

BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos**

**Área de Produção e Controle Farmacêuticos**

**Validação de metodologia para a separação e  
quantificação de filtros solares empregando  
cromatografia líquida de alta eficiência**

**María Luisa de Lourdes Pérez González**

**Dissertação para obtenção do grau de  
MESTRE**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup> Titular Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann**

**São Paulo  
2003**

17650

DEDALUS - Acervo - CQ



30100005517

**Ficha Catalográfica**

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

P438v Pérez González, Maria Luisa de Lourdes  
Validação de metodologia para a separação e quantificação  
de filtros solares empregando cromatografia líquida de alta  
eficiência / Maria Luisa de Lourdes Pérez González. -- São  
Paulo. 2003.  
134p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.  
Orientador: Kedor-Hackmann, Erika Rosa Maria

1. Filtro solar : Cosméticos : Tecnologia 2. Cromatografia  
em líquido de alta eficiência : Análise química : Farmacologia  
I. T. II. Kedor-Hackmann, Erika Rosa Maria, orientador.

668.55 CDD

**MARÍA LUISA DE LOURDES PÉREZ GONZÁLEZ**

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA PARA A SEPARAÇÃO E  
QUANTIFICAÇÃO DE FILTROS SOLARES EMPREGANDO  
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE  
ALTA EFICIÊNCIA**

**Comissão Julgadora**

**Dissertação para obtenção do grau de MESTRE**

**Prof<sup>a</sup> Dra. Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann  
Orientadora/Presidente**

**São Paulo  
2003**

## **AGRADECIMENTOS**

Aos colegas, de Laboratório de Controle de Qualidade de Avon Industrial, em especial a Ismael de Souza Filho pelo apoio, incentivo e compreensão dispensados, sempre num ótimo ambiente de trabalho e colaboração desde o início desta pesquisa.

Aos executivos de Avon Industrial em especial ao Engenheiro Amilcar Melendez pelo suporte e a confiança para a realização desta pesquisa.

Aos amigos e executivos da área para America Latina da Aventis Phama pelo apoio, incentivo, dispensados, durante esta Pós-Graduação.

Aos funcionarios, professores e administrativos da Universidad Autónoma Metropolitana pelo apoio dispensado, durante a licença de Pós-Graduação.

Aos professores do curso de Pós-Graduação da Universidade de São Paulo que contribuíram com seus conhecimentos na minha preparação acadêmica:

Prof<sup>ª</sup> Maria Inês Rocha Miritello Santoro; Prof<sup>ª</sup> Maria Vitória Lopez Badra Bentley ; Prof<sup>ª</sup> Patricia Maia Campos; Prof<sup>ª</sup> Terezinha de Jesus Androlli Pinto; Prof Jivaldo Matos; Prof Jorge Luis S Martins; Prof Wilson Follador, Prof Helio A. Stefani.

Ào Prof. Dr Jivaldo Matos por despertar meu interesse em na Análise Térmica e os colegas do curso pelo apoio desta pesquisa.

Às professoras Dra.Maria Valéria Robles Velasco, Dra. Vera Lucia Boges Issac Rangel e a Dra Elizabeth Torres pela valiosa colaboração na revisão deste trabalho.

A Waters de México, em especial ao Q.F.B. Miguel Angel Santini Valdés e o Q.F.B. Luis Castillo Santos pela sua contribuição e comentários.

Aos funcionarios de Pós-Graduação Benedita E.S.Oliveira, Elaine Midore V Chico, Jorge Alves de Lima e Elizabeth Claro de Souza Paiva pelo apoio administrativo.

A bibliotecária Leila A Bonadio pela cordial atenção e revisão das referências bibliográficas

As professoras de Português: Helena que iniciou minha comunicação falada e à Prof<sup>ª</sup> Terezinha Gomes da Silva Galloque que me auxiliou na escrita.

---

*Deus*

*Criou a sua mesma abundância uma ajuda semelhante a ele:  
deu-lhe discernimento, e língua, e olhos, e ouvidos, e espírito para  
cogitar: encheu-os da luz da inteligência.*

*Criou neles a ciência do espírito, encheu de senso os seus corações, e  
mostrou-lhes os males e os bens,*

*Pôs os seu olho sobre os seus corações: para lhes fazer ver as  
maravilhas das sua s obras.*

*A acrescentou-se-lhes a disciplina, e deu-lhes em herança a lei da  
vida.*

*Eclesiástico 17*

*Agradeço a minha Alma Mater:*

*Universidad Nacional Autónoma de México por a formação acadêmica oferecida .*

*Agradeço a minha Alma Pater:*

*Universidade de São Paulo por a oportunidade de crescer intelectualmente.*

*Agradeço a minha fonte de trabalho:*

*Universidad Autónoma Metropolitana por meu espírito docente e de serviço.*

---

*Agradeço à vida:*

*Por ter nascido no México e pelo privilégio ter renascido  
intelectualmente no Brasil.*

*Agradeço à vida por ter morado num lugar chamado :*

*São Paulo, que é uma cidade*

*A bençoadada por Deus,*

*Oferenda da humanidade,*

*Policultural,*

*A colhedora,*

*Única,*

*Longeva (450 anos) e*

*Orgulho do Brasil.*

*A profa Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann pela orientação, incentivo, apoio profissional e boa disponibilidade durante a realização deste trabalho.*

---

*A mis padres :*

*María Luisa e Miguel por seu amor e por ser os Anjos que iluminam meu caminho para que eu atinja meu ideal.*

*Laura e Forge por seu apoio e por esse filho maravilhoso.*

*Agradeço a meus irmãos: Guadalupe e Alberto por estar siempre presentes; a meus sobrinhos Miguel, Luis Alberto, Adrina, Forge e Misael por seu amor e meus afilhados por seu carinho e admiração.*

*Agradeço a meus amigos Laura Castrillon, Gabriela Celoria, Beatriz García, Teresa Izquierdo, Norma González, Mireya Mejía, e Alejandro Palma por oferecer-me sua amizade e apoio.*

*Agradeço a meu marido Ángel por apoiar meus projetos de vida,  
por fazer-me Mãe e uma Mulher feliz. Além disso por seu :*

*A mor,*

*N obreza,*

*G enerosidade,*

*E ntusiasmo e*

*L ealdade .*

*Agradeço a minha filha Laura Angélica por ser a mistura  
perfeita do melhor de nós e por ser:*

*L eal,*

*A morosa,*

*Ú nica,*

*R esponsável,*

*A miga*

---

**nome do autor, María Luisa de Lourdes Pérez González**

**nome do orientador: Prof<sup>a</sup> Titula Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann**

**nível, Dissertação para obtenção do grau de MESTRE**

**título do trabalho, Validação de metodologia para a separação e quantificação de filtros solares empregando cromatografia líquida de alta eficiência**

**palavras-chave, 1. Filtro solar: Cosméticos: Tecnologia 2. Cromatografia líquida de alta eficiência: Análise química: Farmacologia**

**endereço eletrônico; [mllpgusp@usp.br](mailto:mllpgusp@usp.br) e [mllperez2@cueyatl.uam.mx](mailto:mllperez2@cueyatl.uam.mx)**

# SUMÁRIO

## RESUMO

I. INTRODUÇÃO .....	2
II. REVISÃO DE LITERATURA .....	5
2.1. Radiações solares.....	5
2.2. Considerações gerais sobre a pele .....	9
2.3. Protetores solares.....	16
2.3.1. Fotoproteção.....	16
2.3.1.1. Barreiras físicas exógenas.....	16
2.3.1.2. Fatores intrínsecos.....	20
2.3.1.3. Fatores extrínsecos.....	22
2.3.2. Classificação dos filtros solares.....	24
2.4 Permanência cutânea dos filtros solares.....	25
2.4.1. Características físico-químicas dos filtros solares.....	25
2.4.2. Características intrínsecas da fórmula.....	28
2.4.3. Mecanismos dos filtros solares.....	29
2.5 Medidas de efetividade dos filtros solares.....	33
2.6 Fotossensibilização dos filtros solares.....	35
2.7 Prevenção.....	42
2.7.1. Índice Ultravioleta (UV).....	42
2.8 Filtros solares.....	44
2.8.1. Benzofenona 3.....	44
2.8.2. Butilmetoxidibenzoilmetano.....	45
2.8.3. Metoxicinamato de octila.....	47
2.8.4. Salicilato de octila.....	48
2.8.5. Homossalato.....	50

---

2.9. Métodos de análise de identificação e quantificação dos filtros .....	51
III. OBJETIVOS.....	55
IV. MATERIAL E MÉTODOS.....	56
4.1 Material.....	56
4.1.1. Solventes e Reagentes.....	56
4.1.2. Filtros químicos empregados como padrão.....	56
4.1.3. Amostras.....	57
4.1.3.1. Branco.....	57
4.1.3.2. Fórmula Teste .....	57
4.1.4 Equipamento.....	58
4.2- Métodos.....	59
4.2.1 Identificação por espectro de absorção no ultravioleta dos filtros solares.....	59
4.2.2 Análise térmica.....	61
4.2.2.1 Obtenção de curvas termogravimétricas.....	61
4.2.2.2 Obtenção de curvas por calorimetria exploratória diferencial.....	61
4.2.3 Cromatografia líquida de alta eficiência.....	62
4.2.3.1 Estudos preliminares.....	62
4.2.4 Validação da metodologia.....	65
4.2.4.1 Preparação da amostra e do padrão .....	65
4.2.4.2 Curva de calibração.....	65
4.2.4.3 Estudo de interferentes.....	70
4.2.4.4 Determinação Limite de Detecção (LD) e do Limite de Quantificação (LQ).....	73

4.2.4.5. Coeficiente de variação.....	74
4.2.4.6. Teste de recuperação .....	74
<b>V. RESULTADOS .....</b>	<b>78</b>
5.1- Identificação dos filtros solares.....	78
5.1.1 Temperatura de fusão e índice de refração dos filtros solares	78
5.1.2. Espectro de absorção no ultravioleta dos filtros solares isolados e em mistura no produto em estudo.....	79
5.2- Análise térmica .....	82
5.2.1. Obtenção das Curvas Termogravimétricas.....	82
5.2.2. Obtenção das Curvas DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial).....	82
5.3- Método cromatográfico .....	87
5.3.1. Estudos preliminares .....	87
5.4- Validação do método cromatográfico .....	95
5.4.1. Linearidade .....	95
5.4.2. Estudo de interferentes .....	102
5.4.3. Limite de detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)	103
5.4.4. Coeficiente de variação .....	106
5.4.5. Teste de recuperação .....	107
<b>VI. DISCUSSÃO.....</b>	<b>109</b>
<b>VII. CONCLUSÕES.....</b>	<b>119</b>
<b>VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>120</b>

## Sumário de Figuras

Número	Nome	Página
1	Radiações do espectro eletromagnético do sol.....	5
2	Espectro eletromagnético da radiação solar.....	6
3	Exposição da radiação UV na pele: penetração dos raios UVA na derme; penetração parcial dos raios UVB e nenhuma penetração dos raios UVC na epiderme.....	7
4	Radiações ultravioleta: os raios ultravioleta A, B e C.....	7
5	Representação esquemática da pele.....	10
6	Grau de retenção das radiações UV do ozônio .....	16
7	Barreiras físicas exógenas das radiações solares.....	17
8	Medidas em Unidades Dobson do buraco de ozônio.....	18
9	Estreitamento da camada de ozônio desde os anos 70, medida em Unidades Dobson .....	19
10	Buraco de ozônio cujo tamanho corresponde à região da Antártida.....	19
11	Processo de biosíntese de melanogênese.....	21
12	Filtros químicos UVA e UVB: comprimento de onda entre 290-400 nm .....	23
13	Cetonização fotoinduzida pela radiação UV no butilmetoxidibenzoilmetano.....	30
14	Excitação fotoquímica na molécula de benzofenona.....	31
15	Formas canônicas do butilhidroxidibenzoilmetano.....	31
16	Mistura racêmica de isômeros <i>cis-trans</i> de homossalato.....	32
17	Mecanismo de fotoisomerização $E \rightleftharpoons Z$ de moléculas de metoxicinamatos.....	32
18	Gráfico de porcentagem de bloqueio de radiação UV e número de FPS.....	37
19	Distribuição da quantidade de ozônio sobre o Brasil.....	42

20	Espectro de absorção no UV: benzofenona-3.....	79
21	Espectro de absorção no UV:butilmetoxidibenzoilmetano.....	80
22	Espectro de absorção no UV: metoxicinamato de octila.....	80
23	Espectro de absorção no UV: salicilato de octila.....	81
24	Espectro de absorção no UV: homossalato.....	81
25	Curva TG/DTG e curva DSC da benzofenona-3.....	82
26	Curva TG/DTG e DSC do butilmetoxidibenzoilmetano.....	83
27	Curva TG/DTG para metoxicinamato de octila.....	83
28	Curva TG/DTG para o salicilato de octila.....	84
29	Curva TG/DTG para homossalato.....	84
30	Curva curva TG/DTG da mistura metoxicinamato de octila associado a butilmetoxidibenzoilmetano (70:30) a curva.....	85
31	Cromatograma do experimento 1.....	87
32	Cromatograma do experimento 2.....	88
33	Cromatograma do experimento 5.....	89
34	Cromatograma do experimento 7.....	90
35	Cromatograma do experimento 15.....	91
36	Cromatograma do experimento 20.....	92
37	Cromatograma final.....	93
38	Cromatograma final que mostra o tempo de eluição de cada filtro em estudo.....	94
39	Curva de calibração da benzofenona 3 em acetonitrila em água (90:10 v/v), de 72,0 a 178,0 µg mL.....	98
40	Curva de calibração do padrão butilmetoxidibenzoil metano	

	em acetonitrila em água (90:10 v/v) 36,0 a 84,0 μg/mL.....	99
41	Curva de calibração do padrão metoxicinamato de octila em acetonitrila em água (90:10 v/v) 90,0 a 210,0 μg/mL.....	99
42	Curva de calibração do salicilato de octila em acetonitrila em água (90:10 v/v) 60,0 a 140,0 μg/mL.....	100
43	Curva de calibração do homossalato em acetonitrila em água (90:10 v/v), de 96,0 a 224,0 μg/mL.....	100
44	Curva de calibração da mistura de padrões de acetonitrila em água (90:10 v/v), 72,0 a 160,0 μg/mL que correspondem 3 mL a 7 mL de cada padrão.....	101
45	Cromatograma da fórmula teste, padrão e branco.....	102

## Sumário de Tabelas

Número	Nome	Página
1	Estudos preliminares para obtenção da melhor fase móvel, concentração da amostra comercial mg/mL.....	63
2	Procedimento com cinco preparações de solução padrão com concentrações crescentes.....	68
3	Procedimento com cinco preparações contendo a mistura dos cinco filtros e analisada em triplicata.....	69
4	Temperatura de fusão e do índice de refração dos filtros solares.....	78
5	Eventos comparativos observados nas curvas TG-DTG e DSC dos filtros solares em estudo.....	86
6	Eventos observados nas curvas DSC dos filtros solares em estudo.....	86
7	Curva de calibração do padrão da benzofenona-3 e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.....	96
8	Curva de calibração do padrão butilmetoxidibenzoilmetano e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.....	96
9	Curva de calibração do padrão do metoxicinamato de octila e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.....	97
10	Curva de calibração do padrão do salicilato de octila e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.....	97
11	Curva de calibração do padrão do homossalato e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.....	98
12	Valores estatísticos obtidos para curva de calibração do método cromatográfico dos filtros solares.....	101
13	Concentrações em $\mu\text{g}/\text{mL}$ dos padrões dos filtros solares.....	103

14	Resultados estatísticos da benzofenona 3: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e limite de quantificação.....	103
15	Resultados estatísticos do butilmetoxidibenzoilmetano: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e limite de quantificação.....	104
16	Resultados estatísticos do metoxicinamato de octila: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e limite de quantificação.....	104
17	Resultados estatísticos do salicilato de octila: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e limite de quantificação.....	105
18	Resultados estatísticos do homossalato: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e limite de quantificação.....	105
19	Resultado em áreas dos filtros solares em estudo.....	106
20	Resultado da análise estatística na amostra pelo método cromatográfico.....	106
21	Áreas de cada filtro solar presente na amostra comercial no teste de recuperação do padrão.....	107
22	Teste de recuperação pelo método cromatográfico para amostra comercial.....	108

---

## Sumário de Quadros

Número	Nome	Página
1	Relação entre bronzeado e tempo de exposição às radiações solares.....	15
2	Classificação dos filtros solares e bloqueadores físicos.....	24
3	Propriedades gerais dos filtros solares em estudo.....	26
4	Interações e efeitos de filtros solares.....	40
5	Fototipos da pele.....	43
6	Métodos de análise quantitativa de filtros solares em associação.....	52
7	Teste de recuperação na amostra comercial para os filtros solares.....	75
8	Concentrações finais da amostra comercial adicionada com solução padrão em $\mu\text{g/mL}$ dos filtros solares.....	76

---

## RESUMO

Atualmente, os filtros solares são utilizados em combinações eficazes e seguras para obter a melhor proteção. O campo de visão desta pesquisa foi o desenvolvimento e a validação de um método por cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação simultânea do benzofenona-3 (B-3), butilmetoxidibenzoilmetano (BM), metoxicinamato de octila (MCO), salicilato de octila (SO) e homossalato (H) associados em uma loção comercial. A separação e a determinação quantitativa foram realizadas empregando a cromatografia líquida de alta eficiência com método de gradiente, duas colunas Waters®: Novapack® C-18 e Symmetry® C-18 em fase reversa, com fase móvel A constituída por acetonitrila:água (10:90 v/v) e fase móvel B acetonitrila:água (90:10 v/v); velocidade de fluxo de 1,0 mL/min; e detecção no ultravioleta a 310 nm. Os coeficientes de correlação e as porcentagens de recuperação para B-3, BM, MCO, SO, H foram 0,9998 e 99,1% ; 0,9672 e 98,8% ; 0,9924 e 99,5% ; 0,9961 e 100,0%; 0,9909 e 101,1% respectivamente. O método desenvolvido foi rápido, fácil, preciso e exato.

---

## ABSTRACT

Nowadays many sunscreens are used collectively in lotion preparations in order to obtain a greater sun protection. The aim of this research was to develop and validate a high performance liquid chromatographic (HPLC) method for the simultaneous determination of five sunscreens namely, benzophenone-3 (B-3), butyl-methoxy dibenzoilmethane (BM), octyl methoxycinnamate (OM), octyl salicylate (OS) and homomethyl salicylate (HS). The separation and quantitative determination was made using a liquid chromatographic gradient system constituted of: mobile phase A [acetonitrile:water (10:90 v/v)] and mobile phase B [acetonitrile:water (90:10 v/v)], at a flow rate of 1.0 mL/min. and ultraviolet detection at 320nm. The separation was obtained with two Waters® columns: Novapack® C-18 and Synmmetry® in reversed phase. The coefficient of correlation and average recovery for B-3, BM, OM, OS and HS were 0.9998 and 99.1%; 0.9672 and 98.8%; 0.9924 and 99.5%; 0.9961 and 100.0%; 0.9909 and 101.1%, respectively. The proposed method is simple, easy to use, rapid, precise and accurate.

## I- Introdução

A eficiência da camada de ozônio tem sido afetada devido ao estreitamento de sua espessura, agravado a partir dos anos 70. As radiações que eram absorvidas ou refletidas agora atingem a Terra com maior intensidade provocando um aumento na incidência dos casos de fotossensibilidade e câncer de pele (KREEPS,1990).

Devido ao enfraquecimento desta barreira física que é considerada como o fator extrínseco de fotoproteção mais efetivo contra as radiações solares, foram desenvolvidos produtos com filtros solares como uma alternativa de fotoproteção extrínseca.

Estes fatores, aliados à superexposição solar, fazem com que o mecanismo de fotoproteção da pele seja superestimulado, modificando a ação dos filtros solares naturais. A incidência solar desencadeia a produção de radicais livres que, por não serem neutralizados, favorecem reações indesejadas provocando alterações fisiológicas e biológicas, como fotoenvelhecimento (envelhecimento pelo sol) caracterizado: por degeneração da elastina em massa amorfa (elastose), perda da tensão das fibras de colágeno na derme e queratose solares (precursores do carcinoma de células escamosas) (HARDER et al, 1990).

A pele também protege o organismo da luz ultravioleta (UV), desenvolvendo o bronzeado, que é uma reação de proteção natural do corpo para reduzir o efeito da radiação solar. Esta cor é causada pela produção de melanina, pigmento que dá proteção contra os efeitos nocivos crônicos causados pela luz solar (DROBETSKY, et al., 1995).

É necessário que se conheçam a anatomia e as funções da pele para explicar e compreender a importância dos filtros solares na proteção extrínseca contra as radiações ultravioleta.

A importância da prevenção é a razão pela qual as indústrias farmacêuticas e de cosméticos se preocupam em realizar pesquisas nesta área. O alvo dos laboratórios de pesquisa é o desenvolvimento de fórmulas fotoprotetoras eficazes e seguras, que tenham uma boa sustentividade (DINUNZIO e GADDE, 1990) e que permaneçam por maior tempo na epiderme, formando uma película o mais uniforme possível para proporcionar melhor fotoproteção, bloqueando, absorvendo e refletindo as radiações incidentes sobre a pele.

O objetivo desta pesquisa foi o desenvolvimento de metodologia analítica para separação e quantificação de substâncias presentes em uma loção protetora solar.

O produto com filtros solares foi analisado mediante o desenvolvimento de um método empregando a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) separando substâncias fotoabsorvedoras em mistura, com base nas diferentes velocidades de migração, em razão das afinidades relativas a uma fase móvel líquida (cromatografia líquida) e a fase estacionária ou fixa (sólida), utilizando um sistema de bombas de alta eficiência e método gradiente.

O desenvolvimento da metodologia analítica foi realizada utilizando a loção protetora produzida pela Avon Industrial Brasil e o método foi validado nos laboratórios de controle de qualidade da empresa.

## II REVISÃO DA LITERATURA

BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo

### 2.1 RADIAÇÕES SOLARES.

O espectro electromagnético do sol emite varias radiações, sendo algumas particularmente nocivas, entre elas os raios ultravioleta A, B e C ( UVA , UVB e UVC ) Figura 1.

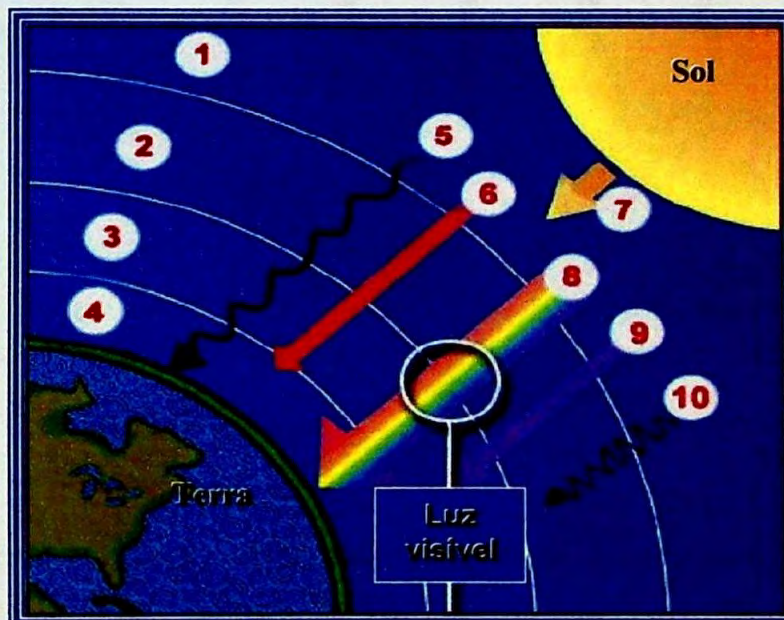


Figura 1. Radiações do espectro eletromagnético do sol : 1- Exosfera; 2- Ionosfera; 3- Estratosfera; 4- Troposfera; 5- Ondas de Rádio; 6- Radiação Infravermelha; 7- Radiação Solar; 8- Luz Visível; 9- Radiação Ultravioleta; 10- Raios X (World Health Organization. WHO. 1995).

A pele humana está constantemente sujeita à radiação solar de caráter eletromagnético que compreende: 49,5% da região infravermelha (780-1.000 nm de comprimento de onda) (WORLD HEALTH ORGANIZATION WHO,1998); 44,3% da região visível (400-780 nm); 6,2% da região ultravioleta (200-400 nm) da qual 5,9% de UVA longa e curta (320-400 nm) e 0,3% de UVB (290-320 nm) (BILLHIMER,1992), (UNITED STATES. FDA, 1999b). Figura 2

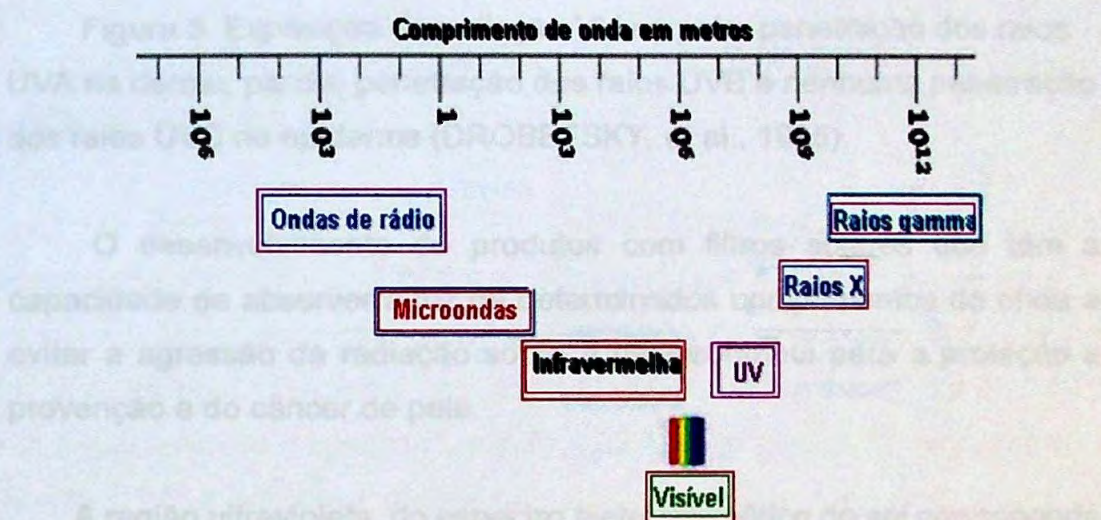


Figura 2. Espectro eletromagnético da radiação solar (BRULS, 1986).

A pele humana é mais exposta à radiação solar, além disso, os raios UVA possuem maior energia, penetrando mais profundamente na pele.

A exposição crônica causa anormalidades no tecido conectivo da derme e acelera os efeitos danosos dos raios UVB, como a carcinogênese (DROBETSKY, et al., 1995). Figura 3

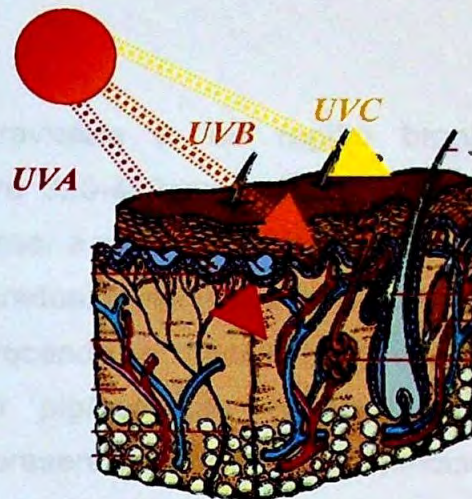


Figura 3. Exposição da radiação UV na pele: penetração dos raios UVA na derme; parcial penetração dos raios UVB e nenhuma penetração dos raios UVC na epiderme (DROBETSKY, et al., 1995).

O desenvolvimento de produtos com filtros solares que têm a capacidade de absorver a luz de determinados comprimentos de onda e evitar a agressão da radiação sobre a pele contribui para a proteção e prevenção e do câncer de pele.

A região ultravioleta do espectro eletromagnético do sol corresponde à região de maior energia e provoca reações fotoquímicas que afetam ou prejudicam a pele. O espectro ultravioleta subdivide-se em três regiões, que são as radiações particularmente nocivas emitidas pelo sol, sendo estas os raios ultravioleta A, B e C (UVA, UVB e UVC) Figura 4 .

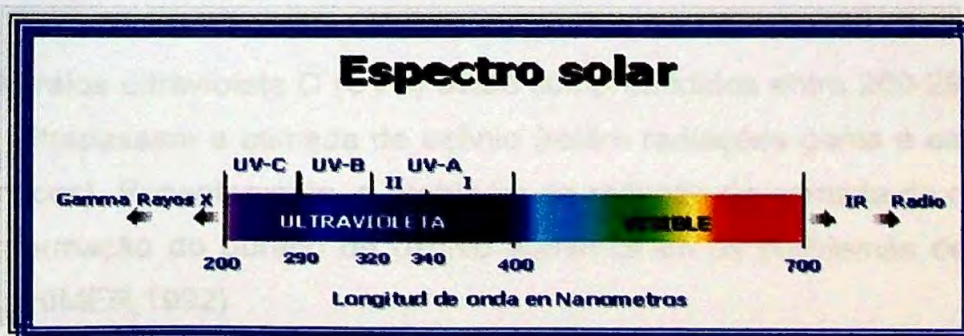


Figura 4. Radiações ultravioleta: os raios ultravioleta A, B e C (UVA, UVB e UVC) (BRULS, 1986).

Os raios ultravioleta A ou região bronzeadora UVA estão compreendidos entre 320-400 nm, são menos eritematógenos que os UVB, podem atravessar a maior parte dos vidros comuns, penetram até a derme, destruindo gradualmente fibras de elastina (Chisvert et al, 2003) e de colágeno, provocando o fotoenvelhecimento ou envelhecimento actínico, causando pigmentação imediata, reações fototóxicas e fotoalérgicas em presença de certas substâncias, potencializando os efeitos nocivos dos raios UVB e bronzeando a pele. Desta forma, provocam dano indireto ao DNA via fotossensibilidade e causam o câncer (LORÉAL RESEARCH 2002), (SHAATH, 1990).

Os raios ultravioleta B ou região eritematógena UVB estão compreendidos entre 290-320 nm, penetram até a epiderme, causando danos agudos à pele (manchas, queimaduras e descamação) e danos crônicos como o câncer de pele e envelhecimento, já que cerca de 90% são absorvidos pela epiderme, sendo 1.000 vezes mais eritematogênicos que os UVA, o que origina espessamento do estrato córneo, diminuição da capacidade do sistema imunológico e pode gerar câncer de pele (fotocarcinogênese) por dano direto ao DNA (GONZENBACH, et al., 1992). Em dose moderada apresentam atividade antiraquítica, estimulando a formação da vitamina D. Os raios UVB são mais intensos entre 10:00 e 15:00 horas do dia, e são absorvidos pelos vidros.

Os raios ultravioleta C (UVC) estão compreendidos entre 200-290 nm, não ultrapassam a camada de ozônio (retêm radiações gama e os raios cósmicos). Recentemente, o problema de redução da camada de ozônio e a formação do buraco de ozônio aumentaram os problemas de pele (BILLHIMER, 1992).

A radiação infravermelha (IV) provoca o efeito de avermelhamento da pele, aumento da temperatura com ressecamento pela perda da umidade, contribuindo para a aceleração dos efeitos nocivos dos raios UV (fotoadição).

Por esta razão foram desenvolvidas formulações cosméticas com filtros solares com capacidade de absorver a luz de determinados comprimentos de onda. Estas formulações cosméticas atuam na prevenção e na proteção contra o câncer de pele, cuja frequência tem aumentado muito nos últimos anos

## **2.2 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A PELE**

A pele é o maior órgão do corpo humano, apresentando superfície de 2 m<sup>2</sup> em um indivíduo adulto. É composta por quatro camadas: o estrato córneo (composta de células mortas), a epiderme (células vivas), a derme (tem colágeno e elastina, proporcionando suporte e elasticidade, além de 60 a 80% de água) e a hipoderme (gordura subcutânea) (WALTERS et al, 2002). A representação esquemática da pele pode ser vista na Figura 5.

