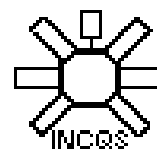


Ministério da Saúde  
FIOCRUZ



**SÔNIA RIBEIRO DORIA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS PRODUTOS COSMÉTICOS,  
PROTETORES SOLARES, EM USO NO BRASIL.**

**PGVS/INCQS  
FIOCRUZ  
2008**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS PRODUTOS COSMÉTICOS,  
PROTETORES SOLARES, EM USO NO BRASIL.**

**SÔNIA RIBEIRO DORIA**

**Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária  
Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde  
Fundação Oswaldo Cruz**

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Therezinha Coelho Barbosa Tomassini.**

**Rio de Janeiro  
2008**

# **AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS PRODUTOS COSMÉTICOS, PROTETORES, SOLARES EM USO NO BRASIL.**

**SÔNIA RIBEIRO DORIA**

Tese submetida à Comissão Examinadora composta pelo corpo docente do Programa de Pós - Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz e por Professores convidados de outras instituições, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Vigilância Sanitária.

Aprovada:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Therezinha C.B. Tomassini. (1º membro/ presidente)  
FARMANGUINHOS / FIOCRUZ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maritse Gerth Silveira (2º membro)  
ANVISA / FIOCRUZ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Helena Pereira da Silva Zamith. (3º membro)  
INCQS / FIOCRUZ

**RIO DE JANEIRO  
2008**

Doria, Sônia Ribeiro

Avaliação da qualidade dos produtos cosméticos,  
protetores solares, em uso no Brasil/ Sônia Ribeiro Doria.  
Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2008.

117 p., il., tab.

Tese(Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto  
Nacional de Controle da Qualidade em Saúde, Programa de  
Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Rio de Janeiro, 2008.  
Orientador: Therezinha Coelho Barbosa Tomassini.

1. Protetores de raios solares. 2. Cosméticos. 3. Controle  
de qualidade. 4. Vigilância sanitária. I. Título.

The Quality Control of Cosmetic Products, Sunscreens used in Brazil

## **AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS**

Ao Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde.

Ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde da FIOCRUZ.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

## **AGRADECIMENTOS PESSOAIS**

Á Deus, agradeço por ter me guiado em todos os momentos da minha vida e, principalmente, por me dar forças, para continuar caminhando.

Aos meus pais, irmãos, sobrinhos e cunhados, com todo o meu carinho.

Á minha querida orientadora Professora Dra Therezinha Coelho Barbosa Tomassini, pela orientação, paciência e, principalmente pelas palavras de estímulo, fundamentais para a conclusão desse trabalho de tese.

Aos membros da comissão examinadora, por aceitarem participar da banca.

À Mariete Ferreira Lemos, chefe de Setor de medicamentos, agradeço pelo apoio.

Aos meus amigos André Mazzei, José Luiz e Kátia Miriam pelo apoio, sugestões e presteza em atender as minhas solicitações, contribuindo para a qualidade deste trabalho.

Às amigas Mara e Kátia Cristina pela grande amizade.

Aos amigos do grupo de Saneantes e Cosméticos, Leonardo, Adriana, Paulo e Tadeu, pela amizade, dicas de informática e pelos momentos descontraídos.

Aos amigos do Departamento de Química do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, agradeço, pelo enorme carinho e incentivo, em todos os momentos.

A Farmacêtica Layla Correa Oliveira por ter disponibilizado os protetores solares e o estabelecimento comercial para a realização das análises das rotulagens dos protetores solares.

À Médico-Veterinária Eloísa Nunes Alves pela elaboração do roteiro de inspeção empregado para a coleta de dados.

Ao Professor Armando Meyer pela análise dados no programa estatístico SPSS.

Aos funcionários da Biblioteca e das Secretarias do INCQS pela atenção.

Em especial, aos meus filhos, Vitor e Clara com todo o meu amor.

*"O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,  
mas na intensidade com que elas acontecem.  
Por isso existem momentos inesquecíveis,  
Coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis".*

Fernando Pessoa

**Dedico este trabalho tese ao meu querido Nilo Duarte Doria, *in memoriam*, que sempre trabalhou com dedicação, visando à melhoria da Saúde em nosso País.**



## RESUMO

O câncer de pele é o mais freqüente entre os tumores diagnosticados, considerado atualmente um grave problema de saúde pública. Responsável por importantes seqüelas decorrentes de intervenções cirúrgicas que geralmente levam a mutilações e até mesmo a morte, quando não são diagnosticados precocemente. A exposição à radiação solar, cujos danos são cumulativos, é um dos principais fatores de risco para o seu desenvolvimento, portanto, a busca por uma fotoproteção efetiva torna-se, desta forma, prioridade para diminuir os riscos à saúde.

Considerando as ações da Vigilância Sanitária de proteção à saúde da população, fica evidente a necessidade de melhor entender a eficácia e a segurança dos protetores solares, avaliando a qualidade destes produtos em uso no Brasil.

Para verificar, com base nas legislações vigentes, se os limites estabelecidos estão sendo observados, foi desenvolvida e otimizada metodologia analítica para a determinação dos teores dos principais princípios ativos presentes nas formulações que permitiu quantificar a benzofenona-3, o octil metoxicinamato, e o octil salicilato simultaneamente. Através dos parâmetros desenvolvidos para a otimização, a metodologia evidenciou-se adequada para a finalidade pretendida.

Experimentos realizados para avaliar a estabilidade fotoquímica dos princípios ativos presentes nos protetores solares demonstraram que o octil metoxicinamato, um dos princípios ativos mais utilizados, foi degradado quando exposto a radiação em apenas 30 segundos de exposição, transformando-se em uma nova substância. Ela foi isolada e identificada como o isômero Z do octil metoxicinamato.

A rotulagem dos protetores solares é parte integrante do produto, fazendo parte da qualidade. Através de um estudo seccional foram verificadas as informações contidas nas rotulagens dos protetores solares mais comercializados no Brasil, de acordo com as legislações vigentes e por meio de uma análise crítica, avaliadas se estas orientam o consumidor quanto à escolha e uso adequado do produto. O estudo demonstrou que 76% dos produtos analisados não cumpriam os requisitos técnicos estabelecidos pelas legislações e os dizeres contidos nas rotulagens não eram suficientes nem adequados para orientar o consumidor de modo a obter a proteção solar necessária.

## Abstract

Regarding to Health Surveillance actions concerning to protect health population, it is to understand the correct mechanism of sunscreens action and if they are efficient and secure. The present work looked for the evaluation of the quality of such products used in Brazil.

To check the sunscreen quality according to Brazilian legislation procedures, in effect, if they are in agreement to Health Surveillance parameters and topics, the present work optimized the method and developed a new methodology involving calculation of quantities of the active ingredients such as : benzophenone-3 , octyl-methoxycinnamate and octyl-salicylate. The applied methodology show to be proper, and accomplished their main aim. Experiments performed to evaluate the active ingredients (substances) photostability in the sunscreen products reveal that the octyl-methoxycinnamate, most used substance in sunscreen products, was degraded , after 30 seconds under exposition, changing to a new substance, isolated, purified and identified in our laboratory as the Z isomer. The sunscreen label , side by side, with other items must be analysed and controlled to infer the plain quality of the consumed product.

A sectional study, done by our group ,was applied to check the informations declared on sunscreen label of those with large use in Brazil. They were assayed to verified if they were in agreement with legislation procedures.

Doing a critical analyses it was observed that the sunscreen label gave a perfect orientation to the costumers to find out the best one and if they point out for the correct use.

This study proved that 76% of the analysed product did not obey and followed the technical requirements proposed by the legislation.

The labels did not offer proper, secure and enough orientation to the user, and by those reasons they could not feel properly protect from sun radiations.

## SUMÁRIO

1.0)	INTRODUÇÃO	19
1.1)	VIGILÂNCIA SANITÁRIA	19
1.2)	INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE	21
1.3)	CÂNCER DE PELE	22
1.4)	RADIAÇÃO SOLAR	28
1.5)	EVIDÊNCIAS DOS EFEITOS CARCINOGENÉTICOS DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA ( RUV)	31
1.6)	PROTETOR SOLAR	33
2.0)	OBJETIVO GERAL	41
2.1)	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
3.0)	METODOLOGIA	41
3.1)	EQUIPAMENTOS	41
3.2)	REAGENTES E MATERIAIS	44
3.3)	PADRÕES E MATERIAIS DE REFERÊNCIA	45
3.4)	PROTETORES SOLARES UTILIZADOS	45
3.5)	IDENTIFICAÇÃO DOS PROTETORES SOLARES MAIS UTILIZADOS NO BRASIL E SEUS RESPECTIVOS PRINCÍPIOS ATIVOS	47
	PARTE I – MÉTODO PARA ANÁLISE DE ATIVOS DA FORMULAÇÃO	48
3.6)	DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA ANÁLISE QUANTITATIVA	49
3.6.1)	PREPARO DAS AMOSTRAS DE PROTETORES SOLARES	49
3.6.2)	SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DO OCTIL METOXICINAMATO E DO SALICILATO DE OCTILA	51
3.6.3)	EXPERIMENTO PARA DETERMINAR A FAIXA DE CONCENTRAÇÃO	52
3.6.4)	DETERMINAÇÃO DA FAIXA LINEAR DE RESPOSTA	52
3.6.5)	OTIMIZAÇÃO METODOLÓGICA	53
3.6.5.1)	CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	53
3.6.5.2)	CUIDADOS E MONITORAMENTO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	54
3.6.6)	ADEQUAÇÃO DO SISTEMA	54
3.6.7)	DETERMINAÇÃO DA SELETIVIDADE	55
3.6.8)	DETERMINAÇÃO DA FAIXA LINEAR DE TRABALHO	55
3.6.9)	DETERMINAÇÃO DA LINEARIDADE	55
3.6.9.1)	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	55
3.6.9.2)	PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE (SE) DA BENZOFENONA-3	56
3.6.9.3)	PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE (SE) DE OCTILMETOXICINAMATO	57
3.6.9.4)	PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE (SE) DE SALICILATO DE OCTILA	57

