis de proteção que as emulsões.

Os géis hidrofílicos têm sido bastante utilizados em produtos cosméticos e como base dermatológica, pois apresentam fácil espalhamento, não são gordurosos e podem veicular princípios ativos hidrossolúveis e lipossomas e são os mais indicados para pessoas que possuem pele oleosa e mista. Então, defini-se o gel como uma preparação semi-sólida composta de partículas coloidais que não se sedimentam (ficam dispersas) (CORRÊA et al., 2005).

De acordo com Corrêa et al. (2005) as características dos polímeros, os géis podem apresentar natureza iônica ou não-iônica. Os géis de natureza não-iônica possuem estabilidade em ampla faixa de pH, tornando-se possível a veiculação de substâncias de caráter ácido.

Como agente gelificante foi escolhido o carbopol 940. Os Carbopóis são polímeros sintéticos do ácido acrílico, de alto peso molecular e caráter aniônico, que dão lugar a dispersões em meio aquoso, hidroalcoólico, e com diferentes solventes orgânicos.

Dessa forma, um meio de desenvolver o completo potencial de viscosidade destes polímeros é pela adição de uma base orgânica ou inorgânica, como por exemplo, trietanolamina ou hidróxido de sódio, à dispersão aquosa do polímero (CORRÊA et al., 2005).

### 5.3 AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES

#### 5.3.1 Avaliação das Características Organolépticas da emulsão

As leves modificações no aspecto (LMA) ocorridas nas formulações acondicionadas em estufa (45° C) no tempo 30 e 60, pode ter ocorrido pela perda dos componentes hidrofílicos por evaporação durante o aquecimento, o que se dá de forma mais intensa na superfície, aumentando a concentração dos componentes menos voláteis, como afirmou Souza e Ferreira (2010) em sua pesquisa.

A emulsão mostrou ser o melhor veículo para incorporar os princípios ativos, principalmente quando mantidas em temperatura ambiente e geladeira, já que nestas condições não sofreram nenhum tipo de alteração.

No teste de centrifugação, conforme recomendado, não foi observado separação de fases, não necessitando de reformulação, permitindo o estudo de estabilidade preliminar (BRASIL, 2004).

Estudos sobre a estabilidade acelerada de produtos cosméticos são necessários, pois fornecem informações importantes sobre o comportamento das formulações frente a condições diversas no decorrer do tempo, garantindo, assim, a eficácia e a segurança dos produtos (SOUZA; FERREIRA, 2010).

### **5.3.2 Avaliação das características Organolépticas do Gel**

As leves modificações na aparência (LMA), na cor (LMC) e no odor (LMO) ocorridas nas formulações que foram acondicionadas em estufa (45° C), no tempo 30 e 60, podem ter ocorrido pela ausência de antioxidantes, resultando em reações de oxidação (SOUZA; FERREIRA, 2010), consideradas aceitáveis, podendo ser reparadas com a adição destes.

Conforme Sponchiado et al. (2013), altas temperaturas aceleram as reações físico-químicas, provocando alterações no aspecto, cor e odor das formulações.

### **5.3.3 Determinação do pH da Emulsão**

Quanto aos resultados da determinação do pH da emulsão e dos extratos incorporados na emulsão, os valores não apresentaram alterações significativas ao longo do tempo nas amostras, mantendo-se estáveis.

A avaliação de pH é um dos parâmetros utilizados para monitorar alterações da formulação que não são percebidos visualmente.

Este parâmetro pode indicar instabilidade entre os ingredientes da formulação podendo ser desde reações de oxidação, hidrólise, à uma contaminação bacteriana, comprometendo a qualidade e a eficácia do produto (BRASIL, 2004).

Segundo Souza e Ferreira (2010) o pH esperado para fotoprotetores deve estar na faixa de 6 e 7. Ao serem armazenadas em geladeira, percebeu-se um ligeiro decaimento do pH das formulações em relação àquelas mantidas em

temperatura ambiente. E quando armazenadas em estufa os valores de pH das formulações apresentou aumento no pH, principalmente, quando acrescidas com os extratos nos tempos 30 e 60, fato observado nos trabalhos de Sponchiado et al. (2013).

#### **5.3.4 Determinação do pH do Gel**

Quanto aos resultados da determinação do pH do gel e dos extratos incorporados ao gel, os valores não apresentaram alterações significativas ao longo do tempo nas amostras, mantendo-se estáveis.