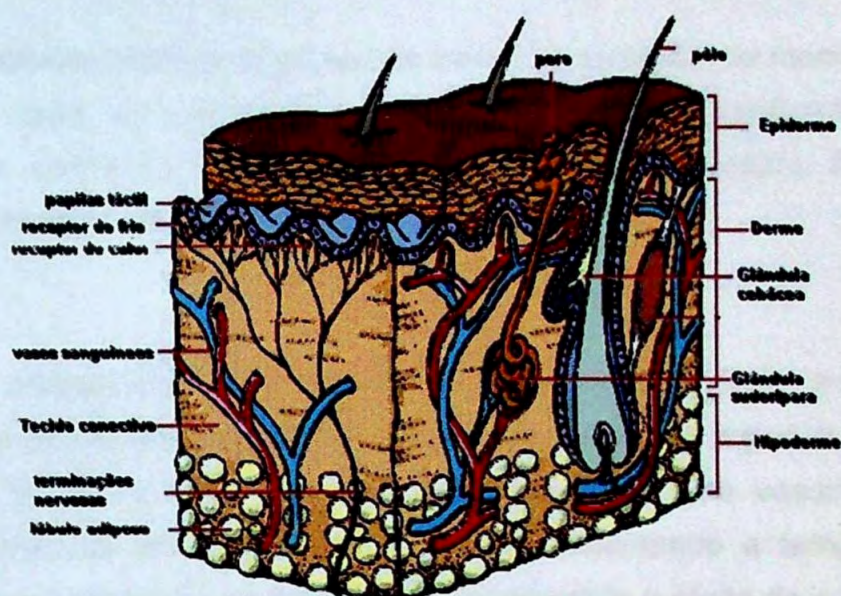


Figura 5. Representação esquemática da pele (WALTERS e ROBERT et al, 2002) .

A loção protetora solar deve permanecer no estrato córneo e na epiderme sem penetrar nas camadas mais internas da pele. O conhecimento das características de lipoafinidade e hidroafinidade da derme permite o desenvolvimento de produtos de proteção solar que não atravessarão a barreira epidérmica.

A espessura da pele é um fator diretamente proporcional importante à permanência do produto na epiderme. Os emolientes e emulsificantes lipídicos favorecem a fixação dos filtros solares resistentes à água (DYKES e PEARSE, 2002).

Os efeitos biológicos do sol na pele, dependendo do momento de aparição após a exposição ao sol, podem ser classificados em: imediatos, retardados, a longo prazo e acidentais (MANUAL MERCK, 2003), (VANDER LEUN, ,1996).

Os efeitos imediatos aparecem após uma ou duas horas da exposição ao sol e podem ser por ação térmica devido à penetração da radiação IV até o tecido subcutâneo, provocando uma vasodilatação dérmica que se manifesta como eritema, aumentando a temperatura cutânea com sensação de calor e desencadeando o efeito da sudorese. Quando estes mecanismos termoreguladores são excessivos, são produzidos os fenômenos de insolação e posteriormente a hiperemia e alterações na consciência.

A pigmentação ou bronzeado imediato inicia-se com a tênue energia da radiação UVA e luz visível, que oxidam a melanina incolor do interior dos melanócitos basais e dispersam a melanina nos queratinócitos.

Os efeitos retardados aparecem um dia após a exposição ao sol, provocando:

- Eritema solar, resposta aguda da pele pouco pigmentada a uma agressão solar, especialmente pela radiação UVB, podendo aparecer entre duas e seis horas após a exposição e no máximo 24 horas, podendo classificar-se em graus: eritema (1° grau); vermelhidão (2° grau); dor (3° grau ); bolhas (flictenas); febre e dor de cabeça (4° grau) (BILLHIMER, 1992)

- Hiperqueratose ou espessamento do estrato córneo produto de uma maior atividade mitótica das células epiteliais como efeito da radiação.

- Pigmentação retardada, que é o bronzeado verdadeiro, que é se inicia-se após de dois dias a partir do começo da exposição, sendo o tempo necessário para a síntese da melanina.

Os efeitos a longo prazo são aqueles que se produzem como resultado das reações fotoquímicas na pele, causando diferentes graus de danos às células da pele, como:

- Envelhecimento actínico ou extrínseco por fatores externos que provocam o surgimento de transtornos como: hiperqueratose irregular do estrato córneo, acúmulos de melanina na epiderme, empobrecimento da vascularização dérmica, perda de fibras de colágeno, elastose, queratose actínica (lesões pré-cancerosas) e câncer cutâneo em caso de exposição continuada ao sol. (KREEPS e GOLDENBERG, 1990), (STEINER, 1996), (STEINER, 1997).

- O câncer actínico tem aumentado de incidência nos últimos anos, embora não se conheça o mecanismo que inicia a atividade tumoral. Acredita-se que aconteça pelo acúmulo da radiação solar recebidas desde o primeiro dia de vida (epiteliomas), a superexposição intensa de curta duração (melanomas malignos) (KREEPS e GOLDENBERG, 1990) e o envelhecimento actínico (DAMIANI, et al., 1998), (DROBETSKY, 1995).

Os efeitos acidentais são o resultado de reações cutâneas que conduzem a uma modificação anatômica e funcional da pele, como :

- As discromias, que são alterações da pigmentação da pele caracterizadas por uma modificação da cor normal, devido ao aumento ou à diminuição da pigmentação (hipercromias e hipocromias respectivamente), sendo exemplos as sardas não genéticas, as pintas e as hipercromias por fotossensibilização (dermatite por perfume) (Klein, 2001).

- A fotossensibilização, que é uma reação apresentada na pele como resposta de uma interação da radiação solar (UVA) com substâncias fotossensíveis (alguns medicamentos, cosméticos), sendo os menos danosos o eritema, a pápula, a vesícula e a bolha. As reações de fotossensibilização se classificam em:

- Fototoxicidade, produzida quando uma substância absorve a radiação incidente em um determinado comprimento de onda da radiação e transfere a energia captada para as células da pele. A intensidade de fototoxicidade é proporcional à dose da substância fotossensibilizante e à quantidade da radiação incidente, de modo que a irritação pode aparecer depois da irradiação, sendo afetadas só as zonas irradiadas (CANTRELL e McGARVEY, 2001), (COHEN, et al., 1994), (DUBERTRET, et al., 1990).

- Fotoalergia, reações de natureza imunológica, onde a substância fotossensibilizante, ao absorver a radiação UVA (320-400 nm) origina um produto antigênico, desencadeando a reação alérgica. A diferença da fototoxicidade é que ela não é afetada pela concentração do fotossensibilizante e da quantidade de radiação recebida. O quadro clínico se manifesta com a aparição de erupções exematosas, papulares, eritematosas, vasodilatação e edema. Algumas vezes podem apresentar-se em lugares não expostos à radiação.

#### Reações fotoquímicas na pele

Quando frações da radiação UV (aproximadamente 310 nm de comprimento de onda) penetram no estrato córneo, desencadeiam uma reação eritematógena. Existe uma considerável incerteza sobre o exato mecanismo de reação que ocorre nessa região, mas se acredita que alguma espécie molecular em particular ou fragmento absorva radiação no comprimento eritematógeno. Existe a possibilidade de que esse cromóforo primário seja o ácido nucléico no estrato basal da epiderme. Ocorre assim a primeira reação basal, dando como resultado um radical não estável, que não conduz à reação eritematógena, formando-se um metabólito secundário mais estável, talvez um peróxido ou uma quinona-imina, conhecidas por sua irritabilidade. Estes são produtos de oxidação que branqueiam a pele por oclusão vascular durante a irritação, diminuindo o oxigênio adicionado à pele e impedindo a formação do eritema e bronzeado.

O desenvolvimento do eritema requer um período latente de 2 a 3 horas do início de reação, e o eritema máximo é observado de 10 a 24 horas após o início da exposição. O período latente é sensível à temperatura maior, ou seja, o metabólito primário provavelmente sofre uma decomposição ativa para formar um irritante secundário, o qual tem um efeito vasodilatador (KREEPS e GOLDENBERG, 1990).

O bronzeado é o resultado de reações fotoquímicas na pele resultantes do efeito da absorção da energia proveniente da radiação UV. Este bronzeado é causado pela oxidação da melanina, a qual se encontra nas células basais da epiderme em forma oxidada, não oxidada ou em agrupamentos, produzindo diferentes estágios de bronzeado, dependendo do tempo de exposição a essa radiação. Estes conceitos estão indicados no Quadro 1.

Quadro 1. Relação entre bronzeado e tempo de exposição às radiações solares (KREEPS e GOLDENBERG 1990).

Tipo de efeito	Tempo após a exposição	Região da pele	Reação da melanina
Bronzeado imediato	1- 3 horas	Epiderme	oxidação
Bronzeado tardio	1 dia	Epiderme (migração das células basais)	oxidação
Melanogênese ou bronzeado verdadeiro	2 a 3 semanas (descamação)	Epiderme (formação de aglomerados de melanina)	oxidação pela ação de ácido ascórbico e tirosinase
Clareado	10 a 12 meses	Epiderme	redução pela peroxidase

## 2.3. PROTETORES SOLARES

### 2.3.1 Fotoproteção

Os fatores protetores contra as radiações ultravioleta podem ser classificados em: barreiras físicas exógenas, fatores intrínsecos e fatores extrínsecos (HARBER, et al., 1990).

#### 2.3.1.1 Barreiras físicas exógenas

O espectro de radiação solar encontra-se dividido em setores, em função do comprimento de onda. O oxigênio e o ozônio de nossa atmosfera realizam um trabalho de filtração que impede a passagem dos raios cósmicos gama e X e os comprimentos de onda mais curtos dos raios ultravioleta (UVC) Figura 6.

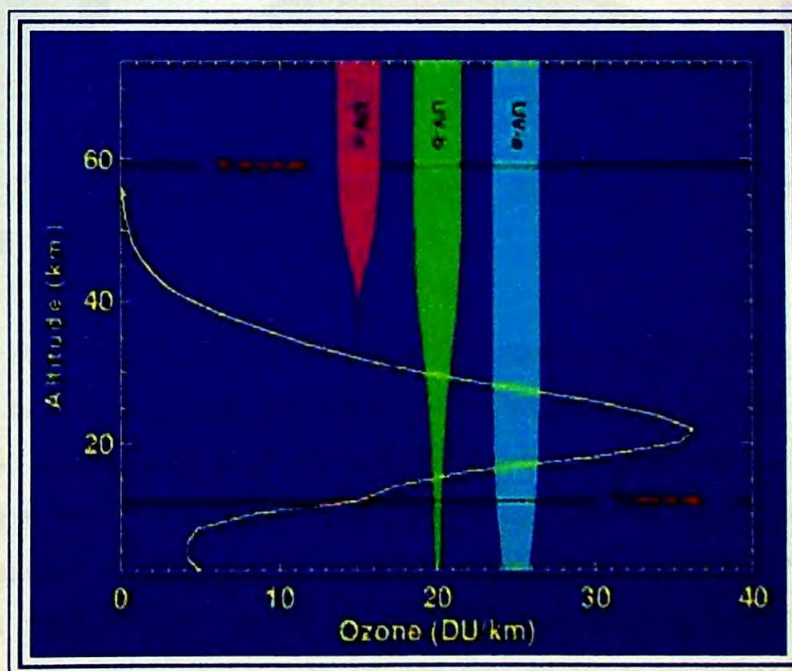
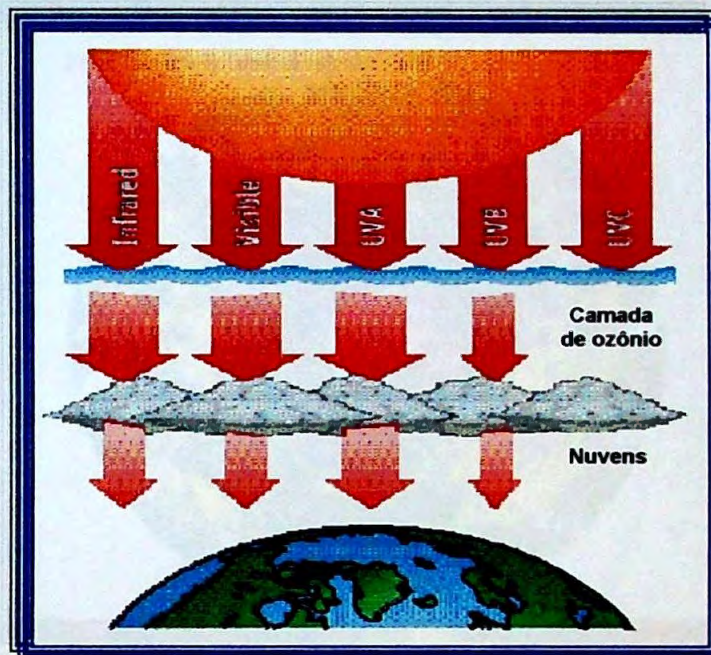


Figura 6. Grau de retenção das radiações UV em relação com a concentração de ozônio e altitude em km (UNITED STATES, 2003).

A poluição, as nuvens e a água produzem o mesmo efeito. As nuvens refletem, transmitem e absorvem a radiação UV dependendo da espessura, de forma similar como afetam a luz visível. À medida que as nuvens são mais espessas refletem mais e transmitem menos radiação UV. Figura 7



BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacéuticas  
Universidade de São Paulo

Figura 7. Barreiras físicas exógenas da radiação solar (UNITED STATES, 1999b).

A unidade Dobson é uma escala que permite medir a quantidade total de ozônio ocupada por uma coluna atmosférica em um determinado local. Se a camada de ozônio pudesse ser comprimida a 0 °C e a 1 atmosfera (atm) de pressão, esta passaria a ter aproximadamente 3 mm de espessura. Dessa maneira, 0,01 mm de espessura a 0 °C e 1 atm é definida como sendo 1 DU (Dobson Unit) miliatmosferas/cm<sup>2</sup>. Em termos absolutos: 1 DU corresponde a aproximadamente  $2,7 \times 10^{-16}$  moléculas/cm<sup>2</sup> (UNITED STATES, 2003).

As condições de aquecimento por região do país e os resultados das medições da quantidade de ozônio na atmosfera global tomadas normalmente do dia anterior, podem ser consultados pelo usuário pela internet <http://toms.gsfc.nasa.gov> (UNITED STATES, 2003). Figura 8 .

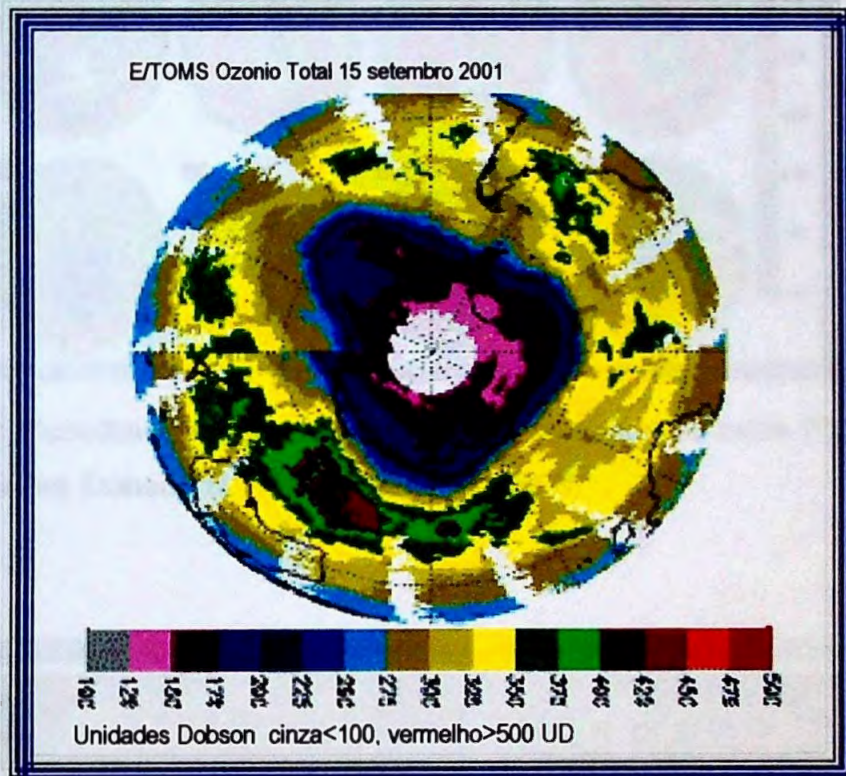


Figura 8. Medidas em Unidades Dobson do buraco de ozônio (UNITED STATES, 2003).

O ozônio absorve a maior quantidade da radiação UVB e toda a radiação UVC, poluição e aerossol. O estreitamento da camada de ozônio vem desde os anos 70, podendo-se observar a formação de um buraco de ozônio que tem aumentado continuamente e cujo tamanho corresponde à região da Antártida (Ver. Figuras 9, 10). O Programa Ambiental dos Estados Unidos estimou que mais de 2 milhões de casos de câncer da pele não-melanômico e 200.000 melanomas malignos surgem cada ano no mundo e no caso do estreitamento na camada de ozônio em 10% estima-se que podem surgir 300.000 novos casos de

câncer de pele não-melanômico e 4.500 de melanomas malignos. (WHO. 1995).

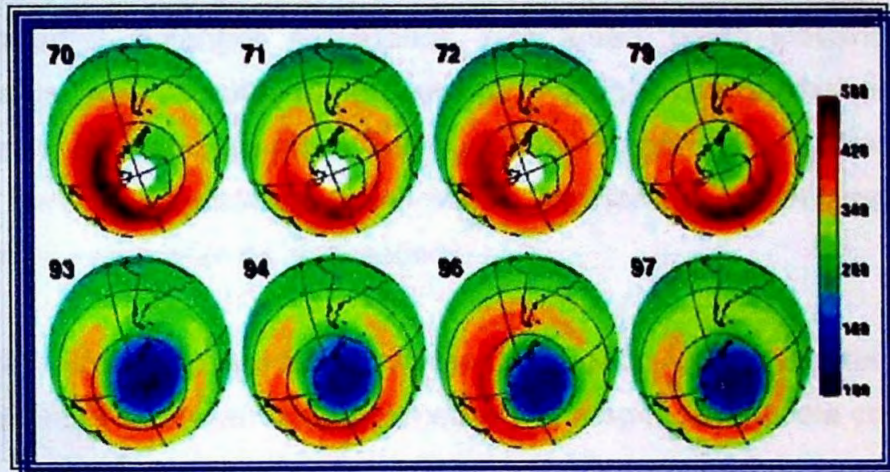


Figura 9. Estreitamento da camada de ozônio desde os anos 70, medida em Unidades Dobson (UNITED STATES, 2003).

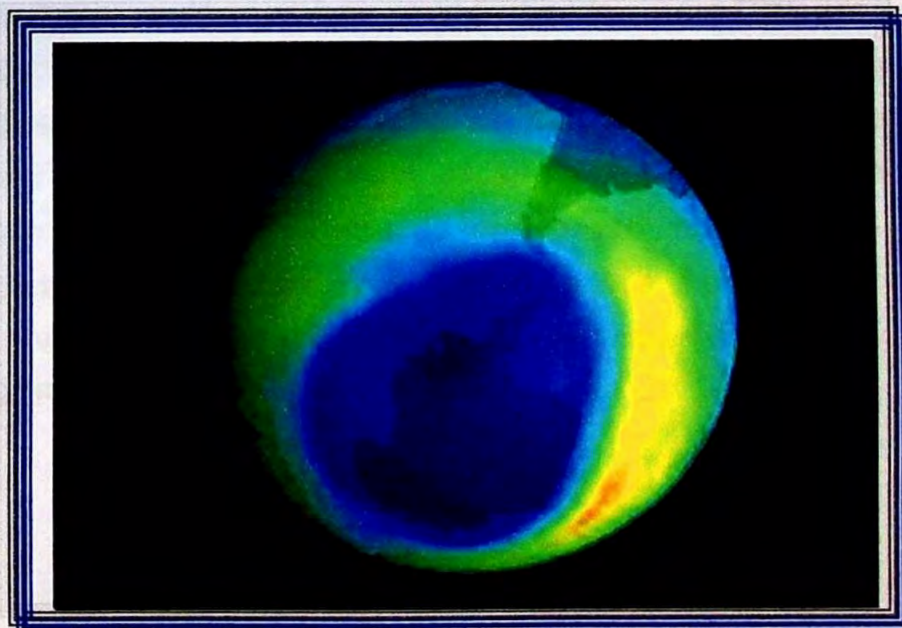


Figura 10. Buraco de ozônio cujo tamanho corresponde à região da Antártida (UNITED STATES, 2003).

### 2.3.1.2 Fatores intrínsecos

O sistema de proteção solar natural da pele é constituído pelos componentes cutâneos endógenos, que atuam como mecanismos de defesa da pele, os quais podem reparar a maioria das agressões solares mediante a melanogênese, hiperqueratose e proteção contra radicais livres, sendo as substâncias envolvidas a melanina, a queratina, o ácido urocânico e os sistemas enzimáticos.

A melanogênese é um processo de produção e distribuição das melaninas (a feomelanina e a eumelanina), responsáveis pela cor da pele e do cabelo, regulado pela radiação UV, estímulos hormonais e hereditários. A feomelanina não é fotoprotetora, encontrando-se nas pessoas ruivas que quase não se bronzeiam. A eumelanina ou melanina, como mais comumente se conhece, é um pigmento preto-marrom não homogêneo, sintetizado em células especializadas chamadas melanócitos, que dão cor à pele, encontrando-se em 60% das pessoas morenas. A melanina é um filtro ativo contra a radiação UV porque é um heteropolímero absorvedor natural de luz que contém grupos índol-quinonas e outros produtos de oxidação da tirosina e melanina (Figura 11). São grupos de alto grau de conjugação, absorvem luz visível, transformando-se em calor e escurecendo a pele. Também absorvem os raios UV pelas ligações insaturadas de carbono (RILEY,1997) e (BERGER, 1999).

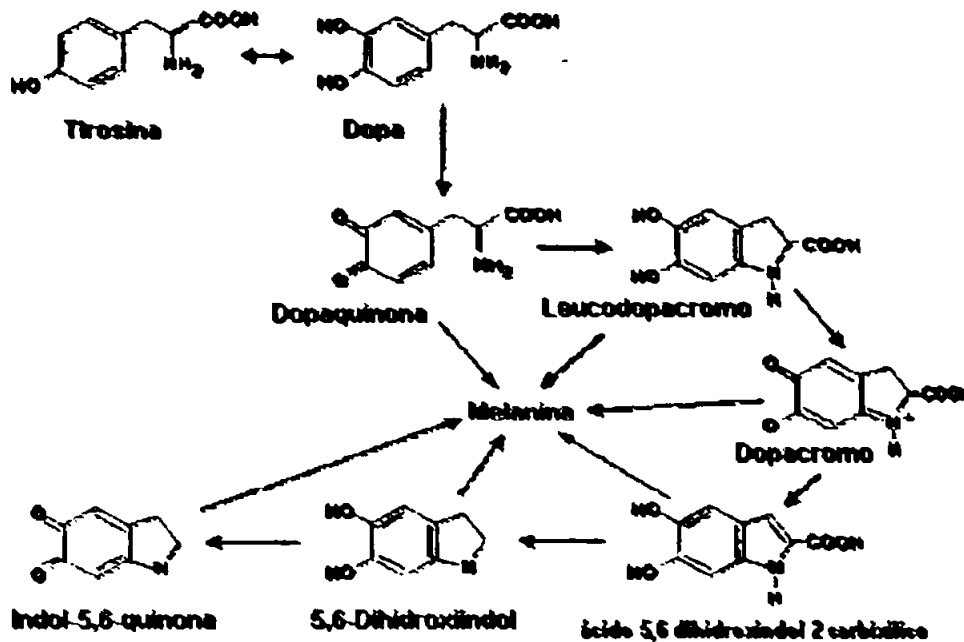


Figura 11. Processo de biossíntese da melanogênese. (ANDRAE et al., 1998).

A hiperqueratose é uma reação epidérmica ante a radiação solar, caracterizada por um espessamento do estrato córneo, causada pela hiperprodução da queratina, que é uma matriz de lipídios amorfos sintetizados pelos queranócitos, formando camadas da epiderme. A quantidade de queratina do corpo é diferente devido à variação da espessura do estrato córneo. Como a queratina é uma proteína fibrosa rica em disulfetos, absorve prótons em regiões de UVB e UVC.

Além disso, os queranócitos produzem o ácido urocânico, a partir do aminoácido histidina, cujo mecanismo de ação não é muito conhecido, mas depois de uma exposição solar aumenta-se a síntese e a transformação do isômero *trans* a isômero *cis*.

Portanto, o mecanismo da hiperqueratose proporciona uma resposta retardada do tecido cutâneo à agressão equivalente a um fator de proteção solar entre 2 ou 3, sendo esta ação reforçada pelos lipídios da superfície e do ácido urocânico, o qual absorve a radiação UV, transformando-se de isômero *trans* a *cis* (HARBER, et al.,1990)

A queratose protege contra radicais livres, que são moléculas ou fragmentos que possuem um elétron livre na sua órbita mais externa, fazendo-os instáveis e reativos, capazes de iniciar reações fotoquímicas e causar dano às células, como a peroxidação lipídica entre o radical livre hidroxila muito reativo (produto da redução mono, di e trivalente do oxigênio *singlete*), assim como a reação dos tripletos da tiamina com a tiamina, formando dímeros de tiamina potencialmente cancerígenos. Em 1992 Gonzenbach e colaboradores demonstraram que o nível de energia trivalente dos filtros butilmetoxidibenzoilmetano e metoxicinamato de octila não são capazes de iniciar a formação de tripletos de tiamina capazes de provocar mutações celulares. (GONZENBACH, et al., 1992). Desse modo, o organismo desenvolveu mecanismos de defesa mediante sistemas enzimáticos que mantêm o excesso em níveis adequados de radicais livres, mediante vitaminas (C e D) e oligoelementos que captam os radicais livres para uma boa atividade celular (WEINSTOCK et al.,1992).

### 2.3.1.3. Fatores extrínsecos

As preparações fotoprotetoras se classificam em agentes fotoabsorvedor e bloqueador solar (agente fotobloqueador) de acordo com a capacidade de absorver, refletir ou dispersar a radiação solar na faixa ultravioleta entre 290 a 400 nm (GONZENBACH, et al., 1992).

Os agentes fotobloqueadores são bloqueadores físicos, ou seja, são substâncias químicas que refletem a radiação solar (por exemplo: óxido de zinco e dióxido de titânio).

Os agentes fotoabsorvedores são substâncias químicas capazes de absorver uma grande quantidade de energia de uma determinada região da luz, dando como resultado sub-produtos dessa reação.

Os filtros químicos são substâncias químicas que podem absorver a radiação ultravioleta e se classificam dependendo da região que absorvem, como os absorvedores UVA, que absorvem a radiação com comprimento de onda entre 320–400 nm (benzofenonas, antranilatos e os dibenzoilmetano); os absorvedores UVB, que absorvem a radiação 290–320 nm (derivados de PABA, salicilatos, cinamatos e derivados de cânfora), (SHAATH, 1990). Figura 12.

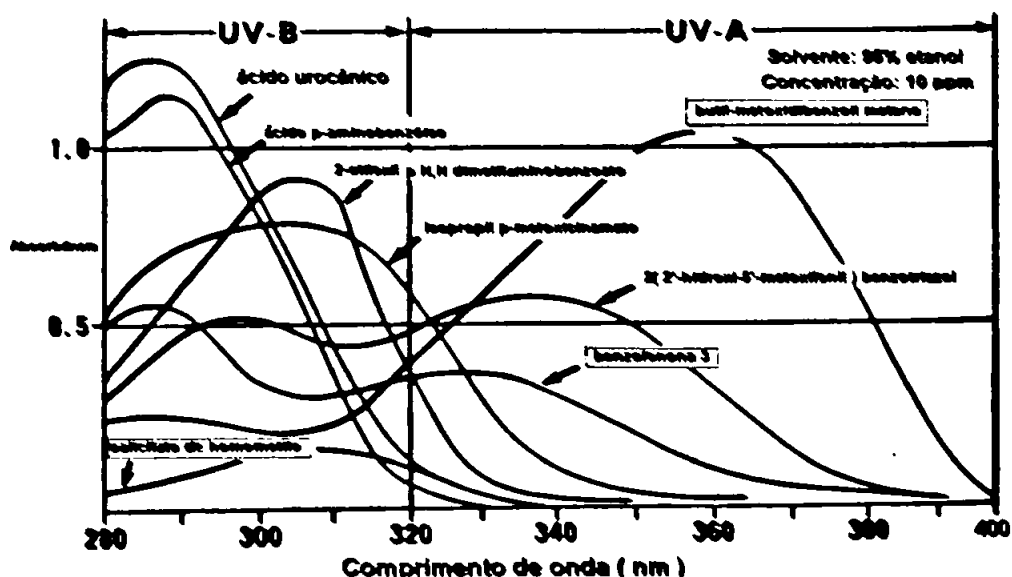


Figura 12. Filtros químicos UVA e UVB: comprimento de onda entre 290-400 nm (FUKUDA e NAGUANUMA, 1990).

### 2.3.2 Classificação dos filtros solares

Os filtros solares podem ser classificados segundo sua natureza e de acordo com a ação frente à radiação UV: filtros químicos absorvedores UVA (derivados de benzofenona antranilato e dibenzoilmetano); filtros químicos absorvedores UVB (os derivados de cinamatos, os derivados de p-aminobenzóico, e os derivados de salicilato) e bloqueadores físicos, refletores da região UV (óxidos de titânio, óxidos de zinco) (SCHWACK, 1995) Quadro 2.

Quadro 2. Classificação dos filtros solares e bloqueadores físicos (EUROPEAN COMMISSION, 1999), (CANADA, 2003), (PELLATT, 1999).

Região UV	Nome do grupo	Nome químico	Nome comercial	concentração máxima permitida %
UVA 320-400 nm	Benzofenona	Oxibenzona	Benzofenona-3	*2-6 **6
	Dibenzoil metano	butilmetóxido dibenzoil metano	Parsol <sup>®</sup> 1789	*2-3 **5
UVB 290-320 nm	Cinamatos	2-etilexil cinamato	Parsol <sup>®</sup> MCX	*2-7,5 *8-10,0 **8.5
	Salicilatos	salicilato de homometila	Homossalato <sup>®</sup>	*4-15 **15
		Salicilato de etilexila	Salicilato de octila <sup>®</sup>	*3-5 **6

## 2.4 PERMANÊNCIA CUTÂNEA DOS FILTROS SOLARES

Para evitar a penetração dos raios solares nas camadas profundas da pele e seus efeitos, é importante desenvolver produtos que favoreçam a permanência das preparações com filtros solares na epiderme.

A substantividade da preparação fotoprotetora é a permanência do produto nas estruturas queratinizadas do estrato córneo, evitando a penetração na derme, proporcionando resistência à lavagem e favorecendo a eficácia do efeito protetor (FRIBERG, et al.,1998) (HAGEDORN-LEWEKE e LIPPOLD 1998). Devido, as características anatômicas do estrato córneo (características intrínsecas da pele) e as propriedades físico-químicas dos filtros solares na fórmula (MARIANI, et al., 1998), (PELLATT, 1999).

### 2.4.1. Características físico-químicas dos filtros solares

Através do conhecimento das propriedades físico-químicas dos filtros solares, pode-se prever a capacidade de penetração na pele, a solubilidade, o coeficiente de partição (HAGEDORN-LEWEKE e LIPPOLD 1995) as propriedades de ionização e a concentração dos filtros (TREFFEL e GABARD, 1996), (WALTERS, 1997) e (WALTERS e ROBERTS, 2002). Quadro 3.

Quadro 3. Propriedades gerais dos filtros solares em estudo (TREFFEL, et al., 1996), (WALTERS, 1997) e (WALTERS e ROBERTS, 2002).

Nome químico / comercial	Propriedades físicas	Característica UV $\lambda$ máx	Solubilidade	
			solúvel	insolúvel
Benzofenona-3 Eucalol <sup>®</sup> 567	pó cor creme, ligeiro odor aromático	287nm; 288-329 nm ( 0.005 g/L em etanol; etanol como branco)	álcool etílico, isopropílico, acetona e miristato de isopropila,	água, glicerina, propilenoglicol e óleo mineral
Butilmetoxidi- benzoilmetano, Parsol <sup>®</sup> 1789	pó fino cristalino amarelo claro, ligeiro odor aromático	355 nm; 110-118 nm ( 0.005 g/L em etanol; etanol como branco)	álcool etílico, isopropílico, miristato de isopropila, óleo mineral.	água, glicerina e propilenoglicol
Metoxicinamato de octila; Escalol <sup>®</sup> 557	líquido amarelo claro; praticamente inodoro	310 nm; 81-89 nm (0.005 g/L em etanol; etanol como branco)	álcool etílico, isopropílico, miristato de isopropila, óleo mineral.	água, glicerina e propilenoglicol
Salicilato de octila, Escalol <sup>®</sup> 587	líquido incolor para amarelo; odor levemente aromático	308 nm; 307-310nm em álcool metílico ou óleo mineral ( 0.03 g/L etanol; etanol como branco)	álcool etílico, isopropílico, miristato de isopropila.	água, glicerina, propilenoglicol e óleo mineral.
Homossalato, Eusalex <sup>®</sup> HMS	líquido oleoso claro; odor a salicilato	306 nm; ( 0.03 g/L etanol; etanol como branco)	álcool etílico, isopropílico, miristato de isopropila, óleo mineral.	água, glicerina e propilenoglicol

A solubilidade dos filtros solares depende das características de lipossolubilidade e hidrossolubilidade e de anfifilidade das fórmulas. O efeito do solvente afeta na efetividade do filtro químico porque solubiliza o estado basal e inibe a mobilização de elétrons.

A penetração está relacionada com a solubilidade dos filtros no veículo e nas camadas da pele. Treffel em 1996 comparou a penetração *in vitro* e *in vivo* e o fator de proteção de três filtros solares, usando dois veículos (um excipiente contendo um espessante hidrofílico óleo/água (O/A) e um produto com os filtros: 5,0% de oxibenzona; 7,5% de 2-etilhexil 4-metoxicinamato e 3,0% 2-etilhexilsalicilato). Como os três filtros são lipofílicos e a natureza do receptor é hidrofílica, o fenômeno de retenção de filtros foi acentuado. Como no caso o 2-etilhexil 4-metoxicinamato e 2-etil-hexilsalicilato são mais lipofílicos, limitam a concentração do fluido receptor na derme. *In vitro* os resultados mostraram que o excipiente contendo o espessante hidrofílico (O/A) adicionou elevada concentração dos filtros na epiderme e no fluido receptor, mas depois de duas horas a concentração da oxibezona aumentou na derme. Devido à natureza hidrofílica do espessante hidrofílico (O/A), a difusão e a penetrabilidade são favorecidas na derme. *In vivo* a absorção cutânea confirmou o efeito do veículo sobre a penetração dos filtros pela formação de lipossomas devido à presença de fosfolípidos no espessante hidrofílico (TREFFEL, et al., 1996).

O coeficiente de partição óleo/água (O/A) está relacionado com a solubilidade do filtro no veículo do produto. Para prever a penetrabilidade de uma formulação deve-se conhecer o coeficiente de partição e a lipofilicidade do filtro solar, assim como características da pele: a idade, o tipo de pele (seca, oleosa) e a natureza química da pele. As propriedades

de ionização de cargas em solução são muito importantes, visto que o pH da pele muda com o envelhecimento, fazendo-se mais negativo. Esta mudança de pH favorece o transporte e absorção dos filtros solares catiônicos a camadas mais internas da pele; isto acontece até determinada concentração (HIRVONEN, et al.,1996). Além disso, o espectro de absorção UV de filtros ácidos ou básicos se altera, provocando o efeito de batocromia (absorção em comprimento de onda diferente). Como existe uma produção de ânions (em caso de filtros ácidos) em meios alcalinos, o aumento do deslocamento de elétrons é favorecido, diminuindo a energia necessária para a transição eletrônica (batocromia) e com isto a permeabilidade dos filtros na pele, conseqüentemente afetando a eficácia do protetor solar (WALTERS, 1997).

#### 2.4.2 Características intrínsecas da fórmula

Algumas formulações utilizam substâncias que favorecem a absorção cutânea, modificando as características intrínsecas da formulação cosmética, como :

- Alteração da permeabilidade cutânea. Os promotores de penetração cutânea aumentam o coeficiente de partição veículo-membrana pela maximização da permeabilidade da fórmula, utilizando veículo com baixa afinidade pelo filtro solar e favorecendo sua liberação na fórmula.
- Deslipidização do estrato córneo pelos solventes que não afetam a efetividade do filtro e a solubilidade na fórmula.

- Emolientes e emulsificantes lipídicos podem modificar a permeabilidade da pele, fazendo com que os filtros solares possam fixar-se mais na pele com uma maior substantividade (por exemplo: preparações com filtros solares resistentes à água) (DINUNZIO e GADDAR, 1990) e ( SMITH, et al.,2000).

A escolha dos emolientes e sua polaridade é muito importante, já que os emolientes não polares ou de baixa polaridade (óleo mineral) podem alterar o comprimento de onda máximo ( $\lambda$  máximo) fora da faixa de UVB (290-320 nm), afetando a absorção dos filtros solares. Pelo contrário, o uso de emolientes muito polares tem o efeito oposto (UNITED STATES, 1999c).

#### 2.4.3 Mecanismos de absorção dos filtros solares

A energia da radiação eletromagnética descreve as partículas como agrupamentos discretos oscilando em uma onda, conhecidos como fótons, os quais viajam no espaço num comprimento de onda. Os filtros solares químicos absorvem energia em forma de fóton, passando de um estado básico de baixa energia ( $\eta^*$ ) a outro de energia maior ( $\pi^*$ ). A molécula excitada retorna para o estado básico emitindo energia de menor intensidade que a energia de excitação. (MARCH, 1985). A capacidade de absorção de energia UV das moléculas é dada pela existência de dois diferentes estados ou estruturas químicas, já que a diferença nos níveis de energia entre duas estruturas moleculares corresponde exatamente à mesma mudança eletrônica permissível e coincide justamente com a energia do fóton absorvido (SHAATH, 1990).  
Figura 13.

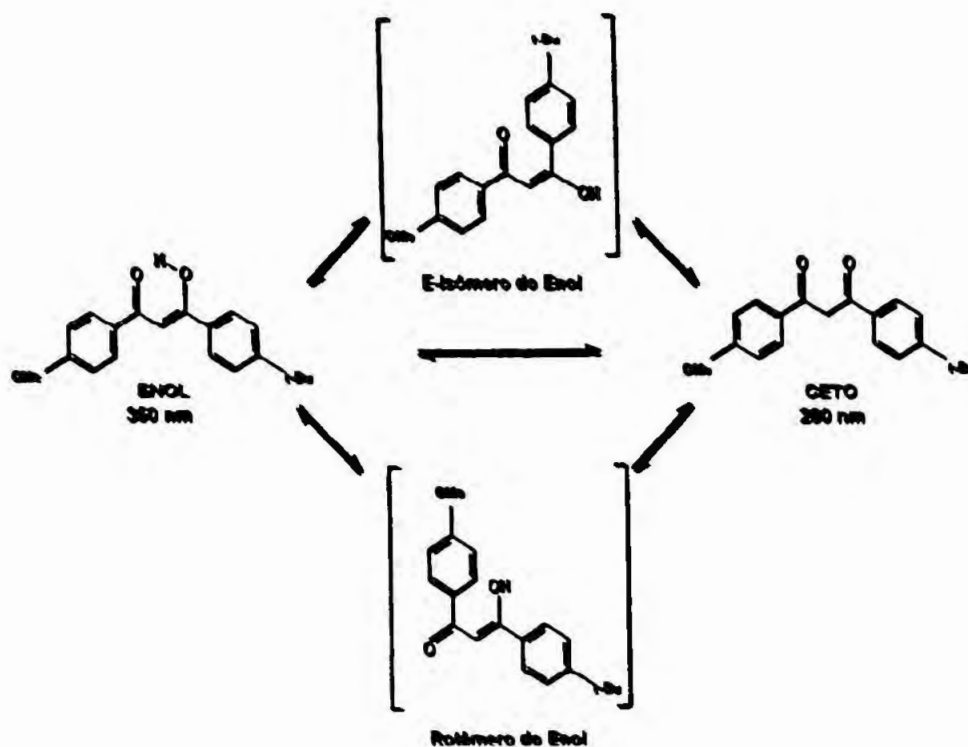


Figura 13. Cetonização fotoinduzida pela radiação UV no butilmetoxidibenzoilmetano, formando o isômero *ceto* a partir do isômero *enol* através de moléculas intermediárias excitadas (ANDRAE et al., 1998)

A mecânica quântica mostra que a energia da radiação presente na região UVA e UVB está na mesma ordem de magnitude que a da energia de ressonância de deslocamento do elétron em compostos aromáticos. A energia absorvida da radiação UV correspondente à energia requerida para produzir uma excitação fotoquímica na molécula do filtro solar (SHAATH, 1990), como pode ser visto na figura 14.

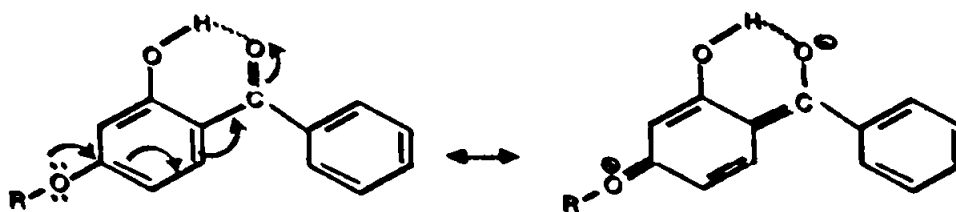


Figura 14. Excitação fotoquímica na molécula de benzofenona devido ao deslocamento do elétron causado pela absorção de radiação UV (SHAATH, 1990).

O deslocamento do elétron pode diminuir a energia requerida para a transição eletrônica no espectro UV, observando-se um efeito batocrômico ou aumento no comprimento de onda máxima de absorção (KREEPS e GOLDENBERG, 1990).

Os filtros solares em solução, como o butilmetoxidibenzoilmetano (BM), contêm formas canônicas *ceto-enol* em equilíbrio. Estes apresentam diferentes absorções de energia de radiação UVA. A forma *enol* tem sua maior absorção a 350 nm e a forma *ceto* a 260 nm, chegando até a região UVB (CANTRELL e MCGARVEY, 2001). Figura 15

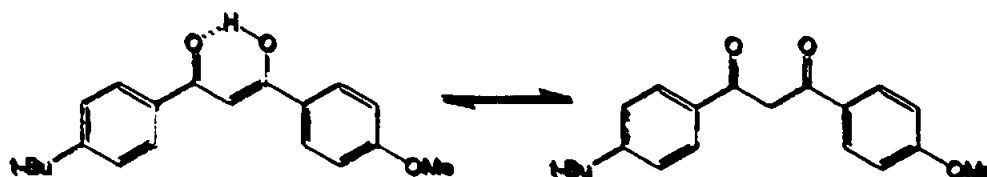


Figura 15. Formas canônicas do butilmetoxidibenzoilmetano: obtidas pelo deslocamento 1,3 de hidrogênio (tautomerismo) em equilíbrio (SHAATH, 1990).

O homossalato é outro filtro que se encontra comercialmente disponível em mistura de isômero *cis-trans*. A mistura típica contém 15% de *cis* e 85% de *trans* ou 40% de *cis* e 60% de *trans*, absorvendo em 310 nm. Figura 16

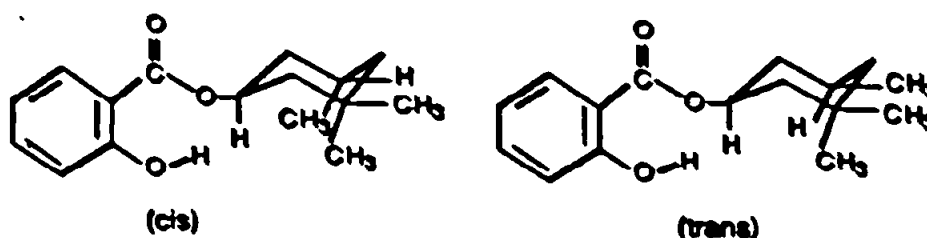


Figura 16. Mistura racêmica de isômeros *cis-trans* de homossalato (SHAATH, 1990).

Os derivados do ácido 4 metil-cinamato, são os isômeros E e Z, cuja absorção máxima está aos 300 nm (MORLIÈRE, et al.,1982). Figura 17

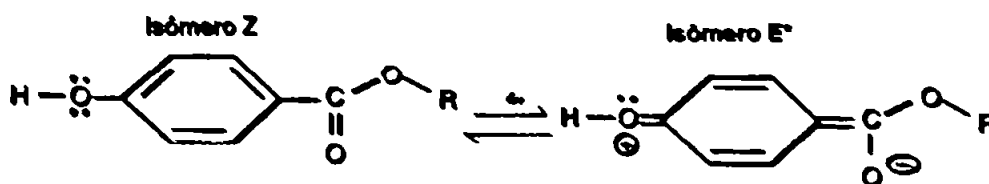


Figura 17. Mecanismo de fotoisomerização  $E \rightleftharpoons Z$  de moléculas de metoxicinamatos (MORLIÈRE, et al.,1982).

A energia pode ser emitida em forma de raios de energia baixa (comprimento de onda larga 800-900 nm) e raios de energia muito baixa na região do infravermelho (acima de 900 nm), onde se percebe o aquecimento na pele. Os raios de energia intermediária (450-800 nm) na região visível dão uma fluorescência ou um efeito fosforescente (filtros do tipo de imidazol). Em casos extremos, a radiação emitida é suficientemente energizada (comprimento de onda curta) na região UV baixa, de 380 nm até 450 nm, por causa de uma fração da molécula do filtro solar que reage fotoquimicamente. No caso de isomerizações fotoquímicas (*cis-trans* ou *ceto-enol*), tem sido observado que algumas moléculas causam uma mudança no comprimento de onda máximo do filtro químico (SHAATH, 1990).

Concluindo, pode-se dizer que o mecanismo dos agentes fotoabsorvedores se realiza quando as ligações dos filtros químicos são excitadas pela absorção da radiação UV e vão de um estado básico para um estado de energia maior, e ao retornar ao estado básico emitem uma energia menor que a energia de excitação.

## 2.5 MEDIDA DE EFETIVIDADE DOS FILTROS SOLARES

Como os protetores solares são fórmulas cosméticas de uso tópico, a efetividade dos filtros solares depende da aplicação do produto sobre a pele que está sujeita à exposição da radiação solar. Além disso, a radiação solar também penetra percutaneamente, causando danos às células internas da pele. Por isso, um protetor solar com filtros solares deve propiciar uma cobertura uniforme e uma permanência mínima no estrato córneo da pele (MARIANI, et al., 1998).

**Fator de proteção (FP)** ou *Protection factor (PF)* é a medida de fotoproteção que um produto proporciona a um indivíduo exposto às radiações UV (RUV), dando como resultado um eritema cutâneo. O estudo *in vitro* se faz com células de cadáver e com radiação monocromática (BROWN, 1986),  $FP = 1 / \pi(\lambda)$  (BRULS, 1986).

**Dose Eritematosa Mínima (DEM)** ou *Minimal erytemal dose (MED)*. É a quantidade de radiação requerida para produzir um eritema apenas perceptível. Em condições de irradiação constante, o DEM é proporcional ao tempo de exposição.

**Fator de proteção solar (FPS)** ou *Sun protection factor (SPF)*. É a radiação solar simulada necessária para produzir um eritema mínimo apenas perceptível (vermelhidão) ou um bronzeado (DEM bronzeado) sobre a pele humana que está protegida (DEM<sub>p</sub>) com uma quantidade do produto de concentração padrão de 2 mg / cm<sup>2</sup> por 15 minutos em comparação com a pele não protegida (DEM<sub>np</sub>) (DUTRA, 2000), (MENDONÇA, 1998), (UNITED STATES, 2002a).

$$\text{FPS eritema} = \text{DEM}_p / \text{DEM}_{np}.$$

$$\text{FPS bronzeado} = \text{DEM}_p / \text{DEM}_{np}.$$

O FPS indica a dose energética para que apareça o bronzeado ou o número de vezes de maior proteção de exposição solar de uma pele protegida com um filtro solar. Fatores necessários para obter um estudo de FPS: a ) luz artificial; b ) tamanho do painel de controle (mínimo de 20 voluntários); c ) área de prova; d ) incrementos de exposição à radiação; e ) prova densidade de aplicação de material (2 mg/cm<sup>2</sup>) (SHAATH, 1990).

A capacidade de absorção do filtro solar, depende da espessura do filme de produto sobre a pele, da localização geográfica onde se usa o produto e da concentração dos filtros solares no produto. (MULLER, 1986), (UNITED STATES, 2002a).

## 2.6 FOTOSSENSIBILIZAÇÃO DOS FILTROS SOLARES

A fotossensibilização provocada por substâncias químicas como filtros solares, mediada pela luz, pode provocar irritação ou alergia, e sua incidência total varia de 0,1% até 2%, como verificado em estudos clínicos. Os filtros solares são considerados potencialmente produtores de fotossensibilização. Além disso, quando em associação com outros filtros solares, fragrâncias, extratos de plantas, fármacos e outros ingredientes, podem provocar fotossensibilização com maior frequência (DUBERTRET, et al., 1990).

Os filtros solares são substâncias químicas capazes de refletir ou absorver a energia eletromagnética do sol da região UV, devido à sua estrutura química, podendo formar produtos de reação não estáveis, capazes de retornar ao estado mais estável, ou seja, reações reversíveis, que dependem das condições físico-químicas do meio onde se encontram.

Partindo do fato de que os filtros solares devem ser seguros, (EUROPEAN COMMISSION, 1999) eficazes e inertes em relação aos componentes da fórmula e às condições de uso (UNITED STATES, 2000), devem apresentar as seguintes características:

1. *Não devem ser tóxicos, sensíveis ou fototóxicos*, devendo ter uma excelente fotoestabilidade. Para que as moléculas isômeras *cis-trans* ou *ceto-enol* sejam reversíveis, quando sofrerem uma degradação, devem possuir um campo quântico baixo.
2. *Os isômeros dos filtros químicos devem ser puros e quimicamente inertes*, não devem reagir com os ingredientes da fórmula e manter as características químicas durante o período de armazenamento.
3. *A concentração dos filtros químicos deve ser menor ou igual à máxima permitida*, para evitar efeitos não desejados, por uma possível irritabilidade, sensibilidade ou toxicidade, devido a concentrações maiores do que as permitidas.
4. *A frequência de aplicação para garantir o FPS* deve ser entre 15 a 30 minutos antes da exposição e deve repetir-se de 2 a 3 horas depois da primeira aplicação, dependendo do tipo da fórmula e atividade realizada durante esse período de tempo.
5. *O tipo de pele da pessoa está relacionado com a resposta às radiações solares e seu grau de sensibilidade ao bronzeado e pode-se classificar segundo tipos de I a VI*. Quadro 7.
6. *O período de exposição e zona geográfica são fatores que dependem do tipo do fator de proteção solar (FPS)*. Por exemplo: no caso de ser aplicado FPS 30, a pele ficaria ligeiramente bronzeada após 30 DEM. Ainda deve-se levar em conta a zona geográfica (proximidade do buraco de

ozônio) e horário solar, que pode apresentar um alto índice de radiação UV.

7. O uso inadequado de um produto com um filtro de FPS superior a 30 para pele muito sensível proporciona uma falsa segurança de uma proteção solar maior. Já foi demonstrado que o uso de filtros com valores FPS superiores a 30 não dá uma proteção proporcional ao aumento de FPS, visto que o aumento de proteção não segue uma curva linear. A pele extremamente sensível não estaria protegida como o consumidor espera. Figura 18

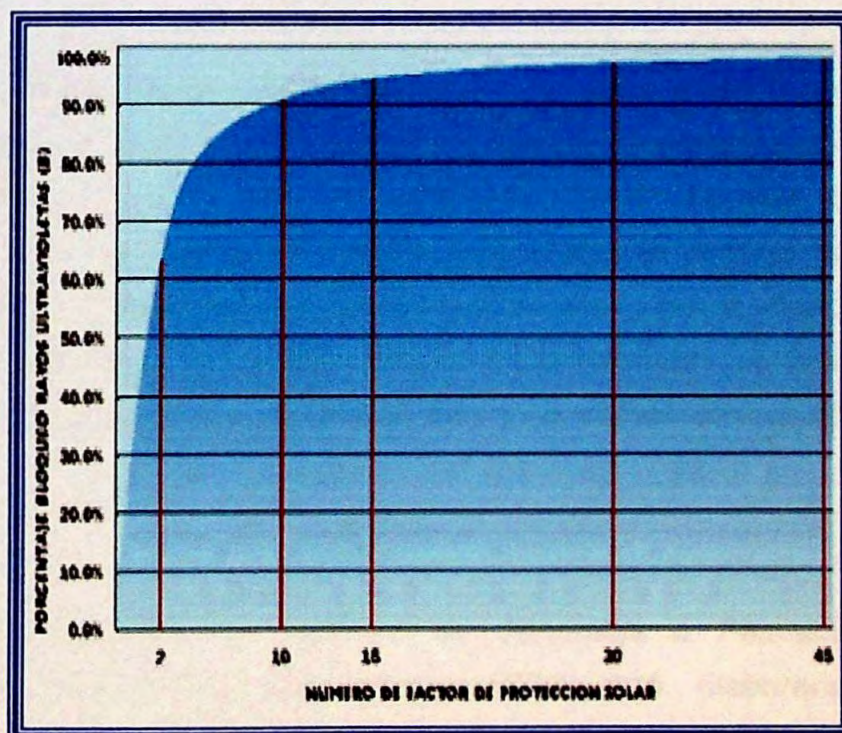


Figura 18. Gráfico de porcentagem de bloqueio de radiação UV e número de FPS (UNITED STATES, 1999b).

A tecnologia tem como objetivo preparar fórmulas o mais inócuas possíveis, estáveis e seguras, fato pelo qual parte para desenvolver produtos que permitam que cada cromóforo se encontre numa fórmula: na concentração efetiva no sítio de ação, com a substantividade adequada, e a estrutura molecular em estado basal estável para que cumpra a função de absorver a energia proveniente da exposição da pele à radiação UV. Embora se quisesse, não é possível controlar todas as condições externas estranhas à fórmula, visto que o filtro solar não resolve tudo isoladamente, já que precisa de ajuda para prevenir os danos solare.(DYKES e PEARSE, 2002), (MEIJER e LODER, 1995).

Entretanto, o mais importante é o consumidor conhecer o uso correto dos filtros solares e a variação do tempo de exposição, o horário e a zona geográfica, assim como o tipo de pele que dá a resposta de sensibilidade entre um indivíduo e outro. Para fazer uso racional dos filtros solares, esse conhecimento é preponderante para obter a eficácia do produto corretamente formulado. Assim, conjuntamente, os filtros solares e o consumidor podem reduzir os riscos de efeitos danosos da radiação UV.

A Agência Americana de Controle de Alimentos e Fármacos conhecida como Food & Drug Administration (FDA) está elaborando normas para controlar as informações divulgadas pelos fabricantes para que o consumidor conheça as características dos filtros de forma clara e concisa, (UNITED STATES, 2000b), (CANADA, 2003) e não acreditar numa falsa segurança de proteção por fazer uso não adequado do produto.

Ao evitar o bronzeado pela proteção dada pelos absorvedores UVB, o consumidor não percebe que a radiação UVA está danificando camadas mais profundas. Ou seja, o dano de pele induzido pela radiação UVA provoca alterações severas no DNA, assim como: genotoxicidade; possibilidade de carcinogênese por dano à proteína p53 associada com DNA e relacionada com a acumulação da radiação UVA (LOHR, 2003), diminuição da resposta imune (imunossupressão) (FINLAY-JONES et al., 2003), (UNITED STATES, 1999a), (KRAEMER, 1997), (VAN DER LEUN, 1996).

A concentração dos filtros e o risco de fototoxicidade estão relacionados com a lipoafinidade e as cargas em solução num filtro solar, podendo-se acumular e formar reservatórios nas fases lipídicas do estrato córneo, como foi relatado para o salicilato de octila (WALTERS, 1997).

Alguns filtros solares utilizados de forma inadequada (concentração alta, superexposição solar, sensibilidade individual) podem causar reações adversas desde irritações simples até possível participação no aparecimento de câncer (PELLATT, 1999). Estes efeitos estão resumidos no quadro 4.

Quadro 4. Interações e efeitos de filtros solares (DIFLEY e GADDE, 1997).

<b>Filtros solares</b>	<b>Reações adversas ou efeitos irritantes</b>
Benzofenonas: Benzofenona-3	Não pode estar combinado com os derivados de PABA
Antranilato: Metilantranilato	Não deve estar associado com salicilatos
Butilmetóxidibenzoilmetano	Foram reportadas reações alérgicas e fotodermatite por contato em grandes concentrações
Acido benzóico: p-aminobenzóico 2-etilexil 4 dimetil-amino benzoato	Irritação e reações de hiper-sensibilidade e instabilidade em recipientes. Reações fotoalérgicas em presença de fármacos fotossensibilizadores
Cinamatos: 2-etilexil p-metoxi dietanolamina	Dermatite por contato em grandes concentrações. Reação de sensibilização cruzada com derivados de canela. Diminuição da sua eficácia em combinação com outros filtros solares
Salicilatos: salicilato de octila homossalato	Dermatite por contato e fotodermatite por contato, quando usado em grandes concentrações e pela solubilidade com outros filtros solares

Os efeitos tóxicos relacionados com os filtros solares estão sendo estudados e analisados especialmente pelo FDA (UNITED STATES, 2000). Os filtros solares utilizados e aprovados são considerados seguros e efetivos dentro das especificações baseadas nas monografias apresentadas até agora. Para futuras aprovações de novos filtros, deve ser incluída informação de reações de fotossensibilização induzidas por fármacos e a faixa de radiação UV de indução.

Partindo da premissa “Não existe substância química inócua, existem maneiras seguras de utilizá-las, dentro de certas condições de exposição” (Paracelsus), os filtros solares são substâncias químicas sujeitas a fatores externos, a certas condições de exposição e de uso, tais como: o tempo de exposição e a frequência; o tempo de armazenamento; o tipo de pele ou susceptibilidade; a idiosincrasia do indivíduo; o tipo de veículo e dose ou concentração na fórmula, além das características físico-químicas da substância. Todos estes fatores podem fazer com que um filtro solar se transforme em uma substância com uma possível capacidade de causar efeitos adversos sobre um organismo vivo. Isso aliado à falta de informação ou desconhecimento do uso racional dos filtros solares pelos consumidores, faz com que os fatores mencionados, assim como ignorar o fato de que os filtros solares são substâncias químicas cromóforas, que têm a característica de absorver energia a determinados comprimentos de onda, deixem toda a responsabilidade para os filtros solares, como se sozinhos pudessem fotoprotger a pele do câncer.

Em 1993 Garland e colaboradores publicaram um trabalho que questionava a efetividade dos filtros solares, relacionando o elevado índice de melanoma, a partir dos anos 70, com o alto consumo de filtros solares e o aumento no tempo de exposição. Concluíram que o uso irracional do filtro solar contra as radiações UVB pelo paciente que não fica bronzeado, leva-o a ficar maior tempo exposto ao sol, dando uma falsa segurança de estar protegido (GARLAND, et al., 1993). Além disso, os produtos com filtros solares apenas com cromóforos contra radiações UVB permitem que as radiações UVA penetrem até camadas mais profundas. Com isso a comunidade científica e cosmética reagiu, visto que apóia a teoria da proteção.

## 2.7. PREVENÇÃO

### 2.7.1. Índice Ultravioleta (IUV)

O Índice Ultravioleta é uma medida utilizada como proteção contra as radiações UV. Determina a quantidade de radiação que atua na superfície ( $1 \text{ m}^2$ ) ao meio dia solar na hora local oficial nos Estados Unidos, realizada dia a dia pelo Serviço Nacional de Meteorologia e conjuntamente à informação obtida do serviço da NASA em (TOMS) *Total Ozone Mapping Spectrometer* (UNITED STATES, 2003) Figura 19. A Organização Meteorológica Mundial estabeleceu a Unidade Índice Ultravioleta (IUV) em  $25 \text{ mW/m}^2$  ou  $90 \text{ J/m}^2/\text{hr}$  (KINNEY, et al., 2002) e integra cinco elementos: a latitude e data, a quantificação do ozônio, a altitude em relação ao nível do mar, as nuvens e a poluição .

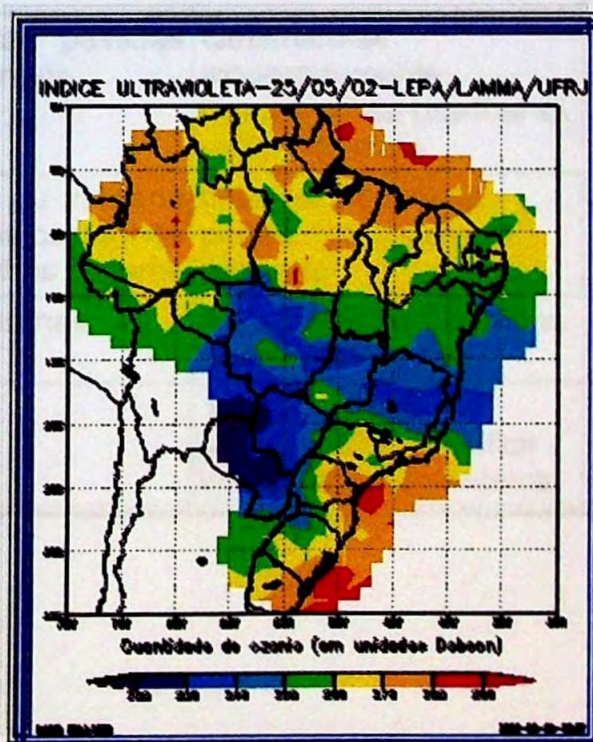


Figura 19. Distribuição da quantidade de ozônio sobre o Brasil. (WHO, 1995)

Juntamente com o IUV, são divulgados, a cada dia e para cada localidade, os tempos máximos de exposição ao sol, a partir do qual a pele poderá iniciar a queimadura solar. Os tempos máximos de exposição solar variam de acordo com os fototipos da pele e para cada fototipo existe uma quantidade máxima de radiação ultravioleta a partir do qual inicia o eritema (vermelhidão da pele). Quadro 5

Quadro 5. Fototipos da pele (PATRAK, 1990).

Fototipos da pele		Conseqüências da exposição solar	Dose eritematosa mínima para produzir envermelhamento
I	Pele clara, olhos azuis, sardentos	Sempre se queimam e nunca se bronzeiam	20 – 30 MJ/m <sup>2</sup>
II	Pele clara, olhos azuis, verdes ou castanhos claros, cabelos louros ou ruivos	Sempre se queimam e, às vezes, se bronzeiam	25 – 35 MJ/m <sup>2</sup>
III	A média das pessoas brancas normais	Queimam-se moderadamente, bronzeiam-se gradual e uniformemente	30 – 50 MJ/m <sup>2</sup>
IV	Pele clara ou morena clara, cabelos castanhos escuros e olhos escuros	Queimam-se muito pouco, bronzeiam-se bastante	45 – 60 MJ/m <sup>2</sup>
V	Pessoas morenas	Raramente se queimam, bronzeiam-se muito	60 – 100 MJ/m <sup>2</sup>
VI	Negros	Profundamente pigmentados, de difícil visualização do eritema.	100 – 120 MJ/m <sup>2</sup>

## 2.8 FILTROS SOLARES

A separação dos componentes de um protetor solar é uma etapa muito importante para a identificação e quantificação dos filtros solares. Os métodos de separação não devem modificar as características físico-químicas dos componentes da mistura em estudo, podem ser simples técnicas de separação ou métodos mais complexos. Classificam-se em: método físico-químico (extração com solventes, destilação e sublimação) e métodos cromatográficos (cromatografia em coluna e camada delgada, cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia de troca iônica) (SHAATH, 1990).

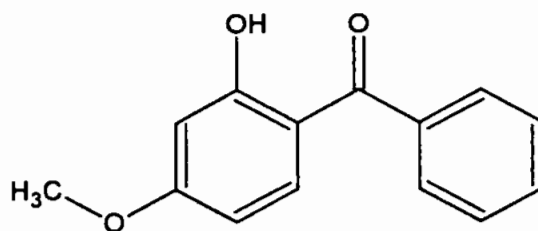
### 2.8.1 Benzofenona-3

Nome químico: 2-hidroxi-4 metoxi-benzofenona.

Sinonímia: 2 benzoil-5-metoxifenol, Oxibenzona

Nome comercial: Escalol<sup>®</sup> 567, Eusolex 4360 (BANDÃO, 1996), (KREEPS e GOLBENBERG, 1990).

Fórmula estrutural:



Peso Molecular (PM): 228

Fórmula Molecular (FM): C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>

A benzofenona- 3 é uma benzofenona substituída usada em formulações cosméticas como filtro solar (absorve luz ultravioleta) com faixa de absorção entre 288-329 nm, apresentando pico de absorção máxima no comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 287 nm (UNITED STATES, 2002b). Usada em formulações protetoras de aplicação tópica em concentração no máximo 6% (CANADA, 2003) (MARTINDALE ,1993) e 10% de acordo com a COLIPA (JANOUSEK, 1990), (KLEIN, 1998). É normalmente usada em combinação com outros filtros químicos(OKEREKE, et al., 1994), exceto com os derivados do ácido p-aminobenzoico (KLEIN, 2001).