3.6.9.5)	PREPARO DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO DA BENZOFENONA-3; OCTIL METOXICINAMATO E SALICILATO DE OCTILA	58
3.6.10)	DETERMINAÇÃO DA EXATIDÃO	59
3.6.10.1)	PREPARO DAS SOLUÇÕES ESTOQUE (SE) DOS ANALITOS	59
3.6.10.2)	PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE DO PROTETOR SOLAR G-FPS 30 (SEP)	59
3.6.10.3)	PREPARO DAS SOLUÇÕES DE TRABALHO DA ADIÇÃO PADRÃO DOS ANALITOS À SOLUÇÃO ORIGINADA DO PROTETOR SOLAR G-FPS 30.	60
3.7)	DOSEAMENTO DOS ATIVOS NO PROTETOR SOLAR G - FPS 30	60
4.0)	RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE I	62
4.1)	RESULTADOS DA ADEQUAÇÃO DO SISTEMA	62
4.2)	RESULTADOS DA SELETIVIDADE PARA A BENZOFENONA-3, OCTIL METOXICINAMATO E OCTIL SALICILATO.	63
4.3)	RESULTADO DA AVALIAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA DA BENZOFENONA-3	69
4.4)	AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DA CURVA ANALÍTICA DA BENZOFENONA-3	69
4.5)	RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA DO OCTIL METOXICINAMATO	71
4.6)	AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DA CURVA ANALÍTICA DO OCTIL METOXICINAMATO	71
4.7)	RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA DO OCTIL SALICILATO	73
4.8)	AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DA CURVA ANALÍTICA DO OCTIL SALICILATO	73
4.9)	DETERMINAÇÃO DA EXATIDÃO DA BENZOFENONA –3	75
4.10)	DETERMINAÇÃO DA EXATIDÃO DO OCTIL METOXICINAMATO	76
4.11)	DETERMINAÇÃO DA EXATIDÃO DO OCTIL SALICILATO	77
4.12)	DETERMINAÇÃO DOS TEORES NA AMOSTRA DO PROTETOR SOLAR G- FPS 30.	78
	PARTE II – ESTUDO DA FOTODEGRADAÇÃO	79
5.0)	ANALISE E AVALIAÇÃO DA FOTODEGRADAÇÃO DOS PROTETORES SOLARES	80
5.1)	EXPERIMENTO PARA AVALIAR A POSSÍVEL FOTODEGRADAÇÃO DOS PROTETORES SOLARES, COMERCIALIZADOS NO BRASIL.	82
5.2)	IRRADIAÇÃO AO SOL	82
5.3)	EXPERIMENTO VARIANDO O TEMPO DE IRRADIAÇÃO	83
5.4)	SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DO PRODUTO DE FOTODEGRADAÇÃO	83
5.5)	EXPERIMENTO COM DETECTOR DE DIODE ARRAY	83
5.6)	EXPERIMENTO DE FOTODEGRADAÇÃO COM OS PRINCÍPIOS ATIVOS	83
5.7)	PRODUTOS FPS 30 DE FABRICANTES DIFERENTES	84
5.8)	EXPERIMENTO PARA ACOMPANHAR A FOTODEGRADAÇÃO DO OMC QUANTITATIVAMENTE	84
5.9)	EXPERIMENTO PARA ISOLAR E IDENTIFICAR O PRODUTO DA FOTODEGRADAÇÃO	85

6.0)	RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE II	86
6.1)	EXPERIMENTO PARA AVALIAR A POSSÍVEL FOTODEGRADAÇÃO DOS PROTETORES SOLARES, COMERCIALIZADOS NO BRASIL.	86
6.2)	IRRADIAÇÃO AO SOL	86
6.3)	EXPERIMENTO VARIANDO O TEMPO DE IRRADIAÇÃO	87
6.4)	SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DO PRODUTO DE FOTODEGRADAÇÃO	88
6.5)	EXPERIMENTO COM DIODE ARRAY	88
6.6)	EXPERIMENTO DE FOTODEGRADAÇÃO COM OS PRINCÍPIOS ATIVOS ISOLADOS	93
6.7)	EXPERIMENTO PARA ACOMPANHAR A FOTODEGRADAÇÃO DO OMC QUANTITATIVAMENTE	94
6.8)	EXPERIMENTO PARA ISOLAR E IDENTIFICAR O PRODUTO DA FOTODEGRADAÇÃO	99
	PARTE III – ESTUDO DAS ROTULAGENS	106
7.0)	AVALIAÇÃO DAS INFORMAÇÕES CONTIDAS NAS ROTULAGENS DOS PROTETORES SOLARES MAIS COMERCIALIZADOS NO BRASIL	107
8.0)	MÉTODOS EMPREGADOS	107
9.0)	RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE III	111
10.0)	CONCLUSÕES	113
11.0)	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Foto de carcinoma basocelular	26
Figura 2	Foto de carcinoma espinocelular	27
Figura 3	Foto do carcinoma melanoma	27
Figura 4	Espectro da Radiação Eletromagnética	28
Figura 5	Cromatógrafo líquido (Shimadzu), utilizado para o desenvolvimento da metodologia	42
Figura 6	Cromatógrafo líquido ( Shimadzu), usado em todos os requisitos da otimização do método.	43
Figura 7	Simulador solar utilizado nos experimentos de fotodegradação	44
Figura 8	Cromatograma do protetor solar FPS 20	50
Figura 9	Cromatograma de produto contendo benzofenona-3, octil metoxicinamato e salicilato de octila	51
Figura 10	Curva de calibração do octil metoxicinamato	53
Figura 11	Cromatograma do diluente utilizado (metanol)	62
Figura 12	Separação da benzofenona-3 (5,62 min), do octil metoxicinamato (19,49 min) e do octil salicilato (22,58 min).	62
Figura 13	Sinais cromatográficos da benzofenona-3 (5,72 min), do octil metoxicinamato (20,22 min) e do octil salicilato (23,22 min).	64
Figura 14	Espectros de varredura no ultravioleta antes do sinal (4,81min) e no sinal da benzofenona-3 (5,72 min).	64
Figura 15	Espectros de varredura no ultravioleta antes do sinal (19,15min) e no sinal do octil metoxicinamato (20,22 min).	65
Figura 16	Espectros de varredura no ultravioleta antes do sinal (22,71 min) e no sinal do octil salicilato (23,37 min).	65
Figura 17	Sinal cromatográfico da benzofenona-3 (5,72 min) padrão.	66
Figura 18	Espectro de varredura no ultravioleta do padrão benzofenona-3.	66
Figura 19	Sinal cromatográfico do octil metoxicinamato (20,22 min) padrão.	67
Figura 20	Espectro de varredura no ultravioleta do padrão do octil metoxicinamato.	67
Figura 21	Sinal cromatográfico do octil salicilato (23,22 min) padrão.	68
Figura 22	Espectro de varredura no ultravioleta do padrão do octil salicilato.	68
Figura 23	(a) E-octil metoxicinamato e (b) Z-octil metoxicinamato	81
Figura 24	Fotodegradação do octil metoxicinamato – (a) antes de irradiar e (b) e (c) após	81
Figura 25	Cromatogramas do protetor solar D-FPS 20 sem irradiar e após 30 minutos de irradiação	86
Figura 26	Cromatograma do protetor solar F - FPS 30 irradiado ao sol por 30 minutos	87
Figura 27	Cromatograma do protetor solar E-FPS 30 irradiado por 40 minutos.	87
Figura 28	Separação cromatográfica de produto fotodegradado.	88
Figura 29	protetor solar D-FPS 20 - não irradiado	89
Figura 30	protetor solar D-FPS 20 - não irradiado	90

Figura 31	Protetor solar D-FPS 20 – irradiado	91
Figura 32	Protetor solar D- FPS 20 – irradiado	92
Figura 33	Salicilato de octila – irradiado e não irradiado.	93
Figura 34	Octil metoxicinamato – irradiado e não irradiado	93
Figura 35	Octil metoxicinamato – irradiado por 30 segundos.	94
Figura 36	Octil metoxicinamato – irradiado por 5 minutos.	95
Figura 37	Octil metoxicinamato – irradiado por 10 minutos.	95
Figura 38	Octil metoxicinamato – irradiado por 30 minutos.	96
Figura 39	Octil metoxicinamato – irradia por 1 hora.	96
Figura 40	Octil metoxicinamato – irradiado ao Sol por 1 minuto.	97
Figura 41	Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN do isômero E-octil metoxicinamato.	99
Figura 42	Espectro de $^1\text{H}$ RMN do isômero E-octil metoxicinamato.	100
Figura 43	Espectro expandido de $^1\text{H}$ RMN do isômero E-octil metoxicinamato.	101
Figura 44	Espectro de $^{13}\text{C}$ RMN do isômero Z-octil metoxicinamato.	102
Figura 45	Espectro de $^1\text{H}$ RMN do isômero Z-octil metoxicinamato.	103
Figura 46	Espectro expandido de $^1\text{H}$ RMN do isômero Z-octil metoxicinamato.	104
Figura 47	Instrumento para coleta dos dados	108

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Tempo de irradiação x concentração do octil metoxicinamato	98
Gráfico 2	Percentual dos protetores solares por fabricante	112
Gráfico 3	Percentual dos protetores solares por FPS	112



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1	Fototipos cutâneos	24
Tabela 2	Relação entre o efeito do comprimento de onda e a resposta deletéria à luz solar.	31
Tabela 3	Resumo das observações históricas sobre o câncer de pele	32
Tabela 4	Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos	37
Tabela 5	Quadro dos volumes tomados das soluções estoques e às concentrações das soluções de trabalho da benzofenona-3	58
Tabela 6	Quadro dos volumes tomados das soluções estoques e às concentrações das soluções de trabalho do octil metoxicinamato	58
Tabela 7	Quadro dos volumes tomados das soluções estoques e às concentrações das soluções de trabalho do salicilato de octila	58
Tabela 8	Quadro dos volumes (mL) tomados da SE dos analitos sobre um nível básico da solução do protetor solar G-FPS 30	60
Tabela 9	Parâmetros cromatográficos analisados para a adequação do sistema	63
Tabela 10	Concentrações das soluções para cada nível das curvas de calibração (C.A)	69
Tabela 11	Curva analítica da benzofenona-3	70
Tabela 12	Concentrações das soluções para cada nível das curvas de calibração (C.A)	71
Tabela 13	Curva analítica do OMC	72
Tabela 14	Concentrações das soluções para cada nível das curvas de analíticas(C.A).	73
Tabela 15	Curva analítica do Octil salicilato	74
Tabela 16	Áreas medidas após injeção das soluções de trabalho de adição padrão da benzofenona-3	75
Tabela 17	Áreas medidas após injeção das soluções de trabalho de adição padrão do octil metoxicinamato.	76
Tabela 18	Áreas medidas após injeção das soluções de trabalho de adição padrão do octil salicilato	77
Tabela 19	Recuperação dos analitos, calculada a partir das curvas de adição padrão da benzofenona-3, octil metoxicinamato e do octil salicilato em um produto de fotoproteção.	77
Tabela 20	Teores dos princípios ativos benzofenona-3, octil metoxicinamato e salicilato de octila encontrados na análise da amostra do protetor solar G-FPS 30 e os declarados na rotulagem	78
Tabela 21	Comparação dos deslocamentos químicos dos espectros de $^{13}\text{C}$ RMN dos isômeros E e Z com os dados da literatura	105

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABHIPEC – Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Comércio.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BENZ – Benzofenona-3.

CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência.

COLIPA – The Scientific Committee on Cosmetology of the European Union.

DME – Dose mínima eritematosa.

FDA – Food and Drug Administration.

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz.

FPS – Fator de proteção solar.

IC – Intervalo de confiança.

INCA – Instituto Nacional do Câncer.

INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde.

LCCDMA – Laboratório Central de Controle Drogas, Medicamentos e Alimentos.

MMQO – Método dos mínimos quadrados ordinários.

OMC – Octil metoxicinamato.

OPAS – Organização Panamericana de Saúde.

OS – Octil salicilato.

USP – Farmacopéia Americana.

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada.

<sup>1</sup>H RMN – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio.

<sup>13</sup>C RMN – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono.

RUV – Radiação Ultravioleta.

SUS – Sistema Único de Saúde.

UV \_ Ultravioleta.

WHO – Organização Mundial da Saúde.

# **1) INTRODUÇÃO**

## **1.1) VIGILÂNCIA SANITÁRIA.**

Tecnicamente compreendida como a área da saúde pública, dentro do Sistema Único de Saúde (SUS) que trata das diversas formas de ameaça à saúde, oriunda de produtos, insumos e serviços relacionados com a saúde, com o meio ambiente, com ambiente de trabalho e com a circulação de transportes, cargas e pessoas.

De natureza eminentemente preventiva está fundamentada no conceito de risco, atuando tipicamente mais no processo produtivo. A Vigilância Sanitária vai agir antes do agravo à saúde, identificando condições que representem risco, com o objetivo de proteger à saúde da população.<sup>1</sup>

Definida pela Lei n 8.080, chamada Lei Orgânica da Saúde, a Vigilância Sanitária se insere na área de promoção da Saúde, envolvendo práticas e conhecimentos os mais distintos. Esse conceito denota a sua enorme abrangência, reforçando a necessidade de ações articuladas com as demais Vigilâncias: Epidemiológica, Ambiental e Saúde do Trabalhador, na construção de métodos e instrumentos de intervenção na política e gestão da Saúde no Brasil.

O conceito de promoção da saúde foi formulado na I Conferência Internacional sobre Promoção da Saúde realizada no Canadá em 1986 e registrada no documento denominado Carta de Ottawa: “A promoção da saúde consiste em proporcionar aos povos os meios necessários para melhorar sua saúde e exercer um maior controle sobre a mesma. Para alcançar um estado adequado de bem estar físico, mental e social, um grupo deve ser capaz de identificar e realizar suas aspirações, satisfazer suas necessidades e mudar ou adaptar-se ao meio ambiente”.

A Carta destaca as implicações de uma participação ativa na promoção da Saúde. Os pontos principais passam a serem nomeados como estratégias de ação da promoção da Saúde:

a elaboração de uma política pública sadia, criação de ambientes favoráveis, reforço da ação comunitária, desenvolvimento de aptidões pessoais, a reorganização dos serviços sanitários, passando de enunciados à agenda política da Saúde.

As quatro importantes conferências internacionais sobre promoção da saúde: Ottawa (WHO, 1986), Adelaide (WHO, 1988), Sundsvall (WHO, 1991) e Jacarta (WHO, 1997) desenvolveram as bases conceituais e políticas da promoção da saúde. No contexto sub-regional da América, realizou-se a Conferência Internacional da Promoção da Saúde (OPAS, 1992).<sup>2</sup>

No Brasil a grande diversidade e especificidade local, a má distribuição de renda, o analfabetismo, o baixo grau de escolaridade, as precárias condições de habitação e ambiente determinam condições de vida e saúde altamente heterogêneas que constituem um fator fundamental a ser considerado na formulação destas políticas.

O direito a saúde está explicitado na Constituição Federal de 1988 que a define como direito de todos e dever do Estado e define também os princípios e diretrizes legais do SUS, regulamentados na Lei Orgânica da Saúde (Leis nº 8.080 e nº 8.142/90), onde reafirmam o dever de garantir a saúde como direito universal e fundamental do ser humano.

A cada quatro anos, os representantes do governo, a sociedade, a comunidade científica, os trabalhadores e os prestadores de serviços em saúde se reúnem em uma conferência nacional a fim de avaliar e traçar novos rumos para a saúde pública no Brasil.

A 12ª Conferência Nacional de Saúde Brasileira teve como principal tema “Saúde um direito de todos e dever do Estado – a Saúde que temos e o SUS que queremos” onde foi discutido, numa abordagem ampla dos princípios e diretrizes relevantes para a construção do Sistema Único de Saúde.

A 13ª Conferência Nacional de Saúde (novembro de 2007), terá como tema central “Saúde e Qualidade de Vida: Política de Estado e Desenvolvimento” que será subdividido em três eixos de discussão:<sup>3</sup>

- Desafios para a efetivação do direito humano à Saúde no século XXI: Estado, sociedade e padrões de desenvolvimento;
- Políticas públicas para a Saúde e qualidade de vida: o SUS na Seguridade Social.
- A participação da sociedade na efetivação do direito humano à Saúde.

O Brasil está entrando em um novo momento marcado pela democracia, a sociedade começa a se organizar favorecendo o controle social. A Saúde conta com instrumentos democráticos legitimados pelos princípios constitucionais e por leis que os regulamentam: os Conselhos de Saúde e as Conferências Nacionais de Saúde, ambos com composição paritária de representantes do Governo, dos prestadores de Serviço e da população com o objetivo de avaliar as políticas e a gestão da Saúde, propondo encaminhamentos e diretrizes aos governos.

Estratégias promocionais como políticas públicas saudáveis, efetiva articulação intersetorial do Poder Público e a mobilização da população irão contribuir para a qualidade de vida de indivíduos e populações, tais estratégias se concretizarão, através de seus próprios fundamentos e práticas.

## **1.2) INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE**

O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), é uma unidade da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) que atua com a Vigilância Sanitária como referência nacional para as questões tecnológicas e normativas relativas ao controle da qualidade de produtos, insumos, ambientes e serviços, no contexto do SUS.

Criado a partir do Laboratório Central de Controle de Drogas, Medicamentos e Alimentos (LCCDMA), foi inaugurado em 4 de setembro 1981.

Com a criação da ANVISA, em 1999, o INCQS passou a ser referência nas ações científicas e tecnológicas relativas ao controle da qualidade de produtos sujeitos à Vigilância Sanitária. Coordenando com a Gerência Geral de Laboratórios de Saúde Pública, a Rede

Nacional de Laboratórios Oficiais de Controle da Qualidade em Saúde, formada pelos 27 Laboratórios Centrais dos estados.<sup>1 e 4</sup>

São atividades do INCQS, dentre outras:

- Execução de análises laboratoriais previstas na legislação sanitária ou por demanda de Órgãos do SUS, em suporte aos programas oficiais de saúde;
- Emissão de pareceres técnicos sobre questões técnico-científicas relacionadas à Vigilância Sanitária;
- Elaboração de normas técnicas e procedimentos operacionais padronizados;
- Inspeção e avaliação de indústrias e laboratórios em conjunto com a ANVISA, com as Vigilâncias Sanitárias Estaduais e Municipais e com o INMETRO;
- Avaliação técnica e pareceres sobre a petição de registros de produtos no Ministério da Saúde;
- Desenvolvimento e implantação de metodologias analíticas;
- Distribuição de materiais de referência químicos e biológicos;
- Qualificação de recursos humanos, através de cursos, treinamentos e seminários;
- Atuação na elaboração de legislação sanitária.

### **1.3) CÂNCER DE PELE**

O câncer mais freqüente em todo o mundo é o de pele, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), no Brasil, ele corresponde a 25% de todos os tumores malignos registrados. São responsáveis por importantes seqüelas decorrentes de intervenções cirúrgicas que

geralmente levam a mutilações nos casos dos carcinomas basocelulares e espinocelulares, bem como elevada mortalidade nos melanomas.

Câncer de pele é o crescimento anormal e descontrolado das células que compõem a pele. A pele é um tecido em que as células se dispõem formando camadas e, dependendo da camada afetada, tem-se os diferentes tipos de câncer.

Os carcinomas basocelulares são os mais freqüentes, representam 70% dos casos. São originários da epiderme e dos apêndices cutâneos acima da camada basal, sendo diagnosticado através de uma lesão (ferida ou nódulo) com uma evolução lenta. É mais comum após os 40 anos, em pessoas de pele clara. Seu surgimento está diretamente ligado à exposição solar acumulativa durante a vida. Apesar de não causar metástase, pode destruir os tecidos à sua volta, atingindo até cartilagens e ossos.

Os carcinomas espinocelulares são o segundo tipo mais comum (25%), têm origem no queratinócio da epiderme, podendo surgir no epitélio escamoso das mucosas, também surge por meio de uma ferida, porém, com evolução rápida, apresentando secreção e coceira. Pode se disseminar por meio de gânglios e provocar metástase. Entre suas causas, está a exposição prolongada ao sol, principalmente sem a proteção adequada, tabagismo, exposição a substâncias químicas como arsênio e alcatrão e alterações na imunidade.

O melanoma é o menos freqüente, representa 5% dos tumores diagnosticados, porém sua letalidade é mais elevada, tem um alto potencial de produzir metástase podendo levar à morte se não houver diagnóstico e tratamento precoce. Têm origem nos melanócitos, células que produzem a melanina, substância que determina a cor da pele. Pode surgir a partir da pele normal ou de uma lesão pigmentada.<sup>5 e 6</sup>

Em estudo de caso controle realizado com pacientes do sul do Brasil, Bakos et al, encontraram risco relativo para melanoma de 2,7 (IC 95% 1,3 – 5,6) em pacientes com fototipos I e II quando comparados à pacientes com fototipos III e IV (Tabela 1). O mesmo estudo mostrou que a cor dos cabelos e a cor dos olhos não são fatores de risco independentes para o melanoma. Foi demonstrado também que o número de nevos ( $\geq 30$ ) e a presença de nevos displásicos constituem um fator de risco moderado. O fator de risco mais importante,

apontado naquele trabalho, foi o relato de numerosos (30 ou mais) episódios de queimadura solar ao longo da vida.<sup>7</sup>

**Tabela 1: Fototipos cutâneos<sup>7</sup>**

<b>Fototipos</b>	<b>Descrição</b>	<b>Sensibilidade ao Sol</b>
I- branca	queima com facilidade, nunca bronzeia	muito sensível
II- branca	queima com facilidade, bronzeia muito pouco	sensível
III- morena clara	queima moderadamente, bronzeia moderadamente	normal
IV- morena moderada	queima pouco, bronzeia com facilidade	normal
V- morena escura	queima raramente, bronzeia bastante	pouco sensível
VI- negra	nunca queima, não bronzeia	insensível

O Brasil é um dos países mais ensolarados do mundo, com grande área intertropical. A exposição à radiação solar, cujos danos são cumulativos, é um dos principais fatores de risco para o seu desenvolvimento. Por outro lado, o câncer de pele é também um dos mais passíveis de prevenção efetiva e de baixo custo. Para a prevenção é necessário evitar a exposição ao sol, sem proteção, desde o período mais precoce da infância.<sup>5</sup>

Devido às condições gerais de vida na sociedade moderna, caracterizada por uma maior prática de esportes e outras atividades ao ar livre, além da preferência estética por uma pele bronzeada, o aumento significativo do número de casos de câncer de pele observado, tem sido correlacionado a maior exposição à radiação solar.

Há nove anos a Sociedade Brasileira de Dermatologia realiza ampla campanha a nível nacional, orientando sobre a prevenção e detecção precoce da doença. Segundo a Campanha,



os brasileiros não se protegem adequadamente contra o Sol. Um grande número de trabalhadores rurais e urbanos que exercem atividades ao ar livre como: guarda-vidas, agricultores, pescadores, garis, catadores de papel, trabalhadores da construção civil, podem adquirir câncer de pele. De acordo com o INCA a previsão para a ocorrência de novos casos em 2006, no Brasil, foi de 55.480 casos em homens e de 61.160 em mulheres.<sup>5 e 6</sup>

O diagnóstico precoce é muito importante. Assim como para detectar o câncer de mama, o auto-exame também é fundamental para diagnosticar precocemente a doença. Com o objetivo de facilitar o auto-exame o INCA criou um procedimento para sua execução.<sup>5</sup>

### **“O que é o auto-exame da pele?”**

É um método simples para detectar precocemente o câncer de pele, incluindo o melanoma. Se diagnosticado e tratado enquanto o tumor ainda não invadiu profundamente a pele, o câncer de pele pode ser curado.

### **Quando fazer?**

Ao fazer o auto-exame regularmente, você se familiarizará com a superfície normal da sua pele. É útil anotar as datas e a aparência da pele em cada exame.

### **O que procurar?**

- Manchas pruriginosas (que coçam), descamativas ou que sangram
- Sinais ou pintas que mudam de tamanho, forma ou cor
- Feridas que não cicatrizam em 4 semanas

Deve-se ter em mente o ABCD da transformação de uma pinta em melanoma, como descrito abaixo:

- **A**ssimetria - uma metade diferente da outra
- **B**ordas irregulares - contorno mal definido
- **C**or variável - várias cores numa mesma lesão: preta, castanho, branca, avermelhada ou azul
- **D**iâmetro - maior que 6 mm

### **Como fazer?**

- 1) Em frente a um espelho, com os braços levantados, examine seu corpo de frente, de costas e os lados direito e esquerdo;
- 2) Dobre os cotovelos e observe cuidadosamente as mãos, antebraços, braços e axilas;
- 3) Examine as partes da frente, detrás e dos lados das pernas além da região genital;
- 4) Sentado, examine atentamente a planta e o peito dos pés, assim como os entre os dedos;
- 5) Com o auxílio de um espelho de mão e de uma escova ou secador, examine o couro cabeludo, pescoço e orelhas;
- 6) Finalmente, ainda com auxílio do espelho de mão, examine as costas e as nádegas.

Atenção:

**”Caso encontre qualquer diferença ou alteração, procure orientação médica.  
Evite exposição ao sol das 10h às 16h e utilize sempre filtros solares com fator de proteção 15 ou mais, além de chapéus, guarda-sóis e óculos escuros.”**

**Figura 1: Foto de carcinoma basocelular<sup>5</sup>**



**Figura 2: Foto de carcinoma espinocelular<sup>5</sup>**



**Figura 3: Foto do carcinoma melanoma<sup>5</sup>**



## 1.4) RADIAÇÃO SOLAR

O Sol emite energia na forma de radiação eletromagnética de vários comprimentos de onda, sendo as mais nocivas aquelas na faixa do ultravioleta (200 a 400nm). Esta região está conceitualmente dividida em três faixas:

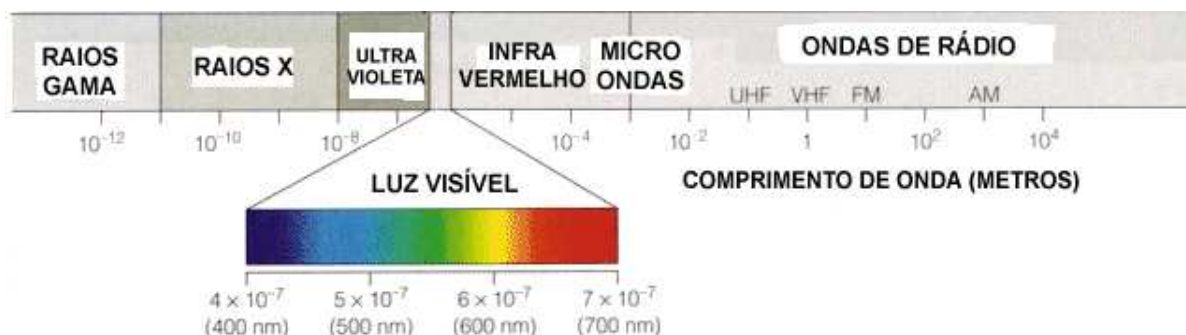
Ultravioleta C (UV-C): de 200 a 290nm

Ultravioleta B (UV-B): de 290 a 320nm

Ultravioleta A (UV-A): de 320 a 400nm

A UV-C é completamente absorvida pela camada de ozônio da atmosfera, mas com a degradação ambiental parte desta radiação também pode nos atingir. Portanto, a radiação UV que consegue atravessar a atmosfera consiste principalmente em UV-B (cerca de 5%) e UV-A (95% ou mais). Estas porcentagens, entretanto, são aproximações, uma vez que as respectivas quantidades relativas variam com as estações do ano, hora do dia, latitude e muitos outros fatores. A maior densidade da radiação UV é recebida nas 4 horas em torno do zênite solar, isto é, quando o Sol está em seu ponto mais alto no céu. No Brasil isso acontece entre 11 e 15 horas em dias claros de verão. Nessas horas, o ângulo dos raios solares relativamente à superfície da Terra é tal que a luz tem a menor distância para atravessar a atmosfera e, portanto, menor oportunidade de ser absorvidos ou refletidos. Os níveis de UVB, em particular, variam significativamente durante o dia, sendo mais suscetíveis aos fatores atmosféricos do que a UVA e a luz visível.<sup>8e9</sup>

**Figura 4: Espectro da Radiação Eletromagnética**



Fonte: <http://www.geocities.com/planetscience/celular/espectro.jpg>

O Sol é sem dúvida essencial a nossa vida, entretanto, a exposição prolongada a radiação UV, tem efeitos deletérios, provocando além do câncer de pele, diversas alterações, especialmente na pele, como: reações de fotossensibilização, eritema, edema, e dor.<sup>10</sup>

- **Fotossensibilização.**

Existem fatores endógenos e exógenos.

As doenças causadas por fatores endógenos são: urticária solar, dermatite crônica actínica e erupções polimórficas. Aquelas causadas por fatores exógenos podem ocorrer quando uma pessoa inadvertidamente aplica um medicamento tópico sobre a pele ou toma uma medicação. Esta medicação pode causar, na pele, uma resposta fototóxica ou fotoalérgica toda vez que a pele sensibilizada for exposta à radiação solar.

- **Eritema – vermelhidão da pele (queimadura solar)**

A pele tem a fundamental habilidade de responder diretamente à radiação UV e a inspeção visual é o método mais efetivo de detecção do eritema.

A vermelhidão é devida a um aumento do conteúdo de sangue da pele por dilatação dos vasos sanguíneos superficiais.

A capacidade da radiação ultravioleta (RUV) de produzir eritema na pele humana é altamente dependente do comprimento de onda da radiação e é expressa pelo espectro da ação eritemal e tem sido objeto de interesse teórico e experimental por mais de 70 anos (Tabela 2).

### **Características da queimadura solar**

Meia hora ao meio dia de um dia de sol de verão no Reino Unido, na pele não climatizada, de uma pessoa caucasiana é normalmente suficiente para resultar numa subsequente vermelhidão branda da pele. Seguindo esse grau de exposição o eritema pode não aparecer por aproximadamente 4 horas embora medidas usando um instrumento mais sensível que o olho humano para detectar o eritema, mostre que a vasodilatação começa a ocorrer

muito mais rápido. O eritema atinge um máximo à aproximadamente 8-12 horas após a exposição e desaparece dentro de 1-2 dias. Expondo a pele por períodos crescentes a forte luz solar do verão progressivamente, encurta o tempo antes do aparecimento do eritema, prolonga sua persistência e aumenta sua intensidade.

### **Fatores que influenciam a queimadura solar**

A cor da pele é um importante fator na determinação da facilidade com que a mesma será queimada pelo Sol. Embora pessoas de pele clara queiram apenas 15-30 minutos ao meio dia de um dia de sol de verão, para induzir a uma reação eritemal. Pessoas com a pele moderadamente pigmentada podem requerer 1 a 2 horas de exposição e pessoas com a pele mais escura (negros) normalmente não sofrerão queimadura solar. Outras características fenóticas que podem influenciar a suscetibilidade a queimadura solar são: cor do cabelo, cor dos olhos e sardas. Baseado na história pessoal de resposta a exposição por 45 a 60 minutos ao sol do meio dia de um dia de verão no início de junho os indivíduos podem ser agrupados em seis tipos de pele sol reativos (Tabela 1).

Existem diferenças anatômicas na sensibilidade eritemal. A face, pescoço e tronco são 2 a 4 vezes mais sensíveis que os membros. Essas diferenças anatômicas são compostas pela variação na exposição solar das diferentes partes do corpo. A superfície vertical de uma pessoa em pé recebe aproximadamente metade da RUV ambiente enquanto que a superfície horizontal tais como a região do ombro recebe mais do que 75%.

Não existem diferenças na susceptibilidade a queimadura solar entre os sexos, embora a sensibilidade eritemal possa mudar com a idade - crianças e pessoas idosas são ditas serem mais sensíveis. Contudo estudos mais recentes de sensibilidade eritemal em crianças e idosos, não tem confirmado isso.<sup>10</sup>

**Tabela 2: Relação entre o efeito do comprimento de onda e a resposta deletéria à luz solar.** <sup>10</sup>

<b>Resposta deletéria a luz solar</b>	<b>Comprimento de onda (nm) / valor do efeito</b>
queimadura	290 -320 maior; 320-400 menor
melanogenesis	290 -320 maior; 320-400 menor
câncer de pele não melanoma	290 -320 maior; ~ 370 menor
melanoma	UVB (?) UVA (?)
elastosis	290 -320 maior; 320-400 menor

### **1.5) EVIDÊNCIAS DOS EFEITOS CARCINOGENÉTICOS DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (RUV)**

a) Distribuição anatômica – Numerosos estudos têm demonstrado que aproximadamente 90% dos Cânceres Basocelulares e mais de metade dos Cânceres Espinocelulares ocorrem na cabeça e pescoço.

b) Diferenças raciais – Caucasianos são muito mais propensos a desenvolver NMSC que raças com pigmentação da pele mais acentuada. Além disto, quando o câncer de pele ocorre em raças mais pigmentadas ele não é encontrado predominantemente em áreas expostas ao Sol.

c) Fenótipo – Fatores genéticos associados com a tendência para desenvolver câncer de pele são: olhos claros, cabelos claros, tendência à queimadura solar e pequena capacidade de bronzeamento.

d) Distribuição geográfica – Pesquisas da incidência de câncer de pele realizadas em diversos Países produziram ampla evidência que existe um gradiente de latitude, apontando que a incidência aproximadamente dobra a cada 10 graus que nos aproximamos do Equador.

e) Local de trabalho – Estudos epidemiológicos têm mostrado que trabalhadores em áreas externas têm mais probabilidade a desenvolver câncer de pele que trabalhadores em áreas internas. Dados coletados na Suécia indicam que os trabalhadores em áreas externas são aproximadamente três vezes mais propensos a desenvolver câncer de pele.<sup>10 e 11</sup>

A tabela 3 abaixo apresenta um resumo das observações sobre o câncer de pele.

**Tabela 3: Resumo das observações históricas sobre o câncer de pele<sup>12</sup>**

<b>OBSERVAÇÃO</b>	<b>INVESTIGADOR</b>	<b>ANO</b>
Lesões pré-cancerosas de pele localizavam-se predominantemente em áreas expostas à luz	P.G. Unna	1894
A pigmentação protege parcialmente contra o câncer de pele	J.N. Hyde	1906
Encontrou-se câncer de pele mais freqüentemente nas áreas do corpo expostas à luz solar	A.H. Roffo	1932
Raios UV com comprimentos de onda menores que 320nm, são carcinogênicos	H.F. Blum	1940
Quanto maior a intensidade da luz solar, maior a freqüência de câncer de pele em caucasianos	E.J. MacDonald	1948
Bantus, exceto os albinos, têm menos câncer de pele que os brancos	M.P.Shapiro	1953
Irradiação por luz UV diminui o número de células de Langerhans identificáveis	J. Fan	1959
A latitude e a cor da pele afetam a freqüência de câncer de pele	J.C. Belisario	1962
A degeneração histopatológica da pele, ocorre em menor proporção nos negros que nos brancos.	J.M. Knox	1962



A radiação UV lesa o DNA, “ in vivo”, no tecido conectivo dérmico humano.	W.L. Epstein	1969
Radiação UVA é carcinogênica	P.D.Forbes	1982
Lesão de pele por UV em animais protegidos e não protegidos pelo uso de filtros solares	L.H.Kligman	1982

## 1.6) Protetor Solar

O câncer de pele é considerando, atualmente, um grave problema de saúde pública. Como meio de prevenção e proteção, os profissionais da saúde têm orientado a população, através das recomendações básicas: <sup>5</sup>

- evitar a exposição nas horas de maior incidência da irradiação solar.
- usar sistematicamente os protetores solares.

Os protetores solares são preparações de uso tópico que reduzem os efeitos deletérios da radiação ultravioleta. Estudos têm demonstrado que, além de oferecer proteção contra a formação de eritema induzido por radiação ultravioleta em peles animal e humana, também inibem a fotocarcinogênese em pele animal. <sup>13</sup>

Como mecanismo de ação, os ativos presentes nos protetores solares, podem bloquear ou absorver a radiação solar. Os absorvedores mais utilizados nas formulações são: os p-aminobenzoatos, os salicilatos, os cinamatos e as benzofenonas. As substâncias bloqueadoras mais empregadas são: dióxido de titânio, óxido de alumínio e óxido de zinco. Predominantes nos filtros com alto fator de proteção solar, bloqueiam os raios UVA e UVB, mas costumam ser menos aceitos pelos usuários por deixarem uma coloração esbranquiçada na pele. Para conferir proteção equivalente sem conseqüências estéticas ou desconfortáveis e abrangência nos comprimentos de onda UVA e UVB muitos filtros utilizam, em altas concentrações, misturas de substâncias absorvedoras da radiação, no entanto, quanto maior a concentração maior o potencial de irritação e sensibilização, bem como, o custo do produto final. Além disso, cada vez mais crianças, idosos e pessoas de pele sensível utilizam filtros solares. <sup>14 -17</sup>

A efetividade dos fotoprotetores vai depender, portanto, da disponibilidade de produtos que abranjam a região UVA e UVB e sejam estáveis, isto é, tenham uma vida útil longa. Os princípios ativos utilizados nas formulações devem, assim, ser química e fotoquimicamente inertes. Se eles não são, ligações químicas podem ser rearranjadas, levando a novas moléculas cuja absorvância UV pode ser modificada ou mesmo perdida e as propriedades toxicológicas alteradas. Radicais podem reagir para formar espécies de oxigênios reativos, levando a dano biológico. Além disso, fluorescência e fosforescência, embora não danosas, não são desejáveis. Portanto, a energia luminosa absorvida pelos filtros UV, se não espalhada ou refletida, deve apenas ser transformada em energia térmica inócua.<sup>18-21</sup>

É importante que os fabricantes ao formularem seus produtos levem em conta que no uso pretendido o produto estará necessariamente exposto a radiações com energia suficiente para produzir reações fotoquímicas.

Com relação ao uso, a efetividade também depende de outros fatores, entre eles, a escolha do produto adequado, uma distribuição homogênea sobre a pele, reaplicação sempre que houver remoção física e respeito ao tempo máximo de permanência ao sol que o produto permite. Para calculá-lo, basta saber quanto tempo conseguimos permanecer ao sol, sem nenhum protetor solar, até aparecer na pele uma leve vermelhidão (eritema) e multiplicar o valor encontrado pelo FPS do produto. Por exemplo, se o tempo máximo de exposição ao sol, sem filtro solar, for de seis minutos e o fator de proteção solar do produto utilizado for quinze, o tempo máximo de exposição será de noventa minutos. A reaplicação do produto não ampliará o tempo de permanência ao sol. Para um tempo maior deve-se utilizar um protetor solar com FPS superior.<sup>22</sup>

O FPS é calculado através de experimentos “in vivo”, definido como sendo a dose mínima eritematosa (DME) na pele protegida dividida pela dose mínima eritematosa na pele não protegida.

$$\text{FPS} = \text{DME pele protegida} / \text{DME pele não protegida}$$

Dose mínima eritematosa (DME) é definida como a dose mínima de radiação ultravioleta requerida para produzir a primeira reação eritematosa perceptível com bordas

claramente definidas, observadas entre 16 e 24 horas após sua exposição à radiação ultravioleta. A escolha do FPS adequado dependerá principalmente do tipo de pele, bem como, do tempo de exposição solar pretendido pelo consumidor.<sup>23</sup>

Com relação à legislação brasileira os filtros solares são classificados como cosméticos, submetidos ao sistema de Vigilância Sanitária, lei 6360/ 1976, sendo regulamentados pelos Decretos 79.094/1977 e 83.239/1979 e complementados por Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC), através de regulamentos técnicos, harmonizados no âmbito do Mercosul, que adotam definições, metodologias analíticas para a determinação do FPS, resistência à água, estabelecem listas das substâncias permitidas e proibidas, suas concentrações, critérios e procedimentos para o registro de produtos, dizeres obrigatórios que devem figurar nas rotulagens.<sup>23-29</sup>

Os protetores solares são definidos como: “Produtos anti-solares destinados a proteger a pele contra queimaduras e endurecimento provocado pelas radiações, diretas ou refletidas, de origem solar ou não, dermatologicamente inócuos e isentos de substâncias irritantes ou foto-sensibilizantes e nos quais as substâncias utilizadas como protetores sejam estáveis e não se decomponham sob a ação das radiações ultravioletas, por tempo mínimo de duas horas.”

Estão incluídos na lista de cosméticos Grau 2, “produtos com risco potencial, possuindo indicações específicas, cujas características exigem comprovação de segurança e eficácia, bem como informações, cuidados, modo e restrições de uso”. Os produtos cosméticos classificados Grau 1, devido às características intrínsecas do produto, não necessitam comprovar segurança e eficácia e nem conter na rotulagem, informações detalhadas quanto ao modo de uso e suas restrições.<sup>28</sup>

O esclarecimento do público, a nível mundial, a respeito dos benefícios do uso de filtros solares tem crescido nos últimos anos. Nesse meio tempo organizações normalizadoras particulares e governamentais tem incrementado seus esforços no sentido de desenvolver procedimentos de testes clínicos padronizados para efetivamente avaliar os filtros solares. Apesar das tentativas de se padronizar as metodologias para se chegar a um índice de proteção solar mundialmente válido, ainda permanecem diferenças entre os procedimentos de teste utilizados.<sup>20 e 21</sup>

Aqui no Brasil, a determinação do fator de Proteção Solar (FPS), segundo a legislação vigente (RDC 237), deverá realizar-se por uma das seguintes normas:<sup>23</sup>

Federal Register – Norma FDA – Department of Health and Human Services – Wednesday May 12, 1993 – Sunscreen Drug Product for Over the Counter Human Use; Final Monograph; Final Rule; Subparte D Testing Procedure, seções 352.70 a 352.73.

Norma Colipa – Colipa Sun Protection Factor Test Method – The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association ref. 94/289 October 1994 (Anexo II).

Os produtos cosméticos denominados multifuncionais, também são regulamentados, mesmo não sendo classificados como protetores solares:<sup>28</sup>

- “Os produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes que proclamem um valor de FPS ou atividade de proteção solar, mesmo que não sejam enquadrados como protetores solares, deverão comprovar o declarado, que não deve ser menor que FPS 2, com uma das metodologias indicadas anteriormente.

- Os produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes que não proclamem um valor de FPS em sua rotulagem, mas declararem na mesma que “contém filtro solar” deverão comprovar proteção solar de no mínimo FPS 2 através de sua formulação ou ensaios “in vivo” ou “in vitro” ou por trabalhos científicos.

- Os produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes que contenham filtros solares unicamente como coadjuvantes no cuidado da pele ou para proteção de sua formulação e que não proclamem atividade como protetor solar nem mencionem um valor de FPS, não necessitam adequar-se à esta normativa.”

A determinação do fator de proteção solar no que se refere à radiação UVA é também uma importante questão a ser equacionada uma vez que os métodos “in vivo” existentes para medir a proteção UVB, não são aplicáveis para avaliação da proteção frente aos raios UVA, pois, em razão de sua menor energia, o tempo de exposição necessário para produzir o

primeiro eritema lesivo seria aproximadamente 1000 vezes maior, o que poderia inclusive colocar em risco a saúde dos voluntários face às outras possíveis lesões já citadas.

À quantificação da proteção UVA, segundo a legislação vigente, deverá ser realizada através de metodologias reconhecidas, devidamente validadas.<sup>23</sup>

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária publicou, em 2006, a Resolução RDC nº 47 que estabelece a Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos para Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes e suas Concentrações Máximas Permitidas (tabela 4).<sup>27</sup>

**Tabela 4: Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos<sup>27</sup>**

Nº ORD.	Substância (NOME INCI)	MÁXIMA CONCENTRAÇÃO AUTORIZADA
1	Sulfato de Metila de N, N, N- trimetil - 4-(2,oxoborn - 3 - ilidenometil) anilínio CAMPHOR BENZALKONIUM METHOSULFATE	6%
2	3, 3' - (1, 4 - fenilenodimetileno)bis (ácido 7, 7 - dimetil - 2 - oxo - biciclo - (2.2.1) 1-heptilmetano sulfônico e seus sais TEREPHTALYLIDENE DICAMPHOR SULFONIC ACID (& SALTS)	10% (expresso como ácido)
3	1 -(4 - terc - butilfenil) - 3 - (4 -metoxifenil) propano - 1, 3 - diona BUTYL METHOXY DIBENZOIL METHANE	5%
4	Ácido alfa - (2 - oxoborn - 3 -ilideno) tolueno - 4 - sulfônico e seus sais de potássio, sódio e trietanolamina BENZYLIDENE CAMPHOR SULFONIC ACID & SALTS	6% (expresso como ácido)
7	2 - Ciano - 3, 3' - difenilacrilato de 2 -etilexila OCTOCRYLENE	10% (expresso como ácido)
8	4 - Metoxicinamato de 2 - etoxietila CINOXATE	3%
9	2, 2' - dihidroxi - 4 - metoxibenzofenona BENZOPHENONE - 8	3%
10	Antranilato de mentila METHYL ANTHRANILATE	5%
12	Salicilato de trietanolamina TEA SALICILATE	12%
15	Ácido 2 - fenilbenzimidazol - 5 - sulfônico e seus sais de potássio, sódio e trietanolamina PHENYLBENZYLIMIDAZOL SULFONIC ACID (& SODIUM, POTASSIUM, TEA SALTS )	8% (expresso como ácido)

**Tabela 4: Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos<sup>27</sup>**

16	4 - Metoxicinamato de 2 - etilhexila OCTYL(ou ETHYLHEXYL) METHOXYCINNAMATE	10%
17	2 - Hidroxi - 4 - metoxibenzofenona (Oxibenzona) BENZOPHENONE - 3	10%(1)
18	Ácido 2 - hidroxi - 4 - metoxibenzofenona - 5 - sulfônico e seu sal sódico (Sulisobenzona e Sulisobenzona sódica) BENZOPHENONE - 4 (ACID)	10% (expresso como ácido)
18 a	BENZOPHENONE - 5 (Na )	5% (expresso como ácido)
19	Ácido 4 - aminobenzóico PABA	15%
20	Salicilato de homomentila HOMOSALATE	15%
21	Polímero de N - {(2 e 4)[(2 - oxoborn - 3 -ilideno) metil] benzil} acrilamida POLYACRYLAMIDOMETHYL BENZYLIDENE CAMPHOR	6%
22	Dióxido de titânio TITANIUM DIOXIDE	25%
24	N - Etoxi - 4 - aminobenzoato de etila PEG - 25 PABA	10%
25	4 - Dimetil-aminobenzoato de 2 -etilhexila OCTYL(ou ETHYLHEXYL )DIMETHYL PABA	8%
26	Salicilato de 2- etilhexila OCTYL(ou ETHYLHEXYL )SALICILATE	5%
27	4 - Metoxicinamato de isopentila ISOAMYL <sub>p</sub> -METHOXYCINNAMATE	10%

**Tabela 4: Lista de Filtros Ultravioletas Permitidos<sup>27</sup>**

Nº ORD.	Substância (NOME INCI)	MÁXIMA CONCENTRAÇÃO AUTORIZADA
28	3 - (4' - metilbenzilideno) - d - l - cânfora 4 - METHYL BENZYLIDENE CAMPHOR	4%
29	3 - Benzilideno cânfora 3- BENZYLIDENE CAMPHOR	2%
30	2, 4, 6 - Trianilin - (p - carbo - 2' - etil - hexil - 1' - oxi) - 1, 3, 5 - triazina OCTYL ( ou ETHYLHEXYL) TRIAZONE	5%
31	Óxido de zinco ZINC OXIDE	25%
32	2-(2H-benzotriazol-2-il)-4-metil-6-(2-metil-3-(1,3,3,3,-tetrametil-1-((trimetilsilil)oxi)-disiloxanil)propil) fenol DROMETRIZOLE TRISILOXANE	15%
33	Ácido benzóico,4,4'-[[6-[[4-[[[(1,1-dimetil-etil)amino]carbonil]fenil]amino]-1,3,5-triazina-2,4-diil]diimino]bis-,bis(2-etilhexil) DIOCTYL (ou DIETHYLEXYL) BUTAMIDOTRIAZONE	10%
34	2,2'-metileno-bis-6-(2H-benzotriazol-2-il)-4-(tetrametil-butil)-1,1,3,3-fenol Metileno bis-benzotriazolil tetraetil butil fenol METHYLENE BIS-BENZOTRIAZONYL TETRAMETHYLBUTYLPHENOL	10%
35	Sal monossódico do ácido 2,2'-bis-(1,4-fenileno)- 1H-benzimidazol-4,6-dissulfônico BISIMIDAZYLATE	10% (expresso em ácido)
36	(1,3,5)-triazina-2,4-bis ([4-(2-etil-hexiloxi)-2-hidróxi]-fenil) -6-(4-metoxifenil) ANISOTRIAZINE	10%
37	Dimeticodietilbenzalmalonato POLYSILICONE-15	10%
38	Éster helílico do ácido 2-[4-(dietilamino)-2-hidroxibenzoil]-,benzóico DIETHYLAMINO HYDROXYBENZOYL HEXIL BENZOATE	10%

Para verificar se os limites estabelecidos, pela legislação vigente, estão sendo respeitados é necessário o desenvolvimento de metodologia analítica para quantificar e identificar os princípios ativos presentes nos produtos comerciais.<sup>27</sup>

Os conhecimentos adquiridos ao longo dos últimos 50 anos assinalam que a radiação solar é um dos maiores efeitos ambientais deletérios a nossa saúde. A busca por uma fotoproteção efetiva torna-se desta forma uma prioridade para diminuir os riscos a saúde. O estímulo por todos os profissionais da saúde ao uso sistemático de protetores solares surge como uma opção natural e direta de reduzir danos causados pela radiação solar.<sup>5 e 6</sup>

Considerando as ações da vigilância sanitária de proteção à saúde da população, torna-se evidente a necessidade de melhor entender a eficácia e segurança dos fotoprotetores de modo a permitir uma avaliação crítica da qualidade dos produtos cosméticos, protetores solares, em uso no Brasil. Baseando-se nas legislações vigentes, bem como verificando se os parâmetros/limites estabelecidos estão sendo observados, avaliando a eficácia dos mesmos, permitirão estes itens contribuir para a proteção necessária.



## **2) OBJETIVO GERAL**

Avaliar a qualidade dos produtos de proteção solar mais comercializados no Brasil.

### **2.1) OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

3.1) Identificar os protetores solares mais comercializados no Brasil e seus respectivos princípios ativos.

3.2) Desenvolver metodologia analítica para determinação dos teores destes princípios para o controle da qualidade dos produtos, postos ao consumo, no mercado nacional.

3.3) Otimizar a metodologia analítica desenvolvida.

3.4) Avaliar e analisar a possível fotodegradação dos princípios ativos utilizados nas formulações dos protetores solares.

3.5) Verificar se as informações contidas nos rótulos dos protetores solares estão de acordo com as legislações vigentes e avaliar se elas orientam o consumidor quanto à escolha e uso do produto.

### **3) METODOLOGIA**

#### **3.1) EQUIPAMENTOS**

- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), fabricante Shimadzu com detector ultravioleta-visível (espectrofotométrico) com conjunto de diodos SPD-M10A, forno CTO-20A, bomba LC-10AD e injetor automático SIL-20A. Programa usado para aquisição de dados Class-vp (Figura 6)
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), fabricante Shimadzu, modelo SPD 10AV com detector ultravioleta-visível e bomba LC-10AD. Programa usado para aquisição de dados Class-vp (Figura-5).
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), fabricante Waters com detector ultravioleta-visível óptico modelo 2487, forno ULSTD 3101-1, bomba modelo 515 e injetor automático modelo 717 plus.
- Simulador solar – Suntest, fabricante Heraeus, potência 765w/m<sup>2</sup>, lâmpada NXE 1500<sup>a</sup> (Figura 7)
- Centrífuga-Excelsa, fabricante Fanem, modelo 206.
- Aparelho de ultra-som, fabricante Branson, modelo 3210
- Balança analítica com resolução de 0,01 mg, fabricante Mettler Toledo AX 205
- Sistema de purificação de água Milli-Q, fabricante Milipore modelo A-10



**Figura 5** - Cromatógrafo líquido de alta eficiência, fabricante Shimadzu, modelo SPD 10AV com detector ultravioleta-visível e bomba LC-10AD. Programa usado para aquisição de dados Class-vp.



**Figura 6** - Cromatógrafo líquido, fabricante Shimadzu com detector ultravioleta-visível (espectrofotométrico) com conjunto de diodos (DAD) completo.



**Figura 7** - Simulador solar – Suntest, fabricante Heraeus, potência 765w/m<sup>2</sup>, lâmpada NXE 1500A

### **3.2) REAGENTES E MATERIAIS**

- Água grau CLAE (0,22 µm) purificada por meio do sistema de purificação Milli-Q-Millipore
- Acetonitrila grau CLAE – Merck
- Metanol grau CLAE – Merck
- Coluna Lichrospher® de fase reversa de sílica recoberta com octadecilsilano (C18) com partícula de 5µm de tamanho e dimensões de 4 mm de diâmetro interno e 250 mm de comprimento, fabricante Merck .

- Coluna Lichrospher® de fase reversa de sílica recoberta com octadecilsilano (C18) com partícula de 5µm de tamanho e dimensões de 3,9 mm de diâmetro interno e 150 mm de comprimento, fabricante Merck .

- Coluna Lichrospher® semi-preparativa de fase reversa de sílica recoberta com octadecilsilano (C18) com partícula de 10,0µm de tamanho e dimensões de 7,0 mm de diâmetro interno e 250 mm de comprimento, fabricante Merck .

### **3.3) PADRÕES E MATERIAIS DE REFERÊNCIA**

- octil salicilato- USP
- Benzofenona - 3 - USP
- octil metoxicinamato - USP
- Octil dimetil PABA - Sigma
- 3-(4-metilbenzilideno)-d-1-cânfora -Sigma
- Antranilato de mentila - Merck
- p-metoxicinamato de isoamila.- Sigma

### **3.4) PROTETORES SOLARES UTILIZADOS**

#### **PROTETOR SOLAR A - FPS 8**

<b>COMPONENTE</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>Benzofenona</b>	<b>1,5</b>
<b>Metoxicinamato de octila</b>	<b>5,5</b>
<b>Salicilato de octila</b>	<b>1,0</b>

#### **PROTETOR SOLAR B - FPS 8**

<b>COMPONENTE</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>Benzofenona-3</b>	<b>3 a 2</b>
<b>Metoxicinamato de octila</b>	<b>7,0</b>

### **PROTETOR SOLAR C - FPS 15**

<b>COMPONENTE</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>Benzofenona-3</b>	<b>3 a 4</b>
<b>Metoxicinamato de octila</b>	<b>7,5</b>

### **PROTETOR SOLAR D - FPS 20**

<b>COMPONENTE</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>Benzofenona</b>	<b>3,5</b>
<b>Metoxicinamato de octila</b>	<b>7,0</b>
<b>Salicilato de octila</b>	<b>1,0</b>

### **PROTETOR SOLAR E - FPS 30**

<b>COMPONENTE</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>Benzofenona-3</b>	<b>4,0</b>
<b>Metoxicinamato de octila</b>	<b>7,5</b>
<b>Salicilato de octila</b>	<b>2,0</b>

### **PROTETOR SOLAR F - FPS 30**

<b>COMPONENTE</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>Metoxicinamato de octila</b>	<b>7,5</b>
<b>Salicilato de octila</b>	<b>5,0</b>

### **PROTETOR SOLAR G - FPS 30**

<b>COMPONENTE</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>Benzofenona-3</b>	<b>4</b>
<b>Metoxicinamato de octila</b>	<b>7,5</b>
<b>Salicilato de octila</b>	<b>5</b>
<b>Homosaete</b>	<b>5</b>

### **3.5) IDENTIFICAÇÃO DOS PROTETORES SOLARES MAIS UTILIZADOS NO BRASIL E SEUS RESPECTIVOS PRINCÍPIOS ATIVOS**

Foram selecionados para este estudo, os protetores solares com fator de proteção solar entre 8 e 30, mais comercializados, segundo os dados da Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Comércio – ABHIPEC.<sup>30</sup>

## **PARTE I – MÉTODO PARA ANÁLISE DE ATIVOS DA FORMULAÇÃO**



### **3.6) DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA ANÁLISE QUANTITATIVA.**

Os produtos comerciais de proteção solar são matrizes muito complexas. Para garantir alto fator de proteção solar e abrangência nos comprimentos de onda UV-A e UV-B estes produtos apresentam nas suas formulações vários princípios ativos em elevadas concentrações, além de outras substâncias, tornando cada um destes produtos um caso bastante diferenciado.

A cromatografia líquida, dentre as diversas metodologias analíticas descritas na literatura, evidencia-se como uma das mais versáteis e precisas para análise de misturas altamente complexas. Os métodos de análise utilizando cromatografia líquida de alta resolução (CLAE) por serem em sua essência métodos de separação apresentam a vantagem de separar os componentes da mistura em análise antes da identificação e quantificação o que reduz os problemas de interferência em amostras como as em questão.<sup>31-35</sup>

Considerando que o método a ser desenvolvido destina-se à utilização no controle da qualidade de rotina dos protetores solares, em uso no Brasil, a versatilidade, a abrangência e a facilidade de operação são características essenciais que favorecem o uso na rotina laboratorial, no controle da qualidade destes produtos. Para tanto foi desenvolvida metodologia analítica por CLAE, para a identificação e quantificação dos princípios ativos, mais empregados nas formulações.<sup>36</sup>

#### **3.6.1) PREPARO DAS AMOSTRAS DE PROTETORES SOLARES**

Para avaliar a aplicabilidade do método foram selecionados cinco produtos amplamente comercializados, abrangendo desde o FPS 8 até 30:

- PROTETOR SOLAR A - FPS 8
- PROTETOR SOLAR B - FPS 8
- PROTETOR SOLAR C - FPS 15
- PROTETOR SOLAR D - FPS 20
- PROTETOR SOLAR E - FPS 30

Amostras contendo 1g dos produtos comerciais foram pesadas em tubo de centrífuga. Adicionou-se 500µL de uma solução 2M de ácido sulfúrico e 10mL de metanol. A mistura foi levada ao ultrassom por 30min e logo em seguida centrifugada a 1000G por 10min. O sobrenadante foi pipetado, filtrado com membrana Millipore 0,45 µm/25mm e em seguida preparadas as soluções de trabalho por diluição. As soluções foram homogeneizadas e injetadas no cromatógrafo.

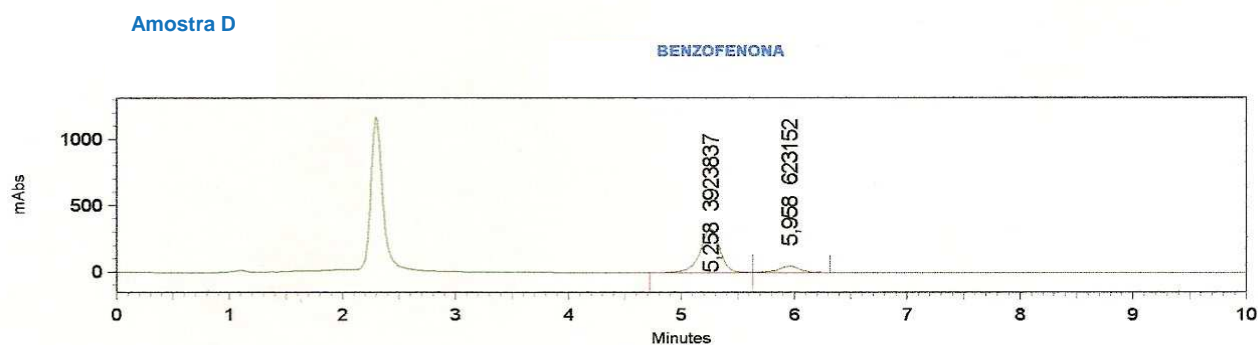
### CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

- Coluna cromatográfica ® C18 (5µm, 150 x 3,9 mm d.i.)
- Comprimento de onda 254 nm
- Fase móvel – mistura de 90 partes de acetronitrila e 10 partes de água
- Fluxo – 0,8 mL / minuto
- Volume de injeção - 5 µL
- Diluente - metanol

**Figura 8:** Cromatograma do protetor solar FPS 20 contendo benzofenona-3 (2,3 min), octil metoxicinamato (5,2 min) e salicilato de octila (5,9 min).

User: Sônia

254 nm,acetonitrila/Água( 90:10),fluxo= 0,8 mL/min,coluna=C18 5um

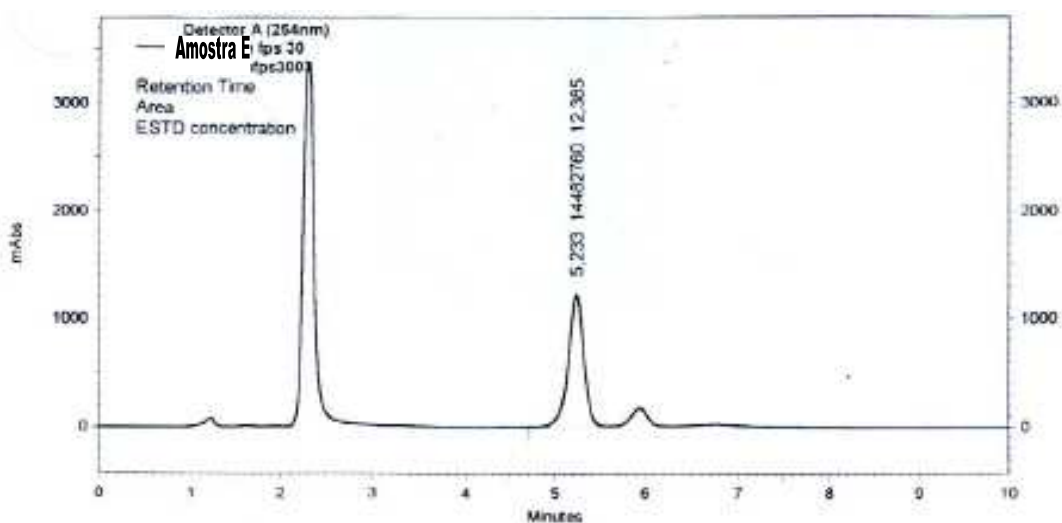


Detector A (254nm)	
Retention Time	Area
5,258	3923837
Detector A (254nm)	
Retention Time	Area
5,258	3917159
Detector A (254nm)	
Retention Time	Area
5,292	3918136

### 3.6.2) SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DO OCTIL METOXICINAMATO E DO SALICILATO DE OCTILA

Considerando que um grande número de produtos comerciais têm em suas formulações octil metoxicinamato e salicilato de octila, de difícil separação cromatográfica, foram avaliadas as alterações no fluxo e na composição da fase móvel, variando a proporção de acetonitrila/água: 70:30; 75:25; 80:20 e 85:15. A proporção 80:20 demonstrou melhor resolução entre os sinais cromatográficos, com fluxo de 1,0 mL/minuto.

**Figura 9:** Cromatograma de produto FPS 30 contendo respectivamente: benzofenona-3, octil metoxicinamato e salicilato de octila



#### **CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS :**

- Coluna cromatográfica ® C18 (5µm, 150 x 3,9 mm d.i.)
- Comprimento de onda 254 nm
- Fase móvel – mistura de 80 partes de acetronitrila e 20 partes de água
- Fluxo - 1,0 mL/minuto
- Volume de injeção - 5 µL
- Diluente - metanol

### **3.6.3) EXPERIMENTO PARA DETERMINAR A FAIXA DE CONCENTRAÇÃO**

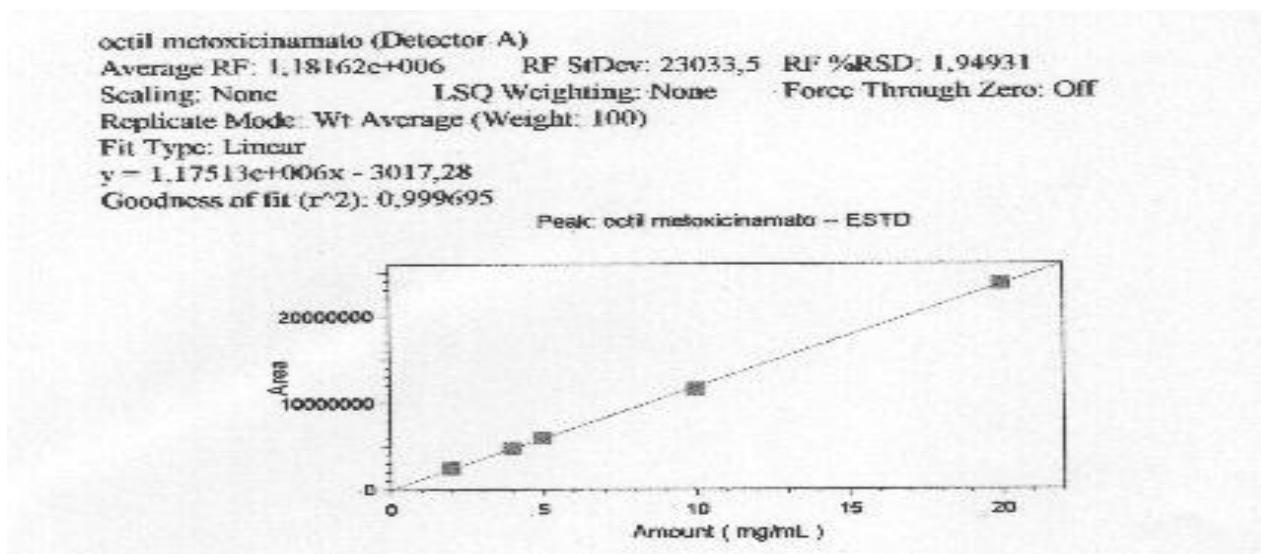
Para cada princípio ativo, lista abaixo, foi determinada a faixa de concentração de interesse. A partir desses dados, foram preparadas as soluções de cada princípio ativo em metanol, pesando acuradamente em balança analítica. A faixa de concentração determinada, baseou-se nas respectivas absorvidades molares.

- benzofenona-3,
- salicilato de octila,
- octil dimetil PABA,
- octilmetoxicinamato
- 3-(4-metilbenzilideno)-d-1-cânfora,
- antranilato de mentila,
- p-metoxicinamato de isoamila

### **3.6.4) DETERMINAÇÃO DA FAIXA LINEAR DE RESPOSTA**

As faixas de linearidade de resposta, para cada princípio ativo, foram determinadas considerando a aplicação do método. A partir desses dados foram preparadas as curvas analíticas, com soluções padrão, em cinco níveis de concentração.

**Figura 10:** Curva de calibração do octil metoxicinamato



### 3.6.5) OTIMIZAÇÃO METODOLÓGICA

#### 3.6.5.1) CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

- Coluna cromatográfica @ C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.)
- Detector de absorção molecular na região do ultravioleta-visível com arranjo de diodos
- Comprimento de onda 254 nm
- Fase móvel – mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água
- Fluxo - 1,0 mL/minuto
- Volume de injeção - 5  $\mu$ L
- Diluente - metanol

### **3.6.5.2) CUIDADOS E MONITORAMENTO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS**

Alguns cuidados durante todo o estudo foram tomados para que os sinais estudados não fossem influenciados.<sup>37</sup>

- As colunas utilizadas na otimização eram novas e dentro da validade.
- A água usada era deionizada de grau CLAE (0,22 µm); a acetonitrila e o metanol empregados possuíam grau CLAE (fabricante Merck); os padrões eram certificados pela USP. Os cromatógrafos líquidos, com procedimentos de verificação de desempenho de equipamento realizado anualmente.
- A pureza dos sinais, durante a otimização, foram acompanhadas com auxílio de um detector de absorção molecular na região do ultravioleta-visível (espectrofotométrico) com conjunto de diodos (DAD) o que permitiu verificar através da varredura se existia alguma absorção diferente na região do espectro.
- A temperatura ambiente do laboratório, a temperatura de acondicionamento da coluna e a pressão na coluna foram monitoradas durante todo o estudo.

### **3.6.6) ADEQUAÇÃO DO SISTEMA**

Utilizando o cromatógrafo líquido, fabricado pela Shimadzu com detector de absorção molecular na região do ultravioleta-visível com arranjo de diodos. Foram injetadas soluções contendo: benzofenona-3, octil metoxicinamato e o salicilato de octila nas concentrações (0,10mg/mL; 1,74mg/mL e 1,58mg/mL) respectivamente e metanol, utilizado como diluente, para a determinação dos parâmetros relativos a adequação do sistema.<sup>38 e 39</sup>

### **3.6.7) DETERMINAÇÃO DA SELETIVIDADE**

Foram traçados os espectros de absorção molecular no ultravioleta dos sinais cromatográficos referentes a benzofenona-3, octil metoxicinamato e salicilato de octila no produto de fotoproteção e dos sinais referentes às substâncias padrões utilizadas. Foram feitas comparações dos espectros antes e durante o tempo de retenção característico de cada substância.<sup>40 e 41</sup>

### **3.6.8) DETERMINAÇÃO DA FAIXA LINEAR DE TRABALHO**

A faixa linear de trabalho foi definida conforme o estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária no Guia de Validação de Métodos Analíticos.

Para a determinação quantitativa da benzofenona-3, octil metoxicinamato e o salicilato de octila foi escolhida a faixa de 70 % a 130 % da concentração teórica do teste, faixa que engloba tanto a faixa para o ensaio de teor (80 % a 120 %) quanto o ensaio de uniformidade de conteúdo (70 % a 130 %) descrito na legislação.<sup>42</sup>

### **3.6.9) DETERMINAÇÃO DA LINEARIDADE**

#### **3.6.9.1) Delineamento experimental**

Foram seguidos os procedimentos experimentais para a avaliação da linearidade, para a benzofenona-3, octil metoxicinamato e salicilato de octila: determinação da faixa de concentração de interesse considerando a aplicação do método e que as concentrações esperadas nas amostras devam estar próximas do centro desta faixa; preparo de curva analítica com soluções padrão com sete níveis de concentração, igualmente espaçados, preparados separadamente, com três réplicas independentes de cada nível e injeções das soluções em ordem aleatória.

Em seguida foi aplicado o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO), incluindo estimativa dos parâmetros da regressão e tratamento dos valores extremos: aquisição dos dados experimentais (cromatogramas); estimativa da inclinação, interseção, resíduos da regressão, respectivas variâncias e  $R^2$ ; inspeção visual dos dados; construção e inspeção visual do gráfico x-y das respostas versus à concentração do analito e investigação e exclusão de valores extremos pelo método dos resíduos padronizados por Jackknife e por fim a validação do uso do MMQO por meio da verificação das premissas relativas aos resíduos da regressão e ajuste ao modelo linear: normalidade dos resíduos pelo teste de Ryan-Joiner; independência dos resíduos pelo teste de Durbin-Watson; homocedasticidade dos resíduos pelo teste de Brown-Forsythe e verificação da significância da regressão e do ajuste ao modelo linear por análise de variância.<sup>42; 43; 44; 45; 46; 47 e 48</sup>

### **3.6.9.2) Preparo da solução estoque (SE) da benzofenona-3**

Pesou-se três massas de benzofenona-3 padrão USP, estas massas foram diluídas com metanol e transferidas para balão volumétrico de 100 mL. Alíquota de 20mL foi retirada e transferida para balão volumétrico de 200mL. Considerando a pureza da benzofenona-3 de 100 %, o procedimento resultou em três soluções com concentrações de:

**1ª Pesada = → Concentração 1ª SE = 0,2015 mg/mL**

**2ª Pesada = → Concentração 2ª SE = 0,2036 mg/mL**

**3ª Pesada = → Concentração 3ª SE = 0,2078 mg/mL**

### **3.6.9.3) Preparo da solução estoque (SE) de octil metoxicinamato**



Pesou-se três massas de octimetoxicinamato padrão USP, estas massas foram diluídas com metanol e transferidas para balão volumétrico de 100 mL. Alíquota de 20mL foi retirada e transferida para balão de 200mL. Considerando a pureza da benzofenona-3 de 99,6 %, o procedimento resultou em três soluções com concentrações de:

**1ª Pesada = → Concentração 1ª SE = 0,5075 mg / mL**

**2ª Pesada = → Concentração 2ª SE = 0,5162 mg / mL**

**3ª Pesada = → Concentração 3ª SE = 0,5143 mg / mL**

#### **3.6.9.4) Preparo da solução estoque (SE) de salicilato de octila**

Pesou-se três massas do salicilato de octila padrão USP, estas massas foram diluídas com metanol e transferidas para balão volumétrico de 100 mL. Alíquota de 20mL foi retirada e transferida para balão de 200mL. Considerando a pureza do salicilato de octila de 99,5 %, o procedimento resultou em três soluções com concentrações de:

**1ª Pesada = → Concentração 1ª SE = 1,556 mg / mL**

**2ª Pesada = → Concentração 2ª SE = 1,609 mg / mL**

**3ª Pesada = → Concentração 3ª SE = 1,590 mg / mL**

#### **3.6.9.5) Preparo das soluções de trabalho da benzofenona-3; octil metoxicinamato e salicilato de octila**

Foram tomadas alíquotas das soluções estoques para o preparo das soluções de trabalho, conforme as Tabelas (5, 6, e 7), todas as alíquotas foram retiradas com micropipetas automáticas e transferidas para balão volumétrico de 10 mL, todos os balões sendo completados com diluente e em seguida as soluções homogeneizadas e injetadas no cromatografo líquido.

**Tabela 5** - Quadro dos volumes tomados das soluções estoques e às concentrações das soluções de trabalho da benzofenona-3

<i>Alíquota (mL)</i>	<i>3,500</i>	<i>4,000</i>	<i>4,500</i>	<i>5,000</i>	<i>5,500</i>	<i>6,000</i>	<i>6,500</i>
<i>1ª Conc. (mg/mL)</i>	<b>0,07052</b>	<b>0,08060</b>	<b>0,09067</b>	<b>0,1007</b>	<b>0,1108</b>	<b>0,1209</b>	<b>0,1310</b>
<i>2ª Conc. (mg/mL)</i>	<b>0,07126</b>	<b>0,08144</b>	<b>0,09162</b>	<b>0,1018</b>	<b>0,1120</b>	<b>0,1222</b>	<b>0,1323</b>
<i>3ª C. Conc. (mg/mL)</i>	<b>0,07273</b>	<b>0,08312</b>	<b>0,09351</b>	<b>0,1039</b>	<b>0,1143</b>	<b>0,1247</b>	<b>0,1351</b>

**Tabela 6** - Quadro dos volumes tomados das soluções estoques e às concentrações das soluções de trabalho do octil metoxicinamato

<i>Alíquota (mL)</i>	<i>3,500</i>	<i>4,000</i>	<i>4,500</i>	<i>5,000</i>	<i>5,500</i>	<i>6,000</i>	<i>6,500</i>
<i>1ª Conc. (mg/mL)</i>	<b>0,1776</b>	<b>0,2029</b>	<b>0,2283</b>	<b>0,2537</b>	<b>0,2790</b>	<b>0,3044</b>	<b>0,3297</b>
<i>2ª Conc. (mg/mL)</i>	<b>0,1807</b>	<b>0,2065</b>	<b>0,2323</b>	<b>0,2581</b>	<b>0,2839</b>	<b>0,3097</b>	<b>0,3355</b>
<i>3ª C. Conc. (mg/mL)</i>	<b>0,1801</b>	<b>0,2057</b>	<b>0,2314</b>	<b>0,2572</b>	<b>0,2829</b>	<b>0,3086</b>	<b>0,3343</b>

**Tabela 7** - Quadro dos volumes tomados das soluções estoques e às concentrações das soluções de trabalho do salicilato de octila

<i>Alíquota (mL)</i>	<i>3,500</i>	<i>4,000</i>	<i>4,500</i>	<i>5,000</i>	<i>5,500</i>	<i>6,000</i>	<i>6,500</i>
<i>1ª Conc. (mg/mL)</i>	<b>0,5448</b>	<b>0,6226</b>	<b>0,7004</b>	<b>0,7783</b>	<b>0,8561</b>	<b>0,9339</b>	<b>1,012</b>
<i>2ª Conc. (mg/mL)</i>	<b>0,5633</b>	<b>0,6438</b>	<b>0,7243</b>	<b>0,8048</b>	<b>0,8852</b>	<b>0,9657</b>	<b>1,046</b>
<i>3ª C. Conc. (mg/mL)</i>	<b>0,5567</b>	<b>0,6362</b>	<b>0,7157</b>	<b>0,7953</b>	<b>0,8748</b>	<b>0,9543</b>	<b>1,034</b>

### **3.6.10) DETERMINAÇÃO DA EXATIDÃO**

Como a matriz do produto de fotoproteção não estava disponível, o método empregado para a determinação da exatidão foi o método de adição padrão, já que a exatidão pode ser expressa como a % de recuperação do analito.<sup>42; 49 e 50</sup>

Foram preparadas as curvas analíticas, cada uma com sete níveis, com adição padrão em solução do protetor solar G-FPS 30 para cada analito: benzofenona-3, octil metoxicinamato e salicilato de octila. A Exatidão foi comprovada pelo cálculo da recuperação de cada analito.

#### **3.6.10.1) Preparo das soluções estoque (SE) dos analitos**

Pesou-se 0,2061g de benzofenona-3, 0,5167g do octil metoxicinamato e 0,3181g do salicilato de octila. Essas massas foram diluídas com metanol e transferidas com o diluente para balão volumétrico de 100 mL, resultando nas soluções:

**-benzofenona-3 (2,061mg/mL)-(SE 1)**

**-octil metoxicinamato (5,167mg/mL)-(SE 2)**

**-salicilato de octila (3,181mg/mL)-(SE 3)**

#### **3.6.10.2) Preparo da solução estoque do protetor solar G-FPS 30 (SEP)**

Pesou-se 1,6037g da amostra do produto em tubo de ensaio. Adicionou-se 1mL de ácido sulfúrico 2M e 10 mL de metanol. Levou-se ao ultrassom por 30 min e logo após, centrifugou-se por 30 min. O sobrenadante foi pipetado e filtrado em membrana Millipore de 45µm, sendo transferido para balão volumétrico de 100mL.

### 3.6.10.3) Preparo das soluções de trabalho da adição padrão dos analitos à solução originada do protetor solar G-FPS 30.

Foram preparadas curvas de adição padrão para cada analito. Alíquotas das soluções estoques foram tomadas (SE 1, SE 2 e SE 3) de cada analito e adicionadas a 0,5 mL da solução da amostra do protetor solar G-FPS 30 (SEP), conforme o Tabela 8. As alíquotas foram retiradas com pipetas automáticas e transferidas para balão volumétrico de 10 mL, os volumes foram completados com metanol e em seguida as soluções homogêneas e as amostras injetadas no cromatógrafo.

**Tabela 8** - Quadro dos volumes (mL) tomados da SE dos analitos sobre um nível básico da solