UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

Validação de metodologias analíticas para determinação
quantitativa de princípios ativos em formulações
farmacêuticas empregadas para “peelings” químicos

Tatiane Rodrigues Ramos

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof^a. Titular Maria Inês Rocha Miritello Santoro

São Paulo

2004

Tatiane Rodrigues Ramos

Tatiane Rodrigues Ramos

Validação de metodologias analíticas para determinação quantitativa
de princípios ativos em formulações farmacêuticas
empregadas para “peelings” químicos

Comissão Julgadora

da

Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof^a. Titular Maria Inês Rocha Miritello Santoro
orientador/presidente

Prof^a. Dr^a. Maria Vitória Lopes Badra Bentley
1º examinador

Prof^a. Dr^a. Renata Fonseca Vianna Lopez
2º examinador

São Paulo, 15 de Junho de 2004.

*Trabalho realizado no Laboratório de Controle de Qualidade Físico-Químico de
Medicamentos e Cosméticos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e
no Laboratório de Análise Térmica Prof. Ivo Giolitto – LATIG
do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.*

VENCERÁS

*Não desanimes
Persiste mais um tanto
Não cultives o pessimismo
Centraliza-te no bem a fazer
Esquece as sugestões do medo destrutivo
Segue adiante, mesmo varando a sombra dos próprios erros
Avança ainda que seja por entre lágrimas
Trabalha constantemente
Edifica sempre
Não consintas que o gelo do desencanto te entorpeça o coração
Não te impressione a dificuldade
Convence-te de que a vitória espiritual é construção para o dia a dia
Não desistas da paciência
Não creias em realização sem esforço
Silêncio para a injúria
Olvido para o mal
Perdão às ofensas
Recorda que os agressores são doentes
Não permitas que os irmãos desequilibrados te destruam o trabalho
Ou te apaguem a esperança
Não menosprezes o dever que a consciência te impõe
Se te enganaste em algum trecho do caminho, reajusta a tua própria
Visão e procura o rumo certo
Não contes vantagens, nem fracassos
Estuda buscando aprender
Não te voltes contra ninguém
Não dramatizes provocações ou problemas
Conserva o hábito da oração para que se faça luz na vida íntima
Resguarda-te em Deus, persevera no trabalho que Deus te confiou
Ama sempre, fazendo pelos outros o melhor que possas realizar
Age auxiliando. Serve sem apego
E assim vencerás*

Emmanuel

À Deus,

*Amor inabalável que permite ultrapassar as barreiras e encontrar a fé,
promovendo confiança e paciência de saber conduzir a vitória,*

*A calma na luta é sempre um sinal de força e perseverança,
pois tem seu ponto de apoio na inteligência e na compreensão dos fatos.*

Aos meus pais

Por todo esforço e amor dedicados em toda a nossa convivência.

Às minhas irmãs em especial à pequena Iasmim

Aos meus queridos padrinhos

Anita Rodrigues Ramos e José Carvalhêdo

“Um homem de coragem é maioria”

(Andrew Jackson)

*Ao meu grande amigo Pedro López García,
Por todo carinho, força, incentivo e companheirismo dedicados,
Por toda paciência, generosidade e respeito.*

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Titular Maria Inês Rocha Miritello Santoro, pela oportunidade de crescimento, amizade e constante auxílio durante todas as etapas deste trabalho.

Ao Prof^o. Dr. Jivaldo do Rosário Matos, à Prof^a Dra. Lucildes Pita Mercuri e Nara, pelo convívio, apoio, e valiosa colaboração na realização do trabalho.

Ao Prof^o. Dr. Marcos Antônio Corrêa pela atenção, confiança, amizade e sugestões apontadas.

Ao Prof^o. Dr. Jorge S. Martins e ao Prof^o. Dr. Carlos Brandt, pela amizade e incentivo no transcorrer do trabalho.

À Prof^a Dra. Érika R. M. Kedor-Hackmann e ao Prof^o Dr. Anil K. Singh, pelo convívio, sugestões e correções no transcorrer do trabalho.

À Prof^a. Dra. Marina Tavares pelas sugestões e oportunidade de conhecer uma técnica pioneira.

Ao Dr. Rudolf Suppa, proprietário da Farmácia Biociência, pela amizade, respeito e gentil fornecimento das amostras para realização dos testes propostos.

Aos colegas de Pós-Graduação, em especial a Andréia Peraro, Andréia Montoro, Dra. Clarisse , Daniella, Elizângela, Fátima, Ixis, Nájlá, Patrícia Marques e Dra. Regina Espires, pelo convívio e cooperação.

À Regina Rojas e Iria, pela colaboração no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Sr. Paulo Massaki Okura, pelo apoio, amizade e incentivo constante em todo o tempo de realização do projeto.

À Sônia Crocci, Marcos Antônio, Paulo Armada, José Cláudio e Renato Cardoso pela amizade, apoio, incentivo e paciência durante todos esses anos.

Às bibliotecárias Leila Bonadio e Adriana Barreiros, pelo incentivo e correções das referências bibliográficas e rastreamento de artigos científicos.

Ao Jorge Lima, Elaine e Beth pela amizade e atenção nos trâmites burocráticos durante este período na FCF.

A todos aqueles que de uma forma ou outra, contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	01
2 - REVISÃO DA LITERATURA	03
2.1.Histórico dos “peelings” químicos	03
2.2.Anatomia da pele	05
2.3.“Peelings” e fotoenvelhecimento	08
2.4.Alterações da pele geradas pela utilização dos “peelings”	11
2.5.Classificação dos “peelings”	11
2.6.Tipos de substâncias empregadas em “peelings” químicos	17
2.6.1.Fenol	18
2.6.2.Resorcinol	18
2.6.3.Ácido tricloroacético (ATA)	20
2.6.4.Ácido retinóico	21
2.6.5.Alfa-hidroxiácidos (AHAS)	22
2.6.6.Ácido salicílico	26
2.6.7.Solução de Jessner ou solução de Combe	27
2.7.Cuidados pós-“peeling”	28
2.8.Reações adversas provocadas pela aplicação dos “peelings” químicos	29
2.9.Generalidades sobre as substâncias selecionadas para a pesquisa	32
2.9.1.Ácido salicílico	32
2.9.2.Resorcinol	36
2.9.3.Ácido láctico	38
2.10.Considerações teóricas sobre os métodos analíticos empregados na pesquisa	42
2.10.1.Espectrofotometria no ultravioleta e visível	42
2.10.2.Espectrofotometria derivada no ultravioleta e visível	43
2.10.3.Método zero-pico	44
2.10.4.Método pico-pico	44
2.10.5.Método da tangente	44
2.10.6.Ordem da derivada	45
2.10.7.Delta lambda	45
2.10.8.Assentamento das ordenadas	45

2.11. Metodologias analíticas existentes para determinação de ácido salicílico, resorcinol e ácido láctico.....	46
2.12. Aplicações farmacêuticas da análise térmica.....	51
3 – OBJETIVOS.....	52
4 - PLANEJAMENTO DA PESQUISA.....	53
4.1 – Fluxograma do planejamento da pesquisa.....	54
5 - MATERIAL E MÉTODOS.....	55
5.1. Material.....	55
5.1.1. Solventes e soluções.....	55
5.1.2. Substâncias empregadas como padrões.....	55
5.1.3. Matérias-primas.....	55
5.1.4. Formulações estudadas.....	56
5.1.4.1. Solução de Jessner (A e B).....	56
5.1.4.2. Gel base (placebo).....	56
5.1.4.3. Gel de ácido salicílico 20% (C e D).....	56
5.1.4.3.1. Solução de ácido salicílico 75%.....	57
5.1.4.4. Gel de resorcinol 30% (E e F).....	57
5.1.4.4.1. Solução de resorcinol 75%.....	57
5.1.5. Preparação das amostras.....	58
5.1.5.1. Preparação da solução de Jessner.....	58
5.1.5.2. Preparação do gel base.....	58
5.1.5.3. Preparação das amostras em géis.....	58
5.1.6. Equipamentos.....	59
5.2. Métodos.....	60
5.2.1. Caracterização da matéria-prima.....	60
5.2.1.1. Espectroscopia de Absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	60
5.2.1.2. Análise térmica.....	60
5.2.1.2.1. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	60
5.2.1.2.2. Termogravimetria / Termogravimetria Derivada (TG/ DTG).....	60
5.2.1.3. Faixa de fusão.....	61

5.3. Espectrofotometria direta no ultravioleta para determinação do ácido salicílico na solução de Jessner.....	61
5.3.1. Linearidade.....	61
5.3.2. Parâmetros estabelecidos.....	61
5.3.3. Construção da curva de Ringbom do ácido salicílico em etanol absoluto.....	62
5.3.4. Construção da curva de calibração do ácido salicílico em etanol absoluto.....	62
5.3.5. Pesquisa de interferentes.....	63
5.4. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do ácido salicílico na solução de Jessner.....	63
5.4.1. Parâmetros estabelecidos.....	63
5.4.2. Construção da curva de calibração do ácido salicílico em etanol absoluto.....	63
5.4.3. Pesquisa de interferentes.....	64
5.4.4. Determinação do teor de ácido salicílico na solução de Jessner.....	64
5.4.4.1. Preparação da solução padrão.....	64
5.4.4.2. Preparação da solução da amostra.....	65
5.4.5. Teste de recuperação.....	65
5.4.5.1. Preparação da solução padrão.....	65
5.4.5.2. Preparação da solução amostra.....	65
5.4.5.3. Procedimento.....	66
5.4.6. Determinação do limite de detecção e quantificação.....	66
5.5. Espectrofotometria direta no UV para determinação do resorcinol na solução de Jessner.....	67
5.5.1. Construção da curva de Ringbom do resorcinol em etanol absoluto.....	67
5.5.2. Construção da curva de calibração do resorcinol em etanol absoluto.....	68
5.5.3. Pesquisa de interferentes.....	68
5.6. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do resorcinol na solução de Jessner.....	69
5.6.1. Parâmetros estabelecidos.....	69

5.6.2.Construção da curva de calibração do resorcinol em etanol absoluto.....	69
5.6.3.Pesquisa de interferentes.....	70
5.6.4.Determinação do teor de resorcinol na solução de Jessner.....	70
5.6.4.1.Preparação da solução padrão.....	70
5.6.4.2.Preparação da solução da amostra.....	71
5.6.5.Teste de recuperação.....	71
5.6.5.1.Preparação da solução padrão.....	71
5.6.5.2.Preparação da solução da amostra.....	71
5.6.5.3.Procedimento.....	72
5.6.6.Determinação do limite de detecção e quantificação.....	72
5.7.Espectrofotometria direta no UV para determinação do ácido salicílico no gel de ácido salicílico 20%.....	73
5.7.1.Linearidade.....	73
5.7.2.Parâmetros estabelecidos.....	73
5.7.3.Construção da curva de Ringbom do ácido salicílico em ácido sulfúrico 0,1 N.....	73
5.7.4.Construção da curva de calibração do ácido salicílico em ácido sulfúrico 0,1 N.....	74
5.7.5.Pesquisa de interferentes.....	74
5.8.Espectrofotometria derivada no UV para determinação do ácido salicílico no gel de ácido salicílico 20%.....	75
5.8.1.Parâmetros estabelecidos.....	75
5.8.2.Construção da curva de calibração do ácido salicílico em ácido sulfúrico 0,1 N.....	75
5.8.3.Pesquisa de interferentes.....	76
5.8.4.Determinação do teor de ácido salicílico no gel de ácido salicílico 20%.....	76
5.8.4.1.Preparação da solução padrão.....	76
5.8.4.2.Preparação da solução da amostra.....	77
5.8.5.Teste de recuperação.....	77
5.8.5.1.Preparação da solução padrão.....	77
5.8.5.2.Preparação da solução amostra.....	78
5.8.5.3.Procedimento.....	78

5.8.6.Determinação do limite de detecção e de quantificação.....	79
5.9.Espectrofotometria direta no UV para determinação do resorcinol no gel de resorcinol 30%.....	79
5.9.1.Linearidade.....	79
5.9.2.Parâmetros estabelecidos.....	79
5.9.3.Construção da curva de Ringbom do resorcinol em ácido sulfúrico 0,1 N.....	80
5.9.4.Construção da curva de calibração do resorcinol em ácido sulfúrico 0,1 N.....	80
5.9.5.Pesquisa de interferentes.....	81
5.10.Espectrofotometria derivada no UV para determinação do resorcinol no gel de resorcinol 30%.....	81
5.10.1.Parâmetros estabelecidos.....	81
5.10.2.Construção da curva de calibração do resorcinol em ácido sulfúrico 0,1 N.....	82
5.10.3.Pesquisa de interferentes.....	82
5.11.Determinação do teor de resorcinol no gel de resorcinol 30%.....	83
5.11.1.Preparação da solução padrão.....	83
5.11.2.Preparação da solução da amostra.....	83
5.12.Teste de recuperação.....	84
5.12.1.Preparação da solução padrão.....	84
5.12.2.Preparação da solução amostra.....	84
5.12.3.Procedimento.....	84
5.13.Determinação do limite de detecção e de quantificação.....	85
6 – RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	86
6.1. Caracterização dos princípios ativos ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol por espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).....	88
6.1.1.Ácido salicílico.....	88
6.1.2.Ácido láctico.....	90
6.1.3.Resorcinol.....	91

6.2.Caracterização dos princípios ativos por análise térmica.....	92
6.3.Faixa de fusão.....	95
6.3.1.Ácido Salicílico.....	95
6.3.2.Resorcinol.....	95
6.4.Espectrofotometria direta no UV para determinação do ácido salicílico na solução de Jessner.....	96
6.4.1.Construção da curva de Ringbom do ácido salicílico em etanol absoluto.....	96
6.4.2.Construção da curva de calibração do ácido salicílico em etanol absoluto a 304,4 nm. Tratamento estatístico.....	98
6.4.3. Pesquisa de interferentes.....	101
6.5.Espectrofotometria derivada no UV para determinação do ácido salicílico na solução de Jessner.....	102
6.5.1.Construção da curva de calibração da primeira derivada a 320,0 nm do ácido salicílico em etanol absoluto. Tratamento estatístico.....	102
6.5.2.Pesquisa de interferentes.....	105
6.5.3.Determinação do teor de ácido salicílico na solução de Jessner.....	106
6.5.4.Teste de recuperação.....	107
6.5.5.Limite de detecção e limite de quantificação.....	108
6.6.Espectrofotometria direta no UV para determinação do resorcinol na solução de Jessner.....	109
6.6.1.Construção da curva de Ringbom do resorcinol em etanol absoluto.....	109
6.6.2.Construção da curva de calibração a 276,4, nm do resorcinol em etanol absoluto. Tratamento estatístico.....	111
6.7.Espectrofotometria derivada no UV para determinação do resorcinol na solução de Jessner.....	114
6.7.1.Construção da curva de calibração da segunda derivada a 280,0 nm do resorcinol em etanol. Tratamento estatístico.....	114
6.7.2.Pesquisa de interferentes.....	117
6.7.3.Determinação do teor de resorcinol na solução de Jessner.....	118
6.7.4.Teste de recuperação.....	119
6.7.5.Limite de detecção e limite de quantificação.....	120

6.8. Espectrofotometria direta no UV para determinação do ácido salicílico no gel de ácido salicílico 20%.....	121
6.8.1. Construção da curva de Ringbom.....	121
6.8.2. Construção da curva de calibração do ácido salicílico em H_2SO_4 0,1 N a 303,0 nm. Tratamento estatístico.....	123
6.8.3. Pesquisa de interferentes.....	126
6.9. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do ácido salicílico no gel de ácido salicílico 20%.....	127
6.9.1. Construção da curva de calibração da primeira derivada a 317,2 nm do ácido salicílico em H_2SO_4 0,1 N. Tratamento estatístico.....	127
6.9.2. Pesquisa de interferentes.....	130
6.9.3. Determinação do teor do ácido salicílico por espectrofotometria derivada no UV a 317,2 nm.....	131
6.9.4. Teste de recuperação.....	132
6.9.5. Limite de detecção e limite de quantificação.....	133
6.10. Espectrofotometria direta no UV para determinação do resorcinol no gel de resorcinol 30%.....	134
6.10.1. Construção da curva de Ringbom.....	134
6.10.2. Construção da curva de calibração do resorcinol em H_2SO_4 0,1 N a 273,4 nm. Tratamento estatístico.....	136
6.10.3. Pesquisa de interferentes.....	139
6.11. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do resorcinol no gel de resorcinol 30%.....	140
6.11.1. Construção da curva de calibração na primeira derivada a 257,6 nm e tratamento estatístico para o resorcinol em H_2SO_4 0,1 N.....	140
6.11.2. Pesquisa de interferentes.....	143
6.11.3. Determinação do teor do resorcinol por espectrofotometria derivada no UV a 257,6 nm.....	144
6.11.4. Teste de recuperação.....	145
6.11.5. Limite de detecção e limite de quantificação.....	146
7– CONCLUSÕES.....	147
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	148

9 - ANEXOS

9.1 – Perspectivas de trabalhos futuros

9.1.1. Testes preliminares na determinação de ácido salicílico e resorcinol na solução de Jessner por eletroforese capilar de zona (EC) e por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

9.2 – Trabalhos enviados para publicação

9.2.1 – Recibo para publicação na Revista de Brasileira de Ciências Farmacêuticas/ Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.

9.3 - Trabalhos apresentados em congressos

9.3.1 – Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas – VII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF-USP.

9.3.1.1. Resumo

9.3.1.2. Certificado

9.3.2 – IV Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria e II Congresso Pan-Americano de Análise Térmica e Calorimetria.

9.3.2.1. Resumo

9.3.2.2. Certificado

9.4 – Atividades didáticas desenvolvidas

9.4.1 – Participação em palestra “Eletroforese Capilar: Estudos Fundamentais e Aplicações Representativas” (Seminários de Comissão e Pesquisa);

9.4.2 – Participação em monitoria do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino junto à disciplina de Controle de Qualidade Físico-Químico de Medicamentos e Cosméticos em nível de graduação.

RESUMO

Os “peelings” químicos são formulações esfoliantes utilizadas na terapêutica de queratoses actínicas, rugas, discromias pigmentares, acne vulgar e rosácea. A solução de Jessner (SJ) é amplamente usada como agente em “peelings” químicos. Na presente pesquisa foram empregadas formulações farmacêuticas de SJ como amostras para a determinação quantitativa simultânea das substâncias ativas. A solução alcoólica é composta de resorcinol (14%), ácido salicílico (14%) e ácido láctico (14%). Duas amostras de gel são compostas de resorcinol (30%) e ácido salicílico (20%), respectivamente. Foram desenvolvidos e validados métodos espectrofotométricos na primeira e segunda derivada no UV para a quantificação de ácido salicílico e resorcinol, respectivamente na SJ, utilizando etanol como branco e foram desenvolvidos métodos espectrofotométricos na primeira derivada no UV para a quantificação de resorcinol e ácido salicílico nas amostras em gel, utilizando ácido sulfúrico 0,1 N como branco. Quando o etanol foi utilizado como branco, as curvas de calibração foram lineares em uma faixa de concentração de 22,0 a 34,0 µg/mL (resorcinol) e de 12,0 a 24,0 µg/mL (ácidos salicílico), para os métodos na segunda e primeira derivada no UV (usando etanol como branco), ambos com coeficientes de correlação de 0,9999. Quando o ácido sulfúrico 0,1N foi utilizado como branco, as curvas de calibração foram lineares em uma faixa de concentração de 18,0 a 42,0 µg/mL (resorcinol) e de 8,0 a 32,0 µg/mL (ácido salicílico), para o método na primeira derivada no UV com coeficientes de correlação de 0,9999 e 0,9998 respectivamente. Os resultados nas amostras alcoólicas de SJ (amostras A e B) foram 104,4% de resorcinol (DPR 0,83%) e 103,2% de ácido salicílico (DPR 0,68%) enquanto que nas amostras em gel (amostras E e F) foram 101,9% de resorcinol (DPR 0,34%) e as amostras em gel C e D, 100,7% de ácido salicílico (DPR 0,28%).

ABSTRACT

Chemical peelings are exfoliating formulations used in the treatment of actinic keratosis, wrinkles, dyschromies, acne vulgaris and rosacea acne. The Jessner Solution (JS) sample is widely used as chemical peeling agent. In this research we selected a JS pharmaceutical preparation for simultaneous quantitative determination of the active components. The alcoholic solution sample is composed of resorcinol (14%), salicylic acid (14%) and lactic acid (14%); two gel samples are composed of resorcinol (30%) and salicylic acid (20%), respectively. First and second derivative UV spectrophotometric methods were developed and validated for quantitative determination of salicylic acid and resorcinol, respectively. In JS alcoholic solution, ethanol was used as background. A first derivative UV spectrophotometric method was developed for quantitative determination of resorcinol and salicylic acid in gel samples using 0.1N sulfuric acid as background. Calibration curves were linear within a concentration range from 22.0 to 34.0 $\mu\text{g/mL}$ (resorcinol) and from 12.0 to 24.0 $\mu\text{g/mL}$ (salicylic acid), for second and first derivative UV spectrophotometric method (ethanol as background) with a correlation coefficients of 0.9999 and 0.9999, respectively. Calibration curves were linear within a concentration range from 18.0 to 42.0 $\mu\text{g/mL}$ (resorcinol) and from 8.0 to 32.0 $\mu\text{g/mL}$ (salicylic acid), for first derivative UV spectrophotometric method (0.1N sulfuric acid as background) with correlation coefficients of 0.9999 and 0.9998, respectively. The alcoholic samples of JS (sample A and B) presented 104.4% of resorcinol (RSD 0.83%) and 103.2% of salicylic acid (RSD 0.68%) while the gel samples (sample E and F) presented 101.9% of resorcinol (RSD 0.34%) and gel sample C and D, 100.7% of salicylic acid (RSD 0.28%).

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

A aplicação de agentes esfoliantes na pele, fundamento básico do “peeling” químico, tem como objetivo produzir uma lesão controlada no tecido cutâneo.

Como indicações mais comuns do “peeling” químico são apontadas as queratoses actínicas, rugas actínicas, discromias pigmentares, radiodermites, acne vulgar e rosácea. Na realidade, com exceção do melasma superficial, as anormalidades tratadas pelo “peeling” químico não envolvem apenas a epiderme.

O conhecimento profundo da histologia, das técnicas e dos agentes esfoliantes e do comportamento em cada lesão cutânea possibilita uma utilização mais segura destes compostos.

As diferentes reações adversas que podem ocorrer aumentam com a profundidade do “peeling”. Em geral, os “peelings” superficiais produzem apenas reações pigmentares transitórias, mas pode haver formação de cicatrizes quando a derme é atingida acidentalmente. Os “peelings” de média profundidade podem causar alterações pigmentares e cicatrizes. Os “peelings” profundos estão associados às complicações e reações mais graves (AYRES, 1960).

Podem ocorrer, além das reações adversas, falhas na elaboração das formulações ou evaporação do veículo “alcoólico ou aquoso”, em combinações de resorcinol, ácido tricloroacético ou fórmulas de fenol, resultando numa solução indesejavelmente mais concentrada. Além disso, com o passar do tempo, podem ocorrer fenômenos higroscópicos ou de volatilização nas formulações caso não estejam em recipientes bem vedados.

O ácido salicílico tem sido formulado por décadas em cremes, pomadas e loções tópicas para o tratamento das desordens da hiperqueratinização.

O resorcinol, pertencente ao grupo dos fenóis, é utilizado para esfoliações superficiais. Assim como a maior parte dos compostos deste grupo, sofre oxidação facilmente sendo esta reação muito sensível à presença de íons metálicos, altas concentrações de oxigênio, pH elevado e luz.

Atualmente no Brasil as formulações empregadas para “peelings” químicos utilizando diversas classes de substâncias ativas são comercializadas na forma de receituário médico e manipuladas em farmácias magistrais, sendo cremes, máscaras, géis e soluções as formas farmacêuticas mais empregadas. Existem também formulações industrializadas importadas disponíveis no mercado nacional.

Nesta pesquisa serão empregadas amostras de referência tipo **solução de Jessner (SJ)** composta por resorcinol 14%, ácido salicílico 14%, ácido láctico 14%, em solução alcoólica e formulações na forma de gel de ácido salicílico 20% e gel de resorcinol a 30 %.

A **solução de Jessner** é também conhecida como “**peeling de Combe**”, e causa lesão epidérmica sem formação de vesículas detectáveis ao exame clínico. A combinação dos ativos em sua formulação promove a separação do estrato córneo, com edemas intercelular e intra-epitelial da camada superior da epiderme (BRODY and HAILEY, 1986), (GHERSETICH, 1997).

Com o desenvolvimento e o aparecimento de diferentes associações de ativos nestas formulações farmacêuticas, faz-se necessária a implantação de métodos analíticos validados a serem empregados no controle de qualidade das matérias - primas e dos produtos acabados. Como objetivo o presente trabalho propõe metodologias analíticas novas através da técnica da espectrofotometria derivada no ultravioleta.

2. Revisão da Literatura

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. HISTÓRICO DOS “PEELINGS” QUÍMICOS

Na antigüidade, os egípcios usavam óleos de animais, sal e alabastro para melhorar esteticamente a pele (BRYAN, 1974), (EBBELL, 2000). Quando as mulheres egípcias da antigüidade banhavam-se em leite fermentado, para amaciar a pele, ainda que não soubessem, estavam usando ácido láctico, que é um alfa - hidroxíácido. Mais tarde foram aplicados sobre a pele cataplasmas contendo mostarda, enxofre e calcário (OUMEISH, 2001).

Os turcos usavam o fogo para chamuscar a pele, com a finalidade de induzir uma esfoliação suave. Na Índia, as mulheres misturavam urina com pedra-pomes para aplicações na pele. Na Europa, as ciganas húngaras transmitiam suas fórmulas especiais de geração a geração (KATSAMBAS and STRATIGOS, 2001).

Em 1927, o Dr. H. O Bames (BAMES, 1927), (MALMEZAT, 1992), tornou-se um dos primeiros cirurgiões plásticos e publicou artigos sobre os “peelings” faciais superficiais com resorcinol e “peelings” faciais profundos com fenol, para tratar rugas, que eram cobertas por um emplasto adesivo.

Em 1941, Eller e Wolff (ELLEER and WOLFF, 1941) descreveram as pastas de enxofre e resorcinol, utilizadas pelos egípcios, babilônicos e indianos e que, provavelmente, se originaram do uso da pedra-pomes, para causar esfoliação do estrato córneo. Esses pesquisadores detalharam o uso do fenol em combinações com ácido salicílico e neve carbônica, empregados como agentes esfoliantes, e descreveram ainda os efeitos nefrotóxicos do fenol, além de ressaltar a importância de desengordurar a pele, antes de aplicar o agente esfoliante.

Em 1946, Urkov (URKOV, 1946) descreveu a esfoliação dermatológica empregando alguns métodos, inclusive o fenol sob a forma de emplasto oclusivo. Também descreveu a esfoliação superficial provocada pela aplicação de uma mistura de resorcinol com ácidos láctico e salicílico, como curativo oclusivo.

Para as esfoliações mais profundas, foi empregada a cantaridina aplicada sob a forma de curativos oclusivos. Em 1950, Winter (WINTER, 1950) usou fenol diluído em éter para retirar sardas. Os trabalhos publicados por Ayres (AYRES, 1950) na década de 60 combinavam as experiências com ácido tricloroacético (ATA), realizadas em 1945 por Monash (MONASH, 1945), baseadas na experiência clínica e na histologia dos “peelings” com ATA e fenol.

Sultzberger e colaboradores (SULTZBERGER et al., 2000) da New York University, introduziram o tratamento das cicatrizes do acne. Para tanto, foi empregada a combinação de ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol.

Os estudos realizados por Stegman (STEGMAN, 1982) na década de 80, com modelos animais e seres humanos compararam a profundidade histológica alcançada pelos agentes químicos esfoliantes pela dermoabrasão, estabelecendo os princípios do “peeling” químico com base científica controlada. Esses excelentes conceitos histológicos para avaliar a profundidade do “peeling” influenciaram os estudos de Brody e Hailey (BRODY and HAILEY, 1986) que, em 1986, combinaram dois agentes superficiais (dióxido de carbono sólido seguido de ATA) para produzir um “peeling” de profundidade média.

Em 1989, Mohneit (MOHNEIT, 1989) utilizou uma outra técnica de profundidade média, empregando resorcinol, ácido salicílico e ácido láctico (solução de Jessner), seguidos de aplicação do ATA.

Ainda neste período, Van Scott e Yu (VAN SCOTT and YU, 1984) iniciaram seus estudos com alfa-hidroxiácidos (AHA). Durante a década seguinte, os AHA foram acrescentados ao arsenal de agentes esfoliantes disponíveis.

Coleman e Futrell (COLEMAN III et al., 1996) combinaram esses compostos com ATA para realizar “peelings” de profundidade média. Com a classificação criteriosa de Glogau (GLOGAU, 1994) e os conhecimentos detalhados das técnicas esfoliantes, o “peeling” pôde ser realizado com precisão técnica maior do que em qualquer outra época da história (COLEMAN et al., 2000).

2.2. ANATOMIA DA PELE

A pele é formada por três camadas (Fig. 1): epiderme, derme e hipoderme. A epiderme é constituída de células epiteliais, dispostas em camadas, que, considerando o sentido de derme-epiderme, recebem as seguintes denominações: germinativa ou basal, espinhosa, granulosa, lúcida e córnea. É na camada germinativa onde se originam as células através da divisão celular. Durante este trajeto vão sofrendo modificações graduais em sua forma e composição química, até perderem o núcleo ao nível da camada córnea e se descamarem naturalmente (BRODY and HAILEY, 1986).

A pele apresenta quatro funções básicas: atividade queratínica, sudorípara, sebácea e melânica. É uma estrutura que serve como defesa dos fluídos internos e dos tecidos vivos, além de limitar a entrada de substâncias, como microorganismos. Retém água e eletrólitos (barreira epidérmica) e funciona como mediador de sensações, transpiração, síntese, metabolismo e secreção (QUIROGA e GUILLOT, 1986).

Há um constante deslocamento de células e o ciclo completo ocorre em torno de duas semanas em pessoas jovens e cerca de trinta e cinco dias para indivíduos de em torno de cinquenta anos de idade. Pêlos, glândulas (sebáceas e sudoríparas) e unhas são as estruturas anexas da pele. Além disto, há diversos tipos de receptores nervosos, que fazem da pele um órgão sensorial.

A derme é subdividida em duas camadas: a papilar e a reticular. Na derme encontramos uma grande quantidade de vasos (arteriais, venosos e linfáticos), nervos e terminações nervosas.

A hipoderme é ricamente constituída de tecido gorduroso (BRODY, 2000).

Figura 1 - Corte esquemático da pele humana e anexos cutâneos.

As indicações mais comuns para o “peeling” químico são queratoses actínicas, rugas actínicas, discromias pigmentares, radiodermites, acne vulgar e rosácea. Na realidade, com exceção do melasma superficial, nenhuma das anormalidades tratadas pelo “peeling químico” envolve apenas a epiderme.

A camada de células basais precisa ser eliminada para que se possa erradicar sardas ou lentigos. Caso contrário essas lesões serão apenas clareadas ou erradicadas parcialmente (BRODY, 2000).

Os “peelings” superficiais podem melhorar o aspecto dos distúrbios pigmentares que são mais profundos do que a lesão produzida pelo agente esfoliante, permitindo maior penetração dos agentes branqueadores aplicados entre as sessões de “peeling” (BRODY, 1989).

2.3. “PEELINGS” E FOTOENVELHECIMENTO

O envelhecimento é uma progressiva perda na capacidade homeostática dos órgãos resultando na morte celular. Os processos intrínsecos do envelhecimento cutâneo são chamados de envelhecimento biológico, o qual ocorre naturalmente na pele.

No processo de envelhecimento biológico da pele, ocorre o esgotamento das camadas elásticas de colágeno presentes na derme e desencadeia numa pele flácida resultando na atrofia das camadas epidermais e dermais.

O envelhecimento da pele é um processo biológico e físico natural em adição aos efeitos ambientais. Assim podemos desacelerar este processo evitando a exposição ao sol e usando protetor solar com fator de proteção solar superior à 15.

A exposição excessiva e/ou prolongada da pele à radiação ultravioleta (UV) resulta em várias alterações cutâneas chamadas de fotoenvelhecimento (GILCHREST, 1996), (GRIFFITHS, 1999), que é a consequência dos efeitos cumulativos da radiação desde as primeiras exposições. A severidade deste envelhecimento depende principalmente da duração e intensidade da exposição UV, da cor da pele e da capacidade de bronzeamento: Quanto maior a intensidade e duração da exposição solar e quanto mais clara a pele, mais difícil será o bronzeamento e maior o dano que o sol poderá provocar (BUTLER et al., 2001).

Quadro 1 – Classificação da fotosensibilidade da pele à radiação solar segundo Fitzpatrick. (FITZPATRICK, 1988).

Tipo de Pele	Fotosensibilidade à Radiação UV	Histórico de Queimadura Solar e Bronzeamento	FPS Recomendado	
			Mínimo	Máximo
I	Extremamente Sensível	Sempre queima facilmente, nunca bronzeia	20	30 ou 30+
II	Muito Sensível	Sempre queima facilmente, bronzeia gradualmente	12	< 20
III	Sensível	Queima moderadamente, bronzeia gradualmente	8	< 12
IV	Moderadamente Sensível	Queima minimamente, sempre bronzeia bem	4	< 8
V	Pouco Sensível	Raramente queima, bronzeia intensamente	2	< 4
VI	Não Sensível	Nunca queima, pele profundamente pigmentada	S.R.	S.R.

S.R.: Sem Recomendação

Figura 3 - Classificação dos tipos de pele segundo Fitzpatrick.

Existem vários fatores responsáveis pelo envelhecimento: genético; uso da nicotina; climáticos como o frio, poluição e exposição solar; nutricionais como carências vitamínicas e oligoelementos; fatores hormonais e mecânicos. (SHELDON, 2003):

Regiões expostas de uma forma permanente ao sol como o rosto, dorso das mãos e colo são as mais atingidas pelo envelhecimento actínico. Há um aumento das rugas, aspereza cutânea, flacidez e pigmentação e diminuição da elasticidade, da hidratação e da síntese de colágeno.

Clinicamente o fotoenvelhecimento pode provocar alterações na textura e na cor da pele, deixando-a áspera e amarelada. Pode induzir ao surgimento de manchas, pequenas veias dilatadas, rugas, flacidez e perda de hidratação. Por fim, não se pode omitir a participação da radiação UV em induzir a formação do câncer de pele (DITRE et al., 1996), (FITZPATRICK, 1988).

2.4. ALTERAÇÕES DA PELE GERADAS PELA UTILIZAÇÃO DOS “PEELINGS”

A descamação superficial das camadas mais externas da pele ativa um mecanismo biológico que estimula a renovação e o crescimento celular. O resultado na aparência externa mais saudável e bonita da pele é devido às alterações profundas na arquitetura celular produzidas pelos “peelings”, tais como: hiperplasia dos queratinócitos, espessamento da epiderme, diminuição da quantidade de melanina depositada, aumento na produção de fibras colágenas, irrigação sangüínea e compactação do estrato córneo (BRODY, 2000), (TRAUCHESSEC, 1996).

Além dos fatores acima relacionados, a dermoabrasão aumenta a permeabilidade cutânea, favorecendo a penetração de princípios ativos coadjuvantes no tratamento pós-“peeling” necessários à reepitelização completa (GHERSETICH, 1997).

2.5. CLASSIFICAÇÃO DOS “PEELINGS”

Os “peelings”, como agentes indutores de descamação, podem ser classificados segundo os seguintes fatores:

- Mecânicos - variam desde receitas caseiras como cristais de açúcar, lixas, cremes abrasivos com microesferas de material plástico, até os aparelhos de microdermoabrasão por fluxo de cristais ou as lixas de ponta de diamante (QUIROGA e GUILLOT, 1986);
- Físicos – laser e gelo seco (FITZPATRICK et al., 1996), (HRUZA, 1996);

- Químicos - uso de substância(s) química(s) isoladas ou combinadas no intuito de obter-se o agente mais adequado a cada caso para graus variados de esfoliação (GHERSETICH et al., 1997), (MONHEIT, 2001), (VIGLIOGLIA and RUBIN, 1991).
- Biológicos – Uso de enzimas tipo papaína (mamão) e bromelina (abacaxi) (BRODY, 2000), (VIGLIOGLIA and RUBIN, 1991).

A profundidade do “peeling” poderá ser superficial, média ou profunda conforme exposta na Figura 2:

Superficial: Quando atingir da camada córnea até a derme papilar superior.

Média: Quando atingir desde o estrato córneo até a derme reticular superior passando pela derme papilar.

Profunda: Quando exercer ação na derme reticular média e hipoderme.

Figura 2 – Corte histológico da pele demonstrando a profundidade e respectivas camadas do tecido cutâneo.

Os agentes esfoliantes superficiais têm sido comercializados mais do que qualquer outro composto porque, quando são usados isoladamente, têm um perfil de segurança favorável e ocasionam pequeno risco de reações adversas (FULTON and RAHIMI, 1999), (PUGLIESE, 2002).

Em geral, esses “peelings” são epidérmicos e, portanto, acarretam pouco risco de formar cicatrizes. Os agentes superficiais não foram desenvolvidos para serem forçados profundamente dentro da derme, visando produzir os efeitos dos “peelings” dérmicos. Estes tipos de substâncias não levam à formação de vesículas, em geral e os pacientes continuam suas atividades normais. Esses agentes podem ser usados em todos os tipos cutâneos de Fitzpatrick (Fig. 3) e em pacientes de todas as etnias (CLIFFORD, 1999), (FITZPATRICK, 1988).

Os agentes utilizados nos “peelings” superficiais são: ácido tricloroacético, 10 a 25 %, pasta de resorcinol de Unna modificada, solução de Jessner (resorcinol /salicilato/lactato), ácido salicílico, alfa-hidroxiácidos e tretinoína, que possuem efeito variável epidérmico ou dérmico-papilar.

O “peeling” de média profundidade é definido pela aplicação de um ou mais agentes esfoliantes, com o objetivo de produzir esfoliação dérmica inicial, que se estende, em geral, até as camadas superiores da derme reticular (BRODY and HAILEY, 1986), (COLEMAN and FUTRELL, 1994).

Dentre as modalidades de “peelings” de média profundidade estão os “peelings” combinados, dióxido de carbono sólido + ATA, solução de Jessner + ATA, ácido glicólico + ATA, ATA a 40%, fenol em potência máxima (88%), ácido pirúvico (alfa – cetoácido), (SPIRA et al., 1970), (SÜHAN et al., 1998).

A absorção de substâncias na pele pode tornar-se extremamente crítica. Poderá ser alta ou baixa dependendo do coeficiente de partilha da substância, de natureza hidrossolúvel ou lipossolúvel utilizadas sobre a pele. Quando uma substância química entra em contato com a pele, podem ocorrer as seguintes situações:

- A pele e a gordura protetora podem atuar como uma barreira protetora efetiva;
- O agente pode agir na superfície da pele, provocando uma irritação primária;
- A substância pode combinar com as proteínas da pele e provocar uma sensibilização;
- A substância pode penetrar na pele produzindo uma ação generalizada.

Outros fatores com relação à ação destas substâncias estão relacionados ao tempo de exposição, número de aplicações, espessura da camada aplicada e tipo de pele. A escolha das substâncias depende de fatores como idade, estado nutricional, gravidade das lesões e frequência das aplicações dos “peelings”, (TRAUCHESSEC, 1996), URKOV, (1946).

Diversos fatores afetam a penetração das substâncias empregadas para “peelings” químicos no tecido cutâneo, tais como: concentração, pH, coeficiente de partilha, solubilidade, grau de tamponamento ou neutralização a um sal e veículo dea formulação (gel, solução, loção ou creme). Outros fatores relacionados à pele como a frequência das aplicações, condições da pele antes da aplicação e tempo de permanência do ácido sobre a pele também exercem influência na penetração.

Lesões actínicas, espessura da epiderme, cicatrizes dérmicas, local da aplicação e oleosidade da pele, são alguns fatores que retardam a absorção do agente esfoliante em “peelings” químicos.

As reações adversas dos “peelings” aumentam de acordo com a profundidade, portanto, quanto mais profundo maior o risco das reações adversas. Um “peeling” superficial é incapaz de causar hipo ou hiperpigmentação ou ainda cicatrizes. Já nos “peelings” profundos estas complicações podem ser observadas. Os médicos que utilizam o “peeling” podem veiculá-los em diferentes substâncias e concentrações. Variando o tempo de contato com a pele, obtém-se o resultado planejado (LITTON and TRINIDAD, 1979), (MONHEIT, 2001).

Nos quadros a seguir estão apresentadas as diversas formulações que são utilizadas nos tipos de “peelings” químicos de acordo com a classificação de profundidade.

Quadro 2 – Substâncias e formulações empregadas para a realização de diferentes tipos de “peelings” químicos superficiais; penetração do estrato granuloso até a derme papilar superficial média 60 μm (PARISH and WITKOWSKI, 2000)

TIPOS DE “PEELINGS”/AGENTES		
“PEELINGS” SUPERFICIAIS	FORMULAÇÕES	INDICAÇÕES
AHA	Solução 50 a 70%	Rugas finas e lesões actínicas
ATA	Solução de 10 a 25%	Melasma, efélides e rugas finas
Resorcinol + Ácido Salicílico + Ácido Láctico	Solução de Jessner (14% por princípio ativo)	Acne, discromias, peles rugosas e hiperpigmentação pós-inflamatória
Ácido retinóico	Cremes 0,010 a 0,1% e soluções 1 a 5 %	Hiperqueratinização, fotoenvelhecimento e queratoses

Quadro 3 – Substâncias e formulações empregadas para a realização de diferentes tipos de “peelings” químicos de profundidade média; penetração de 450 μmm da derme papilar até a zona superior da derme reticular média (PARISH and WITKOWSKI, 2000)

TIPOS DE “PEELINGS”/AGENTES		
“PEELINGS” MÉDIOS	FORMULAÇÕES	INDICAÇÕES
ATA+Ácido glicólico	Solução 30 a 40%	Lesões epidérmicas, cicatrizes de acne, queratoses actínicas, fotoenvelhecimento
Resorcinol + ATA	Solução de Jessner + ATA 35%	Acne, discromia, rugas

Quadro 4 – Substâncias e formulações empregadas para a realização de diferentes tipos de “peelings” químicos profundos; penetração até derme reticular média 600 μm (PARISH and WITKOWSKI, 2000)

TIPOS DE “PEELINGS”/AGENTES		
“PEELINGS” PROFUNDOS	FORMULAÇÕES	INDICAÇÕES
Fenol	Fenol 88%	Rugas moderadas, queratoses actínicas, melasmas e lentigos
ATA	Solução 50%	Lesões epidérmicas, manchas, cicatrizes, discromias actínicas

Uma primeira aplicação do “peeling” químico é necessária para promover penetração mais uniforme do agente esfoliante, a fim de reduzir a fase de re-epitelização, minimizando assim, o risco de pigmentação pós-inflamação. O ácido retinóico a 0,1% é o melhor agente quando utilizado diariamente por um período de pelo menos 15 dias. Os AHAs e agentes despigmentantes como a hidroquinona e o ácido kójico podem ser utilizados acompanhados por bloqueadores solares (HELANDER, 1996), (LAM and SULINDRO, 2003).

2.6. TIPOS DE SUBSTÂNCIAS EMPREGADAS EM “PEELINGS” QUÍMICOS

Substâncias como alfa-hidroxiácidos, beta-hidroxiácidos, retinóides, derivados fenólicos e despigmentantes são empregados em associação ou em separado nos “peelings” químicos. Seguem abaixo exemplos de substâncias em questão:

Figura 4 – Fórmulas estruturais de algumas substâncias empregadas em “peelings”

2.6.1. FENOL

O fenol está, inegavelmente, entre as substâncias mais eficazes. É um tipo de “peeling” de exclusividade médica (TRUPMAN and ELLENBY, 1979). Possui um grande poder de esfoliação, pois penetra profundamente até a derme reticular, sendo assim indicado para rugas profundas, periorais e para tratar as queratoses mais severas (EDISON, 1996), (HOPKINS et al., 2000).

A principal desvantagem é a cardiotoxicidade, nefrotoxicidade e atividade depressora do sistema nervoso central. Deve ser aplicado em ambiente hospitalar devido a obrigatoriedade de sedação, por ser muito dolorido para o paciente (BAKER and STUZIN, 2000), (BOTA et al., 1988), (CASSANO et al., 1999), (DMYTRYSHYN et al., 1983), (HOLM and MÜHLBAUER, 1998).

Pode ser utilizado por oclusão parcial ou total da face com a finalidade de aumentar a ação do produto e, conseqüentemente, a profundidade. O uso de ácido retinóico e ácido glicólico devem ser suspensos antes da aplicação, pois estes compostos podem potencializar a penetração da substância que está sendo utilizada para a realização do “peeling”.

2.6.2. RESORCINOL

O resorcinol (m-diidroxibenzeno), química e estruturalmente relacionado ao fenol e hidroquinona é solúvel em água, álcool e éter e age como potente agente redutor, sendo capaz de quebrar as fracas ligações da queratina. Em alguns casos foi observada a presença de alergia. É usado em cremes cuja concentração varia de 10-30%, formulação Unnas's 18th Century, posteriormente modificada por Letessier (Brody, 2000).

É um agente cáustico do grupo dos fenóis, mas com propriedades diferentes, o que lhe oferece maior segurança na utilização. Pode ser utilizado como esfoliante na forma de pasta em concentrações que variam de 10 a 70%, ou associado a outras substâncias, como na Solução de Jessner (BRODY, 2000).

A pasta pode ser aplicada sobre a pele através de uma espátula de madeira ou com os dedos enluvados e deixar em contato por até 20 minutos, de acordo com o estado da pele. Depois de seca a máscara é retirada com a espátula e o que restar, com gaze embebida em água.

Empregado como um dos componentes da formulação do “peeling” de solução de Jessner, a qual é uma preparação empregada para ação superficial na pele, podendo agir mais profundamente quanto maior o número de aplicações de camadas na pele desta solução (LITTON et al., 1973).

A vantagem da aplicação deste produto é o baixo custo. Como desvantagens podem ser citadas a possibilidade de reação alérgica e intoxicação, que aumentam de acordo com o número de vezes que o produto é aplicado.

É indicado para tratamento da acne, discromias e peles rugosas, hiperpigmentação pós-inflamatória, podendo ser utilizado em peles mais escuras, com tendência à hiperpigmentação. Recomenda-se que se faça um teste prévio de sensibilidade (AYHAN et al., 1998), (GRIMES, 1995).

O cuidado “pós-peeling” prevê o uso de antibióticos e corticóides por uma semana e completa proteção por um mês contra raios UV. Este tipo de “peeling” é fácil de ser manuseado e possui baixos riscos de efeitos colaterais, provocando hiperpigmentação temporária. É recomendado para pacientes com acne, e oferece bons resultados no clareamento das lesões e cicatrizes superficiais (GHERSETICH et al., 1997).

2.6.3. ÁCIDO TRICLOROACÉTICO (ATA)

Os “peelings” com este tipo de ácido são excelentes para o tratamento da pele actinicamente danificada. Apresentam menor risco de reações adversas quando comparados aos “peelings” mais profundos, como o de fenol, por criarem feridas que só atingem a derme superior. Por outro lado, devido à natureza mais superficial, não tem a mesma eficácia dos “peelings” de fenol para melhorar cicatrizes e rugas profundas (BRODY, 2000), (GHERSETICH et al., 1997), (WOLF, 2001).

O ATA tornou-se o ácido preferido para os “peelings” químicos de profundidade superficial e média, apesar de que pode ser utilizado nos “peelings” profundos. No entanto, existe um consenso de que nesta última situação, é geralmente um procedimento mais arriscado do que o “peeling” profundo de fenol. Há indícios de que o ATA, em concentrações de 50% ou superiores, tem a possibilidade de formar mais cicatrizes do que outros agentes de “peelings”, utilizados para procedimentos de profundidade semelhante. Por este motivo o ATA deve ser reservado aos “peelings” de profundidade superficial e média (BRODY and HAILEY, 1986).

O ATA, diferentemente de outros agentes de “peeling”, não apresenta toxicidade sistêmica conhecida, nem relatos de reações alérgicas. Não apresenta melanotoxicidade associada ao fenol, o custo é baixo e possui boa estabilidade (WANG and CAREY, 1994), (WARNER and HARPER, 1985), (WEXLER et al., 1984).

As concentrações usuais variam de 10 a 75% em solução aquosa e pode ser aplicada com gaze ou cotonete evitando-se o pincel. Quando a lesão tratada adquire coloração branca forma-se o “frost” sobre o tecido cutâneo, que significa a precipitação das proteínas como mecanismo de ação da substância. Utiliza-se

solução alcalina para neutralização. As sessões podem ser reiteradas a cada 30-40 dias (BOIXAREU, 1998), (VOSSEN et al., 2000).

O “peeling” de ATA pode ser feito isoladamente ou associado com outros agentes como o ácido glicólico e solução de Jessner. Estes agentes realizam um trabalho superficial, mas quando associados ao ATA a 30-35% transformam o “peeling” em profundo, evitando assim, o uso do ATA a 50% que oferece grandes riscos de provocar cicatrizes (COLEMAN and FUTRELL, 1994), (COOK and COOK, 2000), (HEVIA et al., 1991).

Os “peelings” com o ATA são indicados nas seguintes situações: melasmas, efélides, cicatrizes de acne, queratoses actínicas, hiperpigmentação pós-inflamatória, rugas finas e fotoenvelhecimento (FITZPATRICK et al,1996). É um “peeling” médico quando utilizado em concentrações superiores a 35%. Em concentrações inferiores a 35% pode ser realizado na esteticista sob supervisão médica (RUBIN, 1995), (TRAUCHESSEC, 1996).

2.6.4. ÁCIDO RETINÓICO

Também denominado de vitamina A ácida (McDONALD et al., 1999). Seu uso é justificado por promover a compactação da camada córnea, espessamento epidérmico e aumentar a síntese do colágeno. Estimula os queratinócitos por melhorar a distribuição dos melanócitos e por produzir uma normalização epidérmica. Elimina os queratinócitos atípicos e impede a formação de queratoses, sendo indicado para o tratamento do fotoenvelhecimento (CUCÉ et al., 2001), (GRIFFITHS et al., 1995), (INTERNATIONAL ROSÁCEA FOUNDATION, 2003). Atua em patologias onde há hiperqueratinização e é também associado a agentes despigmentantes nos tratamentos de hipertrofias (JOHNSON, 1997), (PAQUETTE, 2001), (PERSSONELLE, 1997).

Muito utilizado no tratamento da acne por ter ação comedolítica e esfoliante. É largamente utilizado no pré-“peeling” químico e a laser, como preventivo da hiperpigmentação pós-inflamatória. Garante uma uniformidade na aplicação do agente do “peeling” e promove uma reepitelização mais rápida (SPIRA, 1977), (SZALAY and SPIRA, 1987).

O ácido retinóico está disponível em várias concentrações (0,01% a 0,1%) em cremes ou gel para uso pelo próprio paciente e em concentrações mais elevadas (1 a 5%) para uso em consultório, sob supervisão médica. Neste último caso as aplicações poderão ser feitas a cada 1 ou 2 semanas e em número variável de acordo com a resposta de cada paciente. A descamação inicia-se em torno do 2^o e 3^o dia pós-“peeling” (HEVIA et al., 1991).

O ácido retinóico pode ser utilizado no rosto, mãos, colo, pescoço, dorso e braços durante todo o período do tratamento e, posteriormente é necessário o uso do filtro solar e também de cremes hidratantes com hidrocortisona (KLIGMAN et al., 1996), (ZOUBOULIS, 2000).

2.6.5. ALFA-HIDROXIÁCIDOS (AHAs)

Pertencem ao grupo de ácidos orgânicos de cadeia relativamente curta tendo em comum o grupo -OH em posição α ou 2. O mais simples e o de molécula menor, importante para a penetração pela pele, é o ácido glicólico, que possui dois átomos de carbono (GHERSETICH, 1997), (HUANG et al., 2002).

As fontes naturais de AHAs são: ácido glicólico: cana de açúcar, beterraba, uva, alcachofra e abacaxi; ácido láctico: fermentação bacteriana da glicose, ácido málico: maçãs; ácido tartárico: uva; ácido cítrico: laranja e limão; ácido mandélico: amêndoas amargas (BRODY et al., 1996), (BRODY, 2000).

Uma das características de peles severamente desidratadas é o engrossamento do estrato córneo, processo conhecido como hiperqueratinização. Este processo apresenta como característica menor grau de descamação das camadas externas, devido à maior coesão dos corneócitos entre si. Traduz-se num aspecto externo muito característico da pele seca, isto é, aspereza ao tato, pouca flexibilidade e profundidade das rugas (BRODY, 1989), (BRODY and HAILEY, 1986), (RAMOS and COELHO, 2001), (RAMOS et al., 2001).

Há várias substâncias na pele que intervêm controlando o grau de descamação tais como, a água, os retinóides, os AHAs e os alfa-acetoxiácidos (AAA), que são os antagonistas naturais dos AHAs. Este processo dependerá, em último caso, da força de coesão que existe entre os corneócitos: uma maior coesão intercorneocitária levam a um menor o grau de descamação e vice-versa.

A coesão entre corneócitos se dá pela união iônica especialmente por pontes de hidrogênio que une duas cadeias protéicas. Os AHAs podem aderir e se interpor entre as duas cadeias, com resultados ou efeitos diferentes.

Em baixas concentrações de AHAs, as cadeias protéicas são ligeiramente separadas e os AHA's aumentam o número de pontes de hidrogênio e a união celular. Assim, o número de pontes de hidrogênio e a plasticidade e hidratação são melhoradas (PERRICONE and DINARDO, 1996).

Em concentrações mais altas de AHAs (8-20% aproximadamente) as cadeias protéicas rompem-se, separam-se e aumentam rapidamente a descamação, ou seja, produz-se o efeito esfoliante, também conhecido como efeito refinador ou descamante (BRODY, 2000).

Histologicamente observa-se com o uso dos AHAs a redução da adesão dos corneócitos, o espessamento epidérmico, a compactação do estrato córneo e o aumento na deposição de mucina, estimulando também a produção de fibras colágenas dérmicas (HOWARD et al., 2002).

A diferença entre queratolíticos típicos como o resorcinol, o ácido salicílico, o ATA e o ácido retinóico, são que os últimos atuam sobre os corneócitos maduros e superficiais, de fora para dentro, já os AHAs atuam sobre os corneócitos germinativos, primitivos, profundos (fases de formação do estrato córneo) no sentido interno para o externo (epiderme) (QUIROGA e GUILLOT, 1986).

As indicações para este tipo de “peeling” são: fotoenvelhecimento, acne, eczema hiperquerotático, queratose actínica, rugas finas, melasma e efélides (ATZORI et al., 1999), (COTELLESA et al., 1999), (FUNASAKA et al., 2001), (GARCIA and FULTON, 1996).

A execução do “peeling” com ácido glicólico deve ser cuidadosamente planejada. A seleção do agente desengordurante, a concentração e o pH do ácido glicólico, o tempo de exposição e a localização de distúrbios específicos dependem da cuidadosa avaliação de cada paciente. Os tipos de pele 1 e 2 de Fitzpatrick são, muitas vezes, mais sensíveis e menos tolerantes, e exigem concentrações mais baixas e tempos de exposição menores. A pele fotodanificada e mais velha tolera concentrações mais elevadas e tempos de exposição maiores (COTELLESA et al., 1999), (TRAUCHESSEC, 1996).

Para a realização do “peeling” com ácido glicólico é importante concentração acima de 50% e controle do pH. O pH em torno de 1,5 causa maior irritação do que em torno de 2,5. O ácido glicólico é encontrado a 70% em solução aquosa ou em gel.

O ácido glicólico a 70%, provoca epidermólise em 3 a 7 minutos, dependendo do tipo de pele e da espessura da camada córnea. Os “peelings” com ácido glicólico apresentam segurança relativa, pois são superficiais em determinadas condições de pH e concentração. A formação de cicatrizes é extremamente rara (GHERSETICH, 1997), (NEWMAN et al., 1996).

Embora a pele torne-se suave, é preciso lembrar que nenhuma quantidade, por maior que seja de “peelings” com ácido glicólico equivale a um “peeling” médio/profundo realizado com ATA ou fenol (BRODY, 2000), (GHERSETICH, 1997).

A biodisponibilidade e conseqüentemente a eficácia de um AHA depende principalmente do pH da formulação. Quanto mais ácida maior a absorção do AHA. Os AHAs na forma ácida não neutralizada, como o ácido láctico, apresentam eficácia terapêutica muito superior. Pode-se dizer que a ionização do lactato em um produto depende da fração de ácido láctico livre na formulação, o que está diretamente ligado ao pH (F.D.A., 2002).

Em pH 2,0 o ácido láctico está 100% ionizado, isto é, todas as suas moléculas estão biodisponíveis sendo, portanto, uma solução extremamente irritante. Em pH 3,4, 74% das moléculas estão ionizadas e 26% apresentam-se na forma de lactato. Em pH menor do que 5,0 7% as moléculas apresentam-se ionizáveis. Quanto menor o pH da formulação, maior a biodisponibilidade das moléculas de ácido láctico e maior a eficácia da formulação.

2.6.6. ÁCIDO SALICÍLICO

É um beta-hidroxiácido (BHA) utilizado como agente queratolítico em concentrações maiores do que 2% . Topicamente no tratamento da acne pode ser utilizado em concentrações que variam de 2 a 10%. Na forma de ungüento, com concentração de 50%, com ou sem oclusão, para os casos de queratose actínica e seborréicas, lentiginoses no dorso da mão e do antebraço. Na face é utilizado em solução alcoólica a 35% por cerca de 5 minutos, seguida de neutralização com água. Neste caso é indicado para clareamento da pele, atenuação de rugas e tratamento de comedões (F.D.A./CFSAN, 2002), (KLIGMAN and KLIGMAN, 1997), (KLIGMAN and KLIGMAN, 1998).

Mais recentemente os BHAs isolados ou em combinação com AHAs tem sido prescrito em produtos para o cuidado da pele. Enquanto que ambos AHA e BHA agem como esfoliantes, tem sido ressaltado que os BHAs são efetivos na redução de rugas e finas linhas de expressão, melhorando a textura da pele sem a irritação ocasional quando é associado ao AHA.

Os beta-hidroxiácidos são o ácido salicílico ou substâncias correlatas como (salicilato, e “willow extract”), ácido beta hidroxibutanóico, ácido trópico e ácido tretocânico.

Tem sido relatado pela indústria cosmética que o uso do ácido salicílico é seguro quando formulado para evitar irritação e o aumento na sensibilidade solar. A Food and Drug Administration aconselha que certas precauções devem ser tomadas quando cosméticos contendo AHA e BHA são utilizados. O BHA deve ser testado em pequena superfície da pele. Caso haja irritação deve ser descontinuado o uso. As instruções do rótulo devem ser seguidas, não excedendo as aplicações recomendadas. Deve-se evitar o uso de produtos contendo BHA em crianças e utilizar protetor solar no caso de uso de produtos a base de BHA.

2.6.7. Solução de Jessner ou solução de Combe

Além da formulação na forma de pasta do resorcinol, existe também uma formulação líquida chamada de solução de Jessner, que possui a seguinte composição (DE OLIVEIRA e col., 2000), (LEVINE, 2001):

Ácido salicílico.....14g
Resorcinol.....14g
Ácido láctico (85%).....14g
Álcool etílico q.s.p.....100 mL

Esta solução é sensível à luz e ao ar, devendo ser armazenada em frascos escuros. É estável por até 2 anos em embalagens bem vedadas. Como características físicas, a solução possui coloração âmbar, que se torna mais escura com o tempo e exposição à luz (WINDHAGER and PLEWIG, 1977).

Esse “peeling” apresenta um risco de reações adversas relativamente baixo. As principais desvantagens estão relacionadas à preparação da formulação, uma vez que contém três substâncias ativas, que provocam intensa esfoliação, muitas vezes acompanhada de queimação e dor. Possui ação mais intensa do que a apresentada pelo ácido glicólico.

A técnica de aplicação é similar a do ácido glicólico, mas o efeito sobre a pele é diferente. Na primeira fase, aparece um eritema seguido da presença de um aspecto esbranquiçado por toda a pele, que é devido a precipitação dos compostos químicos contidos na solução (BRODY, 2000), (CLIFFORD, 1999), (KIM et al., 1999).

Nos dias seguintes à aplicação ocorre a esfoliação, similar a produzida com o “peeling” de resorcinol, por pelo menos 8-10 dias. O tratamento pós-“peeling” também é similar ao do resorcinol. A solução de Jessner é a melhor escolha para mudanças discrômicas e todas as outras indicações referentes aos AHAs. Apesar de ter a vantagem de produzir um “peeling” mais uniforme, é menos aceito pelos pacientes por produzir uma esfoliação mais evidente (LAWRENCE et al., 1995).

2.7. CUIDADOS PÓS-“PEELING”

Durante as primeiras semanas, é indicado aspergir água e colocar compressas frias em infusões de camomila sobre a área do “peeling”. Hidratações semanais no consultório, que auxiliam a retirar as crostas residuais, diminuem o edema e facilitam a reepitelização. O uso de hidratantes com filtros solares diariamente é recomendado, sendo necessárias aplicações várias vezes ao dia.

Deve-se evitar expor-se à luz solar, a lâmpadas fluorescentes ou a mudanças bruscas de temperatura. No caso de hipersensibilidade ou prurido, utilizar hidrocortisona 0,10% tópica. É recomendado o uso diário de gel ou creme com ácido glicólico em concentrações de 8 a 15%, por vezes associados a despigmentantes (ácido fítico, ácido kójico, hidroquinona) nas áreas com manchas, cicatrizes ou rugas residuais.

Após quatro a seis semanas, as cicatrizes ou manchas residuais devem ser tratadas com um novo “peeling” localizado ou através da prescrição de outros agentes esfoliantes de uso tópico. Após a normalização da pele deve-se instituir um tratamento diário tópico preventivo e de manutenção (BRODY, 2000), (GHERSETICH, 1997), (TRAUCHESSEC, 1996).

2.8. REAÇÕES ADVERSAS PROVOCADAS PELA APLICAÇÃO DOS “PEELINGS” QUÍMICOS

As reações adversas provocadas pelos “peelings” químicos poderão ser mínimas através do preparo “pré-peeling” e recomendações “pós-peeling”, principalmente no tocante à fotoproteção. Obviamente, quanto mais profundo for o “peeling”, maiores serão as reações adversas (GHERSETICH, 1997), (KLEIN and LITTLE, 1983).

A reação adversa mais temida é a hiperpigmentação pós-“peeling” a qual ocorre devido a falta de cuidados com exposição solar nas primeiras semanas. Para tratar esta situação deverão ser utilizadas substâncias despigmentantes diariamente à noite e mínima exposição à luz solar durante o dia. De acordo com Fitzpatrick, o “peeling” é imprudente em qualquer estação e em qualquer circunstância com pele fototipo V (GHERSETICH, 1997).

A hiperpigmentação pode ser tratada com qualquer agente branqueador e os resultados são geralmente bons, desaparecendo espontaneamente após alguns meses. É mais difícil tratar hipopigmentação devido à destruição de melanócitos, que pode ser permanente em consequência da aplicação de “peelings” potentes, realizados em soluções contendo 50% de ATA ou fenol (FITZPATRICK, 1988).

Infecções associadas com “peelings” são raras e aumentam de acordo com a profundidade do “peeling”. Os patógenos mais comuns são: *Streptococcus* e *Staphylococcus*. Infecção por *Pseudomona* é muito raro. O herpes simples pode ser reativado pelo “peeling” a qualquer profundidade. O uso de um antibiótico deve ser administrado rapidamente para tratar a infecção bacteriana (CASSANO et al., 1999), (SPIRA et al., 1974).

Uma pequena porcentagem dos pacientes demonstra erupções do tipo acne durante ou imediatamente após a fase de esfoliação. A razão para este efeito colateral é desconhecida, e o fenômeno geralmente desaparece dentro de 5-6 dias, com aplicação tópica de clindamicina ou eritromicina (CASSANO et al., 1999).

Manifestações alérgicas ocorrem freqüentemente com o “peeling” de resorcinol, enquanto que com os outros agentes, são raras. O problema da reação alérgica é freqüentemente difícil de diagnosticar desde que os sintomas podem ser similares às sensações induzidas propriamente pelo “peeling” (eritema ou edema). A identificação e terapia destas reações adversas são muito importantes desde que há um grande risco de aparecerem efeitos colaterais tais como hiperpigmentação ou cicatrizes (TRAUCHESSEC, 1996).

As dermatites de contato irritativas ou alérgicas são tratadas com antiinflamatórios tópicos a base de arnica, camomila ou aloe vera, e nos casos mais intensos com hidrocortisona 0,10%. Raramente há necessidade de se utilizarem antibióticos (BRODY, 2000), (GHERSETICH, 1997).

A persistência do eritema 2-3 semanas após o “peeling” é considerada normal, especialmente com o “peeling” de ATA. O eritema persistindo por mais do que três semanas pode indicar cicatrizes hipertróficas e que devem ser tratadas com um potente corticóide tópico ou laser.

Felizmente, a presença de cicatrizes é rara, mas com certeza esta é a complicação mais temida nos casos de “peelings” químicos. Os maiores riscos são em pacientes que se submetem ao “peeling” profundo, aos que apresentam cicatrizes hipertróficas ou quelóides, em pacientes que sofreram recentemente terapia cutânea, naqueles com infecções ou que apresentam reações alérgicas pós-“peeling” (ELLER and WOLFF, 1941), (WANG et al., 1994).

Diferentes reações de cicatrização podem resultar em: hipopigmentação e áreas com depressão atrófica, presença de quelóides e áreas mais elevadas na pele. O tratamento difere de acordo com o tipo de cicatriz e pode requerer o uso de esteróides, terapia a laser, crioterapia, incluindo exclusão e correção da cicatriz (BRODY, 2000), (LITTON and TRINIDAD, 1979), (RUBIN, 1995).

Deve-se postergar ao máximo a retirada das crostas nos dez primeiros dias pós-“peeling”, evitando-se desta forma escoriações, feridas e consequentemente manchas ou cicatrizes. A crosta inicial protege nos primeiros dias a pele nova e só deve ser retirada pelo médico, nunca pelo próprio paciente ou pelos seus familiares. Todo paciente que passa por um tratamento que envolva um mínimo de risco de complicação deve assinar um termo de consentimento (BRODY, 2000).

O “peeling” químico é uma opção segura e eficiente para tratamentos cutâneos de qualquer natureza estética. De maneira a evitar quaisquer efeitos indesejados, é recomendado que seja realizado por especialistas, de acordo com procedimentos padronizados (GHERSETICH, 1997), (TRAUCHESSEC, 1996).

Além do efeito esfoliante, alguns estudos ainda descrevem a atividade estimulante dos agentes químicos como o ácido glicólico e ATA sobre os fibroblastos (DITRE et al., 1996).

Vários estudos documentaram os benefícios da associação do “peeling” químico com tretinoína tópica, mas estudos comparativos sobre o uso tópico da tretinoína ou “peeling” químico, em sua maioria com ácido glicólico, não são satisfatórios. (ATZORI et al., 1999), (PAQUETTE et al., 2001).

2.9. GENERALIDADES SOBRE AS SUBSTÂNCIAS SELECIONADAS PARA A PESQUISA

2.9.1. ÁCIDO SALICÍLICO

O ácido salicílico (AS) apresenta a seguinte estrutura química:

Figura 5. Fórmula estrutural do ácido salicílico.

O ácido salicílico, também é chamado de ácido 2-hidroxibenzóico ou ácido o-hidroxibenzóico. (UNITED States Pharmacopeia, 1999).

Há 2400 anos, Hipócrates prescreveu folhas de salgueiro no tratamento de dor e febre. O princípio ativo das folhas de salgueiro é o ácido salicílico. A biossíntese do AS nesta planta é baseada na desaminação da fenilalanina que dá origem ao ácido trans-cinâmico que hidrolizado e oxidado forma o ácido salicílico. Ésteres salicílicos são encontrados em várias espécies de plantas sendo as principais: *Salix*, *Spiraea* e *Gaultheria*. (ABOUNASSIF et al., 1993).

O AS ($C_7H_6O_3$) cristaliza-se na forma de agulhas incolores (água) ou prismas monoclinicos (etanol), com ponto de fusão $159^{\circ}C$; começa a sublimar a $76^{\circ}C$; aquecimento da sublimação $81,8KJ/mol$; densidade de 1,443; constantes de dissociação $K_1=1,05 \times 10^{-3}$, $K_2=4,0 \times 10^{-14}$ ($19^{\circ}C$), pressão de vapor a $110^{\circ}C$ de 1,66 mbar e 19,3 mbar a $150^{\circ}C$. (SETTLE, 1997).

Quanto à solubilidade, a cada 100 g de solução em metanol 38,46 g (a $21^{\circ}C$), em 34,87 g de etanol (a $21^{\circ}C$) em 1,55 g de clorofórmio (a $30^{\circ}C$) em 1g de benzeno ($30^{\circ}C$); a cada 100 mL de solução de 23,4 g ($17^{\circ}C$) de dietiléter, e 31,3 g de acetona ($23^{\circ}C$) sendo extremamente solúvel em amônia, insolúvel em dióxido sulfuroso líquido. (UNITED States Pharmacopeia, 1999).

O AS é um ácido carboxílico orto-hidroxiaromático, e em contraste com isomeria meta e para (ácidos hidroxicarboxílicos), forma ligações intramoleculares com pontes de hidrogênio e apresenta volatilidade gasosa. Seus derivados são usados principalmente para sintetizar produtos farmacêuticos e como intermediários na produção de tinturas, agroquímicos e produtos de perfumaria.

A molécula de AS combina as propriedades fenólicas com as dos ácidos carboxílicos aromáticos. Um equivalente de base neutraliza somente o grupo carboxila. Um excesso de hidróxido é requerido para formar o sal de álcali, no qual o grupamento OH livre se refaz quando em contato com o dióxido de carbono. (KIRK-OTHMER, 1998).

A quelação ocorre com alguns metais tal como o Fe^{+3} , produzindo uma coloração violeta. O AS pode ser utilizado como um indicador em determinações de EDTA de Fe^{+3} . (ULLMANN'S, 1999).

Quadro 5 – Especificações de qualidade do ácido salicílico. (ULLMANN'S, 1999).

PROPRIEDADES	ESPECIFICAÇÕES
Aparência	Pó ou finos cristais brancos.
Solubilidade	Em acetona, etanol, metanol.
Ponto de fusão	158-161 °C
Cinzas	Máximo 0,05%
Doseamento	Entre 99,5 e 101,0%
Teor de água	0,5%

Pela técnica de obtenção do AS descrita por **Kolbe-Schmitt** este composto pode ser obtido com pureza de 99,5%. O fenol, o ácido p-hidroxibenzóico, o ácido 4-hidroxiisotáltico podem aparecer com impurezas na quantidade de 0,05-0,1% ; cinzas < 0,1%; água 0,2%. (ULLMANN'S, 1999).

As especificações de qualidade fornecidas pela Farmacopéia Européia seguem os seguintes padrões: análise visual da cor, ponto de fusão (158-161⁰C) doseamento (99,0-100,5%); cinzas (<0.1%); metais pesados (<20 ppm); cloreto (<100 ppm); sulfatos (<200 ppm) e perda por dessecação < 0,5%.

O AS é usado principalmente na síntese do ácido acetil salicílico, o produto farmacêutico mais comumente dispensado. Na forma de ésteres, amidas e sais de ácido salicílico, é utilizado como matéria-prima inicial para outros produtos farmacêuticos. O AS é utilizado como intermediário na produção de agroquímicos, tinturas e colorações, na indústria de borracha e na produção de resinas fenólicas.

Na terapêutica é indicado no tratamento de desordens reumáticas (sais de sódio solúveis). Sua ação queratolítica também é amplamente utilizada na limpeza de pele e na remoção de escamas. Também possui propriedade bacteriostática, sendo usado como desinfetante ou conservante, porém a sua presença não é permitida em alimentos. (MARTINDALE, 1993).

O AS e seus derivados são reabsorvidos na pele e nas membranas das mucosas. Possui ação queratolítica e é um irritante de tecidos. No estômago esta ação irritante afeta principalmente a produção das células da mucosa.

Doses acima de 10g consumidas de uma única vez podem ser fatais devido a um distúrbio no balanço ácido-básico. Casos severos de intoxicação podem produzir: delírios, tremores, insuficiência respiratória, sudorese, hipertermia ou coma. Intoxicações menos severas incluem hiperventilação, náuseas, vômito, visão e audição distorcidas e desordens nervosas. (GIANOTTO, 1996).

No caso de intoxicações crônicas, os sintomas incluem: desordens digestivas e gástricas e dor intestinal, algumas vezes com casos de hemorragia.

Além dos sintomas de irritação, a principal consideração é o risco de alergia. Pessoas com reações hiper alérgicas aos salicilatos devem evitar o contato com estes produtos.

2.9.2. RESORCINOL

O resorcinol apresenta a seguinte estrutura química:

Figura 6 - Fórmula estrutural do resorcinol.

O resorcinol ($C_6H_6O_2$) é um composto cristalino, branco, com fraco odor e sabor amargo. Outros nomes são 1,3 – benzenodiol, 1,3-hidroxibenzeno ou dioxibenzeno e 3-hidroxifenol. Não é encontrado na natureza. Hlasiwetz e Barth obtiveram o produto através da destilação de uma resina natural em 1864. A estrutura do resorcinol é similar à do orcinol, 5-metil-1,3-benzenodiol, que corresponde a segunda parte do nome. Tem sido produzido industrialmente há mais de 100 anos. (HLASIWETZ and BARTH, 1864), (ULLMANN'S, 1999).

O resorcinol existe em pelo menos duas estruturas cristalinas. À pressão normal, a alfa fase é estável abaixo de cerca de 71^0 C , enquanto que a beta fase é estável a temperatura acima do ponto de fusão. (KIRK-OTHTMER, 1998).

Os dados literários sobre as solubilidades variam amplamente devido à presença das fases alfa e beta: 198,0 g de resorcinol é solúvel em 100 g de água a 50^0 C ; 371,5 g são solúveis em 100 g de água a $50,4^0\text{ C}$. (MERCK, 1996).

A densidade das soluções aquosas de resorcinol aumenta proporcionalmente à concentração de resorcinol.

O resorcinol é um fenol com duas hidroxilas e exibe a reatividade típica de um fenol. A sua reação mais importante é a com o formaldeído para formar resinas fenólicas. O átomo de hidrogênio rodeado pelos dois grupos meta-hidroxil pode ser substituído muito mais facilmente do que outros hidrogênios presentes no anel. (ULLMANN'S, 1999).

Comparado ao catecol e a hidroquinona, o resorcinol tem maior reatividade na formação de formaldeído. A cor violeta é produzida quando uma solução aquosa de resorcinol é tratada com solução de cloreto férrico (FeCl_3). O resorcinol pode ser identificado por IR, espectroscopia de Raman; espectro de UV e NMR também são utilizados.

Quadro 6– Especificações de qualidade do resorcinol. (ULLMANN'S, 1999).

PROPRIEDADES	ESPECIFICAÇÕES
Aparência	Pó ou finos cristais brancos
Solubilidade	Em água, etanol, metanol.
Ponto de fusão	109,1 °C
Cinzas	Máximo 0,05%
Doseamento	Mínimo 99,5%
Teor de água	Máximo 0,1 % (Karl-Fischer)

A medida do ponto de congelamento é o teste mais importante e útil a ser realizado para determinar a qualidade do produto. A queda do ponto de congelamento indica a presença de impurezas devidas, na maioria das vezes, à presença de água.

Devido à presença de duas fases sólidas do resorcinol, a determinação do ponto de fusão como um indicador de qualidade não é recomendada. Embora o ponto de fusão varie entre 110 –113⁰C, sabe-se que esta variação não indica a presença de impurezas. O resorcinol se torna mais escuro durante o armazenamento, especialmente quando exposto à luz.

O resorcinol é usado na indústria como intermediário. Seu principal uso (acima de 50%) é o destinado a indústria de borracha. Outros usos são: produção de estabilizadores de plásticos, produção de filtros solares para pele, produção de corantes e tinturas (eosina, fluoresceína) e matéria-prima de alguns produtos farmacêuticos e preparações para acne. (MARTINDALE, 1993).

Para toxicidade oral $DL_{50}=301$ mg/kg (camundongo). A ingestão de 8,0 g de resorcinol por uma criança resulta em hipotermia, hipotensão, queda de respiração e tremores. Em dois anos de estudo nenhuma evidência de carcinogenicidade foi encontrada.

2.9.3. ÁCIDO LÁCTICO

O ácido láctico apresenta a seguinte estrutura química:

Figura 7 - Fórmula estrutural do ácido láctico.

O ácido láctico, ácido 2-hidroxipropiônico, foi descoberto em 1780 por um químico suíço chamado Scheele que o isolou de leite coalhado ácido. Em 1839, Fremy produziu ácido láctico através da fermentação de carboidratos, tais como: sucrose, lactose, manitol, amido e dextrina. A produção industrial do ácido láctico foi estabelecida em 1881.

O ácido láctico, ácido 2-hidroxiopropiônico, $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$ com PM 90,08 é o ácido hidroxicarboxílico mais simples existente com um átomo de carbono assimétrico. Ele foi encontrado em uma mistura racêmica e também em duas formas opticamente ativas. (AL-SHAMMARY et al., 1993).

O ácido láctico é um sólido branco cristalino, com baixo ponto de fusão, variando de 18 a 33⁰C. Se um dos isômeros ópticos estiver presente em excesso, este isômero pode ser isolado por cristalização fracionada do ácido destilado em uma mistura de partes iguais de éter dietil e éter diisopropil. Os pontos de fusão dos isômeros ópticos puros variam entre 52,7 e 52,8 ⁰ C. O ponto de ebulição do ácido láctico é de aproximadamente 125 a 140 ⁰C a 27KPa.

Por ser altamente higroscópico é normalmente obtido como uma solução concentrada, incolor e inodora. É solúvel em água, etanol, éter dietílico e outros solventes orgânicos que são miscíveis com a água. É insolúvel em benzeno e clorofórmio. (MERCK, 1996).

O ácido láctico produzido por fermentação é opticamente ativo. A produção específica de ácido láctico opticamente ativo (L+D-), pode ser conseguida utilizando-se um lactobacilo apropriado. A volatilidade do ácido láctico é extremamente baixa, sendo aumentada com o aumento da concentração do ácido láctico. Mesmo a altas concentrações, a destilação quantitativa do ácido láctico a 100⁰C é impraticável e extremamente onerosa. Entretanto, com aquecimento de 130-200⁰C, pode ser realizada a extração quantitativa do ácido láctico.

Assim, a destilação em altas temperaturas é um método utilizado para purificar o ácido láctico empregado como matéria-prima. A constante de dissociação do ácido láctico é $1,38 \times 10^{-4}$ a 25⁰C que corresponde ao pK de 3,86. O pH de uma solução aquosa de ácido láctico a 10% é de 1,75.

A esterificação interna do ácido láctico pode produzir um éster, o ácido lactoilláctico, o éster cíclico e ácido poliláctico. A síntese de lactatos de álcoois de baixo peso molecular ocorre facilmente por reação direta com o álcool correspondente. A oxidação de ácido láctico produz diferentes produtos de acordo com as condições de reação e métodos de oxidação. (KIRK-OTTMER, 1998).

Quadro 7 – Especificações de qualidade do ácido láctico. (ULLMANN'S, 1999).

PROPRIEDADES	ESPECIFICAÇÕES
Aparência	Pó ou finos cristais brancos
Solubilidade	Em água, etanol, metanol.
Rotação específica	Entre $-0,05^{\circ}$ e $+0,05^{\circ}$
Cinzas	0,1 %
Doseamento	Entre 85,0 e 90,0 %
Metais pesados	Máximo 0,001 %

Para a produção de ácido láctico de grau farmacêutico, várias etapas de purificação adicionais são necessárias. Boa purificação pode ser obtida através da extração líquido-líquido, onde o ácido láctico é extraído utilizando-se um solvente orgânico ou mistura de solventes. (ULLMANN'S, 1999).

Atualmente, a síntese industrial do ácido láctico é realizada empregando-se a reação do acetaldeído com o ácido cianídrico, seguida pela hidrólise da lactonitrila resultante. A reação do propeno com tetróxido dinitrogênio líquido, a $15-20^{\circ}\text{C}$, leva à formação de 1-nitropropan-2-ol que pode ser hidrolisado com ácido sulfúrico ou ácido clorídrico dando origem ao ácido láctico. (KIRK-OTTMER, 1998).

O ácido láctico é encontrado em diferentes sistemas biológicos, pode ser incorporado em várias cadeias alimentares e é completamente metabolizado. Apesar de estar inscrito nas farmacopéias de muitos países, ainda não tem uma

especificação definida. Ele pode ser definido como um produto de uso farmacêutico ou de uso alimentar (Food Chemical Codex).

O ácido láctico e seus derivados (sais e ésteres), possuem várias aplicações: como acidulantes de alimentos, na agricultura, em rações animais para promover fermentação correta no estômago, na indústria têxtil como solubilizante e como agente controlador de pH. (MARTINDALE, 1993).

O ácido poliláctico é utilizado na medicina como polímero biodegradável. É um ácido de sabor suave e também age como conservante de carnes em soluções a 2%. (AL-SHAMMARY et al.,1993).

Os sais de ácido láctico, por exemplo, lactato e sais de amônio, são utilizados amplamente, adicionados de alumínio e magnésio, cobre, zinco, ferro e zircônio na terapêutica e na indústria cosmética.

Os ésteres de ácido láctico são empregados como solventes para vernizes, nitrocelulose e compostos polivinílicos. O ácido láctico não possui toxicidade, porém pode causar certo desconforto em contato com os olhos e ocasionar rachaduras na pele.

2.10. CONSIDERAÇÕES TEÓRICAS SOBRE OS MÉTODOS ANALÍTICOS EMPREGADOS NA PESQUISA

2.10.1. Espectrofotometria no ultravioleta e no visível

A fim de obter informação útil do espectro de uma substância no ultravioleta ou no visível, deve-se medir o comprimento de onda de absorção máxima (λ_{max}) e a intensidade de absorção. A substância deve ser dissolvida em um solvente apropriado que não absorva luz na região estudada. As células de uso comum têm 1,0 cm de espessura e são de quartzo. Os espectrofotômetros fornecem um gráfico da intensidade da luz transmitida ou absorvida em função do comprimento de onda. A fonte de luz mais apropriada para a região do ultravioleta é a lâmpada de descarga de hidrogênio (180-400 nm). Na região visível usa-se uma lâmpada de filamento de tungstênio (400-800 nm) (EWING, 1972).

Em um espectrofotômetro, a potência de um feixe de luz transmitido pela solução do analito é comparada com a potência do feixe transmitido por uma célula idêntica contendo apenas o solvente. A transmitância ou absorbância experimentais são obtidas através das equações:

$$T = P/P_0 \quad A = \log P_0/P$$

Onde P_0 e P , referem-se às potências da radiação após passagem através de células contendo respectivamente o solvente e o analito (SKOOG e col., 2002).

A potência da radiação será menor quanto mais ela penetrar no líquido e quanto maior for a concentração do analito. O enunciado quantitativo dessa relação é a lei de Lambert-Beer: aumento sucessivo no número de moléculas de igual poder de absorção situadas no percurso de um feixe de radiação monocromática absorvem iguais frações da energia radiante dos raios que os atravessa (EWING, 1972). A lei de Beer possui algumas limitações práticas, tais como, limitações reais, desvios químicos e desvios instrumentais.

2.10.2. Espectrofotometria derivada no ultravioleta

A espectrofotometria derivada é uma operação matemática ao espectro direto. Pode ser de primeira derivada, é de grande utilidade para análises qualitativas e quantitativas, desde que, freqüentemente esses gráficos revelam detalhes espectrais que não são observados em um espectro direto, devido à mistura de princípios ativos ou matriz complexa (SKOOG e col., 2002).

Para análise quantitativa, a lei de Beer é obedecida de acordo com a seguinte equação:

$$\frac{d^n A}{d\lambda^n} = \frac{d^n \epsilon}{d\lambda^n} l c$$

Onde A é a absorbância, ϵ é absortividade molar ($\text{l mol}^{-1} \text{ cm}$), l é o comprimento da célula (cm) e c a concentração do analito (mol l^{-1}) (SANCHEZ et al., 1988).

Em uma banda de absorção de forma gaussiana no espectro direto, a primeira derivada se anula no ponto referente ao máximo de absorção. É negativa onde a absorção decresce e é positiva onde a absorção aumenta. O espectro obtido pela segunda derivada se caracteriza por ter dois pontos de anulação, correspondentes ao máximo e mínimo da curva, separados por um mínimo obtido pelo ponto de anulação do espectro da primeira derivada. A curva de ordem n se anula n vezes, determinando n + 1 bandas alternadas positivas e negativas (HACKMANN e col., 1991).

O uso da espectrofotometria derivada em análise quantitativa é baseado no fato de que o sinal obtido é proporcional à concentração do analito. Para tanto, empregam-se alguns métodos escolhidos experimentalmente (HACKMANN e col., 1991), (LEVILLAIN and FOMPEYDIE, 1986):

2.10.3. Método zero-pico: nesta técnica, mede-se o valor da derivada em qualquer comprimento de onda, exceto nos pontos de anulação. A sensibilidade da medida varia fortemente com o local onde é efetuada. Implícita nesta técnica, está o método chamado método do ponto de anulação (“zero-crossing”), onde o valor absoluto da amplitude da derivada de uma curva composta (absorção de mais de uma substância), em um determinado comprimento de onda, corresponde ao ponto de anulação da derivada do interferente. Este método é utilizado, portanto, para eliminar erros sistemáticos provenientes de interferências específicas, mas é bastante sensível a pequenas alterações na posição da banda de interferente (HACKMANN e col., 1991), (LEVILLAIN and FOMPEYDIE, 1986).

2.10.4. Método pico-pico: neste método mede-se a diferença das amplitudes entre os valores das derivadas obtidas por um máximo e um mínimo contíguos. Esta técnica é susceptível às influências dos interferentes (HACKMANN e col., 1991).

2.10.5. Método da tangente: para a aplicação deste método, traça-se uma linha tangencial a dois máximos ou mínimos contíguos e mede-se a distância desta linha a um mínimo ou máximo intermediário (HACKMANN e col., 1991), (LEVILLAIN and FOMPEYDIE, 1986).

Para a validação de um método utilizando-se a espectrofotometria derivada, deve-se levar em conta alguns parâmetros escolhidos experimentalmente:

2.10.6. Ordem da derivada: para a obtenção de bons resultados, se deve escolher aquela que ofereça maior separação entre os picos, ou aquela que ofereça maior amplitude do máximo de absorbância (HACKMANN e col., 1991), (LEVILLAIN and FOMPEYDIE, 1986).

2.10.7. Delta lambda: é o aumento constante da variação do comprimento de onda utilizado para traçar a curva derivada de um espectro de absorção. Sabe-se que utilizando valores altos de delta lambda, a resolução da curva derivada diminui devido ao aumento do sinal-ruído, já que a razão entre o sinal emitido pelo aparelho e o ruído também é aumentada (HACKMANN e col., 1991), (LEVILLAIN and FOMPEYDIE, 1986).

2.10.8. Assentamento das ordenadas: este parâmetro está relacionado à largura das bandas de absorção no espectro direto, uma vez que a amplitude da curva derivada é inversamente proporcional a esta largura, ou seja, deve-se escolher aquela que proporcione maior amplitude (HACKMANN e col., 1991), (LEVILLAIN and FOMPEYDIE, 1986).

2.11. Metodologias analíticas existentes para determinação de ácido salicílico, resorcinol e ácido láctico

GÓMEZ e colaboradores (GÓMEZ, et al., 2003) descreveram uma metodologia analítica para determinar cloranfenicol, ácido salicílico e resorcinol em formulações cosméticas mediante eletroforese capilar de zona. A determinação foi feita em tampão de tetraborato-fosfato de sódio 50 mM, pH 9,0. Utilizou-se um tubo capilar de sílica fundida de 50 cm de comprimento efetivo, 75 µm de diâmetro interno, detecção UV a 225 e 298 nm, injeção hidrodinâmica a 0,5 psi durante 5 segundos e voltagem constante de 25 Kv. Os limites de detecção e de quantificação para o ácido salicílico e resorcinol foram de 0,42 e 1,42 e 1,25 e 4,26 µg/mL respectivamente.

GOTO e colaboradores (GOTO, et al., 1998) desenvolveram uma metodologia analítica para determinar ácido salicílico no soro humano mediante eletroforese capilar de zona. Os parâmetros fixados para determinação foram, voltagem constante de 25 Kv, detecção UV a 210 nm (arranjo de diodos), tampão 100 mM de ácido bórico (pH 8,8 ajustado com NaOH 1M). Usou-se um tubo capilar de sílica fundida de 56 cm de comprimento efetivo e a injeção foi realizada a vácuo a 50 mm Hg durante 20 seg. (100 nL). O limite de detecção foi de 10^{-6} g/mL.

GOU e ZHOU (GOU, X.J. and ZHOU M., 1998) desenvolveram uma metodologia analítica para determinação de resorcinol e ácido salicílico em tintura, após diluições com metanol. Utilizaram uma coluna cromatográfica C-18 (20 cm x 4,6 mm), fase móvel constituída por metanol-água-ácido acético (500:500:9), vazão de 1 mL/min e detecção UV a 285 nm. A faixa linear estudada foi de 0,05 a 0,25 g/L e 0,025 a 0,127 g/L para resorcinol e ácido salicílico respectivamente. O limite de detecção foi de 0,2 mg/L para ambas substâncias.

MIKAMI e colaboradores (MIKAMI et al., 2002) desenvolveram uma metodologia cromatográfica para determinação simultânea de alguns ácidos usados em produtos cosméticos. Usou-se a técnica cromatográfica em fase reversa empregando hidróxido de tetrabutilamônio (TBA) como reagente de par iônico. A extração em fase sólida do ácido salicílico foi feita mediante cartuchos Bond-Elut SI[®]. A separação realizou-se em uma coluna C-18 (15 cm x 4,6 mm), fase móvel constituída por água e metanol (65/35, v/v/) contendo 2,5 mM de hidróxido de TBA ajustado a pH 7 com ácido fosfórico e detecção UV a 235 nm. O limite de detecção para o ácido salicílico foi de 5,5 ng.

ZENON e BURDA (KOKOT Z., and BURDA K., 1998) desenvolveram uma metodologia simples e rápida para determinação de ácido salicílico em aspirina por espectrofotometria derivada de segunda ordem. A técnica de quantificação empregada foi “zero crossing” e o solvente, acetonitrila-ácido fórmico (99:1).

ADAMS e MILLER (ADAMS S. and MILLER J.H.M 1978) determinaram o ácido salicílico e ácido benzóico por espectrofluometria em cremes, ungüentos e soluções aquosas. As condições do equipamento para determinação do ácido salicílico foram: comprimento de onda de excitação 315 nm, comprimento de onda de emissão 445 nm e sensibilidade de 3. A porcentagem de recuperação do ácido salicílico em presença do ácido benzóico foi de 97,7% com coeficiente de variação de 0,68%.

DAS (DAS G.V., 1971) propôs uma metodologia simples para determinação quantitativa do ácido salicílico em ungüentos. A metodologia baseia-se na titulação direta com solução padrão de hidróxido de sódio 0,1 N, utilizando água destilada a 70 °C como solvente e vermelho de fenol como indicador.

BARKER (BARKER, 1957) desenvolveu um método colorimétrico para quantificar o ácido láctico. A metodologia analítica baseia-se na conversão quantitativa do ácido láctico a acetaldeído em presença de ácido sulfúrico concentrado. Após conversão, o acetaldeído é determinado pela formação de cor roxa com p-hidroxidifenil. Esta metodologia foi aplicada a amostras biológicas contendo proteínas. As leituras foram realizadas em colorímetro, usando um filtro com pico de transmissão a 560 nm.

SHARMAN (SHARMAN, 1997) desenvolveu e validou uma metodologia analítica para determinação do ácido láctico e seus polímeros em formulações dermatológicas mediante eletroforese capilar. As condições foram: injeção hidrodinâmica (0,5 psi durante 3 seg.), tubo capilar de sílica fundida de 50 cm de comprimento efetivo, 75 µm de diâmetro interno, eletrólito constituído por 4mM de ácido 4-metoxibenzoico, 38 mM de hidroximetil metil amina e 1 mM de brometo de tetradeciltrimetilamonio, voltagem de 30 kV, temperatura de 25 °C e detecção indireta UV a 254 nm.

HUANG e colaboradores (HUANG, et al., 2002) realizaram a determinação de alfa hidroxiácidos em cosméticos mediante cromatografia líquida de alta eficiência. Usaram uma coluna cromatográfica C-18 (25 cm x 4,6 mm), fase móvel constituída por ácido fosfórico 2% (pH 2), detecção UV a 210 nm (arranjo de diodos) e vazão de 0,5 mL/min. A faixa linear para o ácido láctico foi de 25 a 500 µg/mL com coeficiente de correlação de 0,9992 e limite de detecção de 5 µg/mL. As amostras pesquisadas foram cremes e loções.

MOLEVER (MOLEVER, 2002) descreve uma metodologia analítica para determinação de alfa e beta hidroxiácidos simultaneamente por cromatografia em fase gasosa. As amostras foram dissolvidas e acidificadas com N,N-dimetil formamida. Após extração os analitos foram derivatizados com N,O-Bis(trimetilsilil) trifluoracetamida (BSTFA) e quantificados. O detector usado foi o de ionização em chama.

STANIFORTH e colaboradores (STANIFORTH et al., 1999) realizaram a comparação de três metodologias analíticas para determinação quantitativa do ácido láctico e seus polímeros. As metodologias estudadas foram “headspace” cromatografia em fase gasosa, “on-column” cromatografia em fase gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência (exclusão iônica). A cromatografia em fase gasosa “headspace” foi desenvolvida em uma coluna CP-WAX 52CB (25 m x 0,25 mm), o programa da temperatura do forno começou a 70 °C durante 3 min, intervalo de 6 °C/min até 180 °C durante 3 min e detecção por espectrometria de massas. Na metodologia por cromatografia em fase gasosa “on-column” foi empregada uma coluna CP-Sil 5CB (25 m x 0,25 mm). O programa da temperatura do forno começou a 40 °C, intervalo de 6 °C/min até 180 °C durante 5 min e detecção por espectrometria de massas. O método cromatográfico foi realizado em uma coluna PS-DVB (divinilbenzeno) (30 cm x 0,65 cm), fase móvel constituída de ácido sulfúrico 0,05 mM, vazão 0,7 mL/min e detecção UV a 214 nm.

OKUBO e colaboradores (OKUBO et al., 2000) desenvolveram uma metodologia analítica para determinação enantiomérica do ácido láctico (formas D e L) em fluido cerebrospinal mediante cromatografia líquida de alta eficiência com fase estacionária quiral e detecção UV. Antes da análise das amostras, cartuchos de extração em fase sólida (Oasis[®] HLB Plus) foram empregados para eliminar as proteínas. A separação realizou-se em uma coluna Shodex ORpac CRX-453 B (10 cm x 4,6 mm), fase móvel constituída por 1 mM CuSO₄-metanol (9:1 v/v), vazão de 0,3 mL/min, temperatura de 35 °C e detecção UV a 250 nm. Os limites de detecção para o L-lactato e D-lactato foram 1,0 pmol e 1,5 pmol respectivamente.

AFKHAMI e KHATAMI (AFKHAMI and KHATAMI, 2001), desenvolveram um método espectrofotométrico para determinar resorcinol, catecol e hidroquinona. O método baseia-se na reação dos analitos com nitrito (solução de nitrito de sódio) em meio ácido (ácido sulfúrico 4,8 M). Após reação, adicionaram o indicador (vermelho neutro) para posteriormente ler as soluções a 530 nm. O método foi aplicado em formulações farmacêuticas (ungüentos) tendo o teor de resorcinol em média 101,5% e o limite de detecção de 0,05 µg/mL. A faixa linear estudada compreendia entre 0,10 e 2,00 µg/mL.

PALMISANO e colaboradores (PALMISANO et al., 1986) determinaram o resorcinol no soro e urina humanas mediante cromatografia líquida de alta eficiência. A separação foi realizada em uma coluna C-18 (25 cm x 4,6 mm), fase móvel constituída por tampão fosfato 0.05 M (pH 6,4-acetonitrila (17:3 v/v), vazão de 1,5 mL/min e detecção amperométrica. O limite de detecção foi de aproximadamente 0,2 pmol. A exatidão do método no soro e na urina foi de 88,0 e 75,9 %, respectivamente.

SEN-AK (SEN-AK, 1990) determinou conjuntamente resorcinol e fenol em preparações farmacêuticas mediante cromatografia líquida de alta eficiência. Foi empregada uma coluna cromatográfica C-18 (30 cm x 3,9 mm), fase móvel constituída por metanol-água (70-30 v/v), vazão de 2 mL/min e detecção no UV a 254 nm.

SANE e colaboradores (SANE et al., 1983) desenvolveram uma metodologia analítica para determinar resorcinol. Às soluções de resorcinol foram agregadas soluções de 2-propanol, K₂CO₃ 0,1 M e catecol 0,2%. Após reação (20 min), as leituras das absorbâncias foram feitas a 558 nm. A lei de Beer foi obedecida na faixa entre 0,8 e 8,0 µg/mL. O método foi aplicado na determinação do resorcinol em ungüentos, loções e cremes farmacêuticos.

2.12. Aplicações farmacêuticas da análise térmica

A análise térmica abrange um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física da substância e/ou de seus produtos de reação é medida como função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura (HAINES, 1995).

O interesse das aplicações dessas técnicas na área de fármacos e medicamentos vem crescendo mundialmente nos últimos anos devido à obtenção de dados relevantes ao processo industrial e a estabilidade de medicamentos, possibilitando a análise geral da amostra em tempo relativamente curto. As principais técnicas termoanalíticas aplicadas aos fármacos e medicamentos são a calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria(TG) e a termogravimetria derivada(DTG).

Através destas técnicas podem ser feitas observações importantes sobre a compatibilidade entre fármaco-fármaco e fármaco-excipiente, no desenvolvimento de formulações, determinação da fusão, avaliação do grau de pureza, transições cristalinas e vítreas, calor de transição, reação e mecanismo da cinética de decomposição térmica, caracterização de polimorfos, equivalência farmacêutica, entre outras aplicações. (FORD and TIMMINS, 1989).

O exemplo mais evidente da importância que as técnicas termoanalíticas adquiriram nas últimas décadas está no número de publicações anuais de artigos relacionados com aplicações dessas técnicas em química, farmácia e outros setores científicos e tecnológicos.

3. Objetivos

3. OBJETIVOS DA PESQUISA

Os objetivos da pesquisa foram:

3.1. Caracterizar os princípios ativos ácido salicílico, resorcinol e ácido láctico, mediante técnicas espectrométricas, físico-químicas e termoanalíticas.

3.2 Validar métodos analíticos empregando a espectrofotometria direta e derivada no UV para determinação quantitativa do ácido salicílico e resorcinol contidos nas formulações selecionadas, utilizadas para “peelings químicos”.

3.3. Aplicar os métodos validados na análise e controle de qualidade de amostras manipuladas empregadas para “peelings” químicos.

4. Planejamento da Pesquisa

4. PLANEJAMENTO DA PESQUISA

A pesquisa foi planejada para ser executada nas seguintes etapas:

1. Revisão bibliográfica: inicial e durante todo o período de execução do projeto;
2. Caracterização das matérias-primas a serem empregadas para a preparação das amostras;
3. Preparação e padronização de formulações para incorporação dos princípios ativos;
4. Validação dos métodos analíticos;
5. Identificação e determinação quantitativa das substâncias ativas contidas nas formulações empregando o método por espectrofotometria derivada no UV;
6. Análise estatística dos resultados;
7. Redação e montagem final da dissertação.

4.1 – Fluxograma do Planejamento da Pesquisa

5. Material e Métodos

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Material

5.1.1. Solventes e soluções

- Etanol absoluto marca Labsynth[®]
- Água ultra pura (MilliQ[®])
- Ácido sulfúrico 96-98 % grau analítico (Merck[®])
- Solução de ácido sulfúrico 0,1 N
- Água destilada
- Álcool etílico P A 95%.

5.1.2. Substâncias empregadas como padrões

- Ácido salicílico marca Labsynth[®] (São Paulo/Brasil) teor de pureza 99%
- Resorcinol marca Labsynth[®] (São Paulo/Brasil) teor de pureza 99-100,5%
- Ácido láctico marca Labsynth[®] (São Paulo/Brasil) teor de pureza 85-90%

5.1.3. Matérias-primas

Quadro 8 - Matérias-primas utilizadas nas formulações manipuladas e seus respectivos fornecedores.

MATÉRIA-PRIMA	FORNECEDOR
EDTA	Natural-Pharma
Hidroxietilcelulose	Natural-Pharma
Metabissulfito de sódio	Natural-Pharma
Mistura de parabenos (butilparabeno, etilparabeno, metilparabeno e propilparabeno) com fenoxietanol	Natural-Pharma
Propilenoglicol	Galena
Vitamina C	Galena
Vitamina E	Pharmaspecial

5.1.4. Formulações estudadas

5.1.4.1. Solução de Jessner (A e B)

Composição	% p/v
Ácido salicílico	14%
Ácido láctico	14%
Resorcinol	14%
Álcool etílico 96 °GL.	q.s.p. 100 mL

A = Amostra simulada, pH = 1,4

B = Amostra manipulada (Farmácia de manipulação), pH = 1,4

5.1.4.2. Gel base (placebo)

Composição	% p/v
Hidroxietilcelulose	2%
Mistura de parabenos com fenoxietanol	0,2%
Água destilada	q.s.p. 100g

5.1.4.3. Gel de ácido salicílico 20% (C e D) – Gel base + Solução de ácido salicílico 75%

Composição	% p/v
Ácido salicílico	20%
Gel base	80%

C = Amostra simulada, pH = 2,2

D = Amostra manipulada (Farmácia de manipulação), pH = 2,2

5.1.4.3.1. Solução de ácido salicílico 75%

Composição	% p/v
Ácido salicílico	75%
Vitamina C	1%
Vitamina E	1%
Metabissulfito de sódio	10%
EDTA	0,5%
Propilenoglicol	q.s.p. 100 mL

(1) = Vitamina C + vitamina E; (2) = Metabissulfito de sódio + EDTA;

(3) = Propilenoglicol + (1); (4) = (3) + (2)

5.1.4.4. Gel de resorcinol 30% (E e F) – Gel base + Solução de resorcinol 75%

Composição	% p/v
Resorcinol	30%
Gel base	70%

E = Amostra simulada, pH = 2,4

F = Manipulada (Farmácia de manipulação), pH = 2,4

5.1.4.4.1. Solução de resorcinol 75%

Composição	% p/v
Resorcinol	75%
Vitamina C	1%
Vitamina E	1%
Metabissulfito de sódio	10%
EDTA	0,5%
Propilenoglicol	q.s.p. 100 mL

(1) = Vitamina C + vitamina E; (2) = Metabissulfito de sódio + EDTA;

(3) = Propilenoglicol + (1); (4) = (3) + (2)

5.1.5. Preparação das amostras

As formulações objeto de estudo, descritas anteriormente, foram preparadas de acordo com os procedimentos descritos a seguir.

5.1.5.1. Preparação da solução de Jessner

Por tratar-se de uma solução, os fármacos foram adicionados e solubilizados 50 mL de álcool etílico conforme a seqüência descrita e representada no item amostras. É importante lembrar, que por tratar-se de uma solução peso/volume, o volume de álcool etílico para completar-se 100 mL de solução foi realizado como procedimento final.

5.1.5.2. Preparação do gel base

Para o preparo do gel base e obedecendo a fórmula proposta e representada pelo item placebo (gel base), aqueceu-se a devida quantidade de água até aproximadamente 70°C juntamente com o sistema de conservantes, a seguir, adicionou-se a hidroxietilcelulose sob agitação constante. Manteve-se a preparação sob aquecimento e agitação até atingir-se a viscosidade característica para este tipo de gel.

5.1.5.3. Preparação das amostras em géis

Foi preparada quantidade necessária de gel base (15g) e adicionada sob constante agitação o volume preciso da solução de ácido salicílico a 75% até homogeneização (15 g de ácido salicílico a 20% equivale à solução de ácido salicílico 75% mais 80 % do gel base). O mesmo procedimento foi realizado com a solução de resorcinol 75%, onde 15g de gel de resorcinol a 30% equivale a uma solução de resorcinol 75% incorporada no gel base a 70%.

5.1.6. Equipamentos

- Espectrofotômetro Shimadzu[®], modelo UV-1601, munido de cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico e acoplado a computador e impressora.
- Espectrofotômetro Infravermelho Bomem[®], modelo Michelson.
- Aparelho para determinação de ponto de fusão Stuart Scientific[®], modelo SMP1.
- Aparelho de ultra-som, Thornton[®], modelo T-14.
- Termobalança Shimadzu[®] modelo TGA 50.
- Célula Shimadzu[®] modelo DSC 50.
- Cadinho de alumínio.
- Cadinho de platina.
- Aparelho MilliQ-Plus Millipore[®];
- Balança analítica Mettler Toledo[®], modelo AB 204.

5.2. Métodos

5.2.1. Caracterização da matéria-prima

5.2.1.1. Espectroscopia de Absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

É uma técnica instrumental que possibilita a caracterização e identificação de uma determinada substância a partir do espectro de absorção. Os espectros de absorção na região do infravermelho para as amostras de ácido salicílico e resorcinol foram obtidos mediante o preparo de uma dispersão de ácido salicílico e resorcinol separadamente em pastilhas de KBr. No caso da amostra de ácido láctico, no estado líquido, foi obtida através do método em filme.

5.2.1.2. Análise térmica

5.2.1.2.1. CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

As curvas DSC foram obtidas empregando a célula DSC 50, da marca Shimadzu, no intervalo de temperatura de 25 a 400 °C. Utilizou-se cadinho de alumínio parcialmente fechado, massa de amostra aproximadamente 2,0 mg, razão de aquecimento de 10 °C/min e atmosfera dinâmica de nitrogênio (100 mL/min). A calibração dessa instrumentação foi verificada, utilizando os padrões de Índio metálico $T_{\text{fusão}} = 156,4^{\circ}\text{C}$ e $\Delta H_{\text{fusão}} = 28,5 \text{ J/g}$ e Zinco metálico $T_{\text{fusão}} = 419,6^{\circ}\text{C}$ e $\Delta H_{\text{fusão}} = 108,0 \text{ J/g}$.

5.2.1.2.2. TERMOGRAVIMETRIA / TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (TG/ DTG)

As curvas TG/DTG foram obtidas a partir da termobalança modelo TGA 50 da marca Shimadzu, utilizando cadinho de platina, massa de amostra de aproximadamente 3,0 mg, atmosfera dinâmica de ar (50 mL/min) e razão de aquecimento de 2 °C/min até 120 °C e 10 °C/min até 250 °C. Preliminarmente, foi realizada a verificação da calibração, utilizando um padrão de oxalato de cálcio monohidratado.

5.2.1.3. Faixa de fusão

Reduziu-se a amostra (ácido salicílico e resorcinol) a pó fino e encheu-se um tubo capilar de vidro com uma das extremidades selada até cerca de 3,0 mm de altura. Colocou-se o tubo capilar no aparelho para determinação do ponto de fusão e começou-se o aquecimento a uma temperatura de 5° C/min. Quando a temperatura ficou 10° C abaixo do começo da fusão, reduziu-se a velocidade de aquecimento a cerca de 1° C/min. A temperatura na qual a coluna da amostra fundiu-se sobre a parede do tubo em qualquer ponto, foi definida como o início de fusão, e a temperatura na qual a amostra tornou-se completamente líquida, foi definida como o final de fusão ou o ponto de fusão. As duas temperaturas caíram dentro dos limites da faixa de fusão dos resultados.

5.3. Espectrofotometria direta no ultravioleta para determinação do ácido salicílico na solução de Jessner

5.3.1. Linearidade

Pesquisa da concentração de menor erro pelo método espectrofotométrico direto no ultravioleta.

5.3.2. Parâmetros estabelecidos

Solvente:	Etanol absoluto
Velocidade de varredura:	370 nm/min
Assentamento das ordenadas:	0,00 – 1,00
Intervalo de varredura:	200 – 400 nm

5.3.3. Construção da curva de Ringbom do ácido salicílico em etanol absoluto

Para a construção da curva de Ringbom foram pesados exatamente cerca de 100,0 mg de ácido salicílico padrão, e transferidos para balão volumétrico de 100 mL adicionando uma quantidade de etanol absoluto para dissolução com o auxílio de ultra-som por um minuto. Em seguida, completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se uma solução com concentração de 1000,0 µg/mL. A seguir, transferiram-se 25,0 mL desta primeira solução para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com etanol absoluto. Desta última solução transferiram-se 25,0 mL para balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com etanol absoluto, obtendo-se uma solução de concentração analítica de 50,0 µg/mL de ácido salicílico.

Da última solução foram transferidas 20 alíquotas cujos volumes variavam entre 1,0 a 20,0 mL para balões volumétricos de 25 mL. Os volumes destes balões foram completados com etanol absoluto, obtendo-se assim soluções com intervalo de concentração entre 2,0 a 40,0 µg/mL de ácido salicílico. As leituras das absorbâncias foram efetuadas a 304,4 nm, após o aparelho ter sido calibrado com etanol absoluto utilizado como branco. A partir dos resultados obtidos construiu-se a curva de Ringbom.

5.3.4. Construção da curva de calibração do ácido salicílico em etanol absoluto

Foram utilizadas para a construção da curva de calibração as leituras das absorbâncias determinadas no intervalo de concentração entre 12,0 e 24,0 µg/mL de ácido salicílico. Calcularam-se o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação através do método dos mínimos quadrados.

5.3.5. Pesquisa de interferentes

Determinou-se o espectro de etanol utilizando água como branco (solvente transparente na região ultravioleta) e determinaram-se os espectros do ácido salicílico, resorcinol e ácido láctico em etanol absoluto.

5.4. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do ácido salicílico na solução de Jessner

5.4.1. Parâmetros estabelecidos

Solvente:	Etanol absoluto
Ordem da derivada:	1ª ordem
Delta lambda ($\Delta\lambda$):	2 nm
Velocidade de varredura:	370 nm/min
Assentamento das ordenadas:	-1,00 – 1,00
Intervalo de varredura:	200 – 400 nm
Concentração analítica:	12,0 µg/mL a 24,0 µg/mL
Método de quantificação:	ponto de anulação

5.4.2. Construção da curva de calibração do ácido salicílico em etanol absoluto

Foram pesados exatamente cerca de 100,0 mg de ácido salicílico e transferidos para balão volumétrico de 50 mL, adicionou-se quantidade suficiente de etanol até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. A seguir transferiram-se 5,0 mL desta primeira solução para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com etanol. Desta ultima solução, foram transferidas 7 alíquotas, cujos volumes variavam entre 6,0 e 12,0 mL para balões volumétricos de 100 mL. Os volumes destes balões foram completados com etanol, obtendo-se

assim, soluções com intervalo de concentração variável entre 12,0 e 24,0 µg/mL de ácido salicílico.

Após o aparelho ter sido calibrado com etanol, realizou-se a varredura das soluções no intervalo de 200 a 400 nm. A partir destes espectros traçaram-se as derivadas de 1ª ordem, sendo feitas as leituras a 320,0 nm. Determinaram-se o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação da curva. Os cálculos foram efetuados pelo método dos mínimos quadrados.

5.4.3. Pesquisa de interferentes

Determinou-se o espectro de etanol utilizando água como branco (solvente transparente na região ultravioleta) e determinaram-se os espectros do ácido salicílico, resorcinol e ácido láctico em etanol absoluto. Em seguida traçou-se a derivada de primeira ordem.

5.4.4. Determinação do teor de ácido salicílico na solução de Jessner

5.4.4.1. Preparação da solução padrão

Foi utilizado como padrão a média aritmética das leituras de três soluções com concentrações de 17,92 µg/mL de ácido salicílico. Pesaram-se exatamente cerca de 22,4 mg de ácido salicílico que foram transferidos para balão volumétrico de 50 mL. Adicionou-se quantidade suficiente de etanol até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. A seguir transferiram-se (em triplicata) 4,0 mL para balões volumétricos de 100 mL e completaram-se os volumes com etanol. Após o aparelho ter sido calibrado com etanol, realizou-se a varredura das soluções no intervalo de 200 a 400 nm. A partir destes espectros traçaram-se as derivadas de 1ª ordem, sendo feitas as leituras a 320,0 nm.

5.4.4.2. Preparação da solução da amostra

Foi transferida da solução de Jessner 4,0 mL para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se etanol até a marca, obtendo-se uma solução de concentração de 5600,0 µg/mL. Transferiu-se uma alíquota de 4,0 mL para balão volumétrico de 50 mL e desta última solução transferiu-se uma alíquota de 4,0 mL para balão volumétrico de 50 mL. As concentrações analíticas foram de 17,92 µg/mL de ácido salicílico. Após homogeneização das soluções preparadas previamente e calibração do aparelho com etanol como branco, determinaram-se os espectros de absorção das soluções, traçaram-se as derivadas de 1ª ordem e fizeram-se as leituras a 320,0 nm. Foram realizadas dez determinações e os resultados analisados estatisticamente.

5.4.5. Teste de recuperação

5.4.5.1. Preparação da solução padrão

Foram pesados exatamente cerca de 35,0 mg de ácido salicílico e transferidos para balão volumétrico de 50 mL, adicionou-se quantidade suficiente de etanol até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. Transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com etanol. A concentração final obtida foi de 70,0 µg/mL de ácido salicílico.

5.4.5.2. Preparação da solução amostra

Foi transferida da solução de Jessner, previamente homogeneizada, uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 100 mL. Transferiu-se alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 100 mL, desta última diluição. Transferiu-se uma alíquota de 10,0 mL para balão volumétrico de 50 mL e adicionou-se etanol até a marca, obtendo-se uma solução de concentração de 70,0 µg/mL.

5.4.5.3. Procedimento

Alíquotas das soluções das amostras e padrão foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL, completando-se o volume com etanol conforme o esquema a seguir:

Balão	Solução padrão 70,0 µg/mL (mL)	Solução amostra 70,0 µg/mL (mL)
1	10,0	---
2	---	10,0
3	2,0	10,0
4	3,0	10,0
5	5,0	10,0

Determinaram-se os espectros de absorção das soluções, traçaram-se as derivadas de 1ª ordem e fizeram-se as leituras a 320,0 nm.

5.4.6. Determinação do limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram determinados utilizando-se soluções padrão de baixa concentração, considerando a capacidade do método para detectar e quantificar baixas concentrações de ácido salicílico nas amostras manipuladas.

Foram preparadas soluções contendo 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10 µg/mL de ácido salicílico,. Foram efetuadas três leituras para cada concentração e calculado o desvio padrão entre os resultados obtidos.

O cálculo para o LD e LQ foi realizado segundo as fórmulas (SWARTZ e KRULL, 1998):

$$LD = \frac{\text{Desvio padrão médio}}{\text{Inclinação da curva de calibração}} \times 3$$

$$LQ = \frac{\text{Desvio padrão médio}}{\text{Inclinação da curva de calibração}} \times 10$$

5.5. Espectrofotometria direta no UV para determinação do resorcinol na solução de Jessner

5.5.1. Construção da curva de Ringbom do resorcinol em etanol absoluto

Para a construção da curva de Ringbom foram pesados exatamente cerca de 100,0 mg de resorcinol padrão, e transferidos para balão volumétrico de 100 mL adicionando uma quantidade de etanol absoluto para dissolução com o auxílio de ultra-som por um minuto. Em seguida, completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se uma solução com concentração de 1000,0 µg/mL. A seguir, transferiram-se 25,0 mL desta primeira solução para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com etanol absoluto. Desta última solução transferiram-se 25,0 mL para balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com etanol absoluto, obtendo-se uma solução de concentração analítica de 50,0 µg/mL de resorcinol.

Da última solução foram transferidas 20 alíquotas cujos volumes variavam entre 1,0 a 20,0 mL para balões volumétricos de 25 mL. Os volumes destes balões foram completados com etanol absoluto, obtendo-se assim soluções com intervalo de concentração entre 2,0 a 40,0 $\mu\text{g/mL}$ de resorcinol. As leituras das absorbâncias foram efetuadas a 276,4 nm, após o aparelho ter sido calibrado com etanol absoluto utilizado como branco. A partir dos resultados obtidos construiu-se a curva de Ringbom.

5.5.2. Construção da curva de calibração do resorcinol em etanol absoluto

Foram utilizadas para a construção da curva de calibração as leituras das absorbâncias determinadas no intervalo de concentração entre 22,0 e 34,0 $\mu\text{g/mL}$ de resorcinol. Calcularam-se o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação através do método dos mínimos quadrados.

5.5.3. Pesquisa de interferentes

Determinou-se o espectro de etanol utilizando água como branco (solvente transparente na região ultravioleta) e determinaram-se os espectros do ácido salicílico, resorcinol e ácido láctico em etanol absoluto.

5.6. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do resorcinol na solução de Jessner

5.6.1. Parâmetros estabelecidos

Solvente:	Etanol absoluto
Ordem da derivada:	2ª ordem
Delta lambda ($\Delta\lambda$):	2 nm
Velocidade de varredura:	370 nm/min
Assentamento das ordenadas:	-1,00 – 1,00
Intervalo de varredura:	200 – 400 nm
Concentração analítica:	22,0 µg/mL a 34,0 µg/mL
Método de quantificação:	ponto de anulação

5.6.2. Construção da curva de calibração do resorcinol na solução de Jessner

Foram pesados exatamente cerca de 100,0 mg de resorcinol e transferidos para balão volumétrico de 50 mL. Adicionou-se quantidade suficiente de etanol até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. A seguir transferiram-se 5,0 mL desta primeira solução para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com etanol. Desta ultima solução, foram transferidas 7 alíquotas, cujos volumes variavam entre 5,5 e 8,5 mL para balões volumétricos de 50 mL. Os volumes destes balões foram completados com etanol, obtendo-se assim, soluções com intervalo de concentração variável entre 22,0 e 34,0 µg/mL de resorcinol.

Após o aparelho ter sido calibrado com etanol, realizou-se a varredura das soluções no intervalo de 200 a 400 nm. A partir destes espectros traçaram-se as derivadas de 2ª ordem, sendo feitas as leituras a 280,0 nm. Determinaram-se o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação da curva. Os cálculos foram efetuados pelo método dos mínimos quadrados.

5.6.3. Pesquisa de interferentes

Determinou-se o espectro de etanol utilizando água como branco (solvente transparente na região ultravioleta) e determinaram-se os espectros do ácido salicílico, resorcinol e ácido láctico em etanol absoluto. Em seguida traçou-se a derivada de segunda ordem.

5.6.4. Determinação do teor de resorcinol na solução de Jessner

5.6.4.1. Preparação da solução padrão

Foi utilizado como padrão a média aritmética das leituras de três soluções com concentrações de 28,0 µg/mL de resorcinol. Pesaram-se exatamente cerca de 28,0 mg de resorcinol e transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se quantidade suficiente de etanol até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. A seguir transferiram-se (em triplicata) 5,0 mL para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com etanol. Após o aparelho ter sido calibrado com etanol, realizou-se a varredura das soluções no intervalo de 200 a 400 nm. A partir destes espectros traçaram-se as derivadas de 2ª ordem, sendo feitas as leituras a 280,0 nm.

5.6.4.2. Preparação da solução da amostra

Foi transferida da solução de Jessner 5,0 mL para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se etanol até a marca, obtendo-se uma solução de concentração de 7000,0 µg/mL. Transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 100 mL e desta última solução transferiu-se uma alíquota de 4,0 mL para balão volumétrico de 50 mL. As concentrações analíticas foram de 28,0 µg/mL de resorcinol. Após homogeneização das soluções preparadas anteriormente e calibração do aparelho com etanol como branco, determinaram-se os espectros de absorção das soluções. Traçaram-se as derivadas de 2ª ordem e fizeram-se as leituras a 280,0 nm. Foram realizadas dez determinações e os resultados analisados estatisticamente.

5.6.5. Teste de recuperação

5.6.5.1. Preparação da solução padrão

Foram pesados exatamente cerca de 28,0 mg de resorcinol e transferidos para balão volumétrico de 50 mL. Transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 50 mL, adicionou-se quantidade suficiente de etanol até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. A concentração final obtida foi de 56,0 µg/mL de resorcinol.

5.6.5.2. Preparação da solução amostra

Foi transferida da solução de Jessner, previamente homogeneizada, 5,0 mL para balão volumétrico de 100 mL. Transferiu-se uma alíquota de 4,0 mL para balão volumétrico de 100 mL. Desta solução, transferiu-se uma alíquota de 10,0 mL para balo volumétrico de 50 mL, adicionou-se etanol até a marca, obtendo-se uma solução de concentração de 56,0 µg/mL.

5.6.5.3. Procedimento

Alíquotas das soluções das amostras e padrão foram transferidas para balões volumétricos de 25 mL, completando-se o volume com etanol conforme o esquema a seguir:

Balão	Solução padrão 56,0 µg/mL (mL)	Solução amostra 56,0 µg/mL (mL)
1	10,0	---
2	---	10,0
3	1,0	10,0
4	2,0	10,0
5	3,0	10,0

Determinaram-se os espectros de absorção das soluções, traçaram-se as derivadas de 2ª ordem e fizeram-se as leituras a 280,0 nm.

5.6.6. Determinação do limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram determinados utilizando-se soluções padrão de baixa concentração, considerando a capacidade do método para detectar e quantificar baixas concentrações de resorcinol nas amostras manipuladas.

Foram preparadas soluções contendo 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10,0 µg/mL de resorcinol e efetuadas três leituras para cada concentração e calculado o desvio padrão entre os resultados obtidos.

O cálculo para o LD e LQ foi realizado segundo as fórmulas citadas no item 5.4.6.

5.7. Espectrofotometria direta no UV para determinação de ácido salicílico no gel de ácido salicílico 20%

5.7.1. Linearidade

Pesquisa da concentração de menor erro pelo método espectrofotométrico direto no ultravioleta.

5.7.2. Parâmetros estabelecidos

Solvente:	Ácido sulfúrico 0,1 N
Velocidade de varredura:	370 nm/min
Assentamento das ordenadas:	0,00 – 1,00
Intervalo de varredura:	200 – 400 nm

5.7.3. Construção da curva de Ringbom do ácido salicílico em ácido sulfúrico 0,1 N

Para a construção da curva de Ringbom foram pesados exatamente cerca de 100,0 mg de ácido salicílico padrão, e transferidos para balão volumétrico de 100 mL adicionando uma quantidade de ácido sulfúrico 0,1 N para dissolução com o auxílio de ultra-som por cinco minutos. Em seguida, completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se uma solução com concentração de 1000,0 µg/mL. Transferiram-se 25,0 mL desta primeira solução para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N. Desta última solução transferiram-se 25,0 mL para balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N, obtendo-se uma solução de concentração analítica de 50,0 µg/mL de ácido salicílico.

Da última solução foram transferidas 20 alíquotas cujos volumes variavam entre 1,0 a 20,0 mL para balões volumétricos de 25 mL. Os volumes destes balões foram completados com ácido sulfúrico 0,1 N, obtendo-se assim soluções com intervalo de concentração entre 2,0 a 40,0 µg/mL de ácido salicílico. As leituras das absorbâncias foram efetuadas a 303,0 nm, após o aparelho ter sido calibrado com ácido sulfúrico 0,1 N utilizado como branco. A partir dos resultados obtidos construiu-se a curva de Ringbom.

5.7.4. Construção da curva de calibração do ácido salicílico em ácido sulfúrico 0,1 N

Foram utilizadas para a construção da curva de calibração as leituras das absorbâncias determinadas no intervalo de concentração entre 8,0 e 32,0 µg/mL de ácido salicílico. Calcularam-se o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação através do método dos mínimos quadrados.

5.7.5. Pesquisa de interferentes

Realizou-se analisando soluções preparadas a partir do placebo (gel base), obtendo-se concentrações equivalentes a 16,0; 20,0 e 24,0 µg/ml de ácido salicílico. Foi pesado do gel base, o equivalente a 20,0 mg de ácido salicílico e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL. O volume foi completado com ácido sulfúrico 0,1 N. Transferiram-se alíquotas de 4,0; 5,0 e 6,0 mL para balões volumétricos de 50 mL.

Após homogeneização das soluções preparadas e calibração do aparelho com ácido sulfúrico 0,1 N como branco, determinaram-se os espectros de absorção no ultravioleta na faixa de 200 a 400 nm.

5.8. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do ácido salicílico no gel de ácido salicílico 20%

5.8.1. Parâmetros estabelecidos

Solvente:	Ácido sulfúrico 0,1 N
Ordem da derivada:	1ª ordem
Delta lambda ($\Delta\lambda$):	2 nm
Velocidade de varredura:	370 nm/min
Assentamento das ordenadas:	0,00 – 0,500
Intervalo de varredura:	200 – 400 nm
Concentração analítica:	8,0 µg/mL a 32,0 µg/mL
Método de quantificação:	ponto de anulação

5.8.2. Construção da curva de calibração do ácido salicílico em ácido sulfúrico 0,1 N

Foram pesados exatamente cerca de 100,0 mg de ácido salicílico e transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se quantidade suficiente de ácido sulfúrico 0,1 N até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. A seguir transferiram-se 10,0 mL desta primeira solução para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N. Desta última solução, foram transferidas 7 alíquotas, cujos volumes variavam entre 2,0 e 8,0 mL para balões volumétricos de 25 mL. Os volumes destes balões foram completados com ácido sulfúrico 0,1 N, obtendo-se assim, soluções com intervalo de concentração variável entre 8,0 e 32,0 µg/mL de ácido salicílico. Após o aparelho ter sido calibrado com solução de ácido sulfúrico 0,1 N, realizou-se a varredura das soluções no intervalo de 200 a 400 nm. A partir destes espectros traçaram-se as derivadas de 1ª ordem, sendo feitas as leituras a 317,2 nm.

Determinaram-se o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação da curva. Os cálculos foram efetuados pelo método dos mínimos quadrados.

5.8.3. Pesquisa de interferentes

Procedeu-se ao preparo das soluções do gel base em concentrações correspondentes a 16,0; 20,0 e 24,0 µg/mL de ácido salicílico conforme o ensaio realizado na espectrofotometria direta. Determinaram-se os espectros de absorção das soluções, traçaram-se as derivadas de 1ª ordem e fizeram-se as leituras a 317,2 nm.

5.8.4. Determinação do teor de ácido salicílico no gel de ácido salicílico 20%

5.8.4.1. Preparação da solução padrão

Foi utilizado como padrão a média aritmética das leituras de três soluções com concentrações de 20,0 µg/mL de ácido salicílico. Pesaram-se exatamente cerca de 20,0 mg de ácido salicílico e transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se quantidade suficiente de ácido sulfúrico 0,1 N até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. A seguir transferiram-se (em triplicata) 5,0 mL para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N. Após o aparelho ter sido calibrado com ácido sulfúrico 0,1 N, realizou-se a varredura das soluções no intervalo de 200 a 400 nm. A partir destes espectros traçaram-se as derivadas de 1ª ordem, sendo feitas leituras a 317,2 nm.

5.8.4.2. Preparação da solução da amostra

Foi pesado do gel, o equivalente a 20,0 mg de ácido salicílico e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL e o volume foi completado com ácido sulfúrico 0,1 N obtendo-se uma solução de concentração de 200,0 µg/mL. Transferiram-se alíquotas de 5,0 mL para balões volumétricos de 50 mL. A concentração analítica foi de 20,0 µg/mL de ácido salicílico.

Após homogeneização das soluções preparadas e calibração do aparelho com ácido sulfúrico 0,1 N, determinaram-se os espectros de absorção das soluções. Traçaram-se as derivadas de 1ª ordem e fizeram-se as leituras a 317,2 nm. Foram realizadas dez determinações e os resultados analisados estatisticamente.

5.8.5. Teste de recuperação

5.8.5.1. Preparação da solução padrão

Foram pesados exatamente cerca de 35,0 mg de ácido salicílico e transferidos para balão volumétrico de 50 mL. Adicionou-se quantidade suficiente de ácido sulfúrico 0,1 N até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. Transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N. A concentração final obtida foi de 70,0 µg/mL de ácido salicílico.

5.8.5.2. Preparação da solução da amostra

Foi pesado do gel, o equivalente a 70,0 mg de ácido salicílico e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL. O volume foi completado ácido sulfúrico 0,1 N obtendo-se uma solução de concentração de 700,0 µg/mL. Transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N. A concentração final obtida foi de 70,0 µg/mL de ácido salicílico.

5.8.5.3. Procedimento

Alíquotas das soluções das amostras e padrão foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL, completando-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N conforme o esquema a seguir:

Balão	Solução padrão 70,0 µg/mL (mL)	Solução amostra 70,0 µg/mL (mL)
1	10,0	---
2	---	10,0
3	4,0	10,0
4	5,0	10,0
5	10,0	10,0

Determinaram-se os espectros de absorção das soluções, traçaram-se as derivadas de 1ª ordem e fizeram-se as leituras a 317,2 nm.

5.8.6. Determinação do limite de detecção e de quantificação

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram determinados utilizando-se soluções padrão de baixa concentração, considerando a capacidade do método para detectar e quantificar baixas concentrações de ácido salicílico no gel.

Foram preparadas soluções contendo 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10,0 µg/mL de ácido salicílico. Foram efetuadas três leituras para cada concentração e calculado o desvio padrão entre os resultados obtidos.

O cálculo para o LD e LQ foi realizado segundo as fórmulas citadas no item 5.4.6.

5.9. Espectrofotometria direta no UV para determinação do resorcinol no gel de resorcinol 30%

5.9.1. Linearidade

Pesquisa da concentração de menor erro pelo método espectrofotométrico direto no ultravioleta.

5.9.2. Parâmetros estabelecidos

Solvente:	Ácido sulfúrico 0,1 N
Velocidade de varredura:	370 nm/min
Assentamento das ordenadas:	0,00 – 1,00
Intervalo de varredura:	200 – 400 nm

5.9.3. Construção da curva de Ringbom do resorcinol em ácido sulfúrico 0,1 N

Para a construção da curva de Ringbom foram pesados exatamente cerca de 100,0 mg de resorcinol padrão, e transferidos para balão volumétrico de 100 mL adicionando uma quantidade de ácido sulfúrico 0,1 N para dissolução com o auxílio de ultra-som por um minuto. Em seguida, completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se uma solução com concentração de 1000,0 µg/mL. A seguir, transferiram-se 25,0 mL desta primeira solução para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N. Desta última solução transferiram-se 25,0 mL para balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N, obtendo-se uma solução de concentração analítica de 50,0 µg/mL de resorcinol.

Da última solução foram transferidas 20 alíquotas cujos volumes variavam entre 1,0 a 20,0 mL para balões volumétricos de 25 mL, os volumes destes balões foram completados com ácido sulfúrico 0,1 N, obtendo-se assim soluções com intervalo de concentração entre 2,0 a 40,0 µg/mL de resorcinol. As leituras das absorbâncias foram efetuadas a 273,4 nm, após o aparelho ter sido calibrado com ácido sulfúrico 0,1 N utilizado como branco. A partir dos resultados obtidos construiu-se a curva de Ringbom.

5.9.4. Construção da curva de calibração do resorcinol em ácido sulfúrico 0,1 N

Foram utilizadas para a construção da curva de calibração as leituras das absorbâncias determinadas no intervalo de concentração entre 18,0 e 42,0 µg/mL de resorcinol. Calcularam-se o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação através do método dos mínimos quadrados.

5.9.5. Pesquisa de interferentes

Realizou-se analisando soluções preparadas a partir do placebo (gel base), obtendo-se concentrações equivalentes a 24,0; 30,0 e 36,0 µg/ml de resorcinol. Foi pesado do gel base, o equivalente a 30,0 mg de ácido salicílico e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL. O volume foi completado com ácido sulfúrico 0,1 N. Transferiram-se alíquotas de 4,0; 5,0 e 6,0 mL para balões volumétricos de 50 mL.

Após homogeneização das soluções preparadas e calibração do aparelho com ácido sulfúrico 0,1 N como branco, determinaram-se os espectros de absorção no ultravioleta na faixa de 200 a 400 nm.

5.10. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do resorcinol no gel de resorcinol 30%

5.10.1. Parâmetros estabelecidos

Solvente:	Ácido sulfúrico 0,1 N
Ordem da derivada:	1ª ordem
Delta lambda ($\Delta\lambda$):	2 nm
Velocidade de varredura:	370 nm/min
Assentamento das ordenadas:	0,00 – 0,500
Intervalo de varredura:	200 – 400 nm
Concentração analítica:	18,0 µg/mL a 42,0 µg/mL
Método de quantificação:	ponto de anulação

5.10.2. Construção da curva de calibração do resorcinol em ácido sulfúrico 0,1 N

Foram pesados exatamente cerca de 100,0 mg de resorcinol e transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se quantidade suficiente de ácido sulfúrico 0,1 N até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. A seguir transferiram-se 25,0 mL desta primeira solução para balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N. Desta última solução, foram transferidas 7 alíquotas, cujos volumes variavam entre 9,0 e 21,0 mL para balões volumétricos de 50 mL. Os volumes destes balões foram completados com ácido sulfúrico 0,1 N, obtendo-se assim, soluções com intervalo de concentração variável entre 18,0 e 42,0 µg/mL de resorcinol. Após o aparelho ter sido calibrado com solução de ácido sulfúrico 0,1 N, realizou-se a varredura das soluções no intervalo de 200 a 400 nm. A partir destes espectros traçaram-se as derivadas de 1ª ordem, sendo feitas as leituras a 257,6 nm.

Determinaram-se o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação da curva. Os cálculos foram efetuados pelo método dos mínimos quadrados.

5.10.3. Pesquisa de interferentes

Procedeu-se ao preparo das soluções do gel base em concentrações correspondentes a 24,0; 30,0 e 36,0 µg/mL de resorcinol conforme o ensaio realizado na espectrofotometria direta. Determinaram-se os espectros de absorção das soluções, traçaram-se as derivadas de 1ª ordem e fizeram-se as leituras a 257,6 nm.

5.11. Determinação do teor de resorcinol no gel de resorcinol 30%

5.11.1. Preparação da solução padrão

Foi utilizado como padrão a média aritmética das leituras de três soluções com concentrações de 30,0 µg/mL de resorcinol. Pesaram-se exatamente cerca de 30,0 mg de resorcinol que foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se quantidade suficiente de ácido sulfúrico 0,1 N até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. A seguir transferiram-se (em triplicata) 5,0 mL para balões volumétricos de 50 mL e completaram-se os volumes com ácido sulfúrico 0,1 N. Após o aparelho ter sido calibrado com ácido sulfúrico 0,1 N, realizou-se a varredura das soluções no intervalo de 200 a 400 nm. A partir destes espectros traçaram-se as derivadas de 1ª ordem, sendo feitas as leituras a 257,6 nm.

5.11.2. Preparação da solução da amostra

Foi pesado do gel, o equivalente a 30,0 mg de resorcinol e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL. O volume foi completado com ácido sulfúrico 0,1 N obtendo-se uma solução de concentração de 300,0 µg/mL. Transferiram-se alíquotas de 5,0 mL para balões volumétricos de 50 mL. A concentração analítica foi de 30,0 µg/mL de resorcinol.

Após homogeneização das soluções preparadas e calibração do aparelho com ácido sulfúrico 0,1 N, determinaram-se os espectros de absorção das soluções. Traçaram-se as derivadas de 1ª ordem e fizeram-se as leituras a 257,6 nm. Foram realizadas dez determinações e os resultados analisados estatisticamente.

5.12. Teste de recuperação

5.12.1. Preparação da solução padrão

Foram pesados exatamente cerca de 45,0 mg de resorcinol e transferidos para balão volumétrico de 50 mL. Adicionou-se quantidade suficiente de ácido sulfúrico 0,1 N até dissolução e completou-se com o mesmo solvente. Transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N. A concentração final obtida foi de 90,0 µg/mL de resorcinol.

5.12.2. Preparação da solução amostra

Foi pesado do gel, o equivalente a 90,0 mg de resorcinol e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL. O volume foi completado ácido sulfúrico 0,1 N obtendo-se uma solução de concentração de 900,0 µg/mL. Transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N. A concentração final obtida foi de 90,0 µg/mL de resorcinol.

5.12.3. Procedimento

Alíquotas das soluções das amostras e padrão foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL, completando-se o volume com ácido sulfúrico 0,1 N conforme o esquema a seguir:

Balão	Solução padrão 90,0 µg/mL (mL)	Solução amostra 90,0 µg/mL (mL)
1	10,0	---
2	---	10,0
3	4,0	10,0
4	5,0	10,0
5	10,0	10,0

Determinaram-se os espectros de absorção das soluções, traçaram-se as derivadas de 1ª ordem e fizeram-se as leituras a 257,6 nm.

5.13. Determinação do limite de detecção e de quantificação

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram determinados utilizando-se soluções padrão de baixa concentração, considerando a capacidade do método para detectar e quantificar baixas concentrações de ácido salicílico no gel.

Foram preparadas soluções contendo 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; e 10,0 µg/mL de ácido salicílico. Foram efetuadas três leituras para cada concentração e calculado o desvio padrão entre os resultados obtidos.

O cálculo para o LD e LQ foi realizado segundo as fórmulas citadas no item 5.4.6.

6. *Resultados e Discussão*

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A validação de um método analítico constitui-se em uma das principais ferramentas da garantia de qualidade aprimorando conceitos de monitoramento de processo e controle de qualidade.

Com a finalidade de garantir a eficácia, segurança do consumidor e controlar a qualidade dos “peelings” químicos contendo ácido salicílico, resorcinol e ácido láctico, é necessário desenvolver e validar metodologias analíticas, simples, rápidas, de baixo custo e com resultados confiáveis.

No presente trabalho foram analisados o ácido salicílico e o resorcinol em “peelings” químicos (solução de Jessner, amostras A e B) e géis de ácido salicílico (amostras C e D) e resorcinol (amostras E e F) em soluções a 20 e 30%, respectivamente. Os métodos propostos estão baseados na técnica espectrofotométrica derivada no ultravioleta.

Aplicando-se o método por espectrofotometria no UV não foi possível quantificar o ácido láctico na solução de Jessner, devido às suas características estruturais e baixa absorção na região do UV. Seria, portanto, necessária a utilização de outro tipo de detecção ou a realização de reação de complexação. De qualquer forma, observou-se que não houve interferência na determinação das outras substâncias em questão.

Foram avaliados cinco parâmetros para a validação de cada metodologia proposta: linearidade (curva de calibração na faixa de menor erro espectrofotométrico), especificidade (pesquisa de interferentes), precisão (determinação do teor de cada substância), exatidão (testes de recuperação) e limites de detecção e de quantificação.

Em relação à escolha do solvente adequado para a determinação do ácido salicílico e do resorcinol na solução de Jessner e géis de ácido salicílico e resorcinol, foram realizados alguns testes preliminares levando em consideração alguns aspectos físicos tais como solubilidade, estabilidade e custo.

Os seguintes solventes foram testados: água, etanol, metanol, ácido clorídrico 0,1 N e ácido sulfúrico 0,1 N, escolhendo-se o etanol devido à alta solubilidade do ácido salicílico e resorcinol neste solvente e por constituir o veículo da solução de Jessner minimizando possíveis interferências na determinação. Quando comparado ao metanol, a solubilidade é semelhante, porém o metanol apresenta maior toxicidade tanto para o analista quanto para o ambiente.

Em relação ao solvente adequado para a determinação do ácido salicílico e do resorcinol nos géis, a escolha foi o ácido sulfúrico 0,1 N, por desagregar a matriz do gel facilitando a solubilização dos princípios ativos e por manter as moléculas na forma não ionizada. Também foram considerados o baixo impacto ambiental e custo acessível.

6.1. Caracterização dos princípios ativos ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol por espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR).

6.1.1. Ácido Salicílico

Figura 8 - Espectro no IV do ácido salicílico em pastilha de KBr.

A Figura 8 mostra o espectro no infravermelho do ácido salicílico em pastilha de KBr. Esta substância apresenta banda de absorção característica de estiramento na região de 1660 cm^{-1} que corresponde ao grupamento carbonila e banda larga em 3237 cm^{-1} caracterizando o grupamento hidroxila.

A banda de absorção na região de 759 cm^{-1} indica deformação do grupo C=H aromático orto substituído. O radical metila apresenta duas bandas de deformação em 1295 cm^{-1} e 1384 cm^{-1} e uma de estiramento em 3006 cm^{-1} . Na faixa de 1444 cm^{-1} e 1484 cm^{-1} observa-se uma banda de estiramento da molécula caracterizando grupamento C=C do anel aromático (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

Tabela 1- Principais bandas de absorção do ácido salicílico no infravermelho em pastilha de KBr.

Bandas (cm^{-1})	Ligações químicas
1660	C = O
3237	OH
759	C – H
1444, 1484	C = C
1295, 1384	CH ₃
3006	CH ₃

6.1.2. Ácido láctico

Figura 9 - Espectro no IV do ácido láctico em filme.

A Figura 9 corresponde ao espectro no infravermelho do ácido láctico. Observa-se uma banda larga característica das vibrações de estiramento do grupamento hidroxila em 3420 cm⁻¹. O grupo carbonila é representado pela banda de absorção de estiramento em 1729 cm⁻¹ (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

Tabela 2 – Principais bandas de absorção do ácido láctico no infravermelho.

Bandas (cm ⁻¹)	Ligações químicas
1729	C = O
3420	OH

6.1.3. Resorcinol

Figura 10 - Espectro no IV do resorcinol em pastilha de KBr

A Figura 10 exhibe as bandas de absorção do espectro no infravermelho do resorcinol, em pastilha de KBr. A banda observada na região de 3197 cm^{-1} corresponde ao estiramento do grupo OH ligado ao anel aromático. As bandas na região de 682 e 774 cm^{-1} indicam deformação do grupo C=H aromático meta substituído. Em 1609 cm^{-1} há uma banda que corresponde ao estiramento assimétrico da molécula. O grupamento C=C é caracterizado em 1490 cm^{-1} , indicando que a molécula é aromática (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

Tabela 3 – Principais bandas de absorção do resorcinol no infravermelho em pastilha de KBr.

Bandas (cm^{-1})	Ligações químicas
3197	OH
682, 774, 1609	C – H
1490	C = C

6.2. Caracterização dos princípios ativos por análise térmica

Figura 11 – Curvas TG/DTG do ácido salicílico, ácido láctico, resorcinol e solução de Jessner.

A Figura 11 exibe as curvas TG/DTG do ácido salicílico, resorcinol, ácido láctico e solução de Jessner. As curvas mostram que o ácido salicílico é termicamente estável até aproximadamente 100°C. A decomposição térmica ocorre entre 100° C e 200° C com perda de massa total e temperatura de pico na DTG de 184,6° C.

No caso do resorcinol as curvas demonstram que a substância é termicamente estável até aproximadamente 100°C. A decomposição térmica ocorre entre 100 e 200°C, com perda de massa total e temperatura de pico na DTG de 182,4° C. As curvas DTG do ácido salicílico e do resorcinol apresentaram comportamento térmico semelhante característico do fenômeno de volatilização.

As curvas TG/DTG do ácido láctico apresentam três etapas de perdas de massa. A primeira etapa ocorreu desde a temperatura ambiente até 51,72° C com perda de massa de, aproximadamente, 10,9%. A segunda e a terceira etapas de perdas de massa ocorreram entre 51,4° C a 249,5° C. Pode-se observar que a terceira surgiu seqüencial à segunda, apresentando, aproximadamente, 71,3% e 17,7% de perdas de massa.

Figura 12 – Curvas DSC do ácido salicílico, ácido láctico, resorcinol e solução de Jessner.

A Figura 12 exibe as curvas DSC do ácido salicílico, resorcinol, ácido láctico e solução de Jessner. No caso do ácido salicílico, apresenta perfil de dois eventos endotérmicos. O primeiro evento ocorreu entre 155,6° a 168,4°C e corresponde à fusão do material, apresentando uma $T_{\text{onset}} = 158^{\circ}\text{C}$ e um $\Delta H_{\text{fusão}} = -136\text{ J/g}$. Em seguida à fusão, ocorreu o segundo evento correspondente à decomposição do ácido entre as temperaturas de 167° a 193,6° C, apresentando uma temperatura “onset” de 168,5° C e um $\Delta H = -150,7\text{ J/g}$.

A curva DSC do resorcinol apresenta três eventos endotérmicos. O primeiro evento obtido entre 99,6° a 107,3° C, com uma T_{onset} de 101° C e $\Delta H = -9,1\text{ J/g}$, corresponde à presença de polimorfismo desse material. O segundo evento ocorreu entre 107,3° a 123,7° C e corresponde ao processo de fusão desse material, apresentando uma $T_{\text{onset}} = 108,8^{\circ}\text{C}$ e um $\Delta H = -204,3\text{ J/g}$. Em seguida, ocorreu entre 123,4° a 223,6° C, o terceiro evento endotérmico correspondente à decomposição desse princípio ativo, apresentando uma $T_{\text{onset}} = 149,3^{\circ}\text{C}$ e um $\Delta H = -677,3\text{ J/g}$.

Para o ácido láctico observam-se três eventos endotérmicos, característicos da decomposição do material. O primeiro evento obtido entre 92,7° a 128,2° C, apresentando uma $T_{\text{onset}} = 102,4^{\circ}\text{C}$ e $\Delta H = -111,9\text{ J/g}$. O segundo evento ocorreu entre 127,8° a 159,5° C, com uma $T_{\text{onset}} = 147,6^{\circ}\text{C}$ e $\Delta H = -92,1\text{ J/g}$, e o terceiro ocorreu entre 159,5° a 167° C, apresentando uma $T_{\text{onset}} = 160^{\circ}\text{C}$ e $\Delta H = -8,9\text{ J/g}$.

Os perfis das curvas TG/DTG e os eventos apresentados pelas curvas DSC da solução de Jessner, em comparação às do ácido láctico, apresentaram comportamento térmico semelhante, como ilustram as figuras 11 e 12, sugerindo a ocorrência de interação entre os princípios ativos na solução de Jessner. Esses resultados são preliminares, porém indicam a possibilidade de continuidade desses estudos para um melhor esclarecimento e caracterização de “peelings” químicos por análise térmica. Poderão ser desenvolvidas pesquisas com diferentes veículos e associações de ativos.

6.3. Faixa de fusão

6.3.1. Ácido Salicílico: $P_{\text{fusão}}$ teórico (158° – 161° C); $P_{\text{fusão}}$ experimental (161° – 163° C).

6.3.2. Resorcinol: $P_{\text{fusão}}$ teórico (110° – 112° C); $P_{\text{fusão}}$ experimental (111° – 113° C).

Os resultados obtidos experimentalmente na determinação da faixa de fusão do ácido salicílico (matéria-prima), foram maiores 161° – 163° C quando comparados com os dados reportados na literatura (MERCK, 2001). Da mesma forma, a faixa de fusão experimental do resorcinol também apresentou resultados maiores (111° – 113° C).

Comparativamente à metodologia de análise térmica, foi observado que existe uma maior precisão na obtenção dos dados de temperatura de fusão dos princípios ativos, visto que a faixa de fusão obtida pelo equipamento de ponto de fusão apresenta um desvio considerável nos dados de temperatura.

6.4. Espectrofotometria direta no UV do ácido salicílico na solução de Jessner

6.4.1. Construção da curva de Ringbom do ácido salicílico em etanol absoluto

Tabela 4 - Resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do ácido salicílico em etanol pelo método espectrofotométrico direto a 304,4 nm. Intervalo de concentração de 2,0 a 40,0 µg/mL.

Balão	Concentração µg/mL	Log concentração	Abs. 304,4 nm	%T	100 - %T
1	2,0	0,30	0,0507	88,98	11,02
2	4,0	0,60	0,1086	77,88	22,12
3	6,0	0,78	0,1655	68,31	31,69
4	8,0	0,90	0,2314	58,69	41,31
5	10,0	1,00	0,2820	52,24	47,76
6	12,0	1,08	0,3458	45,10	54,90
7	14,0	1,15	0,4052	39,34	60,66
8	16,0	1,20	0,4572	34,90	65,10
9	18,0	1,26	0,5200	30,20	69,80
10	20,0	1,30	0,5759	26,55	73,45
11	22,0	1,34	0,6355	23,15	76,85
12	24,0	1,38	0,6877	20,53	79,47
13	26,0	1,41	0,7518	17,71	82,29
14	28,0	1,45	0,8119	15,42	84,58
15	30,0	1,48	0,8700	13,49	86,51
16	32,0	1,50	0,9205	12,01	87,99
17	34,0	1,53	0,9796	10,48	89,52
18	36,0	1,56	1,0452	9,01	90,99
19	38,0	1,58	1,0917	8,10	91,90
20	40,0	1,60	1,1528	7,03	92,97

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do ácido salicílico em etanol absoluto. Foram utilizadas vinte soluções com concentrações entre 2,0 e 40,0 µg/mL.

Figura 13 - Espectros de absorção no UV da curva de Ringbom do ácido salicílico em etanol absoluto. Concentrações de 2,0 a 40,0 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 14 - Curva de Ringbom do ácido salicílico em etanol absoluto. Concentrações de 2,0 a 40,0 $\mu\text{g/mL}$.

O gráfico da curva foi obtido plotando a transmitância versus o logaritmo da concentração (Figura 14). Mediante a curva de Ringbom pode-se verificar se um determinado sistema obedece à lei de Lambert-Beer e qual a zona de absorbância onde o erro relativo da concentração é mínimo (GONÇALVES, 1990). A faixa de concentração que obedeceu à lei de Lambert-Beer foi aproximadamente entre 12,0 e 24,0 µg/mL, sendo esta a faixa de concentração utilizada para a construção da curva de calibração e a concentração de 18,0 µg/mL utilizada para as determinações quantitativas.

6.4.2. Construção da curva de calibração do ácido salicílico em etanol absoluto a 304,4 nm. Tratamento estatístico

Tabela 5 - Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do ácido salicílico pelo método espectrofotométrico direto a 304,4 nm. Intervalo de concentração de 12,0 a 24,0 µg/mL.

Concentração µg/mL	Absorbância
12,0	0,3458
14,0	0,4052
16,0	0,4572
18,0	0,5200
20,0	0,5759
22,0	0,6355
24,0	0,6877

Figura 15 - Espectros de absorção no ultravioleta do ácido salicílico em etanol absoluto. Leituras efetuadas a 304,4 nm. Intervalo de concentração de 12,0 a 24,0 µg/mL.

Figura 16 - Curva de calibração obtida pelo método espectrofotométrico no ultravioleta. Concentração das soluções de 12,0 a 24,0 µg/mL de ácido salicílico em etanol. Leituras efetuadas a 304,4 nm.

Em uma metodologia analítica, a linearidade pode ser determinada mediante a análise estatística de regressão linear. Com isto consegue-se determinar a proporcionalidade entre a resposta instrumental e a concentração do analito a ser determinado (BRITAIN, 1998). A curva de calibração foi construída no intervalo entre 12,0 a 24,0 $\mu\text{g/mL}$, tendo como ponto médio da curva a concentração de 18,0 $\mu\text{g/mL}$, com absorbância de 0,5200 correspondente ao menor erro espectrofotométrico para determinações quantitativas (EWING, 1972). (Tabela 5, Figuras 15 e 16). Os dados de absorbância e concentração foram submetidos a tratamento estatístico pelo método dos mínimos quadrados, observando-se resultados satisfatórios para todos os parâmetros avaliados. (Tabela 6).

Tabela 6 - Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração de ácido salicílico pelo método espectrofotométrico direto a 304,4 nm. Intervalo de concentração de 12,0 a 24,0 $\mu\text{L/mL}$ em etanol.

Ácido Salicílico	λ max	a	b	R	S_{er}	t_a
	304,4	0,002292	0,028660	0,9999	0,4952	0,5127

a = intersecção da reta

b = inclinação da reta

r = coeficiente de correlação

S_{er} = desvio padrão relativo

t_a = teste de significância de a

6.4.3. Pesquisa de Interferentes

Figura 17 - Espectros de absorção no ultravioleta do etanol, veículo empregado na formulação, utilizando água destilada como branco.

Figura 18 - Espectros de absorção no UV do ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol em etanol absoluto na concentração de 14,0 µg/mL.

As Figuras 17 e 18 mostram os espectros no UV do etanol utilizando água como branco (solvente transparente na região UV) e os padrões de ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol isoladamente em etanol absoluto. Observa-se que existe sobreposição das bandas do ácido salicílico e do resorcinol, motivo pelo qual foi necessário desenvolver e validar metodologias analíticas que eliminassem essa interferência.

6.5. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do ácido salicílico na solução de Jessner.

6.5.1. Construção da curva de calibração na primeira derivada a 320,0 nm do ácido salicílico em etanol absoluto. Tratamento estatístico

Tabela 7 - Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do ácido salicílico em etanol. Leituras efetuadas na primeira derivada a 320,0 nm. Intervalo de concentração de 12,0 a 24,0 µg/mL.

Concentração µg/mL	Amplitude 320,0 nm
12,0	0,1908
14,0	0,2267
16,0	0,2564
18,0	0,2911
20,0	0,3232
22,0	0,3582
24,0	0,3885

Figura 19 - Espectros no ultravioleta da primeira derivada do ácido salicílico em etanol. Leituras efetuadas a 320,0 nm. Intervalo de concentração de 12,0 a 24,0 $\mu\text{g/mL}$.

A Figura 19 apresenta os espectros derivados da primeira ordem obtidos na curva de calibração nas concentrações de 12,0 a 24,0 $\mu\text{g/mL}$. A curva (Figura 20) apresenta resultados proporcionais entre a resposta instrumental e as concentrações analíticas. Realizaram-se as leituras a 320,0 nm. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,9999 e os resultados estatísticos foram satisfatórios (Tabela 8).

Figura 20 - Curva de calibração obtida pela espectrofotometria derivada no UV. Concentração das soluções de 12,0 a 24,0 $\mu\text{g/mL}$ de ácido salicílico em etanol. Leituras efetuadas a 320,0 nm.

Tabela 8 - Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do ácido salicílico em etanol. Leituras efetuadas na primeira derivada a 320,0 nm. Intervalo de concentração de 14,0 a 22,0 $\mu\text{g/mL}$.

Ácido salicílico	λ max	a	b	r	S_{er}	t_a
	320,0	-0,005946	0,016480	0,9999	0,4998	-2,348

a = intersecção da reta

b = inclinação da reta

r = coeficiente de correlação

S_{er} = desvio padrão relativo

t_a = teste de significância de a

6.5.2. Pesquisa de interferentes

Figura 21 - Espectros na primeira derivada do etanol, veículo empregado na formulação, utilizando água como branco. Espectros no UV na primeira derivada do ácido salicílico (18,0 µg/mL), resorcinol (28,0 µg/mL), ácido láctico (18,0 µg/mL) em etanol absoluto.

Realizou-se a determinação do espectro na primeira derivada do etanol 95%, utilizando água destilada como branco (Figura 21). Observa-se que não existe sinal instrumental a 320,0 nm. Neste comprimento de onda, tanto o resorcinol como o ácido láctico, independentemente de sua concentração, também não apresentam nenhum sinal instrumental.

6.5.3. Determinação do teor de ácido salicílico na solução de Jessner

Tabela 9 - Resultados obtidos na determinação do teor do ácido salicílico em etanol pela espectrofotometria derivada no UV a 320,0 nm.

Amostra	Valor rotulado de ácido salicílico (g/100mL)	Valor encontrado de ácido salicílico* (g/100mL)	Teor porcentual (%)
A	14,00	14,57	104,10
B	14,00	14,31	102,20

* Média de dez determinações

Tabela 10 - Resultados estatísticos obtidos na determinação de ácido salicílico pela espectrofotometria derivada no UV a 320,0 nm.

Amostra	Desvio Padrão	Coefficiente de variação (%)	Intervalo de confiança P = 95%
A	0,125	0,671	0,090
B	0,130	0,698	0,090

A aplicação do método proposto para a determinação quantitativa do ácido salicílico nas soluções de Jessner (amostras A e B) apresentou resultados dentro dos limites aceitos (14,57 e 14,31g de ácido salicílico/100mL de solução de Jessner) que corresponde a 104,1 e 102,2%. O coeficiente de variação que indica a precisão do método está dentro das normas estabelecidas oficialmente (menor do que 1%). Os resultados podem ser observados nas Tabelas 9 e 10.

6.5.4. Teste de recuperação

Tabela 11 - Resultados obtidos na recuperação de ácido salicílico pela espectrofotometria derivada no UV na amostra de solução de Jessner. Método quantitativo ponto de anulação (zero crossing) com leituras a 320,0 nm.

Amostra	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
A	2,00	2,06	103,00
	3,00	2,98	99,30
	5,00	4,99	99,80
B	2,00	2,01	100,50
	3,00	3,03	101,00
	5,00	4,97	99,40

* Média de três determinações

A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos no teste de recuperação nas amostras de solução de Jessner a diferentes concentrações. Tais resultados estão dentro da faixa de 99,3 e 103,0%. Baseando-se nestes valores, pode-se afirmar que o método pode ser aplicado para o doseamento do ácido salicílico no comprimento de onda de 320,0 nm empregando a espectrofotometria derivada no UV da primeira ordem.

O teste de recuperação está relacionado com a exatidão a qual traduz a concordância dos valores experimentais com os valores reais (ICH Q2B, 2001).

6.5.5. Limite de detecção e limite de quantificação

Tabela 12 - Resultados obtidos para o cálculo dos limites de detecção e quantificação por espectrofotometria derivada no UV para o ácido salicílico a 320,0 nm.

Número	Amplitude 2,0 µg/mL	Amplitude (4,0 µg/mL)	Amplitude (6,0 µg/mL)	Amplitude (8,0 µg/mL)	Amplitude (10,0 µg/mL)
1	0,0149	0,0464	0,0781	0,1179	0,1495
2	0,0152	0,0461	0,0795	0,1134	0,1479
3	0,0145	0,0473	0,0807	0,1158	0,1463
Valor médio	0,0149	0,0465	0,0794	0,1153	0,1469
DP	0,0002	0,000608276	0,00125033	0,00220529	0,001171893
Desvio padrão médio = 0,00108716 ; inclinação da curva de calibração = 0,01663					
Limite de detecção = 0,19 µg/mL; Limite de quantificação = 0,65 µg/mL					

Este teste foi realizado com as menores concentrações possíveis do ácido salicílico (2,0 a 10,0 µg/mL). Obteve-se um desvio padrão médio nas determinações de 0,00108716; inclinação da curva de calibração de 0,01663.

Levando-se em consideração que o limite de detecção é três vezes o desvio padrão médio entre a inclinação da curva, obteve-se o resultado de 0,19 µg/mL. O limite de quantificação de um método analítico corresponde a mais baixa concentração da substância em exame presente na amostra que pode ser exata e precisamente medida (ICH Q2B, 2001). O limite de quantificação deve ser dez vezes o valor do sinal ruído do método (ICH Q2B, 2001). Obteve-se um valor de 0,65 µg/mL (Tabela 12).

6.6. Espectrofotometria direta no UV para determinação do resorcinol na solução de Jessner

6.6.1. Construção da curva de Ringbom do resorcinol em etanol absoluto

Tabela 13 - Resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do resorcinol em etanol pelo método espectrofotométrico direto a 276,4 nm. Intervalo de concentração de 2,0 a 40,0 µg/mL.

Balão	Concentração µg/mL	Log concentração	Abs. 276,4 nm	%T	100 - %T
1	2,0	0,30	0,0383	91,56	8,44
2	4,0	0,60	0,0754	84,06	15,94
3	6,0	0,78	0,1138	76,95	23,05
4	8,0	0,90	0,1559	69,84	30,16
5	10,0	1,00	0,1931	64,11	35,89
6	12,0	1,08	0,2338	58,37	41,63
7	14,0	1,15	0,2721	53,44	46,56
8	16,0	1,20	0,3097	49,01	50,99
9	18,0	1,26	0,3484	44,83	55,17
10	20,0	1,30	0,3828	41,42	58,58
11	22,0	1,34	0,4220	37,84	62,16
12	24,0	1,38	0,4634	34,40	65,60
13	26,0	1,41	0,4987	31,72	68,28
14	28,0	1,45	0,5330	29,31	70,69
15	30,0	1,48	0,5778	26,44	73,56
16	32,0	1,50	0,6095	24,58	75,42
17	34,0	1,53	0,6519	22,29	77,71
18	36,0	1,56	0,6874	20,54	79,46
19	38,0	1,58	0,7241	18,88	81,12
20	40,0	1,60	0,7675	17,08	82,92

Figura 22 - Espectros de absorção no ultravioleta da curva de Ringbom do resorcinol em etanol absoluto, concentrações de 2,0 a 40,0 µg/mL.

Figura 23 - Curva de Ringbom do resorcinol em etanol absoluto. Concentrações de 2,0 a 40,0 µg/mL.

A Tabela 13 apresenta os resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do resorcinol em etanol absoluto. Da mesma forma que na determinação da curva de Ringbom do ácido salicílico, foram utilizadas vinte soluções com concentrações entre 2,0 e 40,0 µg/mL. O gráfico da curva foi obtido plotando a transmitância versus o logaritmo da concentração (Figura 23). A faixa de concentração que obedeceu à lei de Lambert-Beer foi aproximadamente entre 22,0 e 34,0 µg/mL, sendo esta a faixa de concentração utilizada para a construção da curva de calibração e a concentração de 28,0 µg/mL utilizada para as determinações quantitativas.

6.6.2. Construção da curva de calibração a 276,4 nm do resorcinol em etanol absoluto. Tratamento estatístico

Tabela 14 - Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do resorcinol pelo método espectrofotométrico direto a 276,4 nm. Intervalo de concentração de 22,0 a 34,0 µg/mL.

Concentração µg/mL	Absorbância (276,4 nm)
22,0	0,4220
24,0	0,4634
26,0	0,4987
28,0	0,5330
30,0	0,5778
32,0	0,6095
34,0	0,6519

Figura 24 - Espectros de absorção no ultravioleta da curva de calibração, resorcinol em etanol; concentrações de 22,0 a 34,0 µg/mL.

Figura 25 - Curva de calibração obtida pelo método espectrofotométrico no ultravioleta. Concentração das soluções de 22,0 a 34,0 µg/mL de resorcinol em etanol. Leituras efetuadas a 276,4 nm.

A curva de calibração foi construída no intervalo entre 22,0 a 34,0 $\mu\text{g/mL}$, tendo como ponto médio da curva a concentração de 28,0 $\mu\text{g/mL}$, com absorbância de 0,5330 correspondente ao menor erro espectrofotométrico para determinações quantitativas (EWING, 1972). (Tabela 14, Figuras 24 e 25). Os dados de absorbância e concentração foram submetidos a tratamento estatístico pelo método dos mínimos quadrados. Foram obtidos resultados satisfatórios para todos os parâmetros avaliados (Tabela 15).

Tabela 15 - Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração de resorcinol pelo método espectrofotométrico direto a 276,4 nm. Intervalo de concentração de 22,0 a 34,0 $\mu\text{g/mL}$ em etanol.

Resorcinol	λ max	a	b	r	S_{er}	t_a
	276,4	0,006114	0,018946	0,9999	0,542	0,785

a = intersecção da reta

b = inclinação da reta

r = coeficiente de correlação

S_{er} = desvio padrão relativo

t_a = teste de significância de a

6.7. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do resorcinol na solução de Jessner

6.7.1. Construção da curva de calibração da segunda derivada a 280,0 nm do resorcinol em etanol. Tratamento estatístico

Tabela 16 - Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do resorcinol em etanol. Leituras efetuadas na segunda derivada a 280,0 nm. Intervalo de concentração de 22,0 a 34,0 µg/mL.

Concentração µg/mL	Amplitude 280,0 nm
22,0	0,1579
24,0	0,1741
26,0	0,1877
28,0	0,1998
30,0	0,2163
32,0	0,2293
34,0	0,2434

Da mesma forma que o ácido salicílico, o resorcinol também foi determinado mediante espectrofotometria derivada no UV. Usou-se a derivada de segunda ordem e o método de quantificação foi o do ponto de anulação a 280 nm. Neste comprimento de onda tanto o ácido salicílico como o etanol, não apresentaram nenhum sinal instrumental.

Figura 26 - Espectros no ultravioleta da segunda derivada do resorcinol em etanol. Leituras efetuadas a 280,0 nm. Intervalo de concentração de 22,0 a 34,0 µg/mL.

Figura 27 - Curva de calibração obtida pela espectrofotometria derivada no UV. Concentração das soluções de 22,0 a 34,0 µg/mL de resorcinol em etanol. Leituras efetuadas a 280,0 nm.

Tabela 17 - Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do resorcinol em etanol. Leituras efetuadas na segunda derivada a 280,0. Intervalo de concentração de 22,0 a 34,0 µg/mL.

Resorcinol	λ max	a	b	r	S _{er}	t _a
	280,0	0,003464	0,007062	0,9999	0,522	1,232

a = intersecção da reta

b = inclinação da reta

r = coeficiente de correlação

S_{er} = desvio padrão relativo

t_a = teste de significância de a

A Figura 26 apresenta os espectros derivados da segunda ordem obtidos na curva de calibração do resorcinol nas concentrações de 22,0 a 34,0 µg/mL. A curva (Figura 27) apresenta resultados proporcionais nas concentrações analíticas versus sinal instrumental. Realizaram-se as leituras a 280,0 nm. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,9999 demonstrando boa linearidade. Os outros resultados estatísticos avaliados são satisfatórios (Tabela 17).

6.7.2. Pesquisa de interferentes

Figura 28 - Espectro da segunda derivada do etanol, veículo empregado na formulação, utilizando água como branco. Espectros no UV na segunda derivada do ácido salicílico (18,0 µg/mL), resorcinol (28,0 µg/mL), ácido láctico (18,0 µg/mL) em etanol absoluto.

Utilizou-se a derivada de segunda ordem para traçar o espectro do etanol, a 280 nm. Não se observa nenhuma interferência tanto do ácido salicílico como do ácido láctico (Figura 28).

6.7.3. Determinação do teor de resorcinol na solução de Jessner

Tabela 18 - Resultados obtidos na determinação do teor do resorcinol em etanol por espectrofotometria derivada no UV a 280,0 nm.

Amostra	Valor rotulado de resorcinol (g/100mL)	Valor encontrado de resorcinol* (g/100mL)	Teor porcentual (%)
A	14,00	14,75	105,30
B	14,00	14,48	103,40

* Média de dez determinações

Tabela 19 - Resultados estatísticos obtidos na determinação de resorcinol por espectrofotometria derivada no UV a 280,0 nm.

Amostra	Desvio Padrão	Coeficiente de variação (%)	Intervalo de confiança P = 95%
A	0,160	0,844	0,114
B	0,153	0,807	0,112

A aplicação do método proposto nas soluções de Jessner (amostras A e B) apresentou resultados satisfatórios (14,75 e 14,48g de resorcinol/100mL de solução de Jessner) que correspondem a 105,3 e 103,4%. O coeficiente de variação que indica a precisão do método está dentro das normas estabelecidas oficialmente (menor do que 1%). Os resultados podem ser observados nas Tabelas 18 e 19.

6.7.4. Teste de recuperação

Tabela 20 - Resultados obtidos na recuperação de resorcinol por espectrofotometria derivada no UV da amostra de solução de Jessner. Método quantitativo ponto de anulação (zero crossing) com leituras a 280,0 nm.

Amostra	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
A	1,00	1,01	101,00
	2,00	1,98	99,00
	3,00	3,04	101,30
B	1,00	0,99	99,00
	2,00	2,01	100,50
	3,00	3,02	100,70

* Média de três determinações

A Tabela 20 apresenta os resultados obtidos no teste de recuperação nas amostras da solução de Jessner a diferentes concentrações. Usaram-se concentrações tanto da solução padrão como da solução amostra com concentração de 56,0 $\mu\text{g/mL}$. Tais resultados estão dentro da faixa de 99,0 a 101,3%. Baseando-se nestes valores, pode-se afirmar que o método pode ser aplicado para o doseamento do resorcinol no comprimento de onda a 280,0 nm empregando a espectrofotometria derivada no UV com resultados de exatidão satisfatórios.

6.7.5. Limite de detecção e limite de quantificação

Tabela 21 - Resultados obtidos para o cálculo dos limites de detecção e quantificação por espectrofotometria derivada no UV para o resorcinol a 280,0 nm.

Número	Amplitude (2,0 µg/mL)	Amplitude (4,0 µg/mL)	Amplitude (6,0 µg/mL)	Amplitude (8,0 µg/mL)	Amplitude (10,0 µg/mL)
1	0,0179	0,0356	0,0504	0,0696	0,0898
2	0,0186	0,0337	0,0514	0,0720	0,0901
3	0,0176	0,0344	0,0522	0,0714	0,0908
Valor médio	0,0180	0,0346	0,0513	0,0710	0,0902
DP	0,0005131	0,0009609	0,0009018	0,0012489	0,0005131

Desvio padrão médio = 0,0008276; inclinação da curva de calibração = 0,00904

Limite de detecção = 0,27 µg/mL; Limite de quantificação = 0,91 µg/mL

Este teste foi realizado com as menores concentrações possíveis do resorcinol (2,0 a 10,0 µg/mL). O desvio padrão médio obtido nas determinações foi de 0,0008276 e a inclinação da curva de calibração de 0,00904.

Levando-se em consideração que o limite de detecção é três vezes o desvio padrão médio entre a inclinação da curva, obteve-se o resultado de 0,27 µg/mL. O limite de quantificação de um método analítico corresponde a mais baixa concentração da substância em exame presente na amostra que pode ser exata e precisamente medida (ICH Q2B, 2001). O limite de quantificação deve ser dez vezes o valor do sinal ruído do método (ICH Q2B, 2001). Obteve-se um valor de 0,91 µg/mL (Tabela 21).

6.8. Espectrofotometria direta no UV para determinação do ácido salicílico em gel de ácido salicílico 20%

6.8.1. Construção da curva de Ringbom

Tabela 22 - Resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom para o ácido salicílico em H₂SO₄ 0,1 N pelo método espectrofotométrico direto a 303,0 nm. Intervalo de concentração de 2,0 a 40,0 µg/mL.

Balão	Concentração µg/mL	Log concentração	Abs. 303,0 nm	%T	100 - %T
1	2,0	0,30	0,0493	89,27	10,73
2	4,0	0,60	0,1019	79,09	20,91
3	6,0	0,78	0,1522	70,44	29,56
4	8,0	0,90	0,2061	62,22	37,78
5	10,0	1,00	0,2589	55,09	44,91
6	12,0	1,08	0,3044	49,61	50,39
7	14,0	1,15	0,3625	43,40	56,60
8	16,0	1,20	0,4121	38,72	61,28
9	18,0	1,26	0,4572	34,90	65,10
10	20,0	1,30	0,5122	30,75	69,25
11	22,0	1,34	0,5660	27,16	72,84
12	24,0	1,38	0,6169	24,16	75,84
13	26,0	1,41	0,6787	20,96	79,04
14	28,0	1,45	0,7245	18,86	81,14
15	30,0	1,48	0,7787	16,65	83,35
16	32,0	1,50	0,8170	15,24	84,76
17	34,0	1,53	0,8729	13,40	86,60
18	36,0	1,56	0,9323	11,69	88,31
19	38,0	1,58	0,9728	10,65	89,35
20	40,0	1,60	1,0443	9,03	90,97

Figura 29 - Espectros de absorção no ultravioleta da curva de Ringbom do ácido salicílico em H_2SO_4 0,1 N; concentrações de 2,0 a 40,0 $\mu\text{g/mL}$.

Na Tabela 22 observam-se os resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do ácido salicílico em ácido sulfúrico 0,1 N. Para a construção da curva, foram utilizadas vinte soluções com concentrações entre 2,0 e 40,0 $\mu\text{g/mL}$. O gráfico foi obtido plotando-se a transmitância versus o logaritmo da concentração (Figura 30). A faixa de concentração que obedeceu à lei de Lambert-Beer foi de 8,0 a 32,0 $\mu\text{g/mL}$, sendo esta a faixa de concentração utilizada para a construção da curva de calibração.

Figura 30 - Curva de Ringbom obtida pelo método espectrofotométrico direto no ultravioleta. Concentração das soluções de 2,0 a 40,0 $\mu\text{g/mL}$ de ácido salicílico em H_2SO_4 0,1 N. Leituras efetuadas a 303,0 nm.

6.8.2. Construção da curva de calibração do ácido salicílico em H_2SO_4 0,1 N a 303,0 nm. Tratamento estatístico

Tabela 23 - Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do ácido salicílico em H_2SO_4 0,1 N pelo método espectrofotométrico direto a 303,0 nm. Intervalo de concentração de 8,0 a 32,0 $\mu\text{g/mL}$.

Concentração $\mu\text{g/mL}$	Absorbância
8,0	0.2061
12,0	0.3044
16,0	0.4121
20,0	0.5122
24,0	0.6169
28,0	0.7245
32,0	0.8170

Figura 31 - Espectros de absorção no ultravioleta da curva de calibração do ácido salicílico em H₂SO₄ 0,1 N; concentrações de 8,0 a 32,0 µg/mL.

Figura 32 - Curva de calibração obtida pelo método espectrofotométrico direto no ultravioleta. Concentração das soluções de 8,0 a 32,0 µg/mL do ácido salicílico em H₂SO₄ 0,1 N. Leituras efetuadas a 303,0 nm.

Tabela 24 - Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do ácido salicílico pelo método espectrofotométrico direto a 303,0 nm. Intervalo de concentração de 8,0 a 32,0 µg/mL em H₂SO₄ 0,1 N.

Ácido salicílico	λ max	a	b	r	S _{er}	t _a
	303,0	-0,00253	0,02462	0,9999	1,5092	0,2550

a = intersecção da reta

b = inclinação da reta

r = coeficiente de correlação

S_{er} = desvio padrão relativo

t_a = teste de significância de a

A curva de calibração foi construída no intervalo entre 8,0 a 32,0 µg/mL, tendo como ponto médio da curva a concentração de 20,0 µg/mL, com absorbância de 0,5122. Este valor correspondente à faixa de menor erro espectrofotométrico para determinações quantitativas (EWING, 1972) (Tabela 23, Figuras 31 e 32). Os dados de absorbância e concentração da faixa selecionada foram submetidos a tratamento estatístico pelo método dos mínimos quadrados. Obtiveram-se resultados satisfatórios para todos os parâmetros avaliados (Tabela 24).

6.8.3. Pesquisa de interferentes

Figura 33 - Espectro de absorção no ultravioleta do H_2SO_4 0,1 N, utilizando água destilada como branco.

Figura 34 - Espectros de absorção no ultravioleta do gel base em H_2SO_4 0,1 N. Concentrações equivalentes a 16,0; 20,0 e 24,0 $\mu\text{g/mL}$ de ácido salicílico e 24,0; 30,0 e 36,0 $\mu\text{g/mL}$ de resorcinol.

A habilidade de uma metodologia analítica para medir exatamente a concentração de uma substância específica em uma matriz chama-se especificidade (BRITTAİN, 1998). A investigação de interferentes foi realizada com o gel base (amostra placebo). As concentrações foram equivalentes a 16,0; 20,0 e 24,0 µg/mL de ácido salicílico. A medida em que aumentava a concentração dos excipientes nas soluções medidas, a absorbância destes também aumentava gradualmente. Os resultados obtidos nestes testes podem ser observados na Figura 33. Realizou-se também a determinação do espectro no UV do ácido sulfúrico 0,1 N. Observou-se que este não interferia na determinação.

6.9. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do ácido salicílico no gel de ácido salicílico 20%

6.9.1. Construção da curva de calibração da primeira derivada a 317,2 nm do ácido salicílico em H₂SO₄ 0,1 N. Tratamento estatístico

Tabela 26 - Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do ácido salicílico em H₂SO₄ 0,1 N. Leituras efetuadas na primeira derivada a 317,2 nm. Intervalo de concentração de 8,0 a 32,0 µg/mL.

Concentração µg/mL	Amplitude 317,2 nm
8,0	0,1027
12,0	0,1509
16,0	0,2023
20,0	0,2496
24,0	0,3051
28,0	0,3597
32,0	0,4061

Figura 35 - Espectros no ultravioleta da primeira derivada do ácido salicílico em H_2SO_4 0,1 N. Leituras efetuadas a 317,2 nm. Intervalo de concentração de 8,0 a 32,0 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 36 - Curva de calibração obtida pela espectrofotometria derivada no UV. Concentração das soluções de 8,0 a 32,0 $\mu\text{g/mL}$ do ácido salicílico em H_2SO_4 0,1 N. Leituras efetuadas a 317,2 nm.

Tabela 27 - Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do ácido salicílico. Leituras efetuadas na primeira derivada a 317,2 nm. Intervalo de concentração de 8,0 a 32,0 µg/mL.

Ácido salicílico	λ max	a	b	r	S _{er}	t _a
	317,2	0,00169	0,01277	0,9999	1,084	0,604

a = intersecção da reta

b = inclinação da reta

r = coeficiente de correlação

S_{er} = desvio padrão relativo

t_a = teste de significância de a

A Figura 35 apresenta os espectros derivados na primeira ordem obtidos na curva de calibração nas concentrações de 8,0 a 32,0 µg/mL em ácido sulfúrico 0,1 N. Na curva (Figura 36) observa-se que existe proporcionalidade entre as concentrações analíticas e a resposta instrumental (amplitude). Realizaram-se as leituras a 317,2 nm, os resultados apresentaram coeficiente de correlação de 0,9999. Os parâmetros estatísticos avaliados mostraram dados satisfatórios para validação de métodos analíticos (Tabela 27).

6.9.2. Pesquisa de interferentes

Figura 37 - Espectros da primeira derivada do gel base em H_2SO_4 0,1 N. Concentrações equivalentes a 16,0; 20,0 e 24,0 $\mu\text{g/mL}$ de ácido salicílico e 24,0; 30,0 e 36,0 $\mu\text{g/mL}$ de resorcinol.

Este teste foi realizado com o gel base (amostra placebo). As concentrações foram correspondentes a 16,0; 20,0 e 24,0 $\mu\text{g/mL}$ de ácido salicílico. Observou-se que a medida em que aumentava a concentração dos excipientes, a amplitude destes também aumentava proporcionalmente. Os resultados obtidos nestes testes podem ser observados na Figura 37. Porém, independentemente da concentração das soluções de gel base, há vários pontos nos quais a amplitude é zerada, isto é, não há interferência dos excipientes na determinação do ácido salicílico. Utilizou-se um ponto de leitura único, sendo 317,2 nm.

6.9.3. Determinação do teor do ácido salicílico por espectrofotometria derivada no UV a 317,2 nm

Tabela 28 - Resultados obtidos na determinação do teor do ácido salicílico (gel a 20%) em H₂SO₄ 0,1 N por espectrofotometria derivada no UV a 317,2 nm.

Amostra	Valor rotulado do ácido salicílico (g/100g)	Valor encontrado do ácido salicílico* (g/100g)	Teor Porcentual (%)
C	20,00	20,36	101,80
D	20,00	19,91	99,60

* Média de dez determinações

Tabela 29 - Resultados estatísticos obtidos na determinação do ácido salicílico (gel a 20%) em H₂SO₄ 0,1 N por espectrofotometria derivada no UV a 317,2 nm.

Amostra	Desvio padrão	Desvio padrão relativo (%)	Intervalo de confiança P = 95%
C	0,052	0,257	0,04
D	0,061	0,301	0,04

Após validação dos métodos por espectrofotometria derivada no UV, procedeu-se a aplicação nas amostras de ácido salicílico gel 20% (amostras C e D). Os resultados obtidos foram satisfatórios (20,36 e 19,91g de ácido salicílico em 100g de gel) correspondentes a 101,8 e 99,6%, respectivamente. O coeficiente de variação, que indica a precisão do método, está dentro das normas estabelecidas oficialmente (menor do que 1%). Os resultados podem ser observados nas Tabelas 28 e 29.

6.9.4. Teste de recuperação

Tabela 30 - Resultados obtidos na recuperação do ácido salicílico em H_2SO_4 0,1 N por espectrofotometria derivada no UV. Método quantitativo zero-pico com leituras a 317,2 nm.

Amostra	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
C	4,00	3,93	98,20
	5,00	4,90	98,00
	10,00	10,08	100,80
D	4,00	3,98	99,50
	5,00	4,97	99,40
	10,00	9,99	99,90

* Média de três determinações

A Tabela 30 apresenta os resultados obtidos no teste de recuperação nas amostras do gel de ácido salicílico 20% em diferentes concentrações. Os resultados obtidos estão dentro da faixa de 98,0 a 100,7%. Baseando-se nestes valores, pode-se afirmar que o método pode ser aplicado para o doseamento do ácido salicílico no comprimento de onda de 317,2 nm empregando a espectrofotometria derivada no UV com resultados de exatidão satisfatórios.

6.9.5. Limite de detecção e limite de quantificação

Tabela 31 - Resultados obtidos para o cálculo dos limites de detecção e quantificação empregando a espectrofotometria derivada no UV para determinação do ácido salicílico em H₂SO₄ 0,1 N.

Número	Amplitude (2,0 µg/mL)	Amplitude (4,0 µg/mL)	Amplitude (6,0 µg/mL)	Amplitude (8,0 µg/mL)	Amplitude (10,0 µg/mL)
1	-0,0238	-0,0485	-0,0719	-0,0966	-0,1214
2	-0,0247	-0,0482	-0,0723	-0,0987	-0,1221
3	-0,0242	-0,0506	-0,0758	-0,1027	-0,1281
Valor médio	-0,0242	-0,0491	-0,0733	-0,0993	-0,1239
DP	0,000451	0,001308	0,002145	0,003099	0,003683
Desvio padrão médio = 0,002137; inclinação da curva de calibração = -0,0124					
Limite de detecção = 0,51 µg/mL; Limite de quantificação = 1,71 µg/mL					

Este teste foi realizado com as menores concentrações possíveis do ácido salicílico (2,0 a 10,0 µg/mL). O desvio padrão médio obtido nas determinações foi 0,002137 e a inclinação da curva de calibração de -0,01240.

O limite de detecção é três vezes a relação entre o desvio padrão médio e a inclinação da curva. Obteve-se o resultado de 0,51 µg/mL. O limite de quantificação deve ser dez vezes o valor da mesma relação anterior (ICH Q2B, 2001). Obteve-se um valor de 1,71 µg/mL (Tabela 31).

6.10. Espectrofotometria direta no UV para determinação do resorcinol em gel de resorcinol 30%

6.10.1. Construção da curva de Ringbom

Tabela 32 - Resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do resorcinol em H₂SO₄ 0,1 N pelo método espectrofotométrico direto a 273,4 nm. Intervalo de concentração de 2,0 a 42,0 µg/mL.

Balão	Concentração µg/mL	Log concentração	Abs. 273,4 nm	%T	100 - %T
1	2,0	0,30	0,0359	92,07	7,93
2	4,0	0,60	0,0675	85,61	14,39
3	6,0	0,78	0,1017	79,12	20,88
4	8,0	0,90	0,1345	73,37	26,63
5	10,0	1,00	0,1660	68,23	31,77
6	12,0	1,08	0,2059	62,24	37,76
7	14,0	1,15	0,2391	57,66	42,34
8	16,0	1,20	0,2709	53,59	46,41
9	18,0	1,26	0,3001	50,11	49,89
10	20,0	1,30	0,3351	46,23	53,77
11	22,0	1,34	0,3776	41,92	58,08
12	24,0	1,38	0,4050	39,36	60,64
13	26,0	1,41	0,4425	36,10	63,90
14	28,0	1,45	0,4711	33,80	66,20
15	30,0	1,48	0,5061	31,18	68,82
16	32,0	1,50	0,5366	29,07	70,93
17	34,0	1,53	0,5746	26,63	73,37
18	36,0	1,56	0,5966	25,32	74,68
19	38,0	1,58	0,6486	22,46	77,54
20	40,0	1,60	0,6803	20,88	79,12
21	42,0	1,62	0,7123	19,40	80,60

Figura 38 - Espectros de absorção no ultravioleta da curva de Ringbom do resorcinol em H_2SO_4 0,1 N; concentrações de 2,0 a 42,0 $\mu\text{g/mL}$.

Na Tabela 32 observam-se os resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do resorcinol em ácido sulfúrico 0,1 N. Para a construção da curva, foram utilizadas vinte e uma soluções com concentrações entre 2,0 e 42,0 $\mu\text{g/mL}$. O gráfico foi obtido plotando-se a transmitância versus o logaritmo da concentração (Figura 39). A faixa de concentração que obedeceu à lei de Lambert-Beer foi de 18,0 a 42,0 $\mu\text{g/mL}$, sendo esta a faixa de concentração utilizada para a construção da curva de calibração.

Figura 39 - Curva de Ringbom obtida pelo método espectrofotométrico direto no ultravioleta. Concentração das soluções de 2,0 a 42,0 µg/mL de resorcinol em H₂SO₄ 0,1 N. Leituras efetuadas a 273,4 nm.

6.10.2. Construção da curva de calibração do resorcinol em H₂SO₄ 0,1 N a 273,4 nm. Tratamento estatístico

Tabela 33 - Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do resorcinol em H₂SO₄ 0,1 N pelo método espectrofotométrico direto a 273,4 nm. Intervalo de concentração de 18,0 a 42,0 µg/mL.

Concentração µg/mL	Absorbância 273,4 nm
18,0	0,3001
22,0	0,3776
26,0	0,4425
30,0	0,5061
34,0	0,5746
38,0	0,6486
42,0	0,7123

Figura 40 - Espectros de absorção no ultravioleta da curva de calibração do resorcinol em H_2SO_4 0,1 N; concentrações de 18,0 a 42,0 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 41 - Curva de calibração obtida pelo método espectrofotométrico direto no ultravioleta. Concentração das soluções de 18,0 a 42,0 $\mu\text{g/mL}$ do resorcinol em H_2SO_4 0,1 N. Leituras efetuadas a 273,4 nm.

Tabela 34 - Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do resorcinol pelo método espectrofotométrico direto a 273,4 nm. Intervalo de concentração de 18,0 a 42,0 µg/mL em H₂SO₄ 0,1 N.

	λ max	a	b	r	S _{er}	t _a
Resorcinol	273,4	-0,002966	0,01706	0,9999	0,7521	0,5283

a = intersecção da reta

b = inclinação da reta

r = coeficiente de correlação

S_{er} = desvio padrão relativo

t_a = teste de significância de a

A curva de calibração foi construída no intervalo entre 18,0 a 42,0 µg/mL, tendo como ponto médio da curva a concentração de 30,0 µg/mL, com absorbância de 0,5061. Este valor correspondente à faixa de menor erro espectrofotométrico para determinações quantitativas (EWING, 1972). (Tabela 33, Figuras 40 e 41). Os resultados obtidos para absorbância e concentração foram submetidos a tratamento estatístico pelo método dos mínimos quadrados. Obtiveram-se resultados satisfatórios para todos os parâmetros avaliados exigidos na validação de métodos analíticos (Tabela 34).

6.10.3. Pesquisa de interferentes

A investigação de interferentes foi realizada com o gel base (amostra placebo). As concentrações foram correspondentes a 24,0; 30,0 e 36,0 µg/mL de resorcinol. A medida em que aumentava a concentração dos excipientes nas soluções, a absorbância destes também aumentava gradualmente.

Os resultados obtidos nestes testes podem ser observados na Figura 34 correspondente à pesquisa de interferentes do gel base obtida com solução de concentrações do gel base em H₂SO₄ 0,1 N equivalentes a 24,0; 30,0 e 36,0 µg/mL de resorcinol. Realizou-se também a determinação do espectro no UV do ácido sulfúrico 0,1 N, observou-se que este não interferia na determinação (Figura 33).

Para melhor elucidarmos as concentrações utilizadas na pesquisa de interferentes do gel base, segue: 1 g de gel base contém 200 mg de ácido salicílico, equivalente a 20% de ácido salicílico. No caso do resorcinol corresponde a 300 mg equivalente a 30% de resorcinol.

Desta forma, concentrações de 16, 20 e 24 µg/g de ácido salicílico correspondem a 24,0; 30,0 e 36,0 µg/g de resorcinol em 1g de gel base. Através de cálculos estequiométricos temos:

$$\frac{16 \mu\text{g/mL}}{200 \text{ mg } \acute{\text{a}}\text{c. salic\'{\i}}\text{l\'{\i}}\text{co}} \times 300 \text{ mg resorcinol} = 24 \mu\text{g/mL de resorcinol}$$

$$\frac{20 \mu\text{g/mL}}{200 \text{ mg } \acute{\text{a}}\text{c. salic\'{\i}}\text{l\'{\i}}\text{co}} \times 300 \text{ mg resorcinol} = 30 \mu\text{g/mL de resorcinol}$$

$$\frac{24 \mu\text{g/mL}}{200 \text{ mg } \acute{\text{a}}\text{c. salic\'{\i}}\text{l\'{\i}}\text{co}} \times 300 \text{ mg resorcinol} = 36 \mu\text{g/mL de resorcinol}$$

6.11. Espectrofotometria derivada no UV para determinação do resorcinol no gel de resorcinol 30%

6.11.1. Construção da curva de calibração na primeira derivada a 257,6 nm e tratamento estatístico para o resorcinol em H₂SO₄ 0,1 N

Tabela 35 - Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do resorcinol em H₂SO₄ 0,1 N. Leituras efetuadas na primeira derivada a 257,6 nm. Intervalo de concentração de 18,0 a 42,0 µg/mL.

Concentração µg/mL	Amplitude 257,6 nm
18,0	0,1060
22,0	0,1324
26,0	0,1542
30,0	0,1743
34,0	0,2043
38,0	0,2283
42,0	0,2582

Figura 42 - Espectros no ultravioleta da primeira derivada do resorcinol em H_2SO_4 0,1 N. Leituras efetuadas a 257,6 nm. Intervalo de concentração de 18,0 a 42,0 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 43 - Curva de calibração obtida por espectrofotometria derivada no UV. Concentração das soluções de 18,0 a 42,0 $\mu\text{g/mL}$ do resorcinol em H_2SO_4 0,1 N. Leituras efetuadas a 257,6 nm.

Tabela 36 - Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do resorcinol em H_2SO_4 0,1 N. Leituras efetuadas na primeira derivada a 257,6 nm. Intervalo de concentração de 18,0 a 42,0 $\mu\text{g/mL}$.

	λ max	a	b	r	S_{er}	t_a
Resorcinol	257,6	-0,007427	0,006237	0,9998	1,8065	1,5599

a = intersecção da reta

b = inclinação da reta

r = coeficiente de correlação

S_{er} = desvio padrão relativo

t_a = teste de significância de a

A Figura 42 apresenta os espectros derivados da primeira ordem obtidos na curva de calibração nas concentrações de 18,0 a 42,0 $\mu\text{g/mL}$ em ácido sulfúrico 0,1 N. Na curva (Figura 43) observa-se que existe proporcionalidade entre as concentrações analíticas e a resposta instrumental (amplitude). Realizaram-se as leituras a 257,6 nm. O coeficiente de correlação obtido foi de 0,9999 demonstrando boa linearidade e os parâmetros estatísticos avaliados mostraram resultados satisfatórios (Tabela36).

6.11.2. Pesquisa de interferentes

Este teste foi realizado com o gel base. As concentrações foram correspondentes a 24,0; 30,0 e 36,0 µg/mL de resorcinol. Observou-se que a medida que aumentava a concentração dos excipientes, a amplitude destes também aumentava proporcionalmente.

Os resultados obtidos nestes testes podem ser observados na Figura 37 correspondente à pesquisa de interferentes do gel base obtida com solução de concentrações do gel base em H₂SO₄ 0,1 N equivalentes a 24,0; 30,0 e 36,0 µg/mL de resorcinol. Porém, independentemente da concentração das soluções de gel base, há vários pontos nos quais a amplitude é zerada, isto é, não há interferência dos excipientes na determinação do resorcinol. Utilizou-se um ponto de leitura único, sendo a 257,6 nm.

6.11.3. Determinação do teor do resorcinol por espectrofotometria derivada no UV a 257,6 nm

Tabela 37 - Resultados obtidos na determinação do teor do resorcinol (gel a 30%) em H_2SO_4 0,1 N por espectrofotometria derivada no UV a 257,6 nm.

Amostra	Valor rotulado do resorcinol (g/100g)	Valor encontrado do resorcinol* (g/100g)	Teor Porcentual (%)
E	30,00	30,76	102,50
F	30,00	30,39	101,30

* Média de dez determinações

Tabela 38 - Resultados estatísticos obtidos na determinação do resorcinol (gel a 30%) em H_2SO_4 0,1 N pela espectrofotometria derivada no UV a 257,6nm.

Amostra	Desvio padrão	Desvio padrão Relativo (%)	Intervalo de confiança P = 95%
E	0,105	0,340	0,07
F	0,109	0,349	0,08

Após validar o método por espectrofotometria derivada no UV, procedeu-se a aplicação nas amostras do gel de resorcinol 30% (amostras E e F). Os resultados obtidos foram 30,76 e 30,39g de resorcinol em 100g de gel que correspondem a 102,5 e 101,3%, respectivamente. O coeficiente de variação que indica a precisão do método está dentro das normas estabelecidas oficialmente, isto é, menor do que 1%. Os resultados podem ser observados nas Tabelas 37e 38.

6.11.4. Teste de recuperação

Tabela 39 - Resultados obtidos na recuperação do resorcinol em H_2SO_4 0,1 N pela espectrofotometria derivada no UV. Método quantitativo zero-pico com leituras a 257,6 nm.

Amostra	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
E	4,00	3,99	99,80
	5,00	5,00	100,00
	10,00	10,00	100,00
F	4,00	3,93	98,20
	5,00	5,04	100,80
	10,00	10,04	100,40

* Média de três determinações

A Tabela 39 apresenta os resultados obtidos no teste de recuperação nas amostras do gel de resorcinol 30% a diferentes concentrações. Os resultados obtidos estão entre o intervalo de 98,2 e 100,8%. Baseando-se nos valores obtidos, pode-se afirmar que o método por espectrofotometria derivada no UV pode ser aplicado para o doseamento do resorcinol no comprimento de onda de 257,6 nm com resultados de exatidão satisfatórios.

6.11.5. Limite de detecção e limite de quantificação

Tabela 40 - Resultados obtidos para o cálculo dos limites de detecção e quantificação empregando a espectrofotometria derivada no UV para determinação do resorcinol em H₂SO₄ 0,1 N.

Número	Amplitude (2,0 µg/mL)	Amplitude (4,0 µg/mL)	Amplitude (6,0 µg/mL)	Amplitude (8,0 µg/mL)	Amplitude (10,0 µg/mL)
1	0,0116	0,0230	0,0347	0,0463	0,0576
2	0,0114	0,0229	0,0343	0,0464	0,0581
3	0,0107	0,0230	0,0349	0,0466	0,0578
Valor médio	0,0112	0,0230	0,0346	0,0464	0,0578
DP	0,000472	0,000058	0,000306	0,000153	0,000252

Desvio padrão médio = 0,000248; inclinação da curva de calibração = 0,00583

Limite de detecção = 0,13 µg/mL; Limite de quantificação = 0,42 µg/mL

Realizou-se uma curva de calibração a baixas concentrações do resorcinol (2,0 a 10,0 µg/mL). O desvio padrão médio obtido nas determinações (triplicata) foi 0,000248 e a inclinação da curva de calibração, de 0,00583.

O limite de detecção é três vezes a relação entre o desvio padrão médio e a inclinação da curva. Obteve-se o resultado de 0,13 µg/mL. O limite de quantificação deve ser dez vezes o valor da referida relação (ICH Q2B, 2001); obteve-se um valor de 0,42 µg/mL (Tabela 40).

Como considerações finais foi demonstrado, através da pesquisa realizada, que as metodologias podem ser utilizadas no controle de qualidade de formulações magistrais e comerciais de “peelings” químicos, visto que se obtiveram resultados analíticos, os quais são considerados precisos, exatos e sensíveis. Além disso, são métodos considerados simples, rápidos, de baixo impacto ambiental e custos aceitáveis.

7. Conclusões

7. CONCLUSÕES

- ❖ O ácido salicílico, ácido láctico e o resorcinol (padrões secundários) foram caracterizados mediante técnicas espectrométrica (espectrometria no infravermelho), físico-química (faixa de fusão) e termoanalíticas (termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial).
- ❖ Foram validadas metodologias analíticas empregando-se a espectrofotometria derivada no UV para determinação quantitativa do ácido salicílico (primeira derivada) e do resorcinol (segunda derivada) na solução de Jessner, utilizando-se etanol absoluto como solvente.
- ❖ Os resultados obtidos na determinação do teor dos ativos (ácidos salicílico e resorcinol) na solução de Jessner (amostras A e B) foram satisfatórios e os métodos demonstraram ser precisos e exatos quando aplicados às formulações pesquisadas.
- ❖ Foi validada metodologia analítica empregando-se a espectrofotometria derivada no UV para determinação quantitativa do ácido salicílico em gel 20%. Quando o método foi aplicado nas formulações estudadas (amostras C e D) obtiveram-se resultados satisfatórios e confiáveis.
- ❖ A metodologia validada empregando-se a espectrofotometria derivada no UV para determinação de resorcinol em gel 30% é específica, precisa e exata quando aplicada nas formulações (amostras E e F) selecionadas para a pesquisa.

8. Referências Bibliográficas

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ABOUNASSIF, M.A.; MIAN, M.S.; MIAN, N.A.A. Salicylic acid. **Anal. Profiles Drug Subst. Excipients**, San Diego, v.23, p.421-470, 1993.

ADAMS, S.; MILLER, J.H.M. Determination of salicylic acid and benzoic acid in pharmaceutical formulations by spectrofluorimetry. **J. Pharm. Pharmacol.**, Wallingford, v.30, n.2, p.81-83, 1978.

AFKHAMI, A.; KHATAMI, H.A. Indirect kinetic spectrophotometric determination of resorcinol, catechol and hydroquinone. **J. Anal. Chem.**, New York, v.56, n.5, p.429-432, 2001.

AL-SHAMMARY, F.J.; MIAN, N.A.A.; MIAN, M.S. Lactic acid. **Anal. Profiles Drug Subst. Excipients**, San Diego, v.22, p.263-316, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17.ed. Gaithersburg: AOAC, 2000. v.1.

ATZORI, L.; BRUNDU, M.A.; ORRU, A., BIGGIO, P. Glycolic acid peeling in the treatment of acne. **JEADV, J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, Amsterdam, v.12, n.2, p.119-122, 1999.

*De acordo com a NBR 6023/2000, preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI), 2002.

- AYHAN, S.; BARAN, C.N.; YAVUZER, R.; LATIFOGLU, O.; CENETOGLU, S.;
BARAN, N.K. Combined chemical peeling and dermabrasion for deep acne
and posttraumatic scars as well as aging face. **Plast. Reconstr. Surg.**,
Baltimore, v.102, n.4, p.1238-1246, 1998.
- AYRES, S. Dermal changes following application of chemical cauterants to aging
skin. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.82, p.578, 1960.
- BARKER, S.B. Preparation and colorimetric determination of lactic acid. **Methods
Enzymol.**, San Diego, v.3, p.241-246, 1957.
- BAKER, T.J.; STUZIN, J.M. An examination of the phenol-croton oil peel: part IV,
face peel results with different concentrations of phenol and croton oil by
Gregory P. Hetter. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.105, p.1084-1087,
2000.
- BAMES, H.O. Truth and fallacies of face peeling and face lifting. **Med. J. Rec.**,
New York, v.126, p.86-87, 1927.
- BARAN, R.; MAICHBACH, H.I. **Cosmetic dermatology**. Baltimore: Williams &
Wilkins, 1994, p.50-51, 439-446
- BATISTUZZO, J.A.O.; ITAYA, M.; ETO, Y. **Formulário médico-farmacêutico**.
São Paulo: Tecnopress, 2000 . p.147-229.
- BOIXAREU, T.M.J. Peeling dermatológico al ácido tricloroacético homogeneizado.
Acta Dermatol., Kyoto, v.4, p.243-248, 1998.

- BOTTA, S.A.; STRAITH, R.E.; GOODWIN, H.H. Cardiac arrhythmias in phenol face peeling: a suggested protocol for prevention. **Aesth. Plast. Surg.**, New York, v.12, p.115-117, 1988
- BRITISH Pharmacopoeia. London: Her Majesty's Stationery Office, 1999. v.1, p.844-845, 1249-1250, 1267.
- BRITTAIN, H.G. Validação de métodos não cromatográficos. **Pharm. Technol., Ed. Bras.**, São Paulo, v.2, n.3, p.4-9, 1998.
- BRODY, H.; COLEMAN, W.P.; PIACQUADIO, D.; PERRICONE, N.V.; ELSON, M.L.; HARRIS, D. Round table discussion of alpha hydroxy acids. **Dermatol. Surg.**, New York, v.22, p.475-477, 1996.
- BRODY, H.J.; HAILEY, C.W. Medium depth chemical peeling of the skin: a variation of superficial chemosurgery. **J. Dermatol. Surg. Oncol.**, New York, v.12, p.1268, 1986.
- BRODY, H.J. **Peeling químico e resurfacing**. 2.ed. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso, 2000. p.5, 45-51, 120-121.
- BRODY, H.J. Variations and comparisons in medium depth chemical peeling. **J. Dermatol. Surg. Oncol.**, New York, v.15, p.953-963, 1989.
- BRYAN, C.P. **Ancient Egyptian medicine**: the *Papyrus Ebers*. Chicago: Ares Publishers, 1974. p.158-161.
- BUTLER, P.E.M.; GONZALEZ, S.; RANDOLPH, M.A.; KIM, J.; KOLLIAS, N.; YAREMCHUK, M.J. Quantitative and qualitative effects of chemical peeling on photo-aged skin: an experimental study. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.107, p.222-228, 2001.

- CASSANO, N.; ALESSANDRINI, G.; MASTROLONARDO, M.; VENA, G.A. Peeling agents: toxicological and allergological aspects. **JEADV, J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, Amsterdam, v.13, n.1, p.14-23, 1999.
- CLIFFORD, P.C. Office-based skin care and superficial peels: the scientific rationale. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.104, p.854-864, 1999.
- COLEMAN III, W.P.; YARBOROUGH, J.; MANDY, S.H. Dermabrasion for prophylaxis and treatment of actinic keratoses. **Dermatol. Surg.**, New York, v.22, p.17-21, 1996.
- COLEMAN, W.P.; FUTRELL, J.M. The glycolic acid + trichloroacetic acid peel. **J. Dermatol. Surg. Oncol.**, New York, v.20, p.76-80, 1994.
- COLLEMAN, W.P.; HANKE, C.W.; ORENTREICH, N.; KURTIN, S.B.; BRODY, H.; BENNETT, R. A history of dermatologic surgery in the United States. **Dermatol. Surg.**, New York, v.26, p.5-11, 2000.
- COOK, K.K.; COOK, W.R. Chemical peel of nonfacial skin using glycolic acid gel augmented with TCA and neutralized based on visual staging. **Dermatol. Surg.**, New York, v.26, p.994-999, 2000.
- COTELLESA, C.; PERIS, K.; ONORATI, M.T.; FARGONOLI, M.C.; CHIMENTI, S. The use of chemical peelings in the treatment of different cutaneous hyperpigmentations. **Dermatol. Surg.**, New York, v.25, n.6, p.450-454, 1999.
- CUCÉ, L.C.; BERTINO, M.C.M.; SCATTONE, L.; BIRKENHAUER, M.C. Tretinoin peeling. **Dermatol. Surg.**, New York, v.27, p.12-14, 2001.

- CUI, H.; HE, C.; ZHAO, G. Determination of polyphenols by high-performance liquid chromatography with inhibited chemiluminescence detection. **J. Chromatogr., A**, Amsterdam, v.855, p.171-179, 1999.
- DAS, G.V. Simple method for the quantitative determination of salicylic acid in ointments. **Am. J. Hosp. Pharm.**, Washington, v.28, n.12, p.973, 1971.
- DITRE, C.M.; GRIFFIN, T.D.; MURPHY, G.F.; SUEKI, H.; TELEGAN, B.; JOHNSON, W.C.; YU, R.J.; VAN SCOTT, E.J. Effects of alpha-hydroxy acids on photoaged skin: a pilot clinical, histologic and ultrastructural study. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Saint Louis, v.34, p.187-195, 1996.
- DMYTRYSHYN, J.R.; GRIBBLE, M.J.; KASSEN, B.O. Chemical face peel complicated by toxic shock syndrome. **Arch. Otolaryngol.**, Chicago, v.109, p.170-171, 1983.
- EBBELL, B. The Papyrus Ebers: the greatest Egyptian medical document. Copenhagen: Levin & Munksgaard; London: Oxford University Press, 1937. In: BRODY, H.J. **Peeling químico e resurfacing**. 2.ed. Rio de Janeiro: Reichmann & Affonso, 2000.
- EDISON, R.B. Phenol peeling: new standards of excellence. **Aesth. Plast. Surg.**, New York, v.20, p.81-82, 1996.
- ELLER, J.J.; WOLFF, S. Skin peeling and scarification. **JAMA, J. Am. Med. Assoc.**, Chicago, v.116, p.934-938, 1941.
- EWING, G.W. **Métodos instrumentais de análise química**. São Paulo: Edgard Blücher, 1972. v.1, p.48-64.
- F.D.A. Backgrounder, Alpha hydroxy acids in cosmetics. Disponível em: <http://www.fda.gov>. Acesso em: 16 ago.2002.

F.D.A./CFSAN. Beta hydroxy acids in cosmetics. Disponível em: <http://vm.cfsan.fda.gov>. Acesso em: 16 ago. 2002.

FITZPATRICK, R.E.; GOLDMAN, M.P.; SATUR, N.S.; TOPE, W.D. Pulsed carbon dioxide laser resurfacing of photoaged facial skin. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.132, p.395-402, 1996.

FITZPATRICK, R.E.; TOPE, W.D.; GOLDMAN, M.P.; SATUR, N.M. Pulsed carbon dioxide laser, trichloroacetic acid, baker-gordon phenol, and dermabrasion: a comparative clinical and histologic study of cutaneous resurfacing in a porcine model. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.132, p.469-471, 1996.

FITZPATRICK, T.B. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.124, p.869-871, 1988.

FORD, J.L.; TIMMINS, P. **Pharmaceutical thermal analysis**: techniques and applications. Chichester: Ellis Horwood, 1989. 313p. (Ellis Horwood series in pharmaceutical technology).

FULTON, J.E.; RAHIMI, A.D. Dermabrasion using CO2 dry ice. **Dermatol. Surg.**, New York, v.27, p.544-548, 1999.

FUNASAKA, Y.; SATO, H.; USUKI, A.; OHASHI, A.; KOTOYA, H.; MIYAMOTO, K.; HILLEBRAND, G.G.; ICHIHASHI, M. The efficacy of glycolic acid for treating wrinkles: analysis using newly developed facial imaging systems equipped with fluorescent illumination. **J. Dermatol. Sci.**, Amsterdam, v.27, p.S53-S59, 2001.

GARCIA, A.; FULTON, J. The combination of glycolic acid and hydroquinone or kojic acid for the treatment of melasma and related conditions. **Dermatol. Surg.**, New York, v.22, p.443-447, 1996.

GHERSETICH, P.; TEOFOLL, M.; GANTCHEVA, M. Chemical peeling: how, when, why? **JEADV, J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.**, Amsterdam, v.8, n.1, p. 1-11, 1997.

GIANOTTO, E.A.S. **Metodologia para determinação de acetato de triancinolona e dipropionato de betametasona associados ao ácido salicílico**. São Paulo, 1996. 251p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

GILCHREST, B.A. A review of skin ageing and its medical therapy. **Br. J. Dermatol.**, Oxford, v.135, p.867-875, 1996.

GLOGAU, R.G. Chemical peeling and aging skin. **J. Geriatr. Dermatol.**, King of Prussia, v.2, n.1, p.30-35, 1994.

GOMEZ, M.R.; OLSINA, R.A.; MARTINEZ, L.D.; SILVA, M.F. Simultaneous determination of chloramphenicol, salicylic acid and resorcinol by capillary zone electrophoresis and its application to pharmaceutical dosage forms. **Talanta**, Amsterdam, v.61, n.2, p.233-238, 2003.

GONÇALVES, M.L.S.S. **Métodos instrumentais para análise de soluções: análise quantitativa**. 2.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990. p.13-82, 609-640.

GOTO, Y.; MAKINO, K.; KATAOKA, Y.; SHUTO, H.; OISHI, R. Determination of salicylic acid in human serum with capillary zone electrophoresis. **J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.**, Amsterdam, v.706, n.2, p.329-335, 1998.

GOU, X.J.; ZHOU, M. Determination of resorcinol and salicylic acid in piyanning tincture by high-performance liquid chromatography. **Sepu**, Beijing, v.16, n.6, p.532-533, 1998.

GREEN, G.L.; O'HAVER, T.V. Numerical error analysis of derivative spectrometry for the quantitative analysis of mixtures. **Anal. Chem.**, Columbus, v.48, p.312-318, 1976.

GRIFFITHS, C.E.M. Drug treatment of photoaged skin. **Drugs Aging**, Auckland, v.14, p.289-301, 1999.

GRIFFITHS, C.E.M.; KANG, S.; ELLIS, C.; KIM, K.J.; FINKEL, L.J.; ORTIZ-FERRER, L.C.; WHITE, G.M.; HAMILTON, T.A.; VOORHEES, J.J. Two concentrations of topical tretinoin (retinoic acid) cause similar improvement of photoaging but different degrees of irritation. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.131, p.1037-1044, 1995.

GRIMES, P.E. Melasma; etiologic and therapeutic considerations. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.131, p.1453-1457, 1995.

HACKMANN, E.R.M.K.; BENETON, S.A.; SANTORO, M.I.R.M. Espectrofotometria derivada na análise de fármacos em medicamentos. **Rev. Port. Farm.**, Lisboa, v.41, n.1, p.7-13, 1991.

HAINES, P.J. **Thermal methods of analysis**: principles, applications and problems. London: Blackie Academic & Professional, 1995. 286p.

HEIGER, D.N. **High performance capillary electrophoresis**. Waldbronn: Hewlett Packard, 1997. (Publication Number 12-5091-6199E).

HELANDER, S.D. Treatment of photoaged skin. **Drugs Aging**, Auckland, v.8, p.12-16, 1996.

HEVIA, O.; NEMETH, A.J.; TAYLOR, J.R. Tretinoin accelerates healing after trichloroacetic acid chemical peel. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.127, p.678-682, 1991.

HLASIWETZ, H.; BARTH, L. **Ann. Chem. Pharm.** v.130, p.354-359, 1864. *apud*

HO, P.; HOGG, T.A.; SILVA, M.C.M. Application of liquid chromatographic method for the determination of phenolic compounds and furans in fortified wines. **Food Chem.**, Amsterdam, v.64, p.115-122, 1999.

HOLM, C.; MÜHLBAUER, W. Toxic shock syndrome in plastic surgery patients: case report and review of the literature. **Aesth. Plast. Surg.**, New York, v.22, p.180-184, 1998.

HOPKALA, H.; KOWALCZUK, D. Application of derivative UV spectrophotometry for the determination of enoxacin and nalidixic acid in tablets. **Pharmazie**, Eschborn, v.55, n.6, p.432-435, 2000.

HOPKINS, J.D.; SMITH, A.W.; JACKSON, I.T. Adjunctive treatment of congenital pigmented nevi with phenol chemical peel. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.105, n.1, p.1-11, 2000.

HOWARD, P.C.; SAMS, R.L.; DENNIS, D.A.; WAMER, W.G. Alpha-hydroxy acids: consideration of the biological effects and possible role in photocarcinogenesis. **J. Food Drug Anal.**, Taiwan, v.10, p.258-261, 2002.

HRUZA, G.J. Laser skin resurfacing. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.132, p.451-455, 1996.

HUANG, W.S.; LIN, C.C.; HUANG, M.C.; WEN, K.C. Determination of alpha-hydroxyacids in cosmetics. **Yàowù Shípin Fēnxi**, Táibei, v.10, n.2, p.95-100, 2002.

ICH Q2b. Text on validation of analytical procedure: methodology. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 04 maio 2001.

International Rosacea Foundation. Chemical Peels and Retinoids. Disponível em: <http://internationalrosaceafoundation.org>. Acesso em: 18 set. 2003.

JOHNSON, E.M. A risk assessment of topical tretinoin as a potential human developmental toxin based on animal and comparative human data. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Saint Louis, v.36, p.S86-S90, 1997.

JONES, J.H.; CLARK, G.R.; HARROW, L.S. A variable reference technique for analysis by absorption spectrophotometry. 1. Theory and discussion. **J. Assoc. Off. Agric. Chem.**, Washington, v.34, n.1, p.135-148, 1951.

KATSAMBAS, A.D.; STRATIGOS, A.J. Dermatologic therapy in the new millennium. **Clin. Dermatol.**, Tokyo, v.19, p.65-67, 2001.

KIM, S.W.; MOON, S.U.; KIM, J.A.; EUN, H.C. Glycolic acid versus jessner's solution: which is better for facial acne patients? **Dermatol. Surg.**, New York, v.24, p.270-273, 1999.

KIRK-OTHMER encyclopedia of chemical technology. 4.ed. New York: John Wiley, 1998. v.13, p.996-1014, 1042-1062., v.21, p.601-626.

- KITAMURA, K.; MAJIMA, R. Determination of salicylic acid in aspirin powder by second derivative ultraviolet spectrometry. **Anal. Chem.**, Columbus, v.55, n.1, p.54-56, 1993.
- KLEIN, D.R.; LITTLE, J.H. Laryngeal edema as a complication of chemical peel. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.71, n.3, p.419-420, 1983.
- KLIGMAN, A.M.; WILLIS, I. A new formula for depigmenting human skin. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.111, p.40-48, 1975.
- KLIGMAN, D.; KLIGMAN, A.M. Salicylic acid as a peeling agent for the treatment of acne. **Cosmet. Dermatol.**, Chatham, v.10, p.44-47, 1997.
- KLIGMAN, D.; KLIGMAN, A.M. Salicylic acid peels for the treatment of photoaging. **Dermatol. Surg.**, New York, v.24, p.325-328, 1998.
- KLIGMAN, L.H.; SAPADIN, A.N.; SCHWARTZ, E. Peeling agents and irritants, unlike tretinoin, do not stimulate collagen synthesis in the photoaged hairless mouse. **Arch. Dermatol. Res.**, Berlin, v.288, p.615-620, 1996.
- LAM, M.; SULINDRO, M. Anti-aging research brief. Academy of anti-aging research. MMIII, p.1-8. Disponível em: <http://www.a3r.org>. Acesso em: 17/09/03.
- LAWRENCE, N.; COX, S.E.; COCKERELL, C.J.; FREEMAN, R.G.; CRUZ, P.D. A comparison of the efficacy and safety of jessner's solution and 35% trichloroacetic acid vc 5% fluorouracil in the treatment of widespread actinic keratoses. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.131, p.176-181, 1995.
- LEVILLAIN, P.; FOMPEYDIE, D. Spectrophotométrie dérivée: intérêt, limites et applications. **Analisis**, Paris, v.14, n.1, p.1-20, 1986.

- LEVINE, P.J. Formulações para descamação química da pele: uma revisão. **Int. J. Pharm. Compd.**, Houston, v.3, p.90-92, 2001.
- LITTON, C.; FOURNIER, P.; CAPINPIN, A. A survey of chemical peeling of the face. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.51, p.645-647, 1973.
- LITTON, C.; TRINIDAD, G. Complications of chemical face peeling as evaluated by a questionnaire. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.67, p.738-744, 1979.
- LO VERME, W.E.; DRAPKIN, M.S.; COURTISS, E.H.; WILSON, R.M. Toxic shock syndrome after chemical face peel. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.80, p.115-117, 1987.
- LUNN, G. **Capillary electrophoresis methods for pharmaceutical analysis**. New York: John Wiley, 2000. p.1256, 1270-1279.
- MALMEZAT, W.L. A historical review of chemical rejuvenation of the face. In: KOTLER, R. **Chemical rejuvenation of the face**. Saint Louis: Mosby, 1992. p.16-17.
- MARTINDALE: the extra pharmacopoeia. 30.ed. London: Pharmaceutical Press, 1993. p.766-771, 783-785, 1380-1381.
- MASSON, P. A diretiva cosmética europeia e suas atualizações. **Cosmet. Toiletries, Ed Port.**, São Paulo, v.11, p.60-65, 1999.
- MCDONALD, W.S.; BEASLEY, D. JONES, C. Retinoic acid and CO2 laser resurfacing. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.104, p.2229-2235, 1999.
- McWILLIAM, I.G. Derivative spectroscopy and its application to the analysis of unresolved bands. **Anal. Chem.**, Columbus, v.41, p.674-676, 1969.

MERCK index. 12.ed. Withehouse Station, 1996. p.602-604, 913, 930.

MIKAMI, E.; GOTO, T.; OHNO, T.; MATSUMOTO, H.; NISHIDA, M. Simultaneous analysis of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid, and salicylic acid in cosmetic products by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.28, n.2, p.261-267, 2002.

MILLER, J.C.; MILLER, J.N. **Estadística para química analítica**. 2.ed. Delaware: Addison-Wesley Iberoamericana, 1993. p.40-49.

MILLIKAN, L.E. Cosmetology, cosmetics, cosmeceuticals: definitions and regulations. **Clin. Dermatol.**, Tokyo, v.19, p.371-374, 2001.

MILLS III, T.; ROBERSON, J.C.; FISHER, Barry.A.J., eds. **Instrumental data for drug analysis**. 2.ed. New York: Elsevier, 1987. v.3, p.2062-2063.

MOFFAT, A.C.; JACKSON, J.V.; MOSS, M.S.; WIDDOP, B.; GREENFIELD, E.S.; CLARKE, E.C.G., eds. **Clarke's isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post mortem material**. 2.ed. London: Pharmaceutical Press, 1986. p.958-959, 964-967.

MOLEVER, K. Simultaneous determination of alpha and beta hydroxy acids in personal care products by capillary gás chromatography. **J. Cosmet. Sci.**, New York, v.53, n.2, p.121-126, 2002.

MONASH, S. The uses of diluted trichloroacetic acid in dermatology. **Urol. Cutaneous Rev.**, Saint Louis, v.49, p.119, 1945.

MONHEIT, G.D. Chemical peeling vs. laser resurfacing. **Dermatol. Surg.**, New York, v.27, p.213-214, 2001.

- MONHEIT, G. The Jessner's + TCA peel: a medium depth chemical peel. **J. Dermatol. Surg. Oncol.**, New York, v.15, p.945, 1989.
- MORETTO, L.D. A estabilidade de fármacos e medicamentos. **Pharm. Technol., Ed. Bras.**, São Paulo, v.3, n.4, p.46-48, 1999.
- NEWMAN, N.; NEWMAN, A.; MOY, L.S.; BABAPOUR, R.; HARRIS, A.H.; MOY, R.L. Clinical improvement of photoaged skin with 50% glycolic acid. **Dermatol. Surg.**, New York, v.22, p.455-460, 1996.
- OHLWEILER, O.A. **Química analítica quantitativa**. 2.ed. Rio de Janeiro: Livros Tecnicos e Científicos, 1976. v.1, p.346-350.
- OKUBO, S.; MASHIGE, F.; OMORI, M.; HASHIMOTO, Y.; NAKAHARA, K.; KANAZAWA, H.; MATSUSHIMA, Y. Enantiomeric determination of L- and D-lactic acid in human cerebrospinal fluid by chiral ligand exchange high-performance liquid chromatography. **Biomed. Chromatogr.**, Bognor Regis, v.14, n.7, p.474-477, 2000.
- OUMEISH, Y.O. The cultural and philosophical concepts of cosmetics in beauty and art thtough the medical history of mankind. **Clin. Dermatol.**, Tokyo, v.19, p.375-386, 2001.
- PALMISANO, F.; GUERRIERI, A.; ZAMBONIN, P.G. Determination of free resorcinol in human serum and urine by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. **Ann. Chim.**, Rome, v.76, n.11/12, p.419-426, 1986.
- PAQUETTE, D.; BADIAVAS, E.; FALANGA, V. Short contact topical tretinoin therapy to stimulate granulation tissue in chronic wounds. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Saint Louis, v.45, p.382-386, 2001.

- PARISH, L.C.; WITKOWSKI, J.A. Traditional therapeutic agents. **Clin. Dermatol.**, Tokyo, v.18, p.5-9, 2000.
- PERRICONE, N.V.; DINARDO, J.C. Photoprotective and antiinflammatory effects of topical glycolic acid. **Dermatol. Surg.**, New York, v.22, p.435-437, 1996.
- PUGLIESE, P. Esfoliações e peelings. **Personalite**. v.1, jun/jul, p.32-36, 2002.
- QUIROGA, M.L.; GUILLOT, C.F. **Cosmetica dermatologica practica**. 5.ed. Buenos Aires: El Ateneo, 1986. 317p.
- RAMOS-E-SILVA, M.; COELHO, S.C.S. Cosmetics for the elderly. **Clin. Dermatol.**, Tokyo, v.19, p.413-423, 2001.
- RAMOS-E-SILVA, M.; HEXSEL, D.M.; RUTOWITSCH, M.S.; ZECHMEISTER, M. Hydroxy acids and retinoids in cosmetics. **Clin. Dermatol.**, Tokyo, v.19, p.460-466, 2001.
- RICHARDSON, M.L.; GANGOLLI, S., eds. **The dictionary of substances and their effects**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, s.d. 876p.
- RUBIN, M.G. Chemical peeling as adjuvant therapy for facial neurotic excoriations. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Saint Louis, v.32, p.296-297, 1995.
- RUBIN, M.G. The efficacy of a topical lidocaine/prilocaine anesthetic gel in 35% trichloroacetic acid peels. **Dermatol. Surg.**, New York, v.21, p.223-225, 1995.
- SANCHEZ, R.F.; BOSCH, O.C.; CANO, P.J.M. Derivative ultraviolet visible region absorption spectrophotometry and its analytical applications. **Talanta**, Amsterdam, v.35, p.753-761, 1988.

SANE, R.T.; BAMANE, B.D.; MHALAS, J.G. Spectrophotometric determination of resorcinol. **J. Indian Chem. Soc.**, Calcutta, v.60, n.4, p.381-382, 1983.

SEM, A.K. High-performance liquid-chromatographic determination of resorcinol and phenol in pharmaceutical formulations and simultaneous estimation of resorcinol and phenol in presence of each other in pharmaceutical. **Indian Drugs**, Mumbai, v.27, n.5, p.316-319, 1990.

SETTLE, F., ed. **Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry**. Prentice Hall: Prentice-Hall International, 1997.

SHARMAN, D.C. Determination of lactic acid and poly(lactic acids) in a dermatological formulation by capillary electrophoresis. **Analyst**, Letchworth, v.122, p.709-713, 1997.

SHELDON, R.P. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Saint Louis, v.48, n.1, p.1-19, 2003.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRILL, T.C., eds. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.85-119, 153-186, 263-283.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000. p.67-101.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T.A. **Princípios de análise instrumental**. 5.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. p.276-300, 342-363, 399-445, 703-713.

SPIRA, M.; FREEMAN, R.; ARFAI, P.; GEROW, F.J.; HARDY, S.B. Clinical comparison of chemical peeling, dermabrasion, and 5-FU for senile keratoses. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.46, p.61-66, 1970.

SPIRA, M.; GEROW, F.J.; HARDY, B. Complication of chemical face peeling. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.54, p.397-403, 1974.

SPIRA, M. Treatment of acne pitting and scarring. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.60, p.38-44, 1977.

STANIFORTH, M.; O'HANLON, M.; KHONG, T.M. Comparative study of lactic acid and polylactides using static headspace, gás chromatography and high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr., A.**, Amsterdam, v.833, n.2, p.195-208, 1999.

STEGMAN, S.J. A comparative histologic study of the effects of three peeling agents and dermabrasion on normal and sundamaged skin. **Aesthet. Plast. Surg.**, New York, v.6, p.123-135, 1982.

STEGMAN, S.J. A study of dermabrasion and chemical peels in na animal model. **J. Dermatol. Surg. Oncol.**, New York, v.6, p.490, 1980.

SÜHAN, A.; BARAN, C.N.; YAVUZER, R.; LATIFOGLU, O.; ÇENETOGLU, S.; BARAN, N.K. Combined chemical peeling and dermabrasion for deep acne and posttraumatic scars as well as aging face. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.102, p.1238-1246, 1998.

SULTZBERGER, M.B.; WOLF, J.; VITTEN, V.H.; KOPF, A.W. Dermatology diagnosis and treatment. Saint Louis: Mosby, 1961. In: BRODY, H.J. **Peeling químico e resurfacing**. 2.ed. Rio de Janeiro : Reichmann & Affonso, 2000.

SWARTZ, M.E.; KRULL, I.S. Validação de métodos cromatográficos. **Pharm. Technol., Ed. Bras.**, São Paulo, v.2, n.3, p.12-20, 1998.

- SZALAY, L.V.; SPIRA, M. Treatment of acne scarring by combined dermabrasion and chemical peel. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.79, p.307-308, 1987.
- TAVARES, M.F.M. Mecanismos de separação em eletroforese capilar. **Quim. Nova**, São Paulo, v.20, p.493-511, 1997.
- TORRES, A. The use of Food and Drug Administration - approved medications for unlabeled (off-label) uses. **Arch. Dermatol.**, Chicago, v.130, n.1, p.32-36, 1994.
- TRAUCHESSEC, J.M. Teoria y practica de los peelings. **Rev. Soc. Espanola Med. Estetica**, v.40, p.1-12, 1996.
- TRUPPMAN, E.S.; ELLENBY, J.D. Major electrocardiographic changes during chemical face peeling. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.63, p.44-48, 1979.
- ULLMANN'S encyclopedia: industrial organic chemicals: starting materials and intermediates. Weinheim, New York: Wiley-VCH, 1999. v.5, p.3119-3133, v.7, p.4261-4281.
- UNITED States pharmacopeia. 24.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1999. p.868, 376-1377.
- UNIVERSITY OF NEW ENGLAND. UNE Faculty & Staff Web Sites. Dermatological Pharmacology. Disponível em: <http://faculty.une.edu/com/courses/Systems/derm/handouts/html>. Acesso em: 24 jul. 2003.
- URKOV, J.C. Surface defects of skin: treatment by controlled exfoliation III. **Med. J.**, v.89, p.75, 1946.

- VAN SCOTT, E.J.; YU, R.J. Hyperkeratinization, corneocyte cohesion and alpha hydroxy acids. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Saint Louis, v.11, p.867-879, 1984.
- VIGLIOGLIA, P.A.; RUBIN, J. **Cosmiatria II**. Buenos Aires: AP Americana, 1989. p.86, 98, 194.
- VILLERS, M.M.; BERGH, J.J. Comparing HPLC and UV spectrophotometric analysis methods for determining the stability of sorbic acid in nonionic creams containing lactic acid. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.26, p.539-547, 2000.
- VOGEL, A.I. **Análise química quantitativa**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. 712p.
- VOSSEN, M.; HAGE, J.J.; KARIM, R.B. Formulation of trichloroacetic acid peeling solution: a bibliometric analysis. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.105, p.1088-1096, 2000.
- YATES, R.L.; HAVERY, D.C. Determination of phenol, resorcinol salicylic acid and alpha-hydroxy acids in cosmetics products and salon preparations. **J. Cosmet. Sci.**, New York, v.50, p.315-325, 1999.
- WAHBI, A.M.; EBEL, S. The use of the first-derivative curves of absorption spectra in quantitative analysis. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v.70, p.57-63, 1974.
- WANG, B.; CAREY, W.D. Chemical peeling as adjuvant therapy for facial neurotic excoriations. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Saint Louis, v.30, p.669-670, 1994.
- WARNER, M.A.; HARPER J.V. Cardiac dysrhythmias associated with chemical peeling with phenol. **Anesthesiology**, Hagerstown, v.62, p.366-367, 1985.

WEE, S.Y.; AHN, D.S. Facial resurfacing in xeroderma pigmentosum with chemical peeling. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.103, p.1464-1467, 1999.

WEXLER, M.R.; HALON, D.A.; TEITELBAUM, A.; TADJER, G.; PELED, I.J. The prevention of cardiac arrhythmias produced in an animal model by the topical application of a phenol preparation in common use for face peeling. **Plast. Reconstr. Surg.**, Baltimore, v.73, n.4, p.595-598, 1984.

WHANG, K.K.; LEE, M. The principle of a three-staged operation in the surgery of acne scars. **J. Am. Acad. Dermatol.**, Saint Louis, v.40, p.95-97, 1999.

WINDHAGER, K.; PLEWIG, G. Wirkung von schalmittel (resorcin, kristalliner schwefel, salicylsaure) auf meerschweinchenepidermis. **Arch. Dermatol. Res.**, Berlin, v.259, p.187-198, 1977.

WINTER, L. Method of permanent removal of freckles. **Br. J. Dermatol. Syph.**, London, v.62, p.83, 1950.

WOLF R. Commentary: cosmetic dermatology. **Clin. Dermatol.**, Tokyo, v.19, p.365-366, 2001.

ZENON, K.; BURDA, K. Simultaneous determination of salicylic acid and acetylsalicylic acid in aspirin delayed-release tablet formulations by second-derivative UV. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.18, n.4/5, p.871-875, 1998.

ZOUBOULIS, C.C. Retinoids: is there a new approach?. **IFSCC Mag.**, Augsburg, v.3, p.9-19, 2000.

9. *Anexos*

ANEXO DA PERSPECTIVA PARA O DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ELETROFORÉTICO PARA DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO SALICÍLICO E RESORCINOL NA SOLUÇÃO DE JESSNER

Linearidade do ácido salicílico

Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do ácido salicílico; pelo método eletroforese capilar de zona. Intervalo de concentração de 13,72 a 41,16 µg/mL.

Concentração µg/mL	Área
13,72	46,96
20,58	69,20
27,44	98,30
34,30	120,13
41,16	139,23

Curva de calibração obtida pelo método eletroforese capilar de zona.
Concentração das soluções de 13,72 a 41,16 µg/mL de ácido salicílico.

Linearidade do resorcinol

Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do resorcinol pelo método eletroforese capilar de zona. Intervalo de concentração de 12,56 a 37,68 µg/mL.

Concentração µg/mL	Área
12,56	31,34
18,84	45,03
25,12	58,86
31,40	74,56
37,68	88,83

Curva de calibração obtida pelo método eletroforese capilar de zona. Concentração das soluções de 12,56 a 37,68 µg/mL de resorcinol.

Electropherograms referentes aos padrões de resorcinol e ácido salicílico em concentrações de 31,4 e 34,3 µg/mL, respectivamente. Solvente: Água MilliQ, eletrólito: 10 mM tampão tetraborato de sódio, coluna capilar: sílica fundida 50 cm de comprimento total (32 cm até detector) X 75 µ d. i. Injeção: 3 s / 50 mBar, voltagem: 28 KV, temperatura: 30 °C, detecção UV: 200 nm.

Electropherogram referente à solução de Jessner em concentração de 22,4 µg/mL. Solvente: Água MilliQ, eletrólito: 10 mM tampão tetraborato de sódio, coluna capilar: sílica fundida 50 cm de comprimento total (32 cm até detector) X 75 µ d. i. Injeção: 3 s / 50 mBar, voltagem: 28 KV, temperatura: 30 °C, detecção UV: 200 nm.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) – Solução de Jessner

Cromatograma da solução de Jessner. Coluna cromatográfica LiChospher® 100 RP-18 (5µm) Merck®; fase móvel: água:acetonitrila (80:20 v/v), TEA 0,3 %, pH 3,3 ajustado com H₃PO₄ ; vazão 1,0 mL/min. ;detecção UV a 285 nm

REVISTA BRASILEIRA DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences

RECIBO

Nº de Registro: 046/04

Acusamos o recebimento do trabalho para publicação na **Revista de Brasileira de Ciências Farmacêuticas/ Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**.

Autoria: RAMOS,T.R.; M.I.R.M. SANTORO, KEDOR-HACHMANN,E.R.M.; SINGH, A.K.

Título do artigo: “Validação de metodologia analítica para determinação quantitativa de princípios ativos em formulações farmacêuticas empregadas...”

São Paulo, 17 de maio de 2004.

Editoria Científica

Volume 38, supl.1, 2002
ISSN 1516-9332

RBCF

Revista Brasileira de

Ciências Farmacêuticas

*Brazilian Journal of
Pharmaceutical
Sciences*

VII SEMANA FARMACÊUTICA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA FCF-USP
São Paulo - Brasil
14 a 18 de outubro de 2002

**Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo**

FM77

VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE ATIVOS EMPREGADOS PARA “PEELINGS” QUÍMICOS

TATIANE RODRIGUES RAMOS(PG), MARIA INÊS ROCHA MIRITELLO SANTORO

Departamento de Farmácia, FCF/USP

O fundamento básico do “peeling” químico é a aplicação de agentes esfoliantes na pele, com o objetivo de produzir uma lesão controlada. Com o desenvolvimento e o aparecimento de diferentes associações de ativos nestas preparações cosmecêuticas, faz-se necessária a implantação de métodos analíticos validados a serem empregados no controle de qualidade das matérias-primas e dos produtos acabados. Para a realização desta pesquisa foi escolhida como amostra de referência a solução de Jessner (SJ) com a seguinte composição: resorcinol 14%, ácido salicílico 14%, ácido láctico 14%, em solução alcoólica, assim como outras amostras sob a forma de gel. Estas preparações também estão sendo estudadas, sob o ponto de vista de desenvolvimento, controle de qualidade e estabilidade pois, além das complicações clínicas descritas na literatura decorrentes do uso destas preparações, podem aparecer erros intrínsecos, como nas combinações de resorcinol e ácido salicílico, evaporação do veículo alcoólico, resultando numa solução inadvertidamente mais concentrada. Além disso, com o passar do tempo, o ácido láctico e o etanol podem absorver água do ar úmido, caso as formulações não estejam acondicionadas em recipientes bem vedados. Portanto, o objetivo desta pesquisa é padronizar e validar métodos analíticos empregando a cromatografia líquida de alta eficiência para determinação quantitativa dos diferentes ativos contidos nestas formulações, visando ao controle de qualidade destas preparações cosmecêuticas empregadas para a realização de “peelings” químicos.

FM78

PRODUÇÃO E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE MATRIZES DE TEOFILINA OBTIDAS COM POLÍMEROS DERIVADOS DA CELULOSE (HPMC E EC)

THAIS COBO VIVIANI (IC), EVELYN OJOE (PG), MARIA VALÉRIA ROBLES VELASCO, VLADI OLGA CONSIGLIERI

Departamento de Farmácia, FCF/USP

Foram desenvolvidos lotes de comprimidos de liberação modificada com 200 mg de teofilina, empregando diferentes tipos e concentrações de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC-Methocel®) e etilcelulose (EC-Ethocel®). Os comprimidos foram obtidos por via úmida e compressão direta, em máquina de punção simples de 9 mm de diâmetro. Foram determinados: peso médio, teor de fármaco, dureza e friabilidade. Para avaliação da dissolução do fármaco foi aplicado o método das pás da Farmacopéia Americana 24 ed., para cápsulas de liberação prolongada (teste 3), cujos meios de dissolução foram: para a primeira hora, fluido gástrico simulado (pH 1,2) e fluido gástrico intestinal pH 7,5, para as restantes 7 horas do ensaio. A temperatura foi mantida a 37,0 ± 0,5 °C e a velocidade de agitação em 50 rpm. Os modelos matemáticos de ordem zero, ordem um e Higuchi foram aplicados para avaliar o processo cinético da liberação do fármaco. Também foram calculados a meia-vida de liberação ($td_{50\%}$) e a constante da velocidade de dissolução (kd). Os resultados das análises físico-químicas da maioria dos lotes produzidos apresentaram-se de acordo com as especificações. Concluiu-se que os polímeros hpmc e ec foram capazes de modular a liberação de teofilina, proporcionalmente à quantidade adicionada de polímero e à viscosidade. Os mecanismos de liberação envolvidos foram difusão e erosão.

Bolsa: CNPq, PIBIC/CNPq

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
VII SEMANA FARMACÊUTICA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Certificado

CERTIFICAMOS que o trabalho "VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE ATIVOS EMPREGADOS PARA "PEELINGS" QUÍMICOS" de autoria de TATIANE RODRIGUES RAMOS e MARIA INÊS ROCHA MIRTELLO SANTORO, foi apresentado no XVII Seminário de Pós-Graduação, realizado no período de 14 a 18 de outubro de 2002.

São Paulo, 18 de outubro de 2002.

Prof. Dr. Jorge Mancini Filho

Diretor

Profª. Dra. Bernadette Dora G. de M. Franco
Presidente da Comissão de Pós-Graduação

COMPORTAMENTO TÉRMICO DE PRINCÍPIOS ATIVOS UTILIZADO EM "PEELINGS" QUÍMICOS

Tatiane R. Ramos (PG)¹, Nara A. de Oliveira (PG)²
Lucildes P. Mercuri (PQ)³, Jivaldo R. Matos (PQ)²,
Maria Inês R.M. Santoro (PQ)¹

¹ Depto. de Farmácia - FCF - USP (SP),

² Depto. de Química Fundamental - LATIG - IQ - USP (SP)

³ Depto. de Química e Física Molecular - QATP - IQ - USP (SC)

e-mail: ramos@usp.br

INTRODUÇÃO

O fundamento básico do "peeling" químico é a aplicação de agentes esfoliantes na pele, com o objetivo de produzir uma lesão controlada. Existem diferentes associações de princípios ativos nestas formulações, tais como: α -hidroxiácidos, β -hidroxiácidos, retinóides, derivados fenólicos e despigmentantes. As técnicas termoanalíticas vêm sendo extensivamente empregadas na indústria farmacêutica para a caracterização de substâncias, fármacos, excipientes e formas farmacêuticas. Este trabalho tem como objetivo avaliar termoanaliticamente o comportamento do ácido salicílico, láctico e resorcinol (Figura 1) na amostra solução de Jessner, tendo como veículo o etanol 96° GL.

Figura 1 - Fórmulas estruturais dos princípios ativos: (A) Resorcinol; (B) Ácido salicílico e (C) Ácido láctico.

MATERIAL E MÉTODOS

Para esse estudo foram utilizados os seguintes princípios ativos: ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol (marca Synth) constituintes da solução de Jessner na concentração de 14% em solução alcoólica. O procedimento consiste na solubilização dos princípios ativos em álcool etílico na proporção de 14g e completar o volume até 100 mL com o referido solvente.

As curvas TG/DTG foram obtidas a partir da termobalança modelo TGA-50 (Shimadzu) utilizando cadinho de Pt, massa de amostra de aproximadamente 3,0 mg, atmosfera dinâmica de ar (50 mL min⁻¹) e razão de aquecimento (β) = 2°C min⁻¹ até 120°C e 10 °C min⁻¹ até 250 °C.

As curvas DSC foram obtidas empregando a célula DSC-50 (Shimadzu), entre as temperaturas de 25 a 400°C, utilizando um cadinho de Al parcialmente fechado, massa de amostra de aproximadamente 2,0 mg e razão de aquecimento (β) = 10°C min⁻¹ e atmosfera dinâmica de N₂ (100 mL min⁻¹).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas TG/DTG da solução de Jessner, em comparação com aquelas do ácido láctico, apresentaram comportamento térmico semelhante, como ilustra a Figura 2. Os perfis das curvas TG/DTG e DSC, Figuras 2 e 3, sugerem a ocorrência de interação entre os princípios ativos na solução de Jessner.

Figura 2 - Curvas TG/DTG dos princípios ativos (ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol) e solução de Jessner.

Figura 3 - Curvas DSC dos princípios ativos (ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol) e solução de Jessner

CONCLUSÃO

O ácido salicílico e o resorcinol apresentaram comportamento térmico semelhante, característico do fenômeno de volatilização.

As curvas TG/DTG da solução de Jessner, em comparação com as do ácido láctico, apresentaram comportamento térmico semelhante.

Os perfis das curvas TG/DTG e os eventos apresentados pelas curvas DSC mostraram a interação entre os princípios ativos na solução de Jessner, com exceção das formas polimórficas do resorcinol.

Esses resultados são preliminares, porém sugerem a continuidade desses estudos para um melhor esclarecimento e caracterização de "peelings" químicos por análise térmica. Poderão ser desenvolvidas pesquisas com diferentes veículos (como por exemplo: géis e cremes) e associações de ativos.

BIBLIOGRAFIA

- 1- BRODY, H.J. **Peeling químico e resurfacing**. 2.ed. Rio de Janeiro: Reichmann & Afonso, 2000. p.05, 45-51, 120-121.
- 2-FORD, I.L.; TIMMINS, P. **Pharmaceutical thermal analysis: techniques and applications**. Chichester: Ellis Horwood, 1989. 313p. (Ellis Horwood series in pharmaceutical technology).
- 3- HAINES, P.J. **Thermal methods of analysis: principles, applications and problems**. London: Blackie Academic & Professional, 1995. 286p.
- 4-LEVINE, P.J. **Formulações para descamação química da pele: uma revisão**. *Int. J. Pharm. Compound*. v.3, p.90-92, 2001.
- 5- PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R.M.R., **Técnica Farmacêutica e Farmácia Galênica**. (1992), v.3, 659-799.

AGRADECIMENTOS:

FAPESP e CNPq

IV CBRATEC

**IV CONGRESSO BRASILEIRO DE
ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA E
II CONGRESSO PAN-AMERICANO DE
ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA**

Livro de Resumo

**Promoção e
Realização:**

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA

**POÇOS DE CALDAS - MG - BRASIL
ABRIL 2004**

COMPORTAMENTO TÉRMICO DE PRINCÍPIOS ATIVOS UTILIZADOS EM “PEELINGS” QUÍMICOS

Tatiane R.Ramos(Pg)¹, Lucildes P. Mercuri (Pq)³, Jivaldo R.Matos (Pq)²,
Maria Inês R.M.Santoro (Pq)¹.

¹ Depto. de Farmácia – FCF – USP (SP)

² Depto. de Química Fundamental – LATIG – IQ – USP(SP)

³ Depto. de Química e Física Molecular – QATP – IQ – USP(SC)

E-mail: ramos@usp.br.

Palavras-chaves: comportamento térmico, “peelings” químicos, TG,DSC.

O fundamento básico do “peeling” químico é a aplicação de agentes esfoliantes na pele, com o objetivo de produzir uma lesão controlada. Existem diferentes associações de princípios ativos nestas formulações, tais como α -hidroxiácidos, -hidroxiácidos, retinóides, derivados fenólicos e despigmentantes. Este trabalho tem como objetivo avaliar termoanaliticamente o comportamento do ácido salicílico, láctico e resorcinol na amostra solução de Jessner, tendo como veículo o etanol 96° GL. As curvas DSC foram obtidas empregando a célula DSC-50 (Shimadzu), entre as temperaturas de 25 a 400 °C utilizando um cadinho de Al parcialmente fechado, massa de amostra de aproximadamente 2,0 mg e razão de aquecimento (β)=10 °C min⁻¹ e atmosfera dinâmica de N₂ (100 mL min⁻¹). As curvas TG/DTG foram obtidas a partir da termobalança modelo TGA-50 (Shimadzu) utilizando cadinho de Pt, massa de amostra de aproximadamente 3,0 mg, atmosfera dinâmica de ar (50 mL min⁻¹) e razão de aquecimento (β)= 2 °C min⁻¹ até 120 °C e 10 °C min⁻¹ até 250 °C. As curvas TG/DTG da solução de Jessner, em comparação com aquelas do ácido láctico, apresentaram comportamento térmico semelhante, como ilustra a Figura 1. Os perfis das curvas TG/DTG e DSC, Figuras 1 e 2, sugerem a ocorrência de interação entre os princípios ativos na solução de Jessner. Esses resultados são preliminares, porém sugerem a continuidade desses estudos para um melhor esclarecimento e caracterização de “peelings” químicos por análise térmica.

(CNPq, FAPESP)

Figura 1. Curvas TG/DTG dos princípios ativos (ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol) e solução Jessner.

Figura 2. Curvas DSC dos princípios ativos: (ácido salicílico, ácido láctico e resorcinol) e solução de Jessner

**IV CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA E
II CONGRESSO PAN-AMERICANO DE ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA
POÇOS DE CALDAS - MG - BR - ABRIL 2004**

Certificado

Certifico que o trabalho "Comportamento térmico de princípios ativos utilizados em "peelings" químicos" de autoria de **Tatiane R.Ramos, Nara Andréa de Oliveira, Lucildes P. Mercuri, Jivaldo R. Matos, Maria Inês R.M.Santoro**, foi apresentado na forma de poster durante o IV Congresso Brasileiro e 2º Congresso Pan-Americano de Análise Térmica e Calorimetria realizado em Poços de Caldas – MG - BR, no período de 11 a 14 de abril de 2004.

Poços de Caldas (MG), 14 de abril de 2004.

Antonio Goyweia de Souza
Presidente da Comissão Organizadora

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Seminários da Comissão de Pesquisa 2003

Certificado

Látiane Rodrigues Ramos

participou

da palestra "ELETROFORESE CAPILAR: ESTUDOS FUNDAMENTAIS E APLICAÇÕES REPRESENTATIVAS", ministrada pela Prof. Dr.ª Marina Franco Maggi Tavares, do Instituto de Química da USP, dentro do Programa: Seminários da Comissão de Pesquisa da FCF/USP - 2003.

São Paulo, 30 de setembro de 2003.

Prof. Tit. Maria Inês Rocha Miritello Santoro
Presidente da Comissão de Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

PROGRAMA DE APERFEIÇOAMENTO DE ENSINO

CERTIFICADO

A Comissão Central do PROGRAMA DE APERFEIÇOAMENTO DE ENSINO da Universidade de São Paulo, instituída pela Portaria GR-3190 de 26 de outubro de 1999, **C E R T I F I C A** que

Tatiane Rodrigues Ramos

aluno(a) de pós-graduação, nível **Mestrado**, na área de Produção e Controle Farmacêuticos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, realizou estágio, com carga horária semanal de 6 horas, durante o **1º semestre de 2001**, tendo desenvolvido atividades didáticas junto à disciplina **Controle de Qualidade Físico-Químico de Medicamentos e Cosméticos** do Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, em nível de graduação, sob a supervisão do(a) Profa. Dra. Maria Inês Rocha Mirtello Santoro.

São Paulo, 14 de dezembro de 2001.

Adolfo José Meffi
Presidente da Comissão