Propriedades físicas: pó cor creme, ponto de fusão 62,0 – 66,0 °C.

Solubilidade: solúvel em álcool etílico e isopropílico, acetona, miristato de isopropila e em acetato de octila, insolúvel em água , glicerina, propilenoglicol e óleo mineral

Estabilidade: não é afetada pela presença de luz em temperatura ambiente. Estável em solução de álcool etílico (CAMBON, et al., 2001).

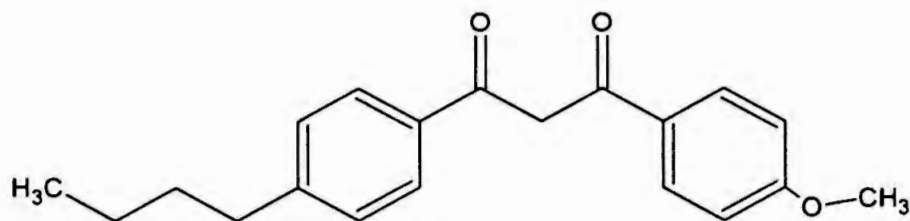
### 2.8.2 Butilmetoxidibenzoilmetano.

Nome químico 4-tercio-butil-4'-metoxi- dibenzoilmetano

Sinonímia: Avobenzona

Nome comercial Eusolex<sup>®</sup> 9020, Parsol<sup>®</sup> 1789 (BANDÃO, 1996), (KREEPS e GOLBENBERG, 1990).

Fórmula estrutural:



PM: 310

FM:  $C_{20}H_{22}O_3$

O butilmetoxidibenzoilmetano é um cinamato substituído usado em formulações cosméticas como filtro solar apresentando pico de absorção máxima no comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 355 nm (ANDRAE et al., 1998), (UNITED STATES, 2002b). Usado em formulações protetoras de aplicação tópica em concentração máxima de 5% (CANADA, 2003), (JANOUSEK, 1990), (KLEIN, 1998), (MARTINDALE, 1993).

Propriedades físicas: pó fino cristalino amarelo claro, ligeiro odor aromático, ponto de fusão 81,0-89,0 °C.

Solubilidade: Solúvel em álcool etílico e isopropílico, miristato de isopropilo, óleo mineral e óleo de oliva, insolúvel em água, glicerina e propilenoglicol (ICH, 1995).

Estabilidade: não é afetada pela presença de luz em temperatura ambiente. Estável em solução em álcool etílico (BILOTI, et al., 1999), (CANTRELL e McGARVEY, 2001), (DEFLANDRE, et al., 1997).

### 2.8.3 Metoxicinamato de octila

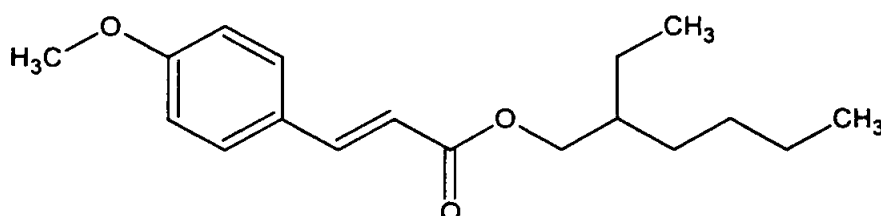
Nome químico: p-Metoxicinamato de octila

Descrição: Éster do álcool 2-etilhexila e ácido metoxicinâmico.

Sinonímia: Acido 2-propanóico do éster 3-(4-metoxifenilo)-2-etil-hexila e Esterato de octil linoleoil, p-Metoxicinamato de 2-etil-hexila

Nome comercial: Parsol<sup>®</sup> MCX, Escalol<sup>®</sup> 557, Uvinul MC 80 (BANDÃO, 1996), (KREEPS e GONDENBERG, 1990).

Fórmula estrutural :



PM: 290

FM: C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub>

O metoxicinamato de octila é um cinamato substituído usado em formulações cosméticas como filtro solar. Apresenta pico de absorção máxima no comprimento de onda ( $\lambda$ ) de 310 nm.

Absorve efetivamente a radiação UVB mas absorve pouco ou nenhuma radiação UVA. Usado em formulações protetoras de aplicação tópica em concentração de no máximo 7,5% (KLEIN, 1998); 8,5% (CANADA, 2003); 10% (UNITED STATES, 2002c), (JANOUSEK, 1990)

(MARTINDALE, 1993). Sua combinação com a benzofenona pode dar um aumento no efeito fotoprotetor (KLEIN, 2001), (MARTINDALE, 1993).

Propriedades físicas: líquido amarelo claro, praticamente inodoro, com densidade específica a 25 °C em torno de 1,005-1,015, índice de refração a 25 °C 1,5390-1,5450 (UNITED STATES, 2002b). Testes químicos: valor de acidez máximo de 2,0 valor de saponificação 200-230 (BROADBENT, et al., 1996)

Solubilidade: Solúvel em álcool etílico e isopropílico, miristato de isopropila, óleo mineral e óleo de oliva, insolúvel em água, glicerina e propilenoglicol.

A estabilidade do metoxicinamato de octila é afetada por presença de luz à temperatura ambiente pela isomerização *cis-trans*. Devido a isso o metoxicinamato de octila requer condições de armazenagem adequadas: área seca a 21 °C (70 °F) recipiente metálico revestido ou de fibra para evitar contato direto com metais e manter fechado em área fria e sem iluminação (ICH, 1995).

#### 2.8.4 Salicilato de octila

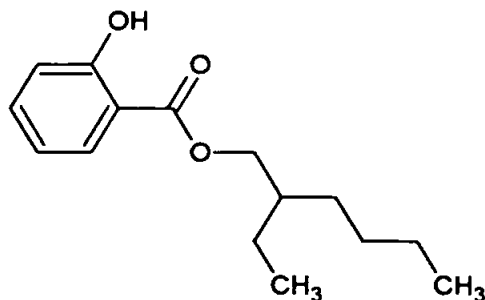
Nome químico: Éster 2-etilhexila

Descrição: Éster de álcool 2-etilhexila e ácido salicílico

Sinonímia: Salicilato de 2-etil-hexila, Salicilato etilhexila

Nome comercial: Escalol® 587 (BANDÃO, 1996), (KREEPS e GOLDENBERG, 1990).

Fórmula estrutural:



PM: 250

FM: C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>

O salicilato de octila é um salicilato substituído usado em formulações cosméticas como filtro solar. Apresenta pico de absorção máxima num comprimento de onda ( $\lambda$ ) máx 308 nm (faixa de 307–310 nm em álcool metílico ou óleo mineral). Absorve efetivamente a radiação UVB mas absorve pouca ou nenhuma radiação UVA. Usado em formulações protetoras de aplicação tópica em concentração de no máximo 10% <sup>63</sup>; 6% (CANADA, 2003) e 5% de acordo com a COLIPA, (JANOUSEK, 1990). Sua combinação com a benzofenona pode dar um aumento no efeito fotoprotetor (KLEIN, 2001), (MARTINDALE, 1993).

Solubilidade: solúvel em álcool etílico e isopropílico, miristato de isopropila, insolúvel em água, glicerina e propilenoglicol e óleo mineral.

Propriedades físicas: líquido incolor para amarelo; odor levemente aromático: densidade específica a 25 °C 1,013-1,022, índice de refração a 25 °C 1,494-1,505. As condições de armazenagem devem ser área seca a 21 °C (70 °F) e evitar contato com metais.

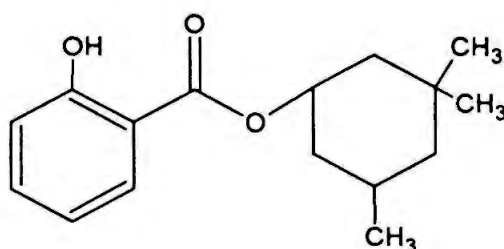
### 2.8.5 Homossalato

Nome químico: Salicilato de 3,3,5 trimetil-ciclohexanol,

Sinonímia: Homomethyl-Salicylate, Salicylate homometila

Nome comercial: Eusolex HMS<sup>®</sup> . Homosalato<sup>®</sup> (BANDÃO, 1996),  
(KREEPS e GOLBENBERG, 1990)

Fórmula estrutural:



PM: 214

FM: C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>

O homossalato é um salicilato substituído usado em formulações cosméticas como filtro solar, apresenta pico de absorção máxima no comprimento de onda ( $\lambda$ ) 306 nm (KLEIN, 1998). Absorve efetivamente as radiações UVB mas absorve pouca ou nenhuma radiação UVA. Usado em formulações protetoras de aplicação tópica em concentração de no máximo 10% (JANOUSEK, 1990) e 15% (CANADA, 2003).

Propriedades físicas: líquido oleoso claro; odor a salicilato: densidade 25 °C 1,048-1,052, índice de refração a 25 °C 1,516-1,519. Deve ser armazenado em frasco fechado.

## 2.9 MÉTODOS DE ANÁLISE DE IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS FILTROS SOLARES ESTUDADOS

Os métodos de identificação para filtros solares podem ser:

a) Químicos:

Baseados no estudo de grupos químicos como: análise de álcool, conteúdo de éster aldeído, cetonas, índice de acidez, saponificação (SHAATH, 1990), (SIBBALD, 1996).

b) Espectroscópicos:

Ultravioleta (UV); infravermelho (IV) espectrômetro de massas (MS); espectro de ressonância magnética nuclear (NRM). (HASWELL, 1992)

c) Análise térmica:

Termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) (GIOLITO e IONASHIRO, 1988), (IONASHIRO e GIOLITO, 1980).

d) Cromatográfica:

Cromatografia de gas (CG), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia em camada delgada (TLC) e combinações, por exemplo CG/MS.

Os principais métodos de quantificação dos cinco filtros solares estudados estão apresentados no quadro 6

Quadro 6. Métodos de análise quantitativa de filtros solares em associação.

Filtros solares	Coluna e condições	Fase móvel	Refência
B3, BM, SO, H.	Coluna C18; 0,5mL/min 280-313 nm, gradiente	A ácido acético :água (15:85 v/v ) B metanol:água (85:15v/v)	CHISVERT et al., 2003
BM, MCO	Lichrosob <sup>®</sup> RP18; 288 nm; 2,5 mL/min, isocrático	Método I: acetonitrila:água: ácido acético(85:15:0,01v/v) Método II: metanol:água (85:15 v/v)	GLAGIARDI 1987
B-3, BM, MCO	Ultrasphere <sup>®</sup> C8, 5µm;1,0mL/ min; 325 nm	Metanol (100%) e etanol: água: ácido acético: (80:20:0:1% v/v)	MEIJER, et al., 1995
BM, MCO.	Capcell Pak <sup>®</sup> C18 SG 5 µm; 1,0 mL/min; 280 nm	Metanol:água (85:15v/v) 3 mM cloreto de amônio trimetil estearila.	OHBA, et.al, 1991
B-3, BM, MCO	Hypérsil BDS <sup>®</sup> phenyl 5µm; 0,4 ml /min; 320 nm ; isocrático	Metanol: acetonitrila:THF- água e ácido acético (45:10:10:35,v/v) 0,5%	SCALIA, 2000
B-3, BM	Nucleosil <sup>®</sup> 100-5 C8HD 1ml/min;320nm; gradiente	Metanol: 1% ácido acético em água 80-100 % 10 min	THOMSON 2000

Filtros	Coluna e condições	Fase móvel	Referência
B-3, BM, MCO, OS	ODS <sup>®</sup> C18 ; 1ml /min; 315 nm, isocrático	metanol:água (88:12 v/v)	JIANG,1996
B-3, MCO,	ODS -2 <sup>®</sup> C18,5µm;300nm 90 µml /min ; isocrático	acetonitrila:água:(90:10 v/v)	VIAL, et al., 1999
B-3, MCO.	YWG <sup>®</sup> C18 10µm ; 254 e 310 nm; isocrático	metanol:THF:água (30:100:100 v/v)	LI, 2000
B-3, MCO, SO.	288nm;1ml /min	metanol:água (83:17 v/v), 0,1 % ácido acético:água	TREFFEL, et al., 1996
B-3, BM, MCO	TSKgel ODS- 80 <sup>®</sup> TM; 1mL /min; 325nm; método isocrático	metanol:THF:água (4:6:6 v/v)	IKEDA, et al., 1989
MCO H	Lichrosob <sup>®</sup> RP18;311 nm; 2,5 mL/min, gradiente	Método II: acetonitrila:água (5:95 v/v) 0,001% HClO <sub>4</sub>	GLAGIARDI , 1989
B-3, MCO, SO	YMG <sup>®</sup> C15 10µm; Isocrático	metanol:THF:água (200:200:160:0,1 v/v)% HClO <sub>4</sub>	YAO,1998
B-3, MCO	Novapack <sup>®</sup> C18; 311 nm; método isocrático Novapack <sup>®</sup> C18; 291nm; isocrático	Método B-3: metanol:água (88:12 v/v) 0,01% ácido acético Método MCO: metanol: água (69:31 v/v) 0,01%	POTARD, 1999

Filtros solares	Coluna e condições	Fase móvel	Referência
B-3	Partisil <sup>®</sup> ODS-2 ; 10µm ; 0,7mL/min; 254 nm	metanol:acetonitrila (90:10 v/v)	TAN, 1984
B-3, BM, MCO SO	Betabasic <sup>®</sup> 18 5 µm ; 1 ml /min; 325 nm	metanol:THF: água (25:37,5:37,5 v/v) 0,01M HTB	WASTERN, 1997
B-3, MCO SO	µBondapack <sup>®</sup> C18; 5-15µl 313 nm; isocrático	THF: ácido acético:água (50:0,09:49,9 v/v)	DINUNZIO et al, 1990
B-3, BM, MCO	µBondapack <sup>®</sup> C18; 254nm; 2,0 mL/min; isocrático	acetonitrila: água (90:10 v/v)	DAVIS, 1995
B-3, BM, MCO SO	PLRP-S <sup>®</sup> 100Å 5µm 240 –400nm; isocrático	buffer: acetonitrila:THF (80:10:10 v/v)	RASTOGI, 1998

Legendas: (B-3) benzofenona-3; (BM) butilmetoxidibenzoilmetano; (MCO) metoxicinamato de octila; (SO) salicilato de octila; (H) homossalato; (THF) tetrahidrofurano; (HClO<sub>4</sub>) ácido perclórico; (CAD) cloreto de amônio dimetil-cintraceno e (HTB) hexadecil trimetilamônio bórico.

### III OBJETIVOS

1. Estudar o comportamento térmico dos filtros solares em estudo inicial mediante técnicas de Análise Térmica.

2. Seleção de métodos analíticos específicos, usando CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência) para a identificação e determinação simultânea da benzofenona-3, butilmetoxidibenzoilmetano, metoxicinamato de octila, salicilato de octila e homossalato em uma loção O/A.

3.....Padronização e validação do método analítico de determinação de uma emulsão cosmética baseado na CLAE.

## IV- MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1- MATERIAL

Todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau de pureza analítico

#### 4.1.1 Solventes e reagentes

Água destilada;

Água Milli Q<sup>®</sup>;

Acetonitrila(Merck<sup>®</sup>);

Etanol (Merck<sup>®</sup>);

Metanol (Merck<sup>®</sup>);

Tetraidrofunano (Merck<sup>®</sup>).

#### 4.1.2 Padrões

Os filtros solares utilizados como padrões foram constituídos por matéria prima gentilmente cedida pela Avon Industrial LTDA e utilizada sem ulterior purificação.

Benzofenona-3: Escalol<sup>®</sup> 567 (ISP Van Dik<sup>®</sup>);

Butil metoxidibenzoil metano: Parsol<sup>®</sup> 1789 (Givaudan<sup>®</sup>);

Metoxicinamato de octila: Escalol<sup>®</sup> 557 (ISP Van Dik<sup>®</sup>);

Salicilato de octila: Escalol<sup>®</sup> 587 (ISP Van Dik<sup>®</sup>);

Homossalato: Homossalato<sup>®</sup> ( Merck<sup>®</sup>).

### 4.1.3. Amostras

#### 4.1.3.1 Branco

Componentes da Loção base:

Água desmineralizada, salicilato de 2-butiloctila, copolímero eicoseno/vinilpirrolidona, dióxido de titânio micro, silicone (dimeticone), ácido isoesteárico, ácido esteárico, diisoestearato de triglicérida, diesterato de triglicérida, 1,3 butanodiol, álcool estearílico, álcool benzílico, álcool de lanolina polietoxilado (24M), 2 fenoxietanol, álcool berrenílico, p-hidroxibenzoato de metila (metilparabeno), ácido etilenodiaminotetracético (EDTA dissódico), éter hexadecil 2-hidroxiético, hidróxido de sódio, perfume, acetato de tocoferila (vitamina E), nitrito de sódio, aloe vera em pó, sílica, sulfato de bário.

#### 4.1.3.2 Fórmula teste

Componentes	% p/p
Loção base.....	70,5
Benzofenona-3 .....	6,0
Butilmethoxidibenzoilmetano .....	3,0
Metoxicinamato de octila .....	7,5
Salicilato de octila .....	5,0
Homossalato.....	8,0
	total 100,0g

#### 4.1.4. Equipamento

- Cromatógrafo líquido Waters® 515 HPLC Pumps - 3 Bombas), 110 VA (máx), 55 VA (tipical)
- Detetor UV Waters® 486 *Turnable Absorbance Detector* r faixa de comprimento de onda 190 –600 nm, lâmpada de deutério ;
- Injetor manual Rheodyne® modelo 7725I-037 com load de 20µL;
- Coluna Nova-Pak® C18 60 Å 4µm, 3,9 x 150 mm Waters;
- Coluna Nova-Pak® phenyl C18 60 Å 4µm, 3,9 x 150 mm Waters®;
- Coluna Symmetry® C18 3,5 µm, 4,6 x 75 mm, Waters®;
- Termobalança Shimadzu® TGA 51, com cadinho de platina.
- Célula DSC Shimadzu® DSC 50, com cadinho de alumínio.
- Balança de precisão eletrônica BG® capacidade de 2.000 g
- Balança analítica marca Santorius, capacidade 100 g±0,0001, 10,0 Watts
- Medidor de pH Digimed®, modelo TE-901;
- Banho de ultrassom, Thorton®, modelo T-14;
- Aparelho Milli Q-Plus®, Millipore® para obtenção de água;
- Membrana de filtração de solução Millipore® GVW 04700, de 0,5µm
- Unidades de filtros HV Millex® 0,45µm.

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Identificação por espectro de absorção dos filtros solares no ultravioleta

#### 4.2.1.1 Padrão de benzofenona-3 (B-3)

- Foram pesados 60 mg de padrão de benzofenona 3 em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com etanol 96% p.a., obtendo-se uma solução final de 1200  $\mu\text{g}$  de B-3/mL.
- Uma alíquota de 5 mL foi transferida da solução para balão volumétrico de 50 mL e completado o volume com etanol 96% P.A., obtendo-se uma concentração final de 120  $\mu\text{g}$  de B-3/mL.
- A leitura dessa solução foi feita contra o branco (etanol) na faixa de 200-400 nm, com velocidade de varredura de 300 nm/min.

#### 4.2.1.2 Padrão de butilmetoxidibenzoilmetano (BM)

- Foram pesados 30 mg de padrão de butil metoxidibenzoilmetano em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com etanol 96% p.a., obtendo-se uma solução final de 600  $\mu\text{g}$  de BM/mL.
- Uma alíquota de 5 mL foi transferida da solução para balão volumétrico de 50 mL e completado o volume com etanol 96% P.A., obtendo-se uma concentração final de 60  $\mu\text{g}$  de BM/mL.
- A leitura dessa solução foi feita contra o branco (etanol) na faixa de 200-400 nm, com velocidade de varredura de 300 nm/min.

#### 4.2.1.3. Padrão de metoxicinamato de octila (MCO)

- Foram pesados 75 mg de padrão de metoxicinamato de octila em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com etanol 96% p.a., obtendo-se uma solução final de 1500  $\mu\text{g}$  de MCO/mL.
- Uma alíquota de 5 mL foi transferida da solução para balão volumétrico de 50 mL e completado o volume com etanol 96% P.A., obtendo-se uma concentração final de 150  $\mu\text{g}$  de MCO/mL.
- A leitura dessa solução foi feita contra o branco (etanol) na faixa de 200–400 nm, com velocidade de varredura de 300 nm/min.

#### 4.2.1.4. Padrão de salicilato de octila (SO)

- Foram pesados 50 mg de padrão de salicilato de octila em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completado o volume com etanol 96% p.a., obtendo-se uma concentração final de 1000  $\mu\text{g}$  de SO/mL.
- Uma alíquota de 5 mL foi transferida da solução para balão volumétrico de 50 mL e e completado o volume com etanol 96% P.A., obtendo-se uma concentração final de 100  $\mu\text{g}$  de SO/mL.
- A leitura dessa solução foi feita contra o branco (etanol) na faixa de 200–400 nm, com velocidade de varredura de 300 nm/min.

#### 4.2.1.5. Padrão de homossalato (H)

- Foram pesados 80 mg de padrão de homossalato em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com etanol 96% p.a., obtendo-se uma solução final de 1600  $\mu\text{g}$  de H/mL.

- Uma alíquota de 5 mL foi transferida da solução para balão volumétrico de 50 mL e completado o volume com etanol 96% P.A., obtendo-se uma concentração final de 160 µg de H/mL.
- A leitura dessa solução foi feita contra o branco (etanol) na faixa de 200–400 nm, com velocidade de varredura de 300 nm/min.

#### **4.2.2. Análise térmica**

##### **4.2.2.1. Obtenção das Curvas Termogravimétricas**

As curvas termogravimétricas foram obtidas, para cada filtro em estudo, em atmosfera dinâmica de ar (vazão 50 mL/min), razão de aquecimento de 10 °C/min. (temperatura ambiente a 900 °C), massa aproximada de 10 mg, usando-se cadinho de platina. Nas mesmas condições foram obtidas as curvas branco, para as devidas correções.

Foram obtidas curvas termogravimétricas para as misturas binárias de benzofenona 3 associada a metilbenzilideno cânfora (50:50) e butil metoxidobenzoilmetano associado a metoxicinamato de octila (30:70), em atmosfera de ar, nas condições anteriormente citadas (GIOLITO, 1988), (IONASHIRO, 1980).

##### **4.2.2.2 Obtenção das curvas por DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial)**

As curvas DSC foram obtidas, para cada filtro em estudo, em atmosfera dinâmica de N<sub>2</sub> (vazão 50 mL/min.), razão de aquecimento de 10 °C/min. (temperatura ambiente a 600 °C), massa aproximada de 10 mg, usando-se cadinho de alumínio. Nas mesmas condições foram obtidas as curvas branco, para as devidas correções (GIOLITO e IONASHIRO, 1988), (IONASHIRO e GIOLITO, 1980)..

### 4.2.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

CLAE é um método de análise que separa os filtros solares, com base em suas afinidades aos solventes, podendo-se posteriormente quantificá-los.

Os filtros solares em estudo apresentam picos máximos muito próximos, devido a suas estruturas químicas e propriedades físicas similares.

#### 4.2.3.1 Estudos preliminares

Os estudos preliminares têm como objetivo encontrar a melhor separação dos filtros e a melhor fase móvel, utilizando-se o método isocrático ou o gradiente. A metodologia dos estudos preliminares está baseada na exploração de várias proporções de solventes que compõem a fase móvel, até encontrar a mistura que proporcione a melhor separação dos filtros solares (DYKES, et al., 2002), assim como diferentes colunas em cromatografia líquida em fase reversa. (RANATUNGA e CARR, 2000) Tabela 1

Tabela 1. Estudos preliminares para obtenção da melhor fase móvel, concentração da amostra comercial 2 mg/mL.

Experimento	Coluna; Método ; Temperatura	Fase móvel	
		A	B
1 Figura 38	Novapack <sup>®</sup> ; Isocrático; 40 °C	metanol e água (10:90)	metanol e água (90:10)
2 Figura 39	Novapack <sup>®</sup> ; Gradiente; 40 °C	metanol e água (10:90)	metanol e água (90:10)
3	Novapack <sup>®</sup> ; Isocrático; 28 °C	metanol e água (10:90)	metanol e água (90:10)
4	Novapack <sup>®</sup> ; Gradiente; 28 °C	metanol e água (10:90)	metanol e água (90:10)
5 Figura 40	Novapack <sup>®</sup> Gradiente; 28 °C	metanol e água (10:90)	metanol e água (90:10)
6	Novapack <sup>®</sup> Isocrático; 28 °C	THF e água (10:90)	THF e água (90:10)
7 Figura 41	Novapack <sup>®</sup> ; Gradiente; 28 °C	THF e água (10:90)	THF e água (90:10)
8	Novapack <sup>®</sup> ; Isocrático; 28 °C.	THF e água (10:90)	THF e água (90:10)
9	Novapack <sup>®</sup> ; Gradiente; 40 °C	THF e água ( 25: 75 )	metanol e água ( 70:30 )
10 Figura 42	Novapack <sup>®</sup> ; Isocrático / 40 °C	acetonitrila e água (10:90)	acetonitrila e água (90:10)
11	Novapack <sup>®</sup> ; Gradiente 40 °C	acetonitrila e água (10:90)	acetonitrila e água (90:10)
12	Novapack <sup>®</sup> ; Isocrático 40 °C	( MATA ) ( 44: 7: 10: 39 )	( MATA ) ( 44: 7: 10: 39 )
13	Phenyl <sup>®</sup> 60 Å μm ; Isocrático; 40 °C	( MATA ) ( 44: 7: 10: 39 )	( MATA ) ( 44: 7: 10: 39 )

Tabela 1- Continuação

Experimento	Coluna; Método ; Temperatura	Fase móvel	
		A	B
14	Symmetry® C18; Isocrático; 40 °C	THF e água (10:90)	THF e água (90:10)
15	Symmetry® C18; Gradiente; 40 °C	THF e água (10:90)	THF e água (90:10)
16	Symmetry® C18; Novapack® C-18; Isocrático; 40 °C	metanol e água (10:90)	metanol e água (90:10)
17	Symmetry® C18 e Novapack® C-18; Gradiente; 40 °C	metanol e água (10:90)	metanol e água (90:10)
18	Symmetry® C18 Novapack® C18; Isocrático; 40 °C	acetonitrila e água (10:90)	acetonitrila e água (90:10)
19	Symmetry® C18 e Novapack® C18; Gradiente; 40 °C	acetonitrila e água (10:90)	acetonitrila e água (90:10)
20	Symmetry® C18 e Novapack® C18; Gradiente; 40 °C	acetonitrila e água (10:90)	acetonitrila e água (90:10)
21	Symmetry® C18 e Novapack® C-18; Gradiente; 40 °C	acetonitrila e água (10:90)	acetonitrila e água (90:10)

Legenda: (THF) tetrahydrofurano; (HClO<sub>4</sub>) ácido perclórico; (MATA) metanol, acetonitrila, tetrahydrofurano e água.

#### 4.2.4 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALITICA

##### 4.2.4.1 Preparação da amostra

Foram pesados exatamente 100 mg da amostra comercial equivalente a 6,0 mg de benzofenona-3 (B-3); 3,0 mg butilmetoxidibenzoilmetano (BM); 7,5 mg de metoxicinamato de octila (MCO); 5,0 mg de salicilato de octila (SO) e 8,0 mg de homossalato (H) e transferidos para um balão volumétrico âmbar de 50 mL, dissolvendo-se com 30,0 mL de fase móvel, agitando-se em ultrassom e completando-se o volume, obtendo-se concentrações finais de 120 µg/mL de B-3; 60 µg/mL de BM; 150 µg/mL de MCO; 100 µg/mL de SO e 160 µg/mL de H.

##### 4.2.4.2 Curva de calibração

O procedimento foi realizado com cinco preparações de solução padrão com concentrações crescentes (BOLTON, 1990), (BRITTAIN1998), (ICH, 1995), (SWARTZ e RUDOLK, 1998), (UNITED STATES 1999), (WEED, 2000), (WERNIMONT, 1987) (Tabela 2)

###### 1. Benzofenona 3 ( B-3 )

a) Foram pesados exatamente 240 mg de padrão de B-3 em um balão volumétrico de 200 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com uma mistura de acetonitrila água (90:10) ou fase móvel, obtendo-se uma solução padrão de 1.200 µg/mL.

b) As alíquotas de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0 mL da solução padrão de concentração 1.200 µg/mL foram transferidas em balões volumétricos de 50 mL e completou-se o volume com a fase móvel, obtendo-se as concentrações finais de 72,0; 96,0; 120,0; 144,0 e 168,0 µg/mL. O procedimento foi realizado em triplicata (Tabela 2)

## 2. Butilmetoxidibenzoilmetano (BM)

a) Foram pesados exatamente 120 mg de padrão de BM em um balão volumétrico de 200 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com uma mistura de acetonitrila água (90:10), obtendo-se uma solução padrão de 600 µg /mL.

b) As alíquotas de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0 mL da solução padrão de concentração 600 µg/mL foram transferidas em balões volumétricos âmbar de 50 mL e completou-se o volume com a fase móvel, obtendo-se as concentrações finais de 36,0; 48,0; 60,0; 72,0 e 84,0 µg /mL. (Tabela 2)

## 3. Metoxicinamato de octila (MCO)

a) Foram pesados exatamente 300 mg de padrão de MCO em um balão volumétrico de 200 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com uma mistura de acetonitrila-água (90:10), obtendo-se uma solução padrão de 1.500 µg/mL.

b) As alíquotas de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0 mL da solução padrão de concentração 1.500 µg/mL foram transferidas em balões volumétricos âmbar de 50 mL e completou-se o volume com a fase móvel, obtendo-se as concentrações finais de 90,0; 120,0; 150,0; 180,0 e 210,0 µg/mL.(Tabela 2)

#### 4. Salicilato de octila (SO)

a) Foram pesados exatamente 200 mg de padrão de SO em um balão volumétrico de 200 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com uma mistura de acetonitrila água (90:10), obtendo-se uma solução padrão de 100 µg/mL.

b) As alíquotas de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0 mL da solução padrão de concentração 100 µg/mL foram transferidas em balões volumétricos âmbar de 50 mL e completou-se o volume com a fase móvel, obtendo-se as concentrações finais de 60,0; 80,0; 100,0; 120,0 e 140,0 µg/mL (Tabela 2)

#### 5. Homossalato (H)

a) Foram pesados exatamente 320 mg de padrão de H em um balão volumétrico de 200 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com uma mistura de acetonitrila água (90:10), obtendo-se uma solução padrão de 1.600 µg/mL.

b) As alíquotas de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0 mL da solução padrão de concentração 1,600 µg/mL completou-se o volume com a fase móvel, obtendo-se as concentrações finais de 96,0; 128,0; 160,0; 192,0 e 224,0 µg/mL. (Tabela 2)

#### 6. Mistura de padrões

Transferiram-se alíquotas de 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0 mL de cada um dos padrões obtidos nos itens 1a, 2a, 3a, 4a e 5a para balões volumétricos de 50 mL e completando-se o volume com a fase móvel. Para o primeiro ponto as concentrações finais foram 72,0 µg de B-3/mL; 90,0 µg de MCO/mL; 36,0 µg de BM/mL; 60,0 µg de SO/mL e 96,0; µg de H/mL. Os outros pontos apresentam concentrações crescentes (Tabela 3). O procedimento foi realizado em triplicata.

As curvas de calibração foram preparadas de acordo com a tabela 2. Cinco concentrações crescentes de cada filtro isoladamente foram analisados em triplicata.

Tabela 2. Procedimento com cinco preparações de solução padrão com concentrações crescentes.

Filtro	Concentração ( $\mu\text{g}/3\text{mL}$ )	Concentração ( $\mu\text{g}/4\text{mL}$ )	Concentração ( $\mu\text{g}/5\text{mL}$ )	Concentração ( $\mu\text{g}/6\text{mL}$ )	Concentração ( $\mu\text{g}/7\text{mL}$ )
B-3	72,0	96,0	120,0	144,0	168,0
BM	36,0	48,0	60,0	72,0	84,0
MCO	90,0	120,0	150,0	180,0	210,0
SO	60,0	80,0	100,0	120,0	140,0
H	96,0	128,0	160,0	192,0	224,0

Legenda: benzofenona-3 (B-3); butilmetoxidibenzoilmetano (BM); metoxicinamato de octila (MCO); salicilato de octila (SO); homossalato (H)

Tabela 3. Procedimento com cinco preparações contendo a mistura dos cinco filtros e analisada em triplicata .

Mistura cinco filtros mL	B 3 concentração ( $\mu\text{g}$ )	BM concentração ( $\mu\text{g}$ )	MCO concentração ( $\mu\text{g}$ )	SO concentração ( $\mu\text{g}$ )	H concentração ( $\mu\text{g}$ )
3	72,0	36,0	90,0	60,0	96,0
4	96,0	48,0	120,0	80,0	128,0
5	120,0	60,0	150,0	100,0	160,0
6	144,0	72,0	180,0	120,0	192,0
7	168,0	84,0	210,0	140,0	224,0

Legenda: benzofenona-3 (B-3); butilmetoxidibenzoilmetano (BM); metoxicinamato de octila (MCO); salicilato de octila (SO); homossalato (H). Média de três leituras.

#### 4.2.4.3 Estudo de interferentes

##### Preparação de soluções padrão para cada filtro solar

###### 1. Padrão de benzofenona 3 (P-B3)

- Foram pesados exatamente 60 mg de padrão de B-3 em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com fase móvel obtendo-se uma solução final de 1.200  $\mu\text{g/mL}$ . (P-B3)
- Uma alíquota de 5 mL da solução foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL, e completando-se o volume com a fase móvel acetonitrila:água (90:10 v/v) e obtendo-se uma solução padrão cuja concentração final é de 120  $\mu\text{g}$  de B-3/mL.

###### 2. Padrão de butilmetoxidibenzoilmetano (P-BM)

- Foram pesados exatamente 30 mg de padrão de BM em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com uma mistura de acetonitrila:água (90:10), obtendo-se uma solução final de 600  $\mu\text{g/mL}$ . (P-BM)
- Uma alíquota de 5 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico de 50 mL, e completando-se o volume com a fase móvel acetonitrila:água (90:10 v/v) e obtendo-se uma solução padrão cuja concentração final é de 60  $\mu\text{g}$  de BM/mL.

### 3. Padrão de metoxicinamato de octila (P-MCO)

- Foram pesados exatamente 75 mg de padrão de MCO em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com fase móvel, obtendo-se uma solução final de 1.500  $\mu\text{g/mL}$  (P-MCO)
- Uma alíquota de 5 mL desta solução foi transferida para balão volumétrico de 50 mL, e completando-se o volume com a fase móvel acetonitrila:água (90:10 v/v) e obtendo-se uma solução padrão cuja concentração final é de 150  $\mu\text{g}$  de MCO/mL.

### 4. Padrão de salicilato de octila (P-SO)

- Foram pesados exatamente 50 mg de padrão de SO em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com fase móvel. obtendo-se uma solução final de 1.000  $\mu\text{g/mL}$ . (P-SO)
- Uma alíquota de 5 mL desta solução foi transferida para balão volumétrico de 50 mL, e completando-se o volume com a fase móvel acetonitrila:água (90:10 v/v) e obtendo-se uma solução padrão cuja concentração final é de 100  $\mu\text{g}$  de SO/mL.

### 5. Padrão de homossalato (P-H)

- Foram pesados exatamente 80 mg de padrão de salicilato de homometila em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com fase móvel, obtendo-se uma solução final de 1.600 µg/mL. ( P-H )
- Uma alíquota de 5 mL desta solução foi transferida para balão volumétrico de 50 mL, e completando-se o volume com a fase móvel acetonitrila:água (90:10 v/v) e obtendo-se uma solução padrão cuja concentração final é de 160 µg de H/mL.

### Preparação da fórmula teste

- Foram pesados exatamente 705 mg de loção base num balão volumétrico de 50 mL e foi transferida uma alíquota de 5,0 mL de cada solução padrão: P-B3; P-BM; P-MCO; P-SO e P-H e completando-se o volume com fase móvel, obtendo-se uma concentração final 120 µg de B-3/mL; 60 µg de BM/mL; 150 µg de MCO/mL; 100 µg de SO/mL e 160 µg de H/mL.

### Preparação de solução branco

- Foram pesados exatamente 705 mg da loção base, transferindo-se para balão volumétrico de 50 mL e completando volume com fase móvel.

#### 4.2.4.4 Determinação Limite de detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram determinados a partir dos dados obtidos da curva de calibração dos filtros solares em estudo (VIAL e JARDY, 1999).

O LD e o LQ foram obtidos partindo dos resultados do Desvio Padrão médio (DPM) e inclinação da curva de calibração (b). O cálculo foi realizado pelas fórmulas seguintes (BRITAIN, 1998), (VIAL e JARDY, 1999).

$$LD = \frac{DP \text{ médio}}{b} \times 3$$

$$LQ = \frac{DP \text{ médio}}{b} \times 10$$

#### 4.2.4.5 Precisão: Coeficiente de variação (CV) ou desvio padrão relativo (s)

##### Aplicação do método à amostra comercial

###### a) Preparação da solução padrão

- Partindo das soluções padrão: benzofenona-3 (B-3) 1.200 µg/mL, butilmetoxidibenzoilmetano (BM) 600 µg/mL, metoxicinamato de octila (MCO) 1.500 µg/mL, salicilato de octila (SO) 80 µg/mL e homossalato (H) 128 µg/mL foi transferida uma alíquota de 5 mL de cada solução padrão, para balão volumétrico, completando-se o volume de 50 mL com fase móvel e obtendo-se uma concentração final dos filtros solares de 120 µg de B-3/mL; 60 µg de BM/mL ; 150 µg de MCO/mL; 100 µg de SO/mL e 160 µg de H/mL. Foram feitas 3 determinações para cada solução padrão.

###### b) Preparação da amostra comercial

- Foram pesados exatamente 100 mg da amostra comercial, cuja concentração teórica final é o equivalente de 6,0 mg de B-3/mL; 3,0 mg de BM/mL; 7,5 mg de MCO/mL; 5,0 mg de SO/mL e 8,0 mg de H/mL, completando-se o volume em balão volumétrico de 50 mL com fase móvel. Foram feitas 10 determinações para cada amostra.

#### 4.2.4.6 Teste de recuperação

##### a) *Preparação da solução padrão*

- Foram pesados exatamente 60 mg de benzofenona-3 (B-3) ; 30 mg de butilmetoxidibenzoilmetano (BM) ;75 mg de metoxicinamato de octila (MCO);50 mg de salicilato de octila (SO) e 80 mg homossalato (H), em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com uma mistura de (90:10) acetonitrila: água ou fase móvel, obtendo-se uma concentração final de 1.200 µg de B-3/mL; 600 µg de BM/mL;1.500 µg de MCO/mL; 1.000 µg de SO/mL e 1.600 µg de H/mL.
- As alíquotas de 2 mL destas soluções foram transferidas para um balão volumétrico de 100 mL e completando-se a volume com fase móvel, obtendo-se uma solução padrão cuja concentração final é de 24 µg de B-3/mL; 30 µg de MCO/mL; 12 µg de BM/mL; 20 µg de SO/mL e 32 µg de H/mL, (correspondem ao 10% de cada padrão)

##### b) *Preparação da solução da amostra comercial 90%*

- Foram pesados 100 mg da amostra comercial equivalente a uma concentração 6,0 mg de B-3; 7,5 mg de MCO; 3,0 mg de BM; 5,0 mg de SO e 8,0 mg de H em um balão volumétrico de 50 mL, dissolvendo-se e completando-se o volume com fase móvel, obtendo-se uma concentração final de 120µg de B-3/mL; 150µg de MCO/mL; 60µg de BM/mL; 100µg de mL e 160µg de H/mL.
- Transferiram-se alíquotas de 4 mL da solução anterior para 5 balões volumétricos, cuja concentração final é de 96 µg de B-3/mL; 120 µg de MCO/mL; 48 µg de BM/mL; 80 µg de SO/mL e 128 µg de H/mL, (90% da amostra comercial de cada filtro solar). Posteriormente adicionou-se 1 mL da solução padrão (10%) do item 6a) obtendo

uma concentração teórica final de 120 µg de B-3/mL; 150 µg e MCO/mL; 60 µg de BM/mL; 100 µg de SO/mL e 160 µg de H/mL, que correspondem ao 100% teórico da amostra comercial.

- Aliquotas das soluções padrão e amostra comercial 90% foram transferidas para balões volumétricos de 50 ml, conforme procedimento descrito no quadro 7 e as concentrações finais das amostras adicionadas com filtros solares apresentam-se no quadro 8.

Quadro 7. Teste de recuperação na amostra comercial para os filtros solares adicionando 1 mL, 2 mL e 3 mL da solução padrão (µg/mL de cada filtro) 4 mL de amostra (90% de concentração teórica) que corresponde ao 100%, 110% e 120% teórico de cada filtro solar em estudo, respectivamente. Os valores foram completados para 50 ml.

Balão	Volume Ac mL	Volume Pd					AcF (%)
		B-3 mL	BM mL	MCO ML	SO mL	H mL	
1	4	-	-	-	-	-	90
2	4	1	1	1	1	1	100
3	4	2	2	2	2	2	110
4	4	3	3	3	3	3	120

Legenda. Ac: solução Amostra comercial em µg/mL; Pd: solução padrão de cada filtro em µg/mL; AcF(%): Porcentagem da amostra comercial final em cada balão; (B-3): benzofenona-3; (BM): butilmetoxidibenzoilmetano; (MCO): metoxicinamato de octila; (SO): salicilato de octila; (H): homossalato.

Quadro 8. Concentrações finais da amostra comercial adicionada com solução padrão em µg/mL dos filtros solares.

Balão	B3 µg/ mL	BM µg/mL	MCO µg /mL	SO µg /mL	H µg /mL	%
1	96	120	48	80	128	90
2	120	150	60	100	160	100
3	144	180	72	120	192	110
4	168	210	84	140	224	120
5	Solução padrão					100

Legenda: Porcentagem da amostra comercial final em cada balão; (B-3):benzofenona-3; (BM): butilmetoxidibenzoilmetano; (MCO):metoxicinamato de octila; (SO): salicilato de octila; (SH): homossalato (H).

O cálculo da porcentagem de recuperação foi obtido partindo dos resultados das concentrações: da amostra comercial 90% (Ac), do padrão adicionado experimentalmente (Pa) e do padrão teórico (Pt) substituídas na fórmula seguinte:

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{(Ac + Pa) - Ac}{Pt} \times 100\%$$

## V- RESULTADOS

### 5.1 IDENTIFICAÇÃO DOS FILTROS SOLARES

#### 5.1.1. Temperatura de fusão e índice de refração dos filtros solares.

Os resultados obtidos na determinação da temperatura de fusão do butilmetoxidibenzoilmetano e da benzofenona 3, filtros solares sólidos, assim como o índice de refração a 25 °C do metoxicinamato de octila, salicilato de octila e homossalato, filtros solares sólidos, encontram-se na tabela 4.

Tabela 4. Temperatura de fusão e do índice de refração dos filtros solares.

Filtro solar	temperatura de fusão °C	Índice de refração a 25 °C
Benzofenona 3	62,3* (62,0–66,0)	-
Butilmetoxidibenzoilmetano	83,7 * (81,0–89,0)	-
Metoxicinamato de octila	-	1,546 (1,542–1,548)
Salicilato de octila	-	1,018 (1,01–1,022)
Homossalato	-	1,048 (1,494–1,505)

\* valores obtidos por análise térmica.

### 5.1.2 Espectro de absorção dos filtros solares isolados no ultravioleta e em mistura no produto em estudo.

Os espectros de absorção no UV dos filtros em solução etanólica 96% P.A. apresentam-se nas Figuras 20 até 24.

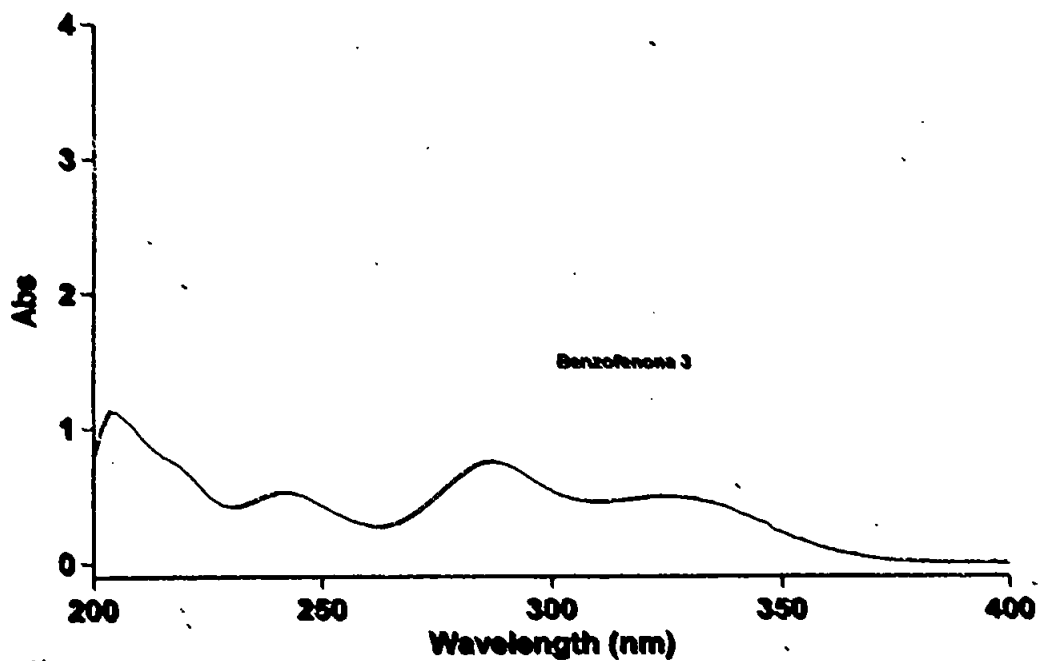


Figura 20. Espectro de absorção no UV: benzofenona 3 em etanol 96 %, concentração de 120 µg/mL;  $\lambda_{\text{máx}}$  287 nm.

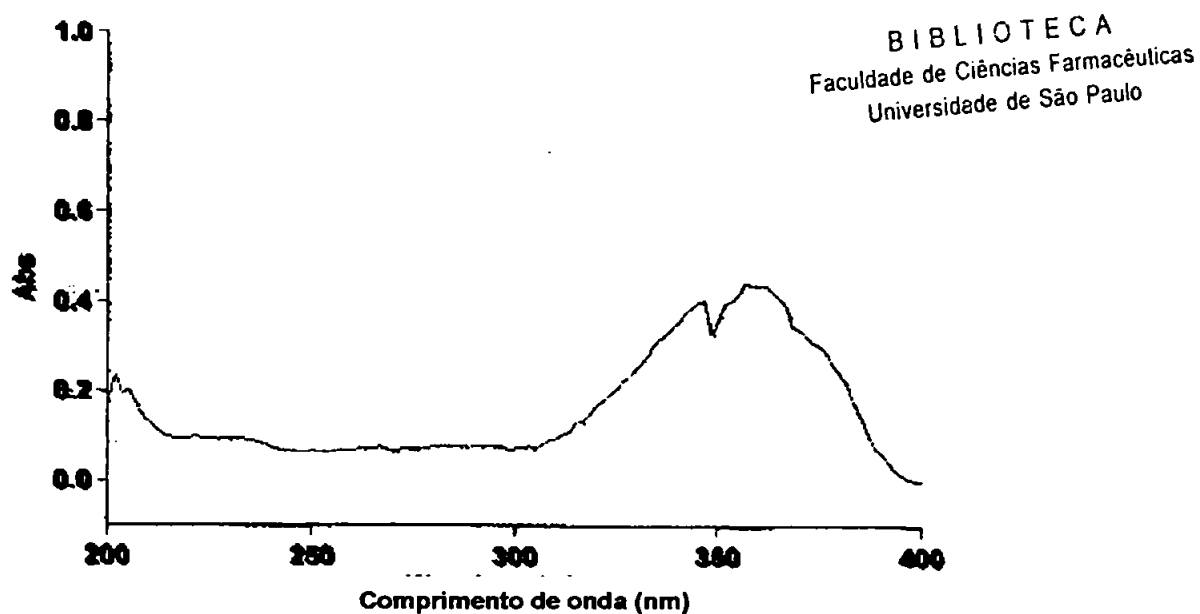


Figura 21. Espectro de absorção no UV: butilmetoxidibenzoilmetano em etanol 96%, concentração de 60  $\mu\text{g/mL}$ ;  $\lambda_{\text{máx}}$  355 nm.

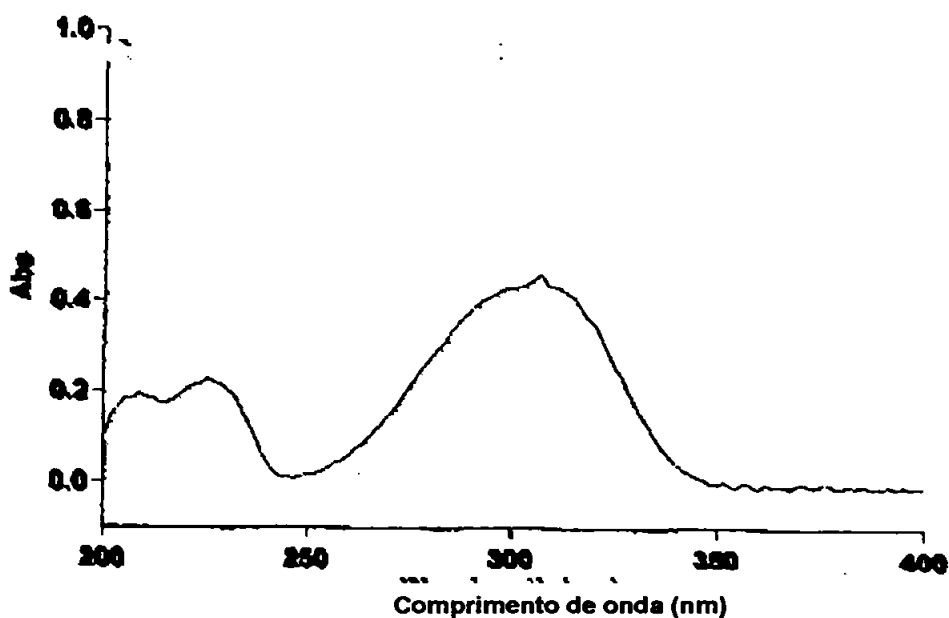


Figura 22. Espectro de absorção no UV: metoxicinamato de octila em etanol 96%, concentração de 150  $\mu\text{g/mL}$ ;  $\lambda_{\text{máx}}$  310 nm.

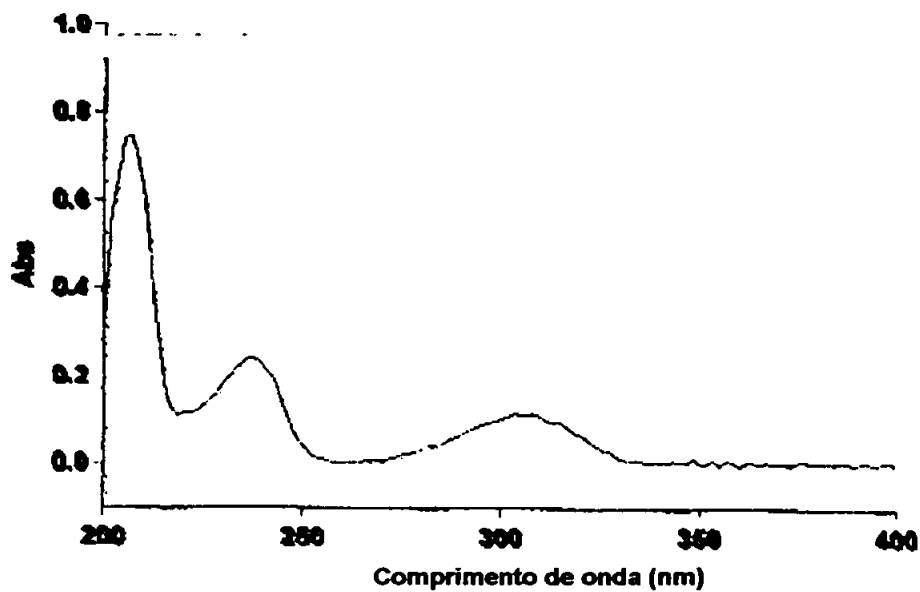


Figura 23. Espectro de absorção no UV: salicilato de octila em etanol 96%, concentração de 100 µg/mL;  $\lambda_{\text{máx}}$  308 nm.

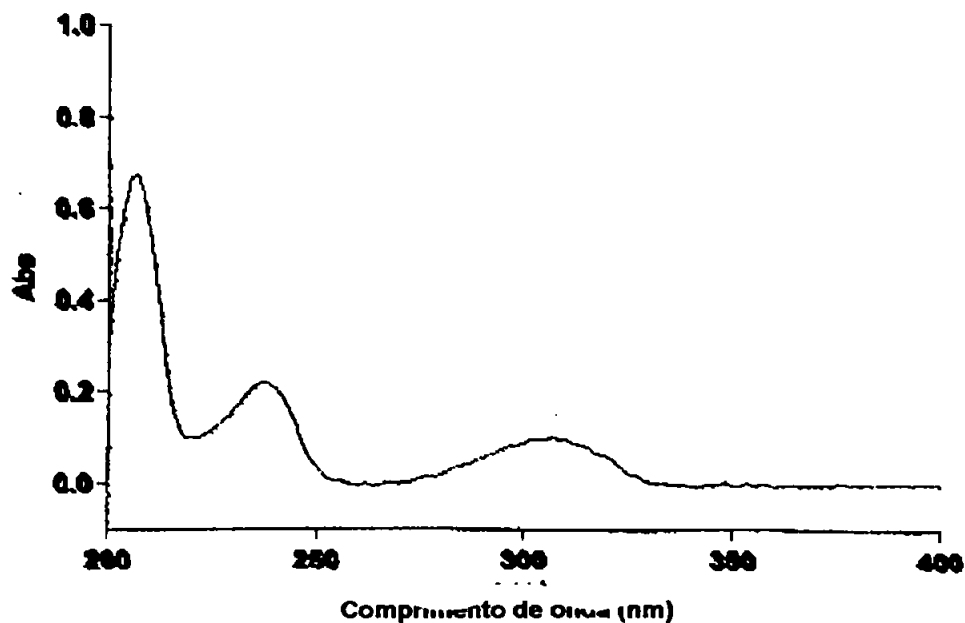


Figura 24. Espectro de absorção no UV: homossalato em etanol 96%, concentração de 160 µg/mL;  $\lambda_{\text{máx}}$  306 nm.

## 5.2 ANÁLISE TÉRMICA

### 5.2.1 Obtenção das Curvas Termogravimétricas

As curvas termogravimétricas obtidas para cada filtro em estudo em atmosfera dinâmica ar, vazão de 50 mL/min, aproximadamente 10 mg de amostra, razão de aquecimento de 10 °C/min, cadinho de platina (GIOLITO e IONASHIRO, 1988), estão apresentadas nas Figuras 25,26,27,28,29 e 30.

### 5.2.2. Obtenção das Curvas DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial)

A representação gráfica das curvas em célula DSC obtidas para benzofenona 3 e butilmetoxidibenzoilmetano, está apresentada nas Figuras 25 e 26, estão obtidas nas seguintes condições, em atmosfera dinâmica de N<sub>2</sub>, vazão de 50 mL/min, aproximadamente 10 mg de amostra, razão de aquecimento de 10 °C/min, cadinho de alumínio. Também foram obtidas as curvas branco, para as devidas correções (IONASHIRO e GIOLITO, 1980).

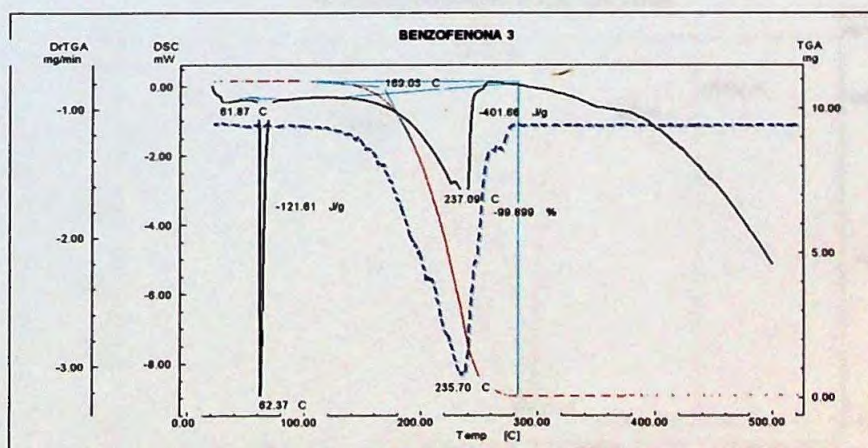


Figura 25. Curva TG/DTG e curva DSC da benzofenona-3: atmosfera dinâmica de ar, vazão de 50 mL/min, 10 mg de peso aproximado de amostra, razão de aquecimento de 10 °C/min, cadinho de platina.

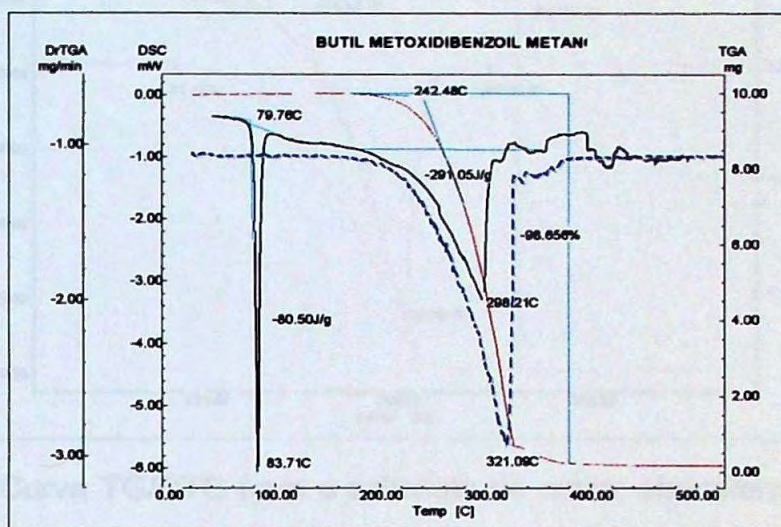


Figura 26. Curva TG/DTG e Curva DSC do butilmetoxidibenzoilmetano: atmosfera dinâmica de ar, vazão de 50 mL/min, 10 mg de peso aproximado de amostra, razão de aquecimento de 10 °C/min, cadinho de platina.

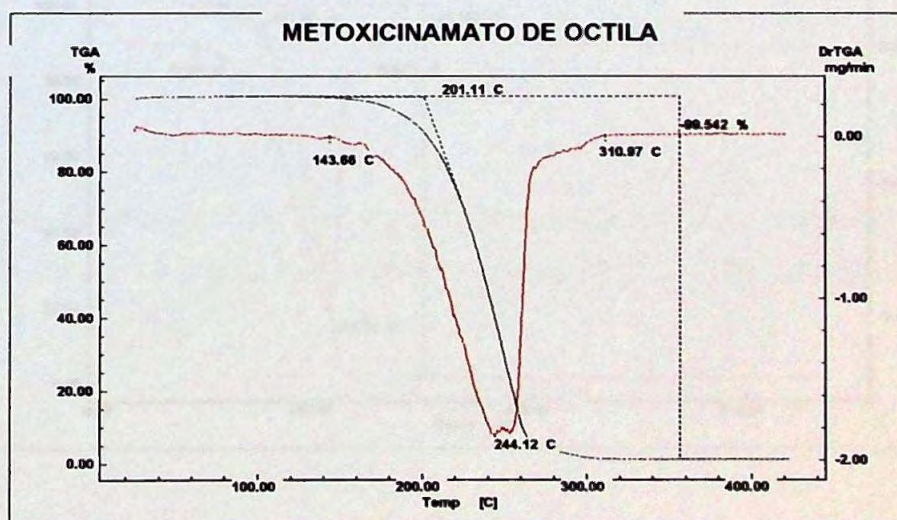


Figura 27. Curva TG/DTG para metoxicinamato de octila: atmosfera dinâmica de ar, vazão de 50 mL/min, 10 mg de peso aproximado de amostra, razão de aquecimento de 10 °C/min, cadinho de platina.

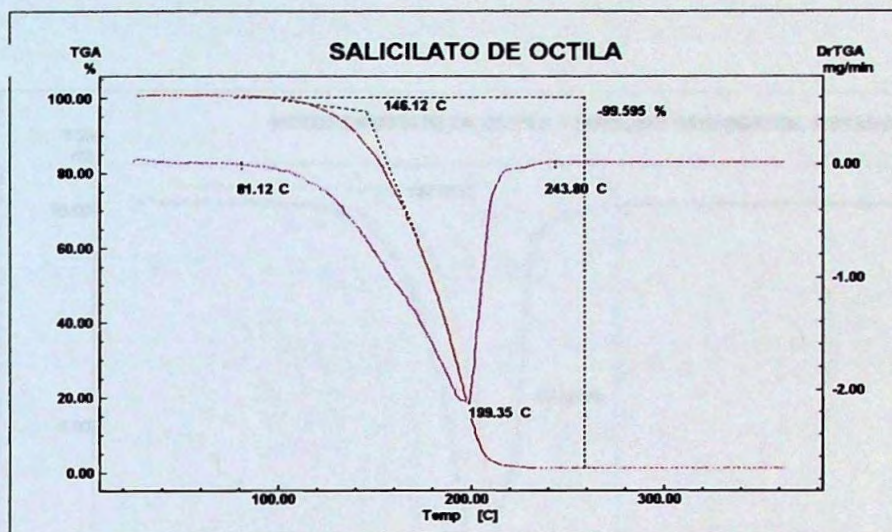


Figura 28. Curva TG/DTG para o salicilato de octila: atmosfera dinâmica de ar, vazão de 50 mL/min, 10 mg de peso aproximado de amostra, razão de aquecimento de 10 °C/min, cadinho de platina.

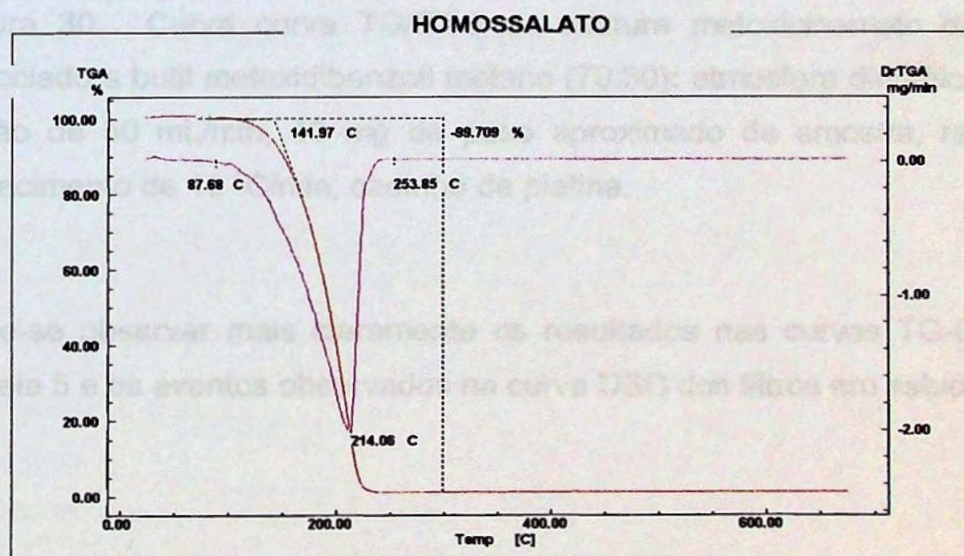


Figura 29. Curva TG/DTG para homossalato: atmosfera dinâmica de ar, vazão de 50 mL/min, 10 mg de peso aproximado de amostra, razão de aquecimento de 10 °C/min, cadinho de platina.

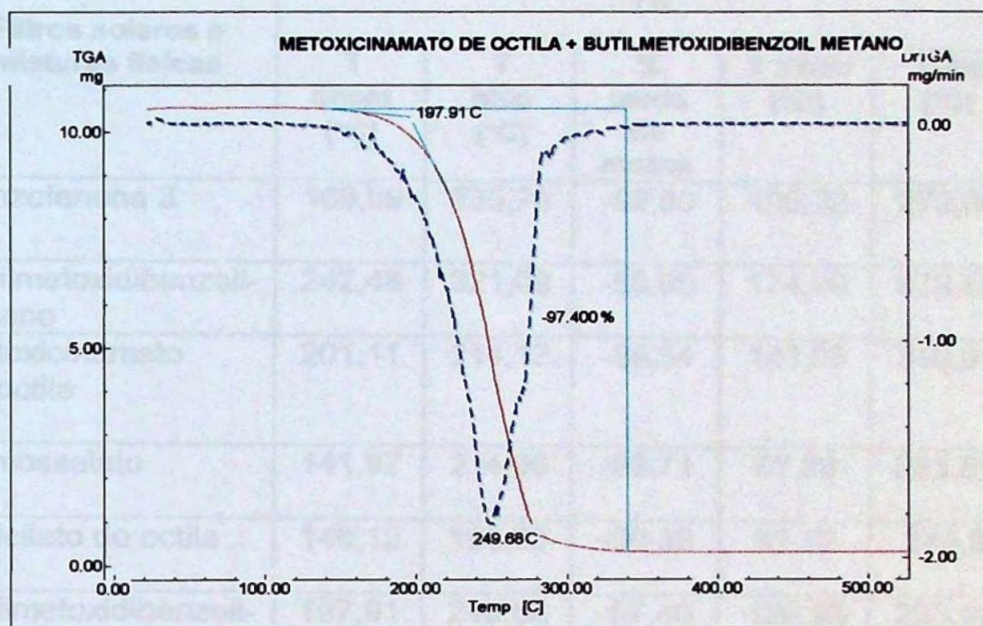


Figura 30. Curva curva TG/DTG da mistura metoxicinamato de octila associado a butil metoxidibenzoil metano (70:30): atmosfera dinâmica de ar, vazão de 50 mL/min, 10 mg de peso aproximado de amostra, razão de aquecimento de 10 °C/min, cadinho de platina.

Pode-se observar mais claramente os resultados nas curvas TG-DTG na Tabela 5 e os eventos observados na curva DSC dos filtros em estudo.

Tabela 5. Eventos comparativos nas curvas TG-DTG e DSC dos filtros.

Filtros solares e misturas físicas	TG				
	T onset (°C)	T pico (°C)	% perda de massa	T início (°C)	T fim (°C)
Benzofenona 3	169,09	235,70	-99,90	106,82	279,60
Butilmetoxidibenzoilmetano	242,48	321,09	-98,65	174,99	378,80
Metoxicinamato de octila	201,11	214,12	-99,54	143,66	310,97
Homossalato	141,97	214,06	-99,71	87,68	253,85
Salicilato de octila	146,12	199,35	-99,59	81,12	243,8
Butilmetoxidibenzoilmetano + metoxicinamato de octila	197,91	249,68	-97,40	126,96	333,10

Legenda: T: temperatura; Tonset: temperatura inicial detectada pela balança

Tabela 6. Eventos observados nas curvas DSC dos filtros solares em estudo.

Filtros solares e misturas físicas	DSC 1° pico			DSC 2° pico	
	T onset (°C)	T pico de fusão (°C)	$\Delta H$ fusão J/g	T início (°C)	$\Delta H$ evento J/g
Benzofenona 3	61,87	62,37	-121,61	237,09	-401,66
Butilmetoxidibenzoilmetano	79,76	83,71	-80,50	298,21	-291,05

Legenda: T: temperatura; T onset: temperatura inicial detectada pela balança;  $\Delta H$ : entalpia em (J mol).

**NOTAS:** \* Não pôde realizado devido a problemas no equipamento: DSC.

\*\* Realizado em atmosfera de  $N_2$

### 5.3 MÉTODO CROMATOGRÁFICO

#### 5.3.1 Estudos preliminares.

Os resultados dos estudos preliminares para obtenção das melhores condições estão apresentados nas Figuras 31 a 38.

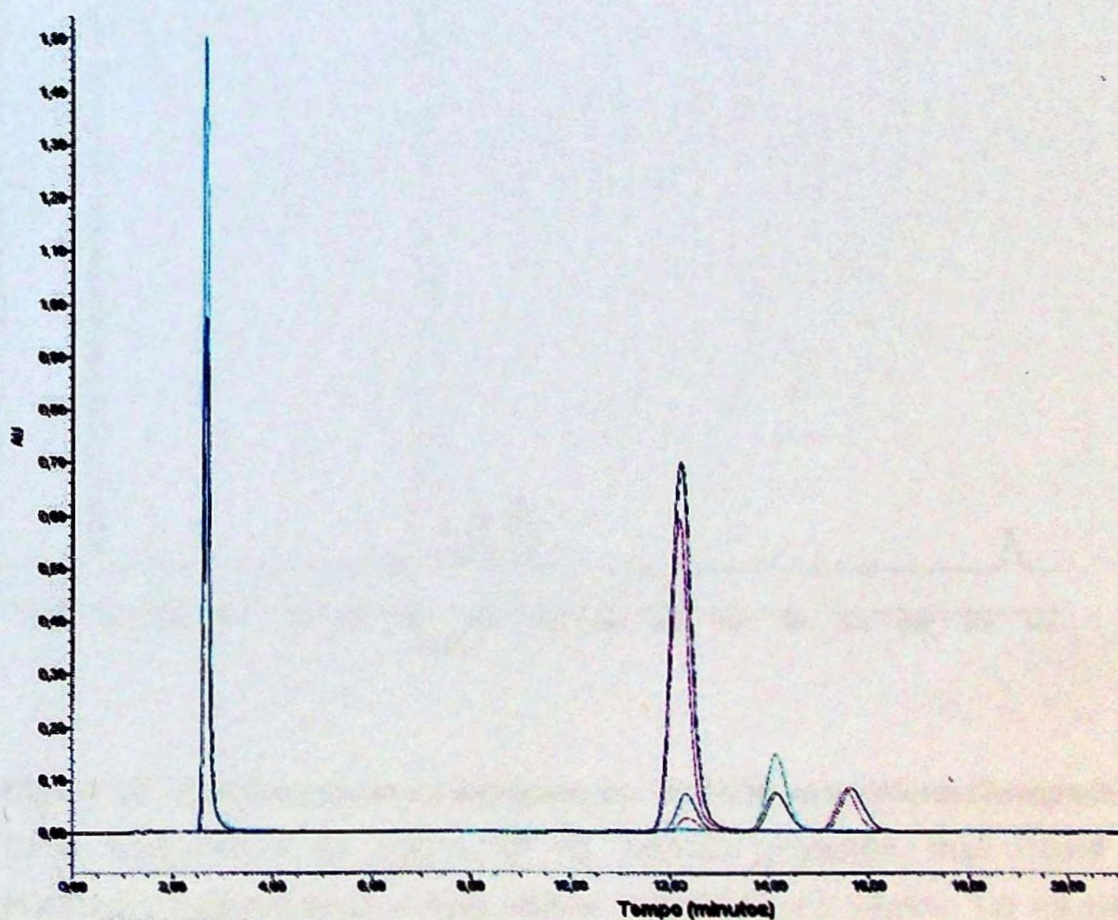


Figura 31. Cromatograma do experimento 1 obtido em coluna Novapack<sup>®</sup> C-18, temperatura da coluna 40 °C, método isocrático, fase móvel A (10:90 v/v) metanol:água e fase móvel B (90:10 v/v), vazão: 1,0 mL/min; injeção 20 $\mu$ l ; detecção: 310 nm. Tabela 1

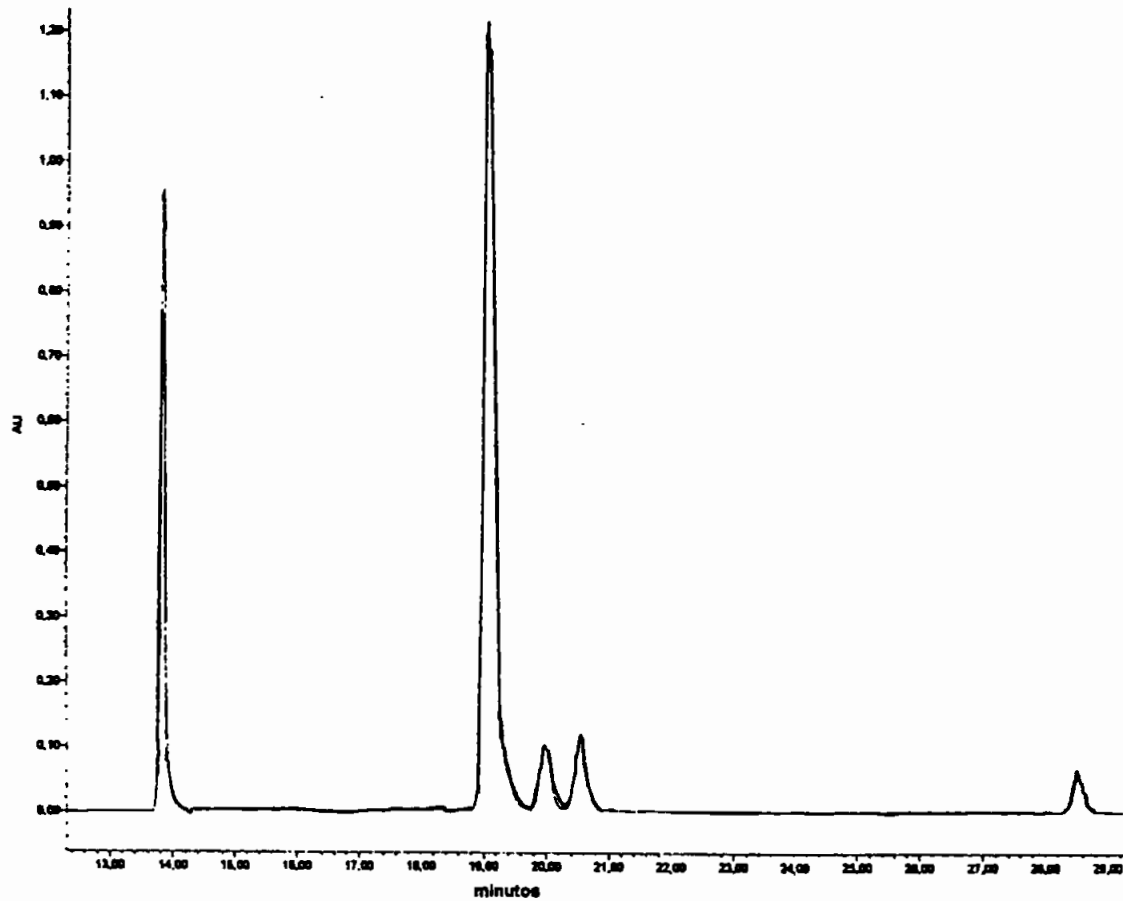


Figura 32. Cromatograma do experimento 2 obtido em coluna Novapack<sup>®</sup> C-18, temperatura da coluna 40 °C, método gradiente, fase móvel A (10:90v/v) metanol:água e fase móvel B (90:10 v/v), vazão: 1,0 mL/min; injeção: 20 $\mu$ l ; detecção: 310 nm. Tabela 1

BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo

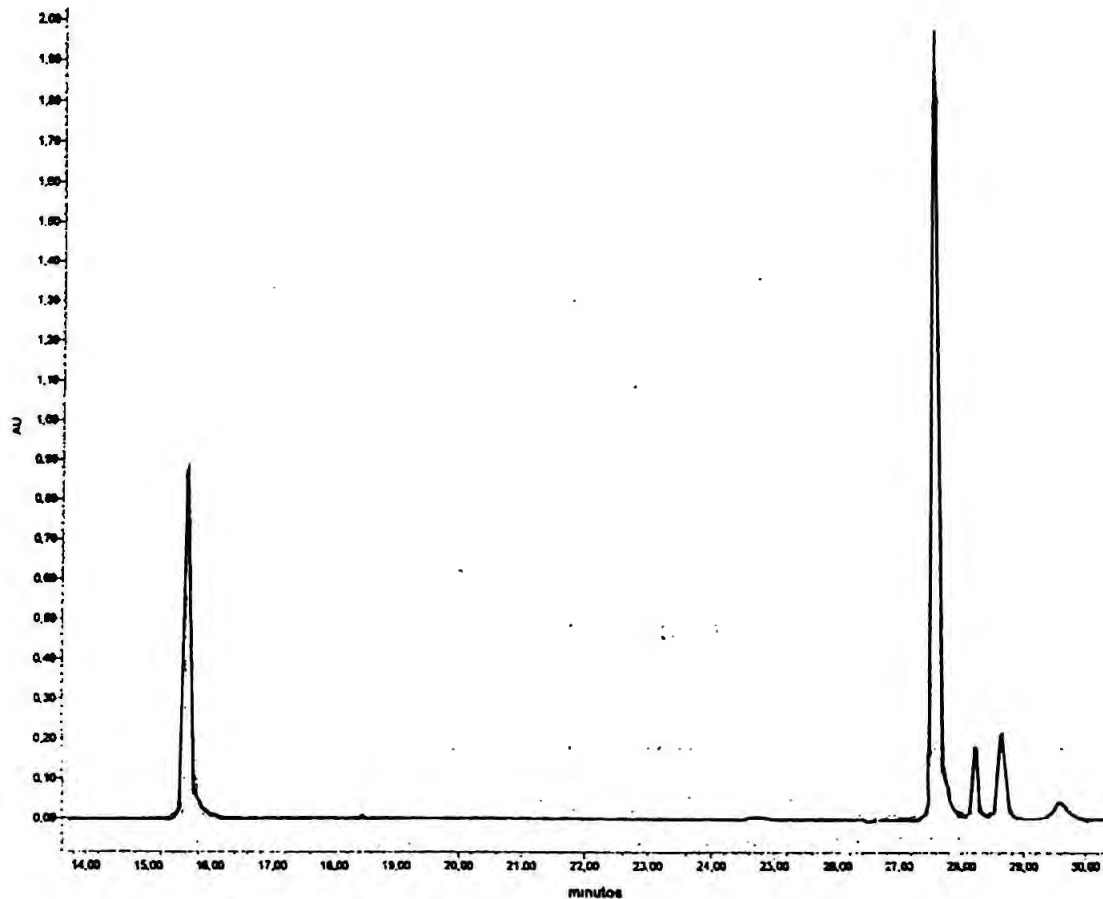


Figura 33 Cromatograma do experiência 5 obtido em nova coluna Novapack® C-18, temperatura da coluna 28 °C, método gradiente, fase móvel A (10:90 v/v) metanol:água e fase móvel B (90:10 v/v), vazão: 1,0 mL/min; injeção 20µl ; detecção: 310 nm. Tabela 1

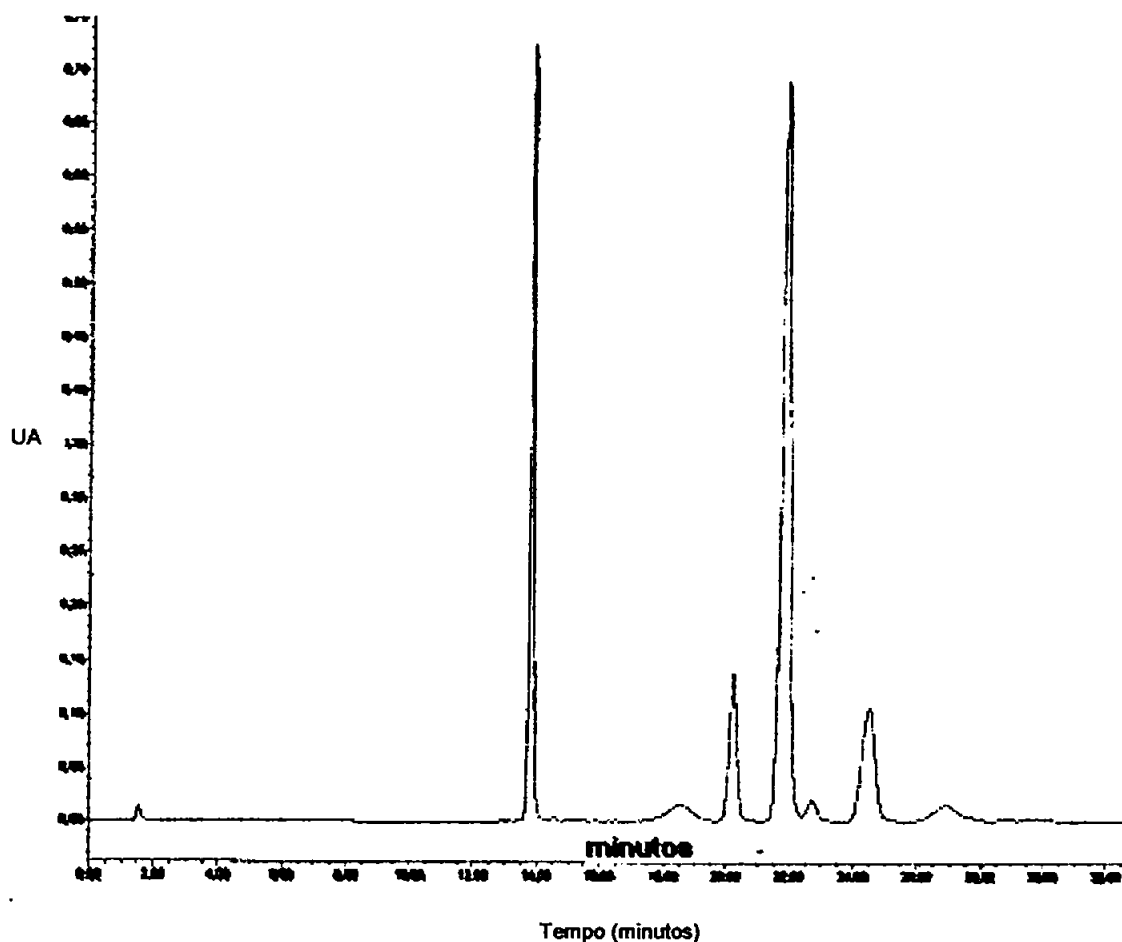


Figura 34. Cromatograma do experimento 7 obtido em método gradiente coluna Novapack<sup>®</sup> C-18, temperatura da coluna 40 °C; fase móvel A (10:90 v/v ) THF:água e fase móvel B (90:10 v/v), vazão: 1,0 mL/min; injeção: 20 $\mu$ l ; detecção: 310 nm. Tabela 1

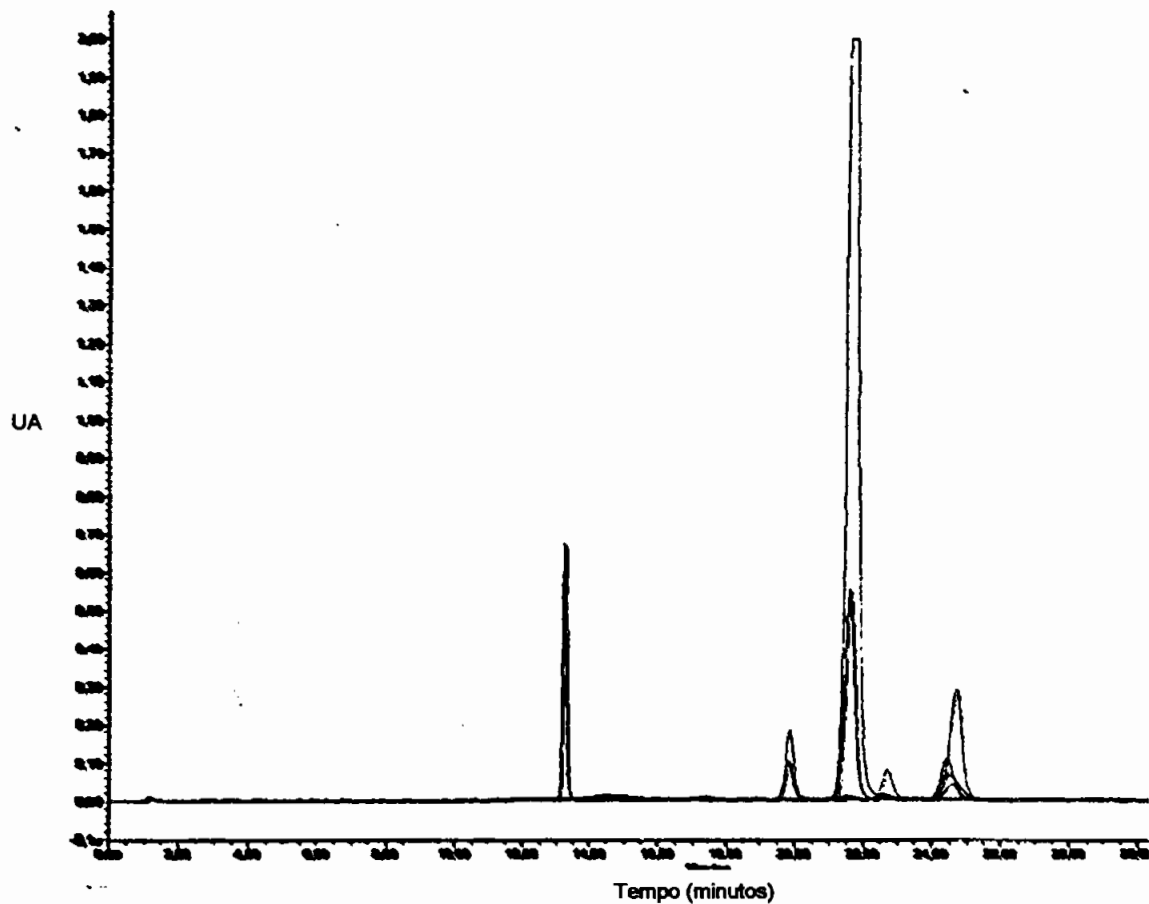


Figura 35. Cromatograma do experimento 15 obtido em coluna Symmetry® C-18, temperatura da coluna 40 °C, método gradiente, fase móvel A (10:90 v/v) tetrahydrofurano:água e fase móvel B (90:10 v/v) tetrahydrofurano:água, vazão: 1,0 mL/min; injeção 20 µl ; detecção: 310 nm. Tabela 1

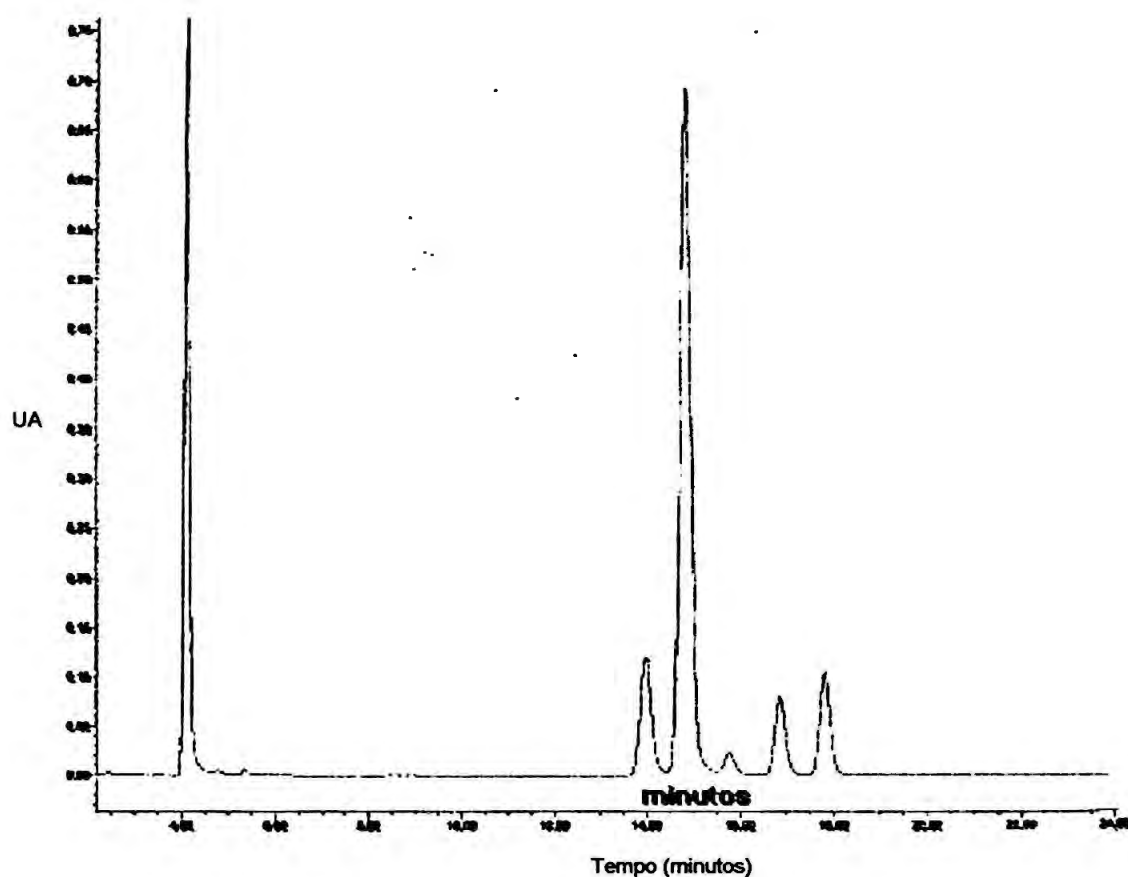


Figura 36. Cromatograma do experimento 20 obtido em coluna Symmetry<sup>®</sup> e Novapack<sup>®</sup> C-18, temperatura da coluna 40 °C; método gradiente; fase móvel A (10:90 v/v) acetonitrila:água e fase móvel B (90:10 v/v); vazão: 1,0 mL/min; injeção 20 µl ; detecção: 310 nm. Tabela 1

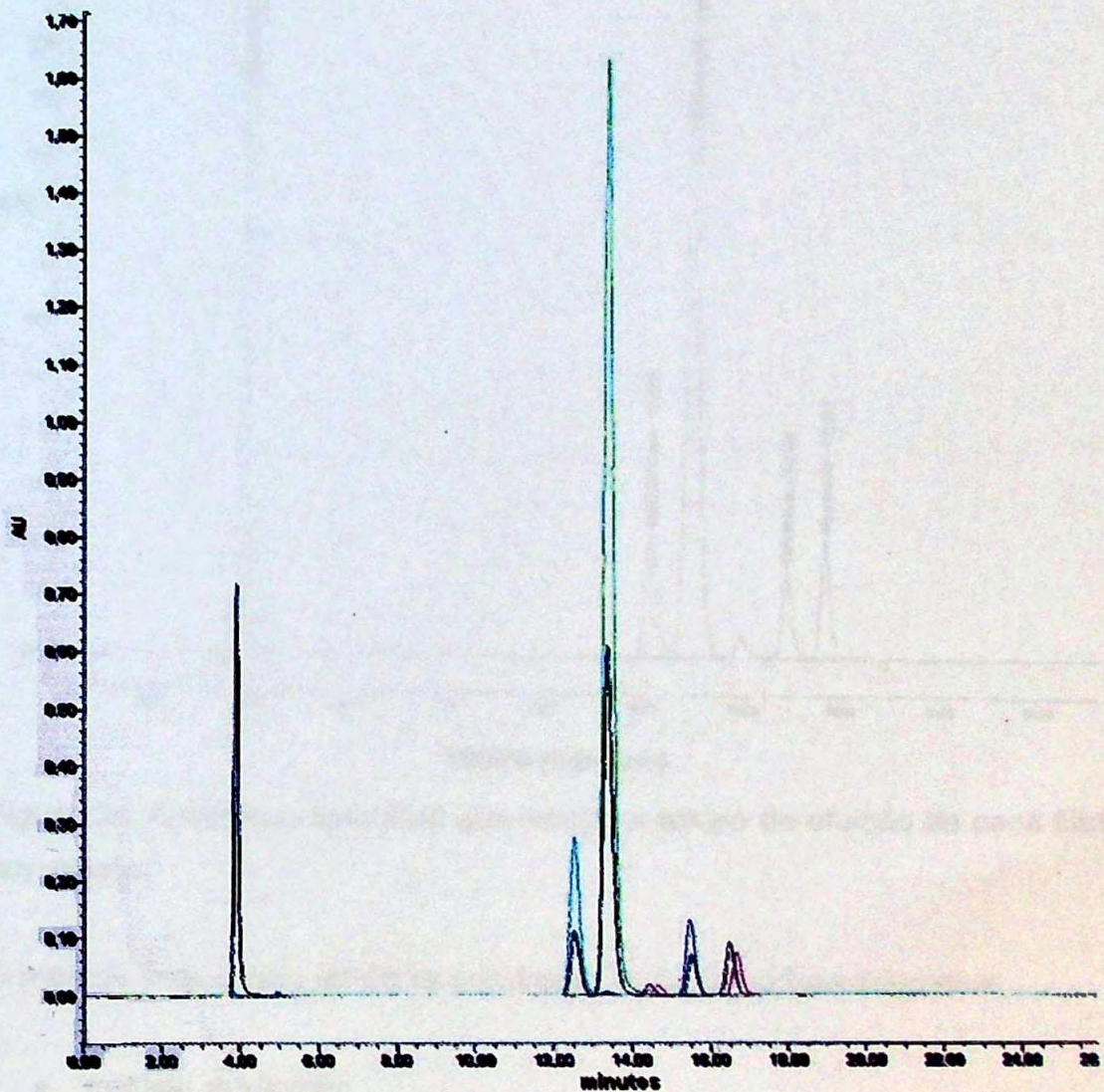


Figura 37. Cromatograma final, utilizou-se método gradiente com coluna Symmetry<sup>®</sup> e coluna Novapack<sup>®</sup> C-18; fase móvel A (10:90 v/v) e fase móvel B (90:10 v/v) de acetonitrila:água ; temperatura da coluna 40 °C; vazão: 1,0 mL/min; injeção 20 µl ; detecção: 310 nm.

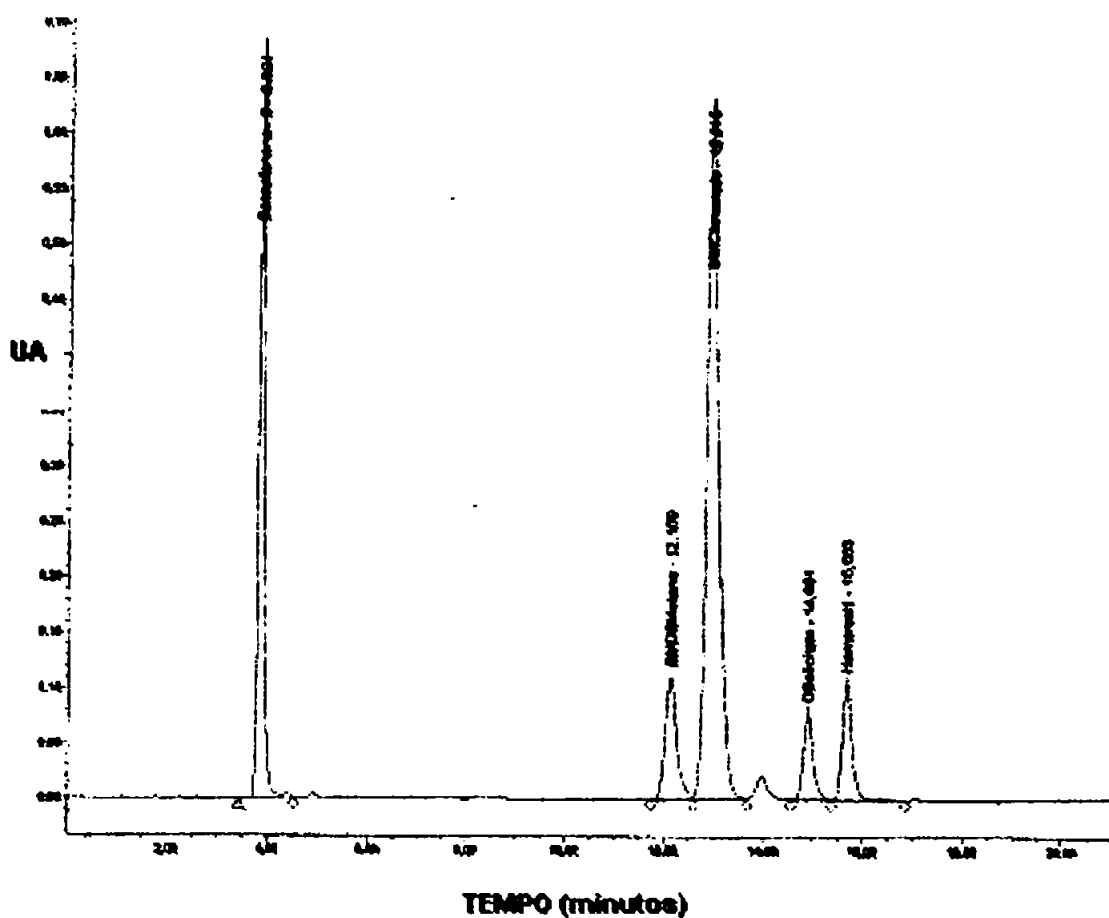


Figura 38. Cromatograma final que mostra o tempo de eluição de cada filtro em estudo.

O método final obtido utiliza as condições cromatográficas seguintes:

- método gradiente;
- colunas: Symmetry<sup>®</sup>C-18 e Novapack<sup>®</sup>C-18 ;
- temperatura da coluna 40 °C;
- fase móvel: A (10:90) e fase B (90:10) de acetonitrila:água.
- vazão: 1,0 mL/min;
- volume de injeção 20 µl ;
- detecção em UV : 310 nm;
- tempo de análise total; 25 minutos.

## 5.4. VALIDAÇÃO DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO

### 5.4.1 Linearidade

#### a). Benzofenona 3 (B-3)

Os valores experimentais obtidos na construção da curva de calibração da benzofenona 3 pelo método cromatográfico são descritos na Tabela 7 e Figura 39.

#### b). Butilmetoxidibenzoilmetano (BM).

Os valores experimentais obtidos na construção da curva de calibração do butilmetoxidibenzoilmetano pelo método cromatográfico são descritos na Tabela 8 e Figura 40.

#### c). Metoxicinamato de octila (MCO)

Os valores experimentais obtidos na construção da curva de calibração da metoxicinamato de octila pelo método cromatográfico são descritos na Tabela 9 e Figura 41.

#### d). Salicilato de octila (SO)

Os valores experimentais obtidos na construção da curva de calibração do salicilato de octila pelo método cromatográfico são descritos na Tabela 10 e Figura 42.

#### e) Homossalato (H)

Os valores experimentais obtidos na construção da curva de calibração do salicilato de hometila pelo método cromatográfico são descritos na Tabela 11 e Figura 43.

#### f) Mistura de padrões

Os valores experimentais obtidos na construção da curva de calibração do salicilato de hometila pelo método cromatográfico são descritos na Tabela 12 e Figura 44.

Tabela 7. Resultados experimentais obtidos na construção da curva de calibração do padrão da benzofenona 3 e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.

Volume de B-3 (mL)	Concentração $\mu\text{g} / \text{mL}$	Áreas padrão	Áreas padrões misturados
3	72,0	3556375	3323775
4	96,0	4394595	4471838
5	120,0	5581765	5603937
6	144,0	6682228	6714490
7	168,0	7701771	7905456

Legenda B-3: benzofenona 3 concentração 24  $\mu\text{g} / \text{mL}$

Tabela 8. Resultados experimentais obtidos na construção da curva de calibração do padrão butilmetoxidibenzoilmetano e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.

Volume de BM (mL)	Concentração BM $\mu\text{g} / \text{mL}$	Áreas padrão	Áreas padrões misturados
3	36	1376822	1323224
4	48	1810661	1779179
5	60	1928721	2236891
6	72	2580587	2635163
7	84	3105499	3146448

Legenda BM: butilmetoxidibenzoilmetano concentração 12  $\mu\text{g} / \text{mL}$

Tabela 9. Resultados experimentais obtidos na construção da curva de calibração do padrão do metoxicinamato de octila e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.

Volume de MCO (mL)	Concentração MCO $\mu\text{g} / \text{mL}$	Áreas padrão	Áreas padrões misturados
3	90	6675134	6707947
4	120	9448080	8963922
5	150	10664979	10626873
6	180	13938620	13386297
7	210	15545463	15660012

Tabela 10. Resultados experimentais obtidos na construção da curva de calibração do padrão do salicilato de octila e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.

Volume de SO (mL)	Concentração SO $\mu\text{g} / \text{mL}$	Áreas padrão	Áreas padrões misturados
3	60	686436	692947
4	80	933397	948239
5	100	1092828	1097887
6	120	1390270	1393280
7	140	1648715	1627407

Tabela 11. Resultados experimentais obtidos na construção da curva de calibração do padrão do salicilato de hometila e da mistura de padrões pelo método cromatográfico.

Volume de H (mL)	Concentração H µg/mL	Áreas padrão	Áreas padrões misturados
3	96	880002	899835
4	128	1192363	1228752
5	160	1357880	1401514
6	192	1823473	1816023
7	224	2042598	2115506

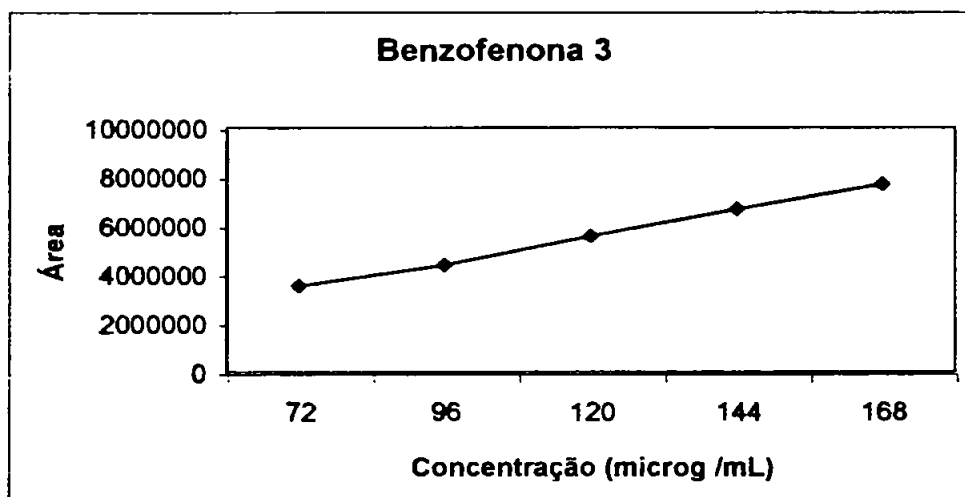


Figura 39. Curva de calibração da benzofenona 3 em acetonitrila em água (90:10 v/v), de 72,0 a 168,0 µg/mL

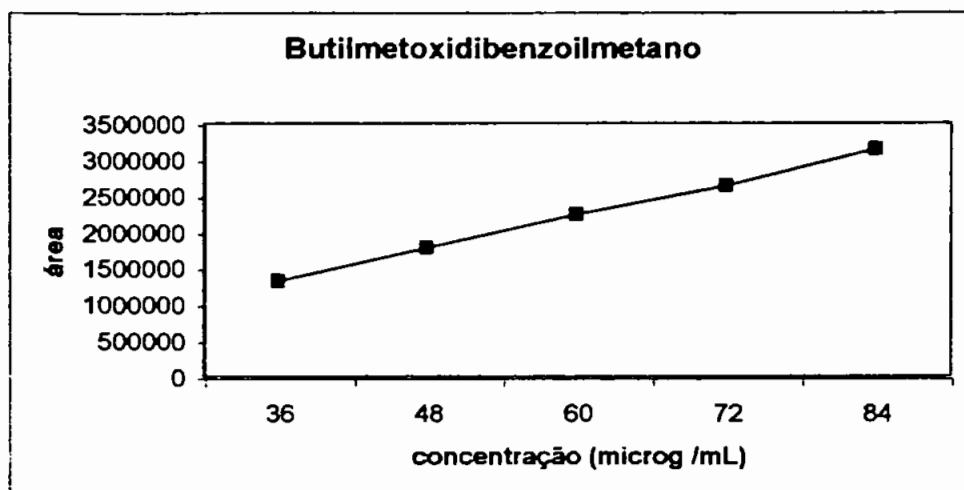


Figura 40. Curva de calibração do padrão butilmetoxidibenzoilmetano em acetonitrila em água (90:10 v/v) 36,0 a 84,0  $\mu\text{g/mL}$ .

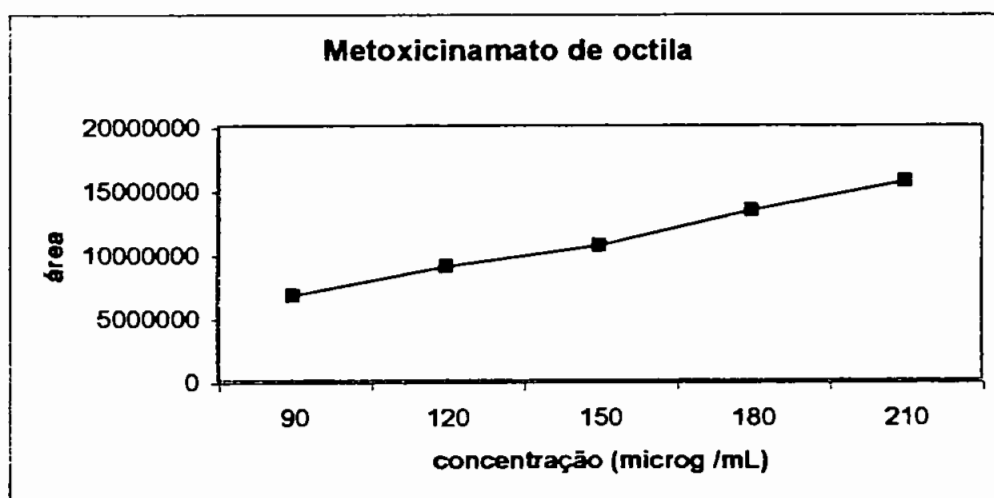


Figura 41. Curva de calibração do padrão metoxicinamato de octila em acetonitrila em água (90:10 v/v) 90,0 a 210,0  $\mu\text{g/mL}$ .

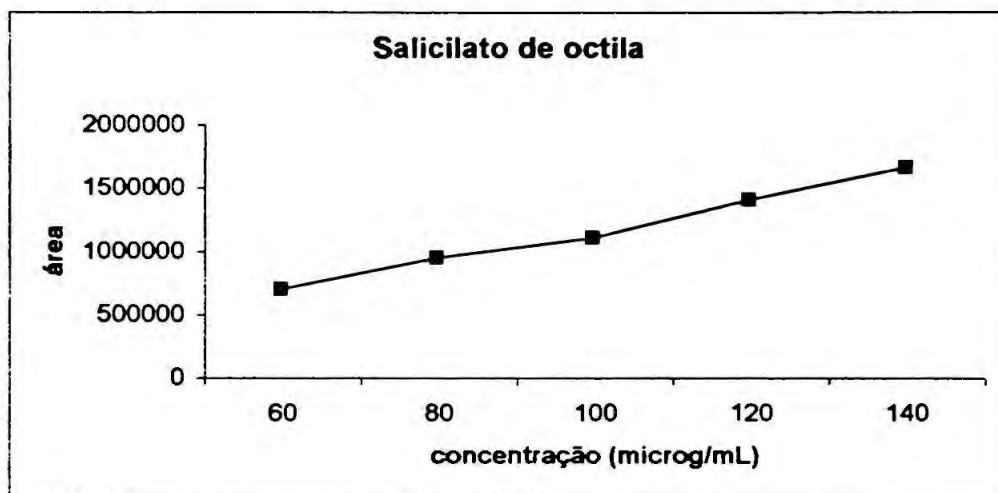


Figura 42. Curva de calibração do salicilato de octila em acetonitrila em água (90:10 v/v) 60,0 a 140,0  $\mu\text{g/mL}$ .

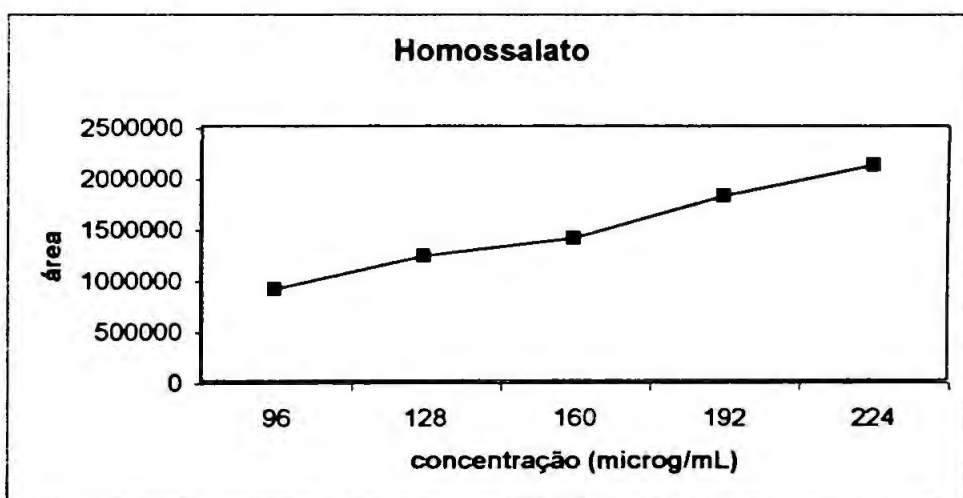


Figura 43. Curva de calibração do homossalato em acetonitrila em água (90:10 v/v), de 96,0 a 224,0  $\mu\text{g/mL}$ .

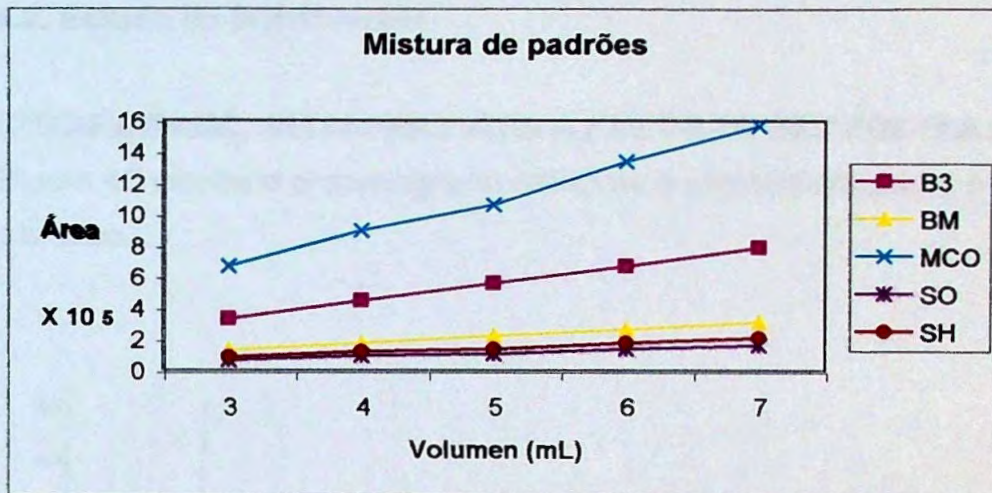


Figura 44. Curva de calibração da mistura de padrões em acetonitrila em água (90:10 v/v), 72,0 a 160,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  cujas concentrações correspondem a 3 mL a 7 mL de cada padrão.

Os valores estatísticos obtidos para as curvas de calibração (Figura 44) pelo método cromatográfico da benzofenona 3 (B-3), butilmetoxidibenzoilmetano (BM), metoxicinamato de octila (MCO), salicilato de octila (SO) e homossalato (H), são resumidos na tabela 12

Tabela 12. Valores estatísticos obtidos para curva de calibração do método cromatográfico dos filtros solares em estudo.

Valores estatísticos	B-3	BM	MCO	SO	H
(b)	44852,9	33293,9	74104,0	11907,2	9238,4
(r)	0,9998	0,9672	0,9922	0,9961	0,9909
(a)	294234,3	136000,4	138856,2	-40386,3	-18887,8

Legenda: b= Inclinação da curva; r = coeficiente de correlação e a= Interseção da curva.

#### 5.4.2. Estudo de interferentes

##### ESPECIFICIDADE. INTERFERENTES A PARTIR DE FILTROS SOLARES

A Figura 45 mostra o cromatograma referente à amostra simulada, o padrão e o branco.

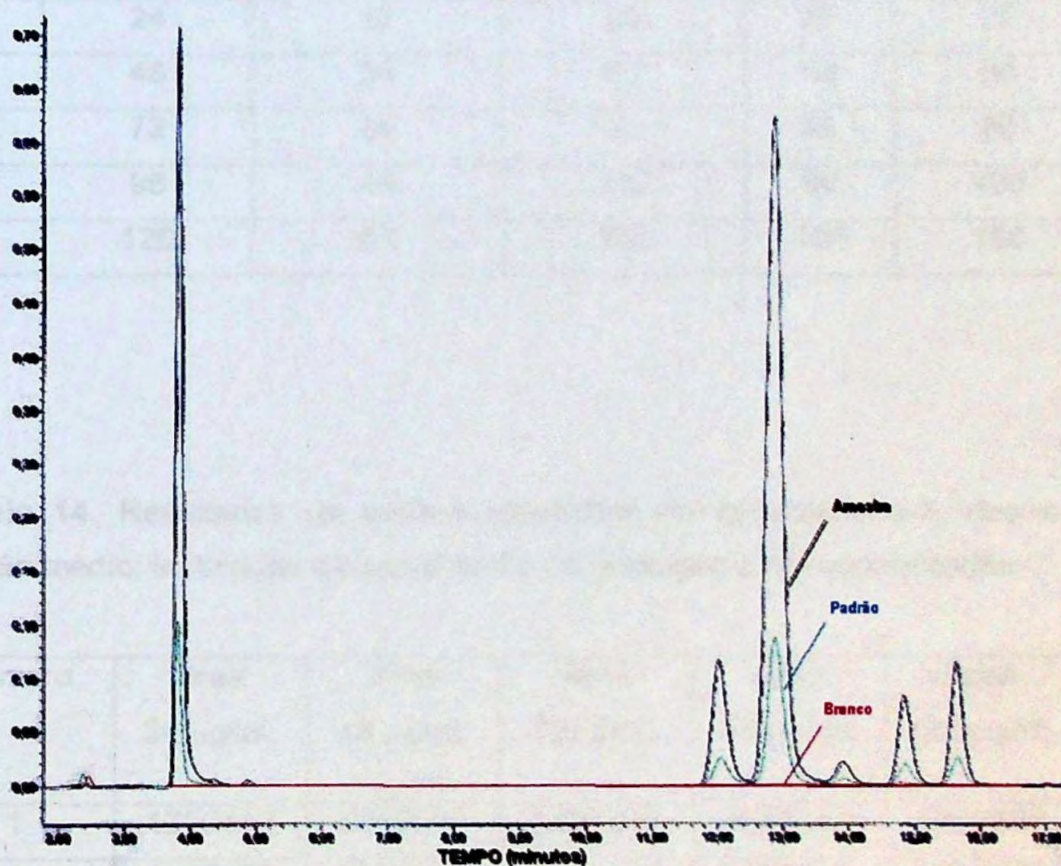


Figura 45. Cromatograma da fórmula teste, padrão e branco. Condições cromatográficas: coluna Symmetry<sup>®</sup> e coluna Novapack<sup>®</sup> C-18; fase móvel A (10:90 v/v) e fase móvel B (90:10 v/v) de acetonitrila:água ; temperatura da coluna 40 °C; vazão: 1,0 mL/min; 310 nm.

### 5.4.3. Limite de Detecção ( LD ) e Limite de Quantificação ( LQ )

Tabela 13. Concentrações em  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dos padrões dos filtros solares.

Padrão mL	Benzofenona 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Butilmetoxi- dibenzoilmetano $\mu\text{g}/\text{mL}$	Metoxicinamato de octila $\mu\text{g}/\text{mL}$	Salicilato de octila $\mu\text{g}/\text{mL}$	Homossalato $\mu\text{g}/\text{mL}$
1	24	12	30	20	32
2	48	24	60	40	64
3	72	36	90	60	96
4	96	48	120	80	128
5	120	60	150	100	160

Tabela 14. Resultados da análise estatística da benzofenona-3: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e de quantificação.

Número	Área 24 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Área 48 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Área 72 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Área 96 $\mu\text{g}/\text{mL}$	Área 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$
1	1230442	2358680	3401469	4539741	5622586
2	1232138	2357650	3401037	4537542	5623759
3	1230235	2357999	3401287	4538473	5622670

Desvio Padrão médio: 3542,9; Inclinação da curva: 44852,54

Limite de detecção: 0,1368  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; Limite de quantificação: 0,4560  $\mu\text{g}/\text{mL}$

Tabela 15. Resultados da análise estatística do butilmetoxidibenzoilmetano: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e limite de quantificação.

BIBLIOTECA  
Faculdade de Ciências Farmacéuticas  
Universidade de São Paulo

Número	Área 12 µg/mL	Área 24 µg/mL	Área 36 µg/mL	Área 48 µg/mL	Área 60 µg/mL
1	618709	1014803	1379203	1804091	1989583
2	619193	1014650	1378339	1804803	1988799
3	619635	1014999	1378474	1805296	1987981

Desvio Padrão médio: 2304,159; inclinação da curva: 37520,26

Limite de detecção: 0,106 µg/mL; Limite de quantificação: 0,354 µg/mL

Tabela 16. Resultados da análise estatística da metoxicinamato de octila:: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e limite de quantificação.

Número	Área 30 µg/mL	Área 60 µg/mL	Área 90 µg/mL	Área 120 µg/mL	Área 150 µg/mL
1	1230442	2358680	6674169	9443974	10672586
2	1232138	2357650	6674937	9437542	10673759
3	1230235	2357999	6675128	9438473	10672700

Desvio Padrão médio: 3799,52; inclinação da curva: 74421,68

Limite de detecção: 0,088 µg/mL; Limite de quantificação: 0,294 µg/mL

Tabela 17. Resultados da análise estatística do salicilato de octila: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e limite de quantificação.

Número	Área 20 µg/mL	Área 40 µg/mL	Área 60 µg/mL	Área 80 µg/mL	Área 00 µg/mL
1	5731642	635300	691469	957941	1097586
2	5731000	635765	692237	957399	1097759
3	5731135	635699	693006	956947	1096970

Desvio Padrão médio: 1559,97; inclinação da curva: 11907,155

Limite de detecção µg/mL: 0,227; Limite de quantificação: 0,756 µg/mL

Tabela 18. Resultados da análise estatística do homossalato: desvio padrão médio; inclinação da curva; limite de detecção e limite de quantificação obtidos das três determinações efetuadas de cada concentração.

Número	Área 32 µg/mL	Área 64 µg/mL	Área 96 µg/mL	Área 128 µg/mL	Área 160 µg/mL
1	329944	560282	892069	1230875	1403049
2	329213	560550	891837	1227080	1402759
3	330035	559999	891992	1229473	1402599

Desvio Padrão médio: 1305,53; inclinação da curva: 9433,17

Limite de detecção: 0,240 µg/mL; Limite de quantificação: 0,800 µg/mL

#### 5.4.4. Coeficiente de Variação (CV) ou Desvio Padrão Relativo(s)

Os resultados obtidos com a aplicação do método e o tratamento estatístico na amostra são apresentados nas Tabelas 19 e 20.

Tabela 19. Resultado em áreas de 10 determinações para cada amostra de filtro solar, cuja concentração teórica é o equivalente de 60 mg de B3/mL; 75 mg de MCO/mL; 30 mg de BM/mL; 50 mg de SO/mL e 80 mg de H/mL em 1 g da amostra.

Testes	Área B3	Área BM	Área MCO	Área SO	Área H
1	5570151	2138275	10296884	1099085	1397679
2	5368625	2148804	9833560	1059696	1335251
3	5472337	2214982	10021225	1033044	1330604
4	5551255	2267833	10140397	1076345	1374679
5	5744908	2319742	10487824	1117742	1398497
6	5315148	2139752	9713597	1033143	1307578
7	5616022	2260897	10239472	1093084	1385756
8	5254085	2100426	9612620	1036931	1295285
9	5242581	2086005	9529379	1022253	1293602
10	5522820	2213637	10093320	1092304	1364953

Tabela 20. Resultado da análise estatística na amostra pelo método cromatográfico.

Amostra	Desvio padrão (s)	Coeficiente de variação (CV)	Desvio padrão médio (Sm)	Intervalo de confiança %
B-3	2,26	2,16	0,97	104,18 ± 1,55
BM	1,09	1,07	0,48	102,30 ± 0,76
MCO	2,43	2,36	1,57	102,81 ± 1,69
SO	1,63	1,58	0,71	103,22 ± 1,13
SH	2,52	2,44	1,09	103,12 ± 1,75

#### 5.4.5 Recuperação (Exatidão)

Os resultados do teste de recuperação são resumidos nas Tabelas 21 e 22.

Tabela 21. Áreas de cada filtro solar presente na amostra comercial no teste de recuperação do padrão.

Filtro solar %	Área B-3	Área BM	Área MCO	Área SO	Área H
90	376936	125334	699562	65926	94584
100	469103	156301	872820	82185	118013
110	562697	187557	1054589	98642	142465
120	662607	217484	1213215	116085	166865

Legenda: benzofenona 3 (B-3), butilmetoxidibenzoilmetano (BM), metoxicinamato de octila (MCO), salicilato de octila (SO) e homossalato (H).

Tabela 22. Teste de recuperação pelo método cromatográfico para amostra comercial.

Filtro solar	Quantidade de padrão adicionada $\mu\text{g/mL}$	Quantidade de padrão recuperada $\mu\text{g/mL}$	Recuperação R%
Benzofenona-3	72,0	72,7	101,1
	48,0	45,8	98,5
	24,0	23,4	97,7
Butilmetoxidibenzoilmetano	36,0	35,6	98,8
	24,0	39,7	99,3
	12,0	11,7	98,0
Metoxicinamato de octila	90,0	88,1	97,9
	60,0	60,9	101,5
	30,0	29,7	99,1
Salicilato de octila	60,0	61,0	101,7
	40,0	39,8	99,5
	20,0	19,7	98,9
Homossalato	96,0	98,2	102,3
	64,0	66,0	101,6
	32,0	31,8	99,4

## VI DISCUSSÃO

Em consequência do estreitamento da camada de ozônio a partir dos anos 70, as radiações tem atingido a Terra com maior intensidade, causando efeitos danosos à pele, que são acrescentados por mudanças nas condições atmosféricas como a poluição, a sobreexposição às radiações UV para obter uma pele bronzeada. Como consequência, o câncer de pele tem aumentado muitos nos últimos anos.

Os produtos com filtros solares que previnem ou minimizam estes efeitos a cada dia surgem com novas fórmulas e fatores de proteção solar que proporcionam uma maior fotoproteção

Através deste trabalho de pesquisa, foi analisada uma loção protetora solar contendo cinco substâncias químicas com a característica de absorção de radiação na região ultravioleta A e ultravioleta B, proporcionando uma fotoproteção maior que os filtros que somente atingem uma região da radiação ultravioleta.

Outro alvo importante desta pesquisa foi o desenvolvimento de uma metodologia fácil, simples e rápida com o menor tempo de análise possível, proporcionando determinação simultânea da benzofenona 3, butilmetoxidibenzoilmetano, metoxicinamato de octila, salicilato de octila e homossalato sem extrações prévias com solventes orgânicos, como no estudo feito por Rastogi e colaboradores (RASTOGI e JENSEN, 1998), fazendo esta metodologia única e inédita para a identificação e quantificação simultânea em um produto protetor solar Quadro 6

Internacionalmente pode-se encontrar fórmulas que combinem quatro dos filtros em estudo como máximo, mas não a combinação dos cinco filtros solares estudados.(CHISVERT et al., 2003), (JIANG, 1996), (RASTOGI, 1998) e (WATERN, 1997). Quadro 6

## IDENTIFICAÇÃO DOS FILTROS SOLARES

Os resultados obtidos nos testes de identificação mediante espectrofotometria UV aplicados a cada um dos filtros solares em solução etanólica correspondem aos indicados no rótulo. Encontrou-se os comprimentos de onda ( $\lambda$ ) experimentais onde é máxima a absorção de 287, 355, 310, 310 e 310 nm para benzofenona 3, butilmetoxidibenzoilmetano, metoxicinamato de octila, salicilato de octila e homossalato respectivamente, conforme Figuras 20-24 os que correspondem aos obtidos na literatura .(ANDRAE et al., 1998), (KLEIN e STREINBERG, 1998).

## ANÁLISE TÉRMICA

Através da análise térmica pode-se determinar experimentalmente a temperatura de fusão: benzofenona 3; butilmetoxidibenzoilmetano e temperaturas de perda de massa e temperatura de decomposição: benzofenona 3; butilmetoxidibenzoilmetano metoxicinamato de octila, salicilato de octila e homossalato, cujos resultados correspondem aos reportados na literatura (GIOLITO e IONASHIRO, 1988), (IONASHIRO e GIOLITO , 1980).

Através das curvas TG pode-se observar uma curva característica e não se pode identificar nenhum evento. A DTG permitiu verificar um evento e a visualização do pico que corresponde à perda de massa, como pode ser visto nas Figuras 25 até 30.

Pode-se observar que as perdas de massas evidenciadas nas curvas TG/DTG para os filtros solares sólidos e líquidos foram eventos únicos e próximos de 100%. Tabela 5

Pode-se observar pela análise das curvas TG/DTG obtidas para as misturas binárias de filtros solares que ocorre a perda de massa em um evento único, conforme a figura 30.

Os resultados sugerem que as perdas de massas não são devidas a um processo de degradação e sim à volatilização dos filtros solares. Isso poderia ser evidenciado se a termobalança fosse acoplada a um sistema de fotovisualização dos eventos.

Pode-se determinar as possíveis condições de temperatura máxima em que a análise permite armazenar os filtros sem perda de massa ou decomposição, além de conhecer a possível estabilidade dos filtros em condições extremas e em comparação com outros filtros em estudo.

Nos filtros sólidos (mais estáveis) a temperatura de início de perda de massa foi o butilmetoxidibenzoilmetano de 242 °C e para a benzofenona 3 foi de 169 °C, demonstrando estabilidade intermediária em comparação com os outros filtros. Para o filtros líquidos como homossalato, o início da perda de massa ocorreu a 141,97 °C, demonstrando ser menos estável quando comparado à temperatura ao início de perda de massa de 201,11 °C obtida para o metoxicinamato de octila (mais estável). A temperatura do início da perda de massa do salicilato de octila foi da ordem de 146,12 °C, demonstrando também estabilidade intermediária dentre os filtros líquidos, Tabela 5.

Através das curvas de DSC pode-se verificar, os eventos endotérmicos, identificando um pico fino característico de fusão e a visualização do pico de decomposição (Figuras 25 e 26 e Tabela 7).

Para a benzofenona 3, conforme Figura 25, há correspondência entre os valores experimentais e com os mencionados por Santoro e colaboradores (SANTORO, et al.,2001) em relação à benzofenona 3, que possui como faixa de fusão 62-66 °C, sendo observado o valor de 62,3 °C na curva DSC realizada experimentalmente. Para o butilmetoxidibenzoilmetano verificou-se o valor de 83,7 °C, enquanto na literatura é mencionada a faixa de fusão de 81-89 °C (IKEDA, et al.,1989), (MERCK ,1999).

Ao estudar as curvas de análise térmica dos filtros solares pode-se classificá-los em ordem crescente de estabilidade térmica, de acordo com a temperatura de "degradação-volatilização" apresentada nos resultados: benzofenona 3; butilmetoxidibenzoilmetano; metoxicinamato de octila; salicilato de octila e homossalato (Tabela 5).

Eventos endotérmicos associados à perda de massa e variação de entalpia de -24,9 e -27,7 kJ/mol puderam ser observados através das curvas DSC de butilmetoxidibenzoilmetano e benzofenona 3, respectivamente como se mostra na Tabela 7. Os resultados obtidos na temperatura de decomposição e variação de entalpia obtidos para o metoxicinamato de octila estão de acordo com os relatados por SANTORO e colaboradores.(SANTORO, et al.,2001).

Também não foram observados eventos isolados nas curvas de DSC. Esta metodologia poderia ser empregada para quantificação dos filtros associados dois a dois em uma mesma formulação.

## CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

### Estudos preliminares

Para encontrar o método de análise foram realizados vários testes preliminares com diferentes parâmetros (isocrático, gradiente, variações de fases móveis, velocidade de fluxo, temperatura da coluna, tipo de coluna) e finalmente foram encontradas as condições mais apropriadas para a separação dos filtros solares.

Os resultados obtidos indicaram que os filtros solares contidos na amostra foram isolados e quantificados, sem necessidade de extrações prévias com solventes orgânicos como no trabalho de Rastogi (RASTOGI e JENSEN, 1998).

Como se demonstrou no experimento 1 (Figura 31), não foi possível obter a separação pelo método isocrático e fase móvel (metanol:água na proporção (90:10 v/v).) (NIGAM, et al., 2000), Não se conseguiu a separação dos filtros BM, MCO e H. (Figura 32).

Foi utilizada uma nova coluna NovaPack<sup>®</sup>C18 e não houve melhora nos resultados. Em seguida, utilizou-se o tetrahidrofurano (THF) com água na proporção (90:10 v/v). Comparando o experimento 6 ( método isocrático) com o experimento 7 (método gradiente) (YAMAMOTO, et al.,1986), verificou-se que não se obteve boa separação dos BM e MCO (Figura 34 e Tabela ).

O efeito da temperatura da coluna cromatográfica foi verificado mudando-se a temperatura da coluna de 40 °C até 28 °C. Diferentes solventes foram misturados dentro do sistema: a bomba A contém fase

móvel THF e água (25:75 v/v) e a bomba B metanol e água (70:30 v/v). No experimento 10 mudou-se novamente a mistura de solventes acetonitrila e água nas proporções (10:90) na bomba A e (90:10) na bomba B. Não foi possível separar completamente BM e MCO, não obstante foram separados H e SO (Tabela 1).

Pode-se observar na Figura 35 o cromatograma do experimento 15 obtido em coluna Symmetry® C-18, temperatura da coluna 40 °C, método gradiente, mas com fase móvel A tetrahydrofurano:água (10:90 v/v) e fase móvel B tetrahydrofurano:água (90:10 v/v), vazão: 1,0 mL/min; injeção 20µl; detecção: 310 nm. Foi possível a separação definida do BM e MCO que até agora não se podia separar, mas os outros filtros permaneceram juntos (Tabela 1).

Posteriormente, foram obtidas variações dos tempos de retenção a partir de concentrações propostas da fase móvel. As experiências 10-12 mostraram a separação completa de BM e MCO. Os resultados do experimento 18 até 19 com fase móvel acetonitrila:água (90:10 v/v) (ESPINOSA, et al., 2000) e as mesmas condições cromatográficas levaram à separação dos cinco filtros solares. Embora não se obtivesse ótima resolução, os picos estavam separados.

Verificou-se que o experimento 20 mostrou a separação dos cinco filtros solares e que o último pico aparece com tempo de retenção de 18 minutos. Figura 36

Os resultados do experimento 21 (Figura 37) demonstram que o método obtido permite a separação completa dos cinco filtros na loção protetora solar e que o último pico aparece com tempo de retenção de 16 minutos, levando a uma redução no tempo de análise.

Os resultados dos estudos preliminares indicam que a mistura acetonitrila água, fase móvel A (10:90) e na fase móvel B (90:10) no método gradiente, proporcionam as condições necessárias para separação dos filtros solares no produto em estudo.

Os valores experimentais obtidos no teste de linearidade (figuras 45-49) demonstram que as condições utilizadas são apropriadas para cada um dos cinco filtros em estudo.

### **Validação da metodologia analítica**

A validação de um método analítico permite obter informações estatisticamente confiáveis que permitem garantir que os resultados obtidos cumprem com os requerimentos para as quais foram desenvolvidos. Isto não implica que ele esteja isento de erros e de que seja usado indiscriminadamente (BRITAIN, 1998).

Os parâmetros da validação avaliados neste trabalho foram: linearidade, determinação de interferentes, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão.

### **Linearidade**

Através de métodos estatísticos como a análise de regressão linear (HASWELL, 1992), (WERNIMONT, 1987) pode-se determinar a linearidade de um método analítico, que estabelece se há relação linear ou proporcional entre a resposta instrumental e a concentração conhecida da substância em estudo.

. As curvas de calibração obtidas para os cinco filtros em estudo foram analisadas pelo método dos mínimos quadrados (WERNIMONT, 1987) . A curva de calibração dos filtros presentes na amostra comercial num intervalo de 72,0 a 178,0  $\mu\text{g mL}$  para benzofenona-3 (Tabelas 7 e Figuras 39,) de 36,0 a 84,0  $\mu\text{g mL}$  para butilmetoxidibenzoilmetano (Tabelas 8 e Figura 40) de 90,0 a 210,0  $\mu\text{g mL}$  para metoxicinamato de octila (Tabelas 9 e Figura 41) de 60,0 a 140,0  $\mu\text{g mL}$  para salicilato de octila e (Tabelas 10 e Figura 42) de 96,0 a 224,0  $\mu\text{g mL}$  para homossalato (Tabelas 11 Figura 43) mostram a linearidade do método.

A curva de calibração da mistura de padrões demonstra a proporcionalidade direta das concentração de cada filtro em exame dentro de uma relação conhecida de 72,0 a 160,0  $\mu\text{g mL}$  que correspondem a 3 mL a 7 mL de benzofenona 3 (B-3), butilmetoxidibenzoilmetano (BM), metoxicinamato de octila (MCO), salicilato de octila (SO) e homossalato (H). Conforme a Figura 44.

### **Determinação de interferentes-Especificidade**

O método é específico ou seletivo quando tem a habilidade de medir com exatidão e especificidade uma substância em análise na presença de outros componentes que possam estar presentes na amostra como: precursores sintéticos, enantiômeros e produtos de degradação.

Realizou-se um estudo comparativo ao sobrepor os cromatogramas referentes à amostra comercial, o padrão e o branco, podendo- se observar que o branco ou loção base não interferiu em nenhum componente do pico

máximo do padrão e da amostra dos filtros solares em análise, conforme Figura 45.

### Limite de detecção e Limite de quantificação

Os limites de detecção e de quantificação de um método analítico correspondem à mais baixa concentração da substância em exame presente na amostra que pode ser detectada e quantificada respectivamente com um certo limite de confiabilidade.

Para determinar a capacidade que o método tem para detectar e quantificar concentrações mais baixas, foram calculados o limite de detecção e quantificação a partir dos resultados do desvio padrão médio e em seguida dividindo pela inclinação da curva de calibração. O limite de detecção e limite de quantificação deve ser 3 e 10 vezes respectivamente o valor do sinal-ruído associado ao método (BRITAIN, 1998), (SWARTZ, 1998), (UNITED STATES 1999)

Pode-se observar nas Tabelas 16,17,18,19 e 20 os limites de detecção e quantificação respectivamente para benzofenona-3 de 0,1368  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e 0,4560 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; para o butilmetoxidibenzoilmetano de 0,106 $\mu\text{g}/\text{mL}$  e 0,354  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; para o metoxicinamato de octila 0,088 $\mu\text{g}/\text{mL}$  e 0,294 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; para o salicilato de octila de 0,227 e 0,756  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e para o homossalato foi de 0,240  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e 0,800  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

### **Precisão–Coeficiente de variação**

O coeficiente de variação em porcentagem ou desvio padrão médio relativo determina a variação limite da análise. Pode-se calcular mediante 10 determinações para cada amostra de filtro solar cuja concentração teórica foi o equivalente de 60 mg de B-3/mL; 75 mg de MCO/mL; 30 mg de BM/mL; 50 mg de SO/mL e 80 mg de H/mL em 1 g da amostram (Tabela 21). A Tabela 22 demonstra o coeficiente de variação, desvio padrão médio e a porcentagem do intervalo de confiança respectivamente para benzofenona-3 de 2,16; 0,97;  $104,18 \pm 1,55\%$ , para o butilmetoxidibenzoimetano de 1,07; 0,48;  $102,30 \pm 0,76\%$ , para o metoxicinamato de octila de 2,36; 1,57;  $102,81\% \pm 1,69$ , para o salicilato de octila de 1,58; 0,71;  $103,22 \pm 1,13\%$ , para o homossalato foi de 2,44; 1,09;  $103,12 \pm 1,75\%$ .

### **Extidão- teste de recuperação**

As porcentagens de recuperação %R obtidas para benzofenona 3, butil metoxidibenzoilmetano, metoxicinamato de octila, salicilato de octila, homossalato foram : 98,5%, 98,8%, 99,1%, 98,9% 99,4% respectivamente (tabela 22)

## VII. CONCLUSÕES

Baseado nas condições experimentais em que foi realizado o presente trabalho e com os resultados obtidos pode-se concluir:

- \* A CLAE pode ser empregada na separação e quantificação simultânea de cinco filtros solares: benzofenona 3, butilmetoxidibenzoilmetano, metoxicinamato de octila, salicilato de octila e homossalato, sendo uma metodologia seletiva e específica com o menor tempo de análise, sem extrações prévias com solventes orgânicos.
- \* Pode-se concluir que a análise térmica dos filtros solares proporcionou informações importantes sobre sua estabilidade. Os filtros solares sólidos benzofenona-3 e butilmetoxidibenzoilmetano são termoestáveis a temperaturas inferiores a 169 °C, e 242°C, respectivamente e os filtros solares líquidos metoxicinamato de octila, homossalato e salicilato de octila são termoestáveis a temperaturas inferiores a 201 °C, 146 °C e 142 °C respectivamente.
- \* O método analítico selecionado foi padronizado e validado baseado em tratamento estatístico.
- \* A quantificação dos filtros solares mediante a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) pode garantir sua concentração na formulação cosmética, sendo um método indicado na avaliação *in vitro*.

## VIII REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

De acordo com a NBR6023/90, preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos e periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI), 2000

ANDRAE, I.; BRINGHEN, A.; BOHM, F.; GONZENBACH, H.; HILL, T.; MULROY, L.; TRUSCOTT, T.G. A UVA filter (4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane): Photoprotection reflects photophysical properties. *J. Photochem. Photobiol.*, **B**, Lausanne, v.37, n.1/2, p.147-150, 1997.

BERGER, S.B. The theory of sunscreens and suntanning. In: DE NAVARRE, MAISON G. *Chemistry and manufacture of cosmetics/Maison G de Navarre. Edição 2. ed.* Orlando : Continental Press, 1975. v.3, p.159-172.

BILLHIMER, W. Sunscreen efficacy. In: WAGGONER, W.C., ed. *Clinical safety and efficacy testing of cosmetics*. New York: Merceel Dekker, 1990. *Cosmetic science and technology series*, v.8. p.225-251

BILOTI, D.N.; DOS REIS, M.M.; FERREIRA, M.M.C.; PESSINE, F.B.T. Photochemistry behavior under UVA radiation of beta-cyclodextrin included Parsol ® 1789 with a chemometric approach. *J. Mol. Struct.*, Amsterdam, v.481, p.557-561Sp. Iss.maio 4, 1999.

BOLTON, S. **Pharmaceutical statistics: practical and clinical applications.**  
New York: Marcel Dekker, 1990. p.405-406, 445, 456-466.

BRANDÃO, L. **Index ABC: ingredientes para a indústria de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfume /Luiz Brandao. Imprensa São Paulo.** Associação Brasileira de Cosmetologia, 1996. p.35, 40, 166, 199, 250.

BRITAIN, H.G. **Validação de métodos analíticos não cromatográficos.**  
**Pharm. Technol., Ed. Bras., São Paulo, p.4-28, 1998.**

BROADBENT, J.K.; MARTINCIGH, B.S.; RAYNOR, M.W.; SALTER, L.F.; MOULDER, R.; SJOBERG, P.; MARKIDES, K.E. **Capillary supercritical fluid chromatography combined with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for the investigation of photoproduct formation in the sunscreen absorber 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate. J. Chromatogr., A, Amsterdam, v.732, n.1, p.101-110, APR 26 1996.**

BROWN, S. **The effect of applied on sunscreen protection: *in vivo* and *in vitro* studies. Photochem. Photobiol., Augusta, v.44, n.4, p.509-513, 1986.**

BRULS, W.A.G. **Optical properties of human epidermis. Utrech, 1986. p.160, Tese de Doutorado - University of Utrech.**

CAMBON, M.; ISSACHAR, N.; CASTELLI, D.; ROBERT, C. **An *in vivo* method to assess the photostability of UV filters in a sunscreen. J. Cosmet. Sci., New York, v.52, p.1-11, 2001.**

- CANADA. Health Canada: category IV monograph sunburn protectants. **Can. Environ. Health Dir., [Rep.] EHD**, Ottawa, v.4, p.1-12. Disponível em: [http://www.hcs.gc/hpbdqps/therapeutic/zfiles/english/guides/cat4/sunbupro\\_e.html](http://www.hcs.gc/hpbdqps/therapeutic/zfiles/english/guides/cat4/sunbupro_e.html). Acesso em: 8 jan. 2003.
- CANTRELL, A.; MCGARVEY, D.J. Photochemical studies of 4-tert butyl-methoxydibenzoylmethane (BM-DBM). **J. Photochem. Photobiol., B**, Lausanne, v.64, p.117-122, 2001.
- CHISVERT, A.; PASCUAL-MARTI, M.C.; SALVADOR, A. Determination of UV-filters in sunscreens by HPLC. **Fresenius' J. Anal. Chem.**, Berlin, v.369, n.7/8, p.638-641, 2001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>. Acesso em: 9 jan. 2003.
- COHEN, C.; DOSSOU, K.G.; ROUGIER, A.; ROGUET, R. EPISKIN: an *in vitro* model for the evaluation of phototoxicity and sunscreen photoprotective properties. **Toxicol. In Vitro**, Oxford, v.8, n.4, p.669-671, AUG 1994.
- DAMIANI, E.; GRECI, L.; PARSONS, R.; KNOWLAND, J. Nitroxide radicals protect DNA from damage when illuminated *in vitro* in the presence of dibenzoylmethane and a common sunscreen ingredient. **Free Radical Biol. Med.**, New York, v.26, n.7/8, p.809-816, 1998.
- DAVIS, M.; QUIGLEY, M.N. Liquid chromatographic determination of UV absorbers in sunscreens. **J. Chem. Educ.**, Washington, v.72, n.3, p.279-281, 1995.
- DEFLANDRE, A.; LA VILLE, O.; FORRESTIER, S. Photostable cosmetic composition containing a UV-A screen and a UV-B screen and a

process for stabilizing the UV-A screen with the UV-A screen whit the UV-B screen. U.S. Pat. 5.605.680,1997.

DIFLEY, B.L.; STOKES, R.B.; FORESTIER, S.; MAZILIER, C.; ROUGIER, A. Suncare product photostability: a key parameter for a more realistic *in vitro* efficacy evaluatuion. **Eur. J. Dermatol.**, Montrouge, v.7, n.3, p.226-228, 1997.

DINUNZIO, J.E.; GADDE, R. Determination of sunscreen compounds in tropical sunscreen products. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.519, n.1, p.117-124, 1990.

DROBETSKY, E.A.; TURCOTTE, J.; CHÂTEAUNEUF, A. A role for ultraviolet A in solar mutagenesis. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v.92, p.2350-2354, 1995.

DUBERTRET, L.; MORLIÈRE, M.; AVERBECK, D.; YOUNG, A.R. Phototoxic properties of perfumes containing bergamot oil on human skin: photoprotective effect if UVA and UVB sunscreens. **J. Photochem. Photobiol., B**, Lausanne, v.7, p.251-259, 1990.

DUTRA, A.E. **Filtros solares: determinação espectrofotométrica e cromatográfica.** São Paulo, 2000. 149p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

DYKES, P.J.; PEARSE, A.D. Safety consideration for dermal and transdermal formulatoions. In: WALTERS, K.A. **Dermatological and transdermal formulation.** New York: Marcel Dekker, 2002. v.119, p.511-547.

ESPINOSA, S.; BOSCH, E.; ROSES, M. Retention of ionizable compounds on HPLC.5.pH scales and the retention of acids and bases with acetonitrile-water mobile phases. **Anal. Chem.**, Columbus, v.72, p.5193-5200, 2000.

EUROPEAN COMMISSION. Enterprise Directorate-General. Directorate-General Health and Consumer Protection. **Guidelines cosmetic products: notes of guidance for testing of cosmetic ingredients for their safety evaluation.** Luxembourg, 2000. v.3, viii, 84 p

FINLAY-JONES, J.J.; JAKSIC, A.; SPENCER, L.K.; SANTUCCI, I.; HART, P.H. **Protection against UV-induced systemic immunosuppression by commercially available sunscreens.** Department of Microbiology and Infections Diseases, 1999. Disponível em: <http://www.photobiology.com>. Acesso em: 20 jan. 2003.

FRIBERG, S.E.; KAYALI, I.H.; MARGOSIAK, M.; OSBORNE, D.; WARD, A.J.I. Stratum corneum structure and transport properties In: OSBORNE, D.W.; AMANN, A.H., eds. **Topical drug delivery formulation.** Imprensa New York: Merceel Dekker, 1990. **Série:Drugs and the pharmaceutical sciences; v.42.** 420p

FUKUDA, M.; NAGUANUMA, M. The sunscreens industry in Japan: past, present and future. In: LOWE, N.J.; SHAATH, N.A., eds. **Sunscreens: development, evaluation and regulatory aspects.** New York: Marcel Dekker, 1990. p.211-233. (Cosmetic science and technology series, v.10).

GARLAND, C.F.; GARLAND, F.C.; GORHAM, E.D. Rising trend in melanoma: an hypothesis concerning sunscreen effecti. **Ann. Epidemiol.**, New York, v.3, n.1, p.103-110, 2000.

GIOLITO, I.; IONASHIRO, M. A nomenclatura em análise térmica: Parte II. **Cerâmica**, São Paulo, v.34, p.163-164, 1988.

GLAGIARDI, L.; AMATO, A.; BASILI, A.; CAVAZZUTTI, G.; TONELLI, D. Determination of sunscreen agents in cosmetics products by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.408, p.408-415, 1987.

GLAGIARDI, L.; CAVAZZUTTI, G.; MONTANARELLA, L.; TONELLI, D. Determination of sunscreen agents in cosmetics products by reversed-phase high-performance liquid chromatography: Parte II. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.464, p.428-433, 1989.

GONZENBACH, H.; HILL, T.J.; TRUSCOTT, T.J. The triplet energy levels of UVA and UVB sunscreens. **J. Photochem. Photobiol.**, B, Lausanne, v.16, p.337-379, 1992.

HAGEDORN-LEWEKE, U.; LIPPOLD, B.C. Absorption of sunscreens and other compounds through human skin *in vivo*: derivation of method to predict maximum fluxes. **Pharm. Res.**, New York, v.12, n.9, p.1355-1360, 1995.

HAGEDORN-LEWEKE, U., LIPPOLD, B.C. Accumulation of sunscreens and other compounds in keratinous substrates. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, Shannon, v.46, p.215-221, 1998.

HARBER, L.C.; LEO, V.A.; PRYSTOWSKY, J.H. Intrinsic and extrinsic photoprotection against UVB and UVA radiation. In: LOWE, N.J.; SHAATH, N.A., eds. **Sunscreens: development, evaluation and regulatory aspects**. New York: Marcel Dekker, 1990. Série:(Cosmetic science and technology, v.10), p.359-378.

- HASWELL, S.J. **Practical guide to chemometrics**. New York: Marcel Dekker, 1992. 324p.
- HIRVONEN, J.; YOGESHVAR, N.; GUY, R.H. Transdermal delivery of peptides by inthophoresis. **Nat. Biotechnol.**, Brentwood, v.14, p.1710-1713, 1996.
- IKEDA, K.; SUZUKI, S.; WATANABE, Y. Determination of sunscreen agents in cosmetic products by reversed-phase high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.482, p.240-245, 1989.
- INTERNATIONAL COSMETICS INGREDIENT. **Dictionary and handbook**. 2000, p.135, 175, 240, 243, 640.
- IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmica**, São Paulo, v.26, p.17-26, 1980.
- JANOUSEK, A. Regulatory aspects of sunscreens in Europe. In: LOWE, N.J.; SHAATH, N.A., eds. **Sunscreens: development, evaluation and regulatory aspects**. New York: Marcel Dekker, 1990. Série:(Cosmetic science and technology series, v.10), p.137-159.
- JIANG, R.; HAYDEN, C.G.; PRAKERD, R.J.; ROBERTS, M.S.; BENSON, H.A. **J. Chromatogr., Biomed. Appl.**, Amsterdam, v.682, n.1, p.137-145, 1996.
- KINNEY, J.P.; LONG, C.S.; GELLER, A.C. Índice ultravioleta: una herramienta útil. **Dermatol. Online. J.**, v.6, n.2, p.1-14, 2002.

- KLEIN, K. Sunscreen combination products: sense or nonsense? **J. Cosmet. Sci.**, New York, v.52, n.6, p.408-409, NOV-DEC 2001. (Annual Scientific Seminar, 2001).
- KLEIN, K.; STREINBERG, P. Sun products: encyclopedia of UV absorbers. **Cosmet. Toiletries**, Carol Stream, v.107, n.10, p.45-65, 1992.
- KRAEMER, K.H. Sunlight and skin cancer: another link revealed. **P.N.A.S. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, Washington, v.94, n.1, p.11-14, 1997.
- KREEPS, I.; GOLDEMBERG, R.L. Suntan preparations. In: WAGGONER, W.C., ed. **Clinical safety and efficacy testing of cosmetics**. New York: Marcel Dekker, 1990. p.241-305. (Cosmetic science and technology series, v.8).
- LI, J.; KANG, J.-X.; WU, D.-N. Determination of 4 antiseptics and 6 sunscreens agents in cosmetics products by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Sepu**, 2000, v.18, n.5, p.462-464. *apud Chem. Abstr.*, Columbus, v.133, n.24, abstr. n.133:33996e, 2000.
- LOHR, Y. A chemical perspective on the mechanisms of UV-induced skin cancer. 1997, Disponível em: <http://www.edie.cprost.sfu.ca/~rhlogan/lohr.html>. Acesso em: 8 jan. 2003.
- LORÉAL Research / LORÉAL USA Products. Photogenotoxicity in vitro: p53 accumulation in epidermis. Docket 78N-0038. setembro 2000. <http://www.lorealresearch.com>. Acesso em: 18 fev. 2002.

- MANUAL MERCK. Reacciones a la luz solar, 119. Merck Sharp & Dore de España publicações, Madrid, España, 2001. Disponível em: [http://www.msd.es/publicaciones/mmerck/MM\\_10\\_111\\_.htm](http://www.msd.es/publicaciones/mmerck/MM_10_111_.htm). Acesso em: 10 mai. 2003.
- MARIANI, E.; NEUHOFF, C.; BARGAGNA, A.; BONINA, F.; GIACCHI, M. Synthesis *in vitro* percutaneous absorption and phototoxicity of new benzylidene derivatives of 1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2] octan-6-one as potential UV sunscreens. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.161, p.65-73, 1998.
- MARCH, J. *Advanced organic chemistry: reactions, mechanisms and structure*. 3.ed. New York: John Wiley, 1985. p.202-223.
- MARTINDALE, W. *The extra pharmacopoeia. /Martindale. Edição 30th ed. /* edited by James E.F. Reynolds 30.ed. London: Pharmaceutical Press, 1993. p.2363.
- MATHENY, R.N.; LINDERMAN, M.K.O. Photodecomposition of several compounds commonly used as sunscreen agents. *J. Photochem. Photobiol., A*, Lausanne, v.80, p.417-421, 1994.
- MEIJER, J.; LODÉM, M. Stability analysis of the UV-filters using HPLC. *J. Liq. Chromatogr.*, New York, v.18, n.9, p.1821-1832, 1995.
- MENDONÇA, V.L.M. *Protetores solares de alta proteção: estabilidade física e eficácia*. São Paulo, 1998. 145p. Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.
- MERCK index. 12.ed. Withehouse Station, 1996.

- MORLIÈRE, P.; AVICE, O.; MELO, T.S.E.; DUBERTRET, L.; GIRAUD, M.; SANTUS, R. A study of the photochemical properties of some cinnamate sunscreens by steady state and laser flash photolysis. *Photochem. Photobiol. A.*, Augusta, v.36, n.4, p.395-399, 1982.
- MULLER, W. Prevention of skin cancer and sun damage. *Drug Cosmet. Ind.*, Cleveland, v.2, p.44-46, 85, 1986.
- NIGAM, S.; JUAN, A.; STUBBS, R.J.; RUTAN, S.C. Characterization of methanol-water association using multivariate curve resolution methods. *Anal. Chem.*, Columbus, v.72, p.1956-1963, 2000.
- OKEREKE, C.S.; ABDEL-RHAMAN, M.S.; FRIEDMAN, M.A. Disposition of benzophenone-3 after dermal administration in male rats. *Toxicol. Lett.*, Shannon, v.73, n.2, p.113-122, Agosto, 1994.
- OHBA, M.; NAKAMURA, K.; MATSUOKA, M. [High performance liquid chromatographic analysis of typical ultraviolet absorbers in cosmetic products]. *Yakugaku Zasshi*, Tokyo, v.111, n.9, p.542-545, setembro 1991.
- PATRAK, M. Intrinsic photoprotection in human skin. In LOWE, N.J.; SHAATH, N.A., eds. *Sunscreens: development, evaluation and regulatory aspects*. New York: Marcel Dekker, 1990. p.73-83. (Cosmetic science and technology series, v.10).
- PELLATT, S.G. Prevention of skin cancer. *Highlights Oncol. Pract.*, Canada, v.17, n.1, p.3-9, 1999.

- POTARD, G.; LAUGEL, C.; BAILLET, A.; SHAEFER, H.; MARTY, J.P. Quantitative HPLC analysis of sunscreens and caffeine during *in vitro* percutaneous penetration studies. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.189, n.2, p.248-260, 1999.
- RANATUNGA, R.P.J.; CARR, P.W. A study of the enthalpy and entropy contributions of the stationary phase in reversed-phase liquid chromatography. *Anal Chem.*, Amsterdam, v.72, p.5879-5682, 2000.
- RASTOGI, S.C.; JENSEN, G.H. Identification of UV filters in sunscreen products by HPLC-diode-array detection. *J. Chromatogr., A*, Amsterdam, v.828, p.301-316, 1998.
- RILEY, P.A. Melanin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, Oxford, v.29, n.11, p.1235-1239, 1997.
- SALKA, B. Como escoger emolientes. *Cosméticos Nuevos*, México, v.4, n.4, p.29-32, 1998.
- SANTORO, M.I.R.M.; SILVA, F.C.; KEDDOR-HACKMANN, E.R.M. Preparação e análise de emulsões com filtros UV e IV. *Cosmet. Toiletries*, Ed. Port., São Paulo, v.13, n.5, p.46-54, setembro/outubro 2001.
- SCALIA, S. Determination of sunscreen agents in cosmetic products by supercritical fluid extraction and HPLC. *J. Chromatogr., A*, Amsterdam, v.870, p.199-205, 2000.
- SCHNEIDER, P.; BRINGHEN, A.; GONZENBACH, H. Single step HPLC analysis of sunscreen products containing complex UV filter systems. *Formerly Drug Cosmet. Ind (DCI)*., Cleveland, n.77, p.32-38, 1996.

- SCHWACK, W.; RUDOLK, T. Photochemistry of dibenzoyl methane UVA filters. Part I. **J. Photochem. Photobiol., B**, Lausanne, v.28, p.229-234, 1995.
- SHAATH, N. The chemistry of sunscreens In: LOWE, N.J.; SHAATH, N.A., eds. **Sunscreens: development, evaluation and regulatory aspects**. New York: Marcel Dekker, 1990. p.211-233. (Cosmetic science and technology series, v.10).
- SIBBALD, D. Drug induced skin reactions. **pharmacy connects. Can. J. Dermatol.**, Canada, v.10, p.1-11, 1996.
- SMITH, E.W.; MAIBACH, H.I.; SURBER. C. Use of emulsion as topic drug delivery systems. In: NIELLOUND, F.; MARTI-MESTRES, G. **Pharmaceutical emulsions and suspensions**. New York: Merceel Dekker, 2000. p.259-270. (Drugs and the pharmaceutical sciences, v.105).
- STEINER, D. A cosmética e dermatologia. **Cosmet. Toiletries, Ed. Port.**, São Paulo, v.7, n.11/12, p.28-29, 1996.
- STEINER, D. Envelhecimento cutâneo. **Cosmet. Toiletries, Ed. Port.**, São Paulo, v.9, n.3/4, p.30-33, 1997.
- SWARTZ, M.E.; KRULL, I.S. Validação de métodos cromatográficos. **Pharm. Technol.**, Eugene, p.12-22, 1998.

- TAN, H.S.; SIH, R.; MOSELEY, S.E.; LCHTIN, J.L. Assay of mixtures of padimate-O and oxybenzone in sunscreens formulations by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, Amsterdam, v.291, p.275-282, 1984.
- THOMSON, S.C.; JOLLEY, D.; MARKS, R. Reduction of solar keratoes by regular sunscreens use. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v.329, p.1147-1151, 1993.
- TREFFEL, P.; GABARD, B. Skin penetration and sun protection factor of ultra-violet filter from two vehicles. *Pharm. Res.*, New York, v.13, n.5, p.770-774, 1996.
- UNITED STATES. Food and Drugs Administration. Sunscreen drug products for over the counter human use: final monograph. 21, CFR parts 310, 352, 700, 740. *FDA By-Lines*, Washington, v.64, n.98, 1999a. Disponível em: <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/98fr/022699.txt>. Acesso em: 10 jan. 2003.
- UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. BAGO LABORATORIOS-FDA. BagoVit solar: the sunscreen drugs products for Over-The-Counter human use. *FDA By-Lines*, p.1-5, mai 1999b. Disponível em: <http://www.fda.gov>. Acesso em: 10 jan. 2002.
- UNITED STATES. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Sunscreens, tanning products and sun safety. 2000.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. THOMSON, L. Trying to look SUNsational? Complexity persists in using: sunscreens. *FDA Consum.*, Washington, p.1-7, 2002a. Disponível em: <http://www.fda.gov> Acesso em: 11 maio.2003.

UNITED STATES. Cosmetic Ingredient Review. **Safety assessment of benzaldehyde. final report of the Cosmetic Ingredient review priorities.** In: *Cosmetics and Toiletry & Fragranced America and U.S. Food and Drug Administration.*, Washington, September 11, 2002. p.21.

UNITED STATES. National Aeronautics and Space Flight Center. NASA. TOMS. Earth Probe Total Ozone Mapping Spectrometer. Disponível em: <http://toms.gsfc.nasa.gov>. Acesso em: 31 mar. 2003.

UNITED States Pharmacopeia: USP 24. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 1999. p.2149-2151.

VANDER LEUN, J.C. UV radiation from sunlight: summary, conclusions and recommendations. *J. Photochem. Photobiol.*, B, Lausanne, v.35, p.237-244, 1996.

VANQUERP, V.; RODRIGUEZ, C.; COIFFARD, C.; COIFFARD, L.J.; DE ROECK-HOLTZHAUER, Y. High-performance liquid chromatographic method for the coparison of the photostability of five sunscreens agents. *J. Chromatogr.*, A, Amsterdam, v.832, n.1/2, p.273-277, 1999.

- VENDER HEYDEN, I.; SIRIPORN, K.; SMEYERS-VERBEKE, J.; LUCMASSAT, D. Supersaturated designs for robustness testing. *Anal. Chem.*, Columbus, v.72, p.2869-2874, 2000.
- VIAL, J.; JARDY, A. Experimental comparison of the different approaches to estimate LOD and LOQ of an HPLC method. *Anal. Chem.*, Columbus, v.71, p.2672-2677, 1999.
- WALTERS, K.A. Percutaneous penetration of octyl salicylate from representative sunscreen formulations through human skin in vitro. *Food Chem. Toxicol.*, Oxford, v.35, p.1219-1225, 1997.
- WALTERS, K.A.; ROBERTS, M.S. The structure and function of skin. In: WALTERS, K.A. *Dermatological and transdermal formulation*. New York: Marcel Dekker, 2002. v.119, p.1-39.
- WANG, S.P.; CHEN, W.J. Determination of p-aminobenzoates and cinnamate in matrix by supercritical fluid extraction and micellar by supercritical fluid extraction and micellar electrokinetic capillary chromatography. *Anal. Chem.*, Columbus, v.416, p.157-167, 2000.
- WASTERN ANALYTICAL PRODUCTS. Sunscreens. United States US Pat.155-715, 1997. 4p.
- WEED, D.H. Una aproximación estadística integrada a la validación del método analítico. *Pharm. Technol.*, Eugene, v.4, n.1, p.10-19, 2000.
- WEINSTOCK, M.A.; STANPFER, M.J.; LEW, R.A.; WILLETT, W.C.; SOBER, A.J. Case control study of melanoma and dietary vitamin D: implications for advocacy of sun protection and sunscreen use. *J. Invest Dermatol.*, Malden, v.98, n.5, p.809-811, 1992.

WERNIMONT, G.T.; SPENDLEY, W. **Use of statistics to develop and evaluate analytical methods**. eds. Arlington: SPENDLEY, W 1985, Association of Official Analytical Chemists., p.38-51.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Office of Global and Integrated Environmental Health. Health and Environmental Effects of Ultraviolet. Intersun Radiation: The global UV project. Genova: World Health Organization, 1995. p.1-8. (WHO/EHG/95, 16). Disponível em: . : <http://www.who.org>..Acesso em:19 jan 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CANCER PREVENTIVE AGENTS; e IARC INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER **Sunscreens**. Lyon: Cary, N.C.: Oxford University Press p.193 *Série* (IARC Hanbook of cancer prevention,). 1027-5622 ;.2001

WORLD HUMAN ORGANIZATION. **Solar radiation and human health**. Genova: WHO Press, 1999. p.1-4.

YAMAMOTO, S.; KANDA, M.; YOKOUCHI, M.; TAHARA, S. Simultaneous determination of multiple additives in cosmetics by HPLC. *J. Chromatogr., Amsterdam*, v.370, n.1/2, p.179-187, 1986.

YAO, X.; ZHENG, X.; QIN, X.; QI, Q. Determination of sunscreen agents in cosmetic products by reversed-phase HPLC. *Sepu*, Beijing, v.16, n.3, p.223-225, 1998.

YING, S.; FU-CHOU, C. Determination of sunscreen agents in cosmetic products using microwave-assisted extraction and HPLC. *J. Chromatogr., A*, Amsterdam, v.876, p.243-246, 2000.