Os valores de pH das formulações armazenadas na geladeira apresentaram um ligeiro decaimento em relação àquelas mantidas em temperatura ambiente. E quando armazenadas em estufa os valores de pH das formulações apresentaram decaimento no pH, principalmente do extrato bruto da casca de *C. spruceanum* incorporado ao gel (G+ EBCCs) e do extrato bruto da folha de *C. spruceanum* incorporado ao gel (G+ EBFCs) nos tempos 30 e 60, possivelmente por degradação, oxidação ou contaminação bacteriana, indicando a acidez do produto (ISAAC, 2008).

### **5.4 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTETORA SOLAR**

#### **5.4.1 Análises Espectrofométricas**

Neste estudo, todos os extratos absorveram a radiação ultravioleta, na faixa de 290 a 320 nm (UVB), uns de forma menos intensa e outros com mais intensidade, o que influencia no cálculo do FPS in vitro, pois quanto maior a absorbância, mais satisfatório será o cálculo do FPS. Conforme Mansur et al. (1986), para avaliarmos um bronzeador pela espectrofotometria, não basta vermos a curva de absorção, temos que calcular o fator de proteção solar (FPS).

É provável que os extratos dessas espécies vegetais possuam atividade fotoprotetora pela presença de metabólitos potencialmente ativos, apesar de não ser possível afirmar quais os compostos responsáveis por essa atividade, pois, é necessário estudos de isolamento e identificação desses princípios ativos.

A absorção desses extratos pode está associada a presença de compostos secundários capazes de refletir ou absorver a radiação UV. Pois, conforme Bobin, Raymond e Martini (1994) um dos fatores que determinam à eficácia de um produto natural como fotoprotetor é sua composição química e conseqüentemente sua atividade em absorver o espectro ultravioleta, além do coeficiente de extinção molar e a solubilidade.

As plantas que absorvem na região ultravioleta, apresentam em sua composição moléculas com características semelhantes aos filtros solares químicos sintéticos, representadas pelos metabólitos secundários, como flavonóides, taninos, antraquinonas, alcalóides (BOBIN; RAYMOND; MARTINI, 1994).

Nas análises espectrofotométricas foi realizada a varredura do álcool etílico e álcool isopropílico (utilizados como branco) e da emulsão e do gel sem os extratos, na faixa de 290 a 320 (UVB) nas mesmas condições padronizadas para os extratos. Os resultados apontaram que os mesmos não absorveram na região ultravioleta em estudo, confirmando que as absorbâncias obtidas são provenientes exclusivamente dos extratos vegetais.

Como padrão foi utilizado uma formulação fotoprotetora comercial de FPS 15, que também foi realizada varredura na faixa de 290 a 320. Esta formulação absorveu intensamente a radiação ultravioleta, devido a presença dos filtros solares Benzoato de Alquila C12-15, Salicilato de Etilhexila (SE), Benzofenona-3, Triazona Etilhexil e Butil Metoxidibenzoilmetano (BMDM) em sua composição.

#### **5.4.2 Cálculo do Fator de Proteção Solar (FPS)**

Os extratos brutos diluídos em álcool etílico obtiveram os seguintes FPS: extrato bruto da casca de *C. spruceanum* (EBCCs= 4,77), extrato bruto da folha de *C. spruceanum* (EBFCS= 4,97), extrato bruto da casca de *T. aurea* (EBCTa= 4,43) e extrato bruto da folha de *T. aurea* (EBFTa= 4,01).

Os resultados de FPS dos extratos brutos, não possuem valores significativos quando diluídos em álcool etílico, pois apresentaram FPS inferior a 6.

A emulsão + extratos brutos diluídos em álcool etílico obtiveram os seguintes FPS: emulsão + extrato bruto da casca de *C. spruceanum* (E + EBCCs= 5,99), emulsão + extrato bruto da folha de *C. spruceanum* (E + EBFCS= 3,24), emulsão + extrato bruto da casca de *T. aurea* (E + EBCTa= 4,43) e emulsão + extrato bruto da folha de *T. aurea* (E + EBFa= 3,82).

Os resultados de FPS da emulsão + extratos brutos, revelaram que somente a emulsão incorporada ao extrato bruto da folha de *C. spruceanum* obteve resultado significativo igual a 5,99, pois Mansur et al. (1986a) afirma que o FPS é internacionalmente arredondado para o número inteiro, logo pode-se considerar o FPS=6.

O gel + extratos brutos diluídos em álcool etílico obtiveram os seguintes FPS: gel + extrato bruto da casca de *C. spruceanum* (G + EBCCs= 0,55), gel + extrato bruto da folha de *C. spruceanum* (G + EBFCS= 0,36), gel + extrato bruto da casca de *T. aurea* (G + EBCTa= 2,03) e gel + extrato bruto da folha de *T. aurea* (G + EBFa= 2,49).

Os resultados de FPS do gel + extratos brutos, também não possuem valores significativos quando diluídos em álcool etílico, pois apresentaram FPS inferior a 6.

Os extratos brutos diluídos em álcool isopropílico obtiveram os seguintes FPS: extrato bruto da casca de *C. spruceanum* (EBCCs= 6,74), extrato bruto da folha de *C. spruceanum* (EBFCS= 4,97), extrato bruto da casca de *T. aurea* (EBCTa= 7,09) e extrato bruto da folha de *T. aurea* (EBFa= 6,24).

Os valores de FPS dos extratos brutos quando diluídos em álcool isopropílico apresentaram FPS bem significativos, pois, exceto, o extrato bruto da folha de *C. spruceanum* (EBFCS= 4,97), todos os extratos obtiveram FPS  $\geq 6$ .

A emulsão + extratos brutos diluídos em álcool isopropílico obtiveram os seguintes FPS: emulsão + extrato bruto da casca de *C. spruceanum* (E + EBCCs= 2,38), emulsão + extrato bruto da folha de *C. spruceanum* (E + EBFCS= 5,59), emulsão + extrato bruto da casca de *T. aurea* (E + EBCTa= 5,80) e emulsão + extrato bruto da folha de *T. aurea* (E + EBFa= 6,02).

Os valores de FPS da emulsão + extratos brutos quando diluídos em álcool isopropílico também apresentaram FPS significativos, pois, exceto, a emulsão +

extrato bruto da casca de *C. spruceanum* (E + EBCCs= 2,38), todos os demais apresentaram  $FPS \geq 6$ .

O gel + extratos brutos diluídos em álcool isopropílico obtiveram os seguintes FPS: gel + extrato bruto da casca de *C. spruceanum* (G + EBCCs= 1,75), gel + extrato bruto da folha de *C. spruceanum* (G + EBFCS= 3,42), gel + extrato bruto da casca de *T. aurea* (G + EBCTa= 2,69) e gel + extrato bruto da folha de *T. aurea* (G + EBFTa= 3,47).

O gel + extratos brutos diluídos em álcool isopropílico não obtiveram resultados de FPS significativos, pois nenhuma amostra apresentou FPS superior ou igual a 6, pois conforme a Resolução RDC N° 30 de 1º de junho de 2012 da ANVISA o FPS mínimo declarado deve ser no mínimo de 6.

O padrão diluído com álcool etílico apresentou FPS *in vitro* igual a 15,06 e o padrão diluído com álcool isopropílico apresentou FPS *in vitro* igual a 15,01 corroborando com o FPS rotulado igual a 15, confirmando que a espectrofotometria *in vitro* é um método eficaz, capaz de reproduzir o FPS já rotulado.

Ramos, Santos e Dellamora-Ortiz (2010), quando estudaram a atividade antisolar da Própolis, utilizaram o método espectrofotométrico *in vitro* de Mansur et al. (1986a) concluíram que ela possui um efeito potencial como agente fotoprotetor.

Nos trabalhos desenvolvidos por Rosa et al. (2008) no Estudo Espectrofotométrico da Atividade Fotoprotetora de Extratos Aquosos de *Achillea millefolium*, *Brassica oleracea* var. capitata, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* (jacq.) Cass e *Sonchus oleraceus*, obteve resultados de FPS de 8, 6, 5, 2 e 1, respectivamente, para cada planta, considerando que estes extratos podem ser potencialmente empregados na produção de fitocosméticos com aplicação fotoprotetora.

Savian et al. (2011) estudaram o óleo de café verde incorporado a uma emulsão não-iônica, que apesar de apresentar um baixo valor de FPS (cerca de 2,5) no teste *in vitro*, concluíram que pode ser empregado em formulações fotoprotetoras a fim de potencializar os filtros químicos.

No estudo da atividade fotoprotetora solar de diferentes extratos vegetais e desenvolvimento de formulação de filtro solar elaborado por Pinto et al. (2013),

demonstrou que os extratos apresentaram baixos valores de FPS, não justificando suas incorporações isoladas em preparações fotoprotetoras, mas o extrato de *Ginkgo biloba*, o qual apresentou maior atividade fotoprotetora foi incorporado em uma formulação em associação com o filtro sintético,

Este método pode auxiliar na escolha e desempenho de matérias primas que possam atuar como filtros solares químicos naturais, de forma isolada ou como potencializador de outras formulações, antes que os mesmo possam ser testados em seres humanos.

## 6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 6.1 FPS DOS EXTRATOS BRUTOS E INCORPORADOS EM EMULSÃO E GEL DILUÍDOS COM ÁLCOOL ETÍLICO P.A

Para testar se estes valores de FPS calculados são significativos, agrupamos os resultados de FPS por partes de cada espécie e o tipo de solvente de diluição, conforme a tabela 18:

**Tabela 18** – FPS agrupados segundo partes de cada espécie diluídas com álcool etílico

<i>Tabebuia aurea</i>			
	Ext. bruto	Emulsão	Gel
Casca	4,43	4,43	2,03
Folha	4,01	3,82	2,49
<i>Calycophyllum spruceanum</i>			
	Ext. bruto	Emulsão	Gel
Casca	4,77	5,99	0,55
Folha	4,97	3,24	0,36

**Fonte:** A autora

Com base na tabela 18 aplicamos o teste ANOVA para verificar possíveis diferenças significativas nos valores de FPS calculados. Primeiramente testamos a *Tabebuia aurea* e constatamos que existe diferença significativa (p-valor < 0,05). Entretanto o teste ANOVA não distingue quais grupos são diferentes entre si. Para saber quais grupos se diferenciam, aplicamos o teste Tukey que detecta, por meio da diferença mínima significativa – *dms*, quais grupos são diferentes.

Segundo o teste Tukey, os valores de FPS de extrato bruto e emulsão se diferenciam dos valores do FPS obtido para o gel (p-valor < 0,05), portanto, para a

*Tabebuia aurea* podemos afirmar que, extrato bruto e emulsão possuem FPS estatisticamente iguais entre si e são também, estatisticamente maiores que aqueles obtidos para o gel.

Procedemos de forma igual para o *Calycophyllum spruceanum*, aplicamos o teste ANOVA para verificar se existe diferença entre o tipo de solvente de diluição para o extrato bruto, emulsão e gel, o teste foi significativo (p-valor < 0,05).

Aplicamos o teste Tukey para verificar quais grupos se diferenciam entre si e o teste apontou que, os FPS calculados para extrato bruto e emulsão são estatisticamente diferentes daqueles calculados para o gel (p-valor < 0,05), ou seja, os valores de FPS para extrato bruto e emulsão são considerados estatisticamente iguais e, ao mesmo tempo se diferem do gel.

Continuando as análises estatísticas para as amostras diluídas em álcool absoluto, desejamos verificar se existe diferença significativa entre os FPS de *Calycophyllum spruceanum* e *Tabebuia aurea*, desconsiderando o grupo gel (já que seus valores são pequenos), ou seja, agora estamos comparando uma planta com a outra. Submetemos os valores de FPS ao teste ANOVA e o resultado deu não significativo (p-valor > 0,05), ou seja, podemos afirmar que *Calycophyllum* e *Tabebuia* possuem FPS estatisticamente parecidos.

## 6.2 FPS DOS EXTRATOS BRUTOS E INCORPORADOS EM EMULSÃO E GEL DILUÍDOS COM ÁLCOOL ETÍLICO P.A

Para testar se estes valores de FPS calculados são significativos, agrupamos os resultados de FPS por partes de cada espécie e o tipo de solvente de diluição, conforme a tabela 19.

**Tabela 19** – FPS agrupados segundo partes de cada espécie diluídas com álcool isopropílico

<i>Tabebuia aurea</i> (ipê)			
	Ext. bruto	Emulsão	Gel
Casca	7,09	5,80	2,69
Folha	6,24	6,02	3,47
<i>Calycophyllum spruceanum</i> (pau mulato)			
	Ext. bruto	Emulsão	Gel
Casca	6,74	2,38	1,75

Folha	4,97	5,59	3,42
-------	------	------	------

**Fonte:** A autora

Com base na Tabela 19 aplicamos o teste ANOVA para verificar possíveis diferenças significativas nos valores de FPS calculados das amostras diluídas em álcool isopropílico.

Primeiramente testamos os extratos brutos, emulsão e gel da *Tabebuia aurea* (ipê) e constatamos que existe diferença significativa ( $p$ -valor  $< 0,05$ ). Entretanto o teste ANOVA não distingue quais grupos são diferentes entre si. Para saber quais grupos se diferenciam, aplicamos o teste Tukey, o resultado do teste mostra que os FPS do extrato bruto e da emulsão juntos se diferem estatisticamente do FPS do gel ( $p$ -valor  $< 0,05$ ).

Portanto, para a *Tabebuia aurea* (ipê) podemos afirmar que o extrato bruto da planta e a preparação com emulsão possuem FPS de fato maiores que aqueles produzidos no gel.

Continuando as análises agora para o *Calycophyllum spruceanum* (pau mulato), desejamos saber se existe diferença significativa de valores de FPS entre extrato bruto, emulsão e gel para esta planta.

O teste ANOVA apontou que existe diferença significativa entre os grupos ( $p$ -valor  $< 0,05$ ). Aplicamos o teste Tukey para identificar quais grupos se diferenciam entre si, os resultados mostram que há diferença significativa somente entre o FPS do extrato bruto e o FPS do gel para o *Calycophyllum spruceanum* (pau mulato) ( $p$ -valor  $< 0,05$ ), qualquer outra comparação de FPS entre esses grupos podem ser consideradas iguais.

Comparando agora os FPS de ambas as plantas (novamente descartamos o gel e optamos por comparar somente extrato bruto e emulsão), o teste ANOVA mostrou que não existe diferença significativa ( $p$ -valor  $> 0,05$ ) nos valores de FPS de extrato bruto e emulsão em ambas as plantas *Tabebuia aurea* (ipê) e *Calycophyllum spruceanum* (pau mulato), ou seja, as duas plantas possuem desempenho considerado estatisticamente igual na produção de FPS.

### 6.3 COMPARAÇÕES ENTRE OS SOLVENTES DE DILUIÇÃO

Como já foi verificado nos itens anteriores, os melhores desempenhos de FPS das amostras de *Tabebuia aurea* (ipê) e *Calycophyllum spruceanum* (pau mulato) foram nas amostras de extrato bruto e emulsão.

Também já sabemos que as duas plantas produzem FPS estatisticamente iguais, ou seja, usando o álcool absoluto as duas plantas tem FPS iguais, a mesma regra vale para o álcool isopropílico, ambas comprovadas via análise estatística nos itens anteriores.

Agora desejamos saber se existe diferença significativa de FPS nos solventes de diluição, ou seja, queremos saber se um álcool é melhor que o outro no sentido de apresentar um FPS significativo.

Para tanto faremos a comparação de acordo com a Tabela 18, considerando somente os valores dos FPS e desconsiderando os nomes das plantas já que as duas possuem FPS iguais:

**Tabela 20** – Comparação de FPS por alcoóis

<b>Álcool Absoluto</b>		<b>Álcool Isopropílico</b>	
Ext. bruto	Emulsão	Ext. bruto	Emulsão
4,43	4,43	7,09	5,80
4,01	3,82	6,24	6,02
4,77	5,99	6,74	2,38
4,97	3,24	4,97	5,59

**Fonte:** A autora

Para saber se o tipo de álcool influencia no FPS pegamos estes valores da tabela E acima e aplicamos o teste ANOVA, o resultado aponta que não há diferença significativa em nenhum dos grupos analisados ( $p$ -valor > 0,05) ou seja, o tipo do álcool não influencia no FPS, pois, eles são considerados iguais em qualquer tipo de álcool.

Resumindo as análises estatísticas apresentadas, as plantas *Tabebuia aurea* (ipê) e *Calycophyllum spruceanum* (pau mulato) apresentam FPS igual quando utilizados os seus extratos brutos ou emulsão, e o tipo do álcool não influencia no valor do FPS, pois, em ambos são considerados iguais, sob estas condições possuem FPS considerados estatisticamente iguais.

## 7 CONCLUSÃO

Com base nos objetivos e resultados obtidos neste estudo, foi possível concluir que:

- ✓ Os extratos brutos das cascas do caule e folhas de *Calycophyllum spruceanum* e *Tabebuia aurea* foram obtidos com baixa potência, em curto período de tempo, resultando em um procedimento de extração rápido, eficiente, produtivo e que não ocasionou a degradação dos extratos.
- ✓ A análise fitoquímica dos extratos brutos revelou a presença de classes de metabólitos secundários, sendo provável que a presença desses metabólitos potencialmente ativos, confirmam uma atividade fotoprotetora desses extratos, apesar de não ser possível afirmar quais os compostos responsáveis por essa atividade, pois, é necessário estudos de isolamento e identificação desses princípios ativos.
- ✓ Quanto ao desenvolvimento da emulsão O/A e o gel de carbopol, a emulsão mostrou ser o melhor veículo para incorporar os princípios ativos, principalmente quando mantidas em temperatura ambiente e geladeira, já que nestas condições não sofreram nenhum tipo de alteração.
- ✓ Todos os extratos apresentaram absorvância na faixa de 290 a 320 nm (UVB), no entanto, 7 extratos revelaram valores de alta intensidade para cada faixa de absorção. A absorção desses extratos pode está associada a presença de compostos secundários capazes de refletir ou absorver a radiação UV.
- ✓ Nas concentrações e padronizações utilizadas neste estudo, apenas o extrato bruto da casca de *C. spruceanum*, incorporado na emulsão (E + EBCCs), diluídos em álcool etílico, apresentou FPS= 5,99, os extratos brutos da casca de *C. spruceanum* (EBCCs) apresentou FPS=6,74, da casca de *T. aurea* (EBCTa), apresentou FPS=7,09, da folha de *T. aurea* (EBFTa) apresentou FPS= 6,24, quando diluídos em álcool isopropílico e os extratos brutos incorporados na emulsão, como o da folha de *C. spruceanum* (E + EBFC) que apresentou FPS= 5,59, da casca de *T. aurea* (E + EBCTa) que apresentou FPS= 5,80 e o da folha de *T. aurea* (E + EBFTa) com FPS= 6,02, considerados satisfatórios, conforme **Resolução - RDC Nº 30** da Anvisa (BRASIL, 2012), que recomenda que para ser considerado potencial protetor solar, o FPS deve ser igual ou superior a 6

(FPS $\geq$ 6), o que demonstra que estes extratos possuem uma provável atividade fotoprotetora, podendo ser utilizados como possíveis filtros solares naturais isolados e/ou incorporados em emulsão, ou como potencializador de outras formulações.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, B. L.; PEREIRA, J. A.; FERREIRA, R. C.; GOMES, A. J. P. S. Avaliação *in vitro* do fator de proteção solar a partir de fotoprotetores manipulados contendo agentes ativos antienvhecimento. **Colloquium Vitae**, 2010; 2 (2): 50-56.
- APPLEGATE, B.T.S.; ZARIN, D.J.; RABELO, F.G. Log and sawn lumber volume relationships for *Calycophyllum spruceanum*: a naturally regenerating timber source from Amazonian tidal floodplain forests Amapá – Brazil. **Revista de Ciências Agrárias**, v.33, p.77-86, 2000.
- ALMEIDA, M. C. **Pau-mulato-da-várzea (*Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex K. Schum.)**. Rede de Sementes da Amazônia (Informativo Técnico). Manaus, AM: INPA, n. 6, 2p. 2004. Versão on-line ISSN 1679-8058. Disponível em: <[http://www.inpa.gov.br/sementes/IT/6\\_pau\\_mulato.pdf](http://www.inpa.gov.br/sementes/IT/6_pau_mulato.pdf)>. Acessado em 30.06.14.
- BARBOSA, W. L. R.; TAVARES, I. C. C.. **Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais**. 1. ed. Belém: UFPA, 2001. 20 p.
- BOBIN, M. F.; RAYMOND, M; MARTINI, M. C. UVA/UVB absorption properties of natural products. **Cosmetics & Toiletries**. v. 109, p. 63-78, 1994.
- BRASIL. Resolução - RDC Nº 30 de 1º de junho de 2012, **Aprova Regulamento Técnico Sobre Protetores Solares em Cosméticos**. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 20.05.2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer. **Vigilância do Câncer relacionado ao Trabalho e ao Ambiente**. Rio de Janeiro: INCA, 64 p. 2006. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. acesso em 21.06.2014.
- BRASIL. Instituto Nacional do Câncer. **Estimativa 2012 : incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 118 p. 2011. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>>. acesso em 21.06.2014.
- CORRÊA, N. M.; JÚNIOR, F. B. C.; IGNÁCIO, R. F.; LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 41 (1):73-78, 2005.
- DE PAOLA, M.V.R.V.; RIBEIRO, M. E. Interação entre filtros solares. **Cosmetics & Toiletries**, v. 10, p. 40 - 50, 1998.
- FERRARI, M.; OLIVEIRA, M. S. C, NAKANO, A. K, ROCHA-FILHO, P. A. Determinação do fator de proteção solar (FPS) *in vitro* e *in vivo* de emulsões com óleo de andiroba (*Carapa guianensis*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 17, v. 4, p. 626-630, 2007.

FERREIRA, A. O. **Guia prático da farmácia Magistral**. 2. ed. São Paulo: Pharmabooks; 2002.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A.. Protetores Solares. **Química Nova**, n. 30, v. 1, p. 153-158, 2007.

FONSÊCA, S. G. C. **Farmacotécnica de Fitoterápicos**. Departamento de Farmácia/UFC. 2005. 62 p.

GARCIA S, SANTOS EP. Avaliação FPS de produtos comerciais por método in vitro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 71, v.4, p. 99, 1990.

GAZEL FILHO, A. B.; YARED, J. A. G.; MOURÃO JÚNIOR, M.; SILVA, M. F. da; CARIM, M. de J. V.; JARDIM, M.A.G.; MEDEIROS, T. D. S. Composição florística e estrutura de floresta de várzea no município de Mazagão, estado do Amapá, Brasil. **Scientia Forestalis**, v. 36, n. 79, p. 191-201, 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Manuais Técnicos em Geociências número 1: Manual Técnico da Vegetação Brasileira**. 2. Edição revista e ampliada. Rio de Janeiro, 2012. 271p.

HENRIQUES, A. T.; KERBER, V. A.; MORENO, P. R. H. **Alcalóides: generalidades e aspectos básicos**. In: Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2. Ed. UFRGS/UFSC: Porto Alegre, p. 641-642.

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. **O que é Radiação Ultravioleta?** 2014a. Disponível em <<http://satelite.cptec.inpe.br/uv/>> Acesso em: 21.05.14.

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. **Radiação UV e Saúde Humana**. 2014b. Disponível em <<http://satelite.cptec.inpe.br/uv/>> Acesso em: 21.05.14

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. **O que é índice ultravioleta (IUV)?** 2014c. Disponível em <<http://satelite.cptec.inpe.br/uv/>> Acesso em: 21.05.14

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. IUV Máximo Diário. 2015d. Disponível em <<http://satelite.cptec.inpe.br/uv/>> Acesso em: 20.01.15

ISAAC, V. L. B.; CEFALI L. C.; CHIARI, B. G.; OLIVEIRA, C. C. L. G.; SALGADO H. R. N.; CORRÊA, M. A. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1992. 352p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 512p.

MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. d'A; AZULAY, R. D. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. n. 61, v. 3. p. 121-124, 1986a.

MANSUR, J. S.; BREDER, M. N. R.; MANSUR, M. C. d'A; AZULAY, R. D. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. n. 61, v. 4. p. 167-172, 1986b.

MELO, M. R.; SIQUEIRA, A, P. N. D. F. Desenvolvimento de uma loção fotoprotetora, avaliação de estabilidade e determinação in vitro do FPS. **Perquirere**, 9 (1): 81-97, 2012.

MELQUIADES, F. L.; FERREIRA, D. D.; APPOLONI, C. R.; LONNI, A. A. S. G.; MINARDI, F.. **Análise de Bloqueadores Solares Através da Metodologia de EDXRF**. Londrina, PN, *Publicação Técnica*, 2007.

MILESI, S. S. Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores. **Caderno de Farmácia**, 18 (2): 81-87, 2002.

MONTEIRO, M. S. S. B. **Filtros Solares em Nanocosméticos: Desenvolvimento e Avaliação da Segurança e Eficácia**. 2008. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas: Rio de Janeiro, 2008, 164 p.

MUNHOZ, V. M.; LONNI, A. S. G.; MELLO, J. C. P.; LOPES, G. C. Avaliação do fator de proteção solar em fotoprotetores acrescidos com extratos da flora brasileira ricos em substâncias fenólicas. **Rev Ciên Farm Básica apl.**, n. 33 (2): 225-232, 2012.

NASCIMENTO CS, NUNES LCC, LIMA AAN, JÚNIOR SG, NETO PJR. Incremento do FPS em formulação de protetor solar utilizando extratos de própolis verde e vermelha. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 90, v. 4, p. 34-339, 2009.

NETO, B. L.; PEREIRA, F. M.; MELO, M. S.; SOUZA, R. A.; LIMA, C. M.; LIMA, A. K.; CARDOSO, J. C. Avaliação do método de incorporação de filtro solar e vitamina E e em emulsões. **Cadernos de Graduação – Ciências Biológicas e da saúde**, n. 11 (11): 113-126, 2010.

PASSOS, M. M. B. Dos. **Informativo do Centro Regional de Informação de Medicamentos - CRIM**. Faculdade de Farmácia da UFRJ: Rio de Janeiro, 2003, 5 p.

PEIXE, Cinthya. **Radiação ultravioleta pode aumentar no Amapá, com a chegada do verão**. Jornal do Dia. Ed. de 06 de Jul. 2012. Disponível em: <[http://www.jdia.com.br/pagina.php?pg=exibir\\_not&idnoticia=53950](http://www.jdia.com.br/pagina.php?pg=exibir_not&idnoticia=53950)> Acesso em: 20.07.14.

PINTO, J. E. S.; SILVA, K. F. da; SARTOR, C. F. P.; FELIPE, D. F. Estudo da Atividade Fotoprotetora de Diferentes Extratos Vegetais e Desenvolvimento de Formulação de Filtro Solar. **Anais Eletrônico VIII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**, p. 1-8, 2012.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. v. 1, 1996.

PROENÇA, K. S.; OLIVEIRA, R. V. M.; GONÇALVES, M. M.; CHAUD, M. V.; VILA, M. M. D. C. Avaliação da estabilidade de cremes empregando diferentes agentes de consistência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, n. 87 (3): 74-77, 2006.

PROENÇA, K. S.; OLIVEIRA, R. V. M.; GONÇALVES, M. M.; CHAUD, M. V.; VILA, M. M. D. C. Avaliação da estabilidade de emulsões O/A com fotoprotetores. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, n. 90 (2): 132-136, 2009.

QUEIROZ, A. L. de; MACHADO, S. do A. Potencial de utilização madeireira de espécies florestais de várzea no município de Mazagão no estado do Amapá. **Floresta**, n. 37, v. 37, p. 293-302, 2007.

RAMOS, M. F. S.; SANTOS, E. P. DELLAMORA-ORTIZ, G.M. Avaliação da Atividade Antisolar e Estudos Preliminares da Fotodegradação da Própolis. **Revista Fitos**, v. 5, n. 3, p. 73-84, 2010.

RIBEIRO, R. P. **Desenvolvimento e Validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS in vitro em formulações fotoprotetoras comerciais**. 2004. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas –Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004. 77p.

ROSA, M. B.; OLIVEIRA, T. G.; CARVALHO, C. A., SILVA, F. D.; CARVALHO, L. M.; NASCIMENTO, P. C.; PERES, R. L.. Estudo Espectrofotométrico da Atividade Fotoprotetora de Extratos Aquosos de *Achillea millefolium*, *Brassica oleracea* var. capitata, *Cyperus rotundus*, *Plectranthus barbatus*, *Porophyllum ruderale* (jacq.) Cass e *Sonchus oleraceus*. **Revista Eletrônica de Farmácia**, n. 5 (1), p. 101-110, 2008.

SANTOS, V.F.; TARDIN, A.T. **Projeto zoneamento ecológico-econômico do setor costeiro estuarino do Estado do Amapá**: diagnóstico sócio-ambiental, relatório técnico de solos. Macapá: IEPA, 2003. 22p.

SAVIAN, A. L.; VARELLA, F. T.; ATHAYDE, M. L.; SILVA, C. B. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Rev. Bras. Farm.**, n. 91(2): 82-88, 2011.

SAYRE, R. M.; AGIN, P. P.; LEEVEE, G. J.; MARLOWE, E. A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas. *Photochem and Photobiol.*, 29: 559-566, 1979.

SGARBI, F. C.; CARMO, E. D.; ROSA, L. E. B. **Radiação Ultravioleta e Carcinogênese.** *Revista de Ciências Médicas*, v. 16(4-6), p. 245-250, 2007.

SILVA, C. F. **Testes para Avaliação do Fator de Proteção Solar de Produtos Cosméticos Fotoprotetores.** 2007. Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas: São Paulo, 2007, 44 p.

SILVEIRA, L.M.S. et al. **Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão.** *Revista Brasileira de Farmácia*. v. 90, n. 2, p. 124-128, 2009.

SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5 ed. Porto Alegre: Ed. UFSC, 2004. 1102p.

SOUZA, F. P.; CAMPOS, G. R.; PACKER, J. F. Determinação da atividade fotoprotetora e antioxidante em emulsões contendo extrato de *Malpighia glabra* L. – Acerola. *Rev Ciên Farm Básica Apl.*, 2013; 34 (1): 69-77.

SOUZA, V. B.; FERREIRA, J. R. N. Desenvolvimento e estudos de estabilidade de cremes e géis contendo sementes e extratos do bagaço da uva Isabel (*Vitis labrusca* L.). *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*, n. 31(3):217-222, 2010.

SPONCHIADO, R. M.; JUNIOR, I. M.; BARANCELLI, M.; HAAS, S. E. Influência da adição de extratos de chá-verde sobre a estabilidade e efeito protetor de emulsões FPS 15. *Rev Ciên Farm Básica e Apl.* 2013; 34(4): 591-596.

STEINER, D. **Envelhecimento cutâneo.** *Cosmet Toil* (edição em português). n. 7, p. 29-32. 1995.

TAYLOR, Leslie. *The healing Power of rainforest herbs: a guide to understanding and using herbal medicinal.* Paperback, November, 2005. Disponível em: [http://rain-tree.com/mulaterio.htm#.VPFCTaNV\\_fo](http://rain-tree.com/mulaterio.htm#.VPFCTaNV_fo). Acessado em:

VIEIRA, S. **Introdução à Bioestatística.** 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006, 195p.

VIOLANTE, I. M. P.; SOUZA, I. M.; VENTURINI, C. L.; RAMALHO, A. F. S.; SANTOS, R. A. N.; FERRARI, M.. **Estudo preliminar da atividade fotoprotetora in vitro de extratos vegetais do cerrado de Mato Grosso.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 89(3), p. 175-179, 2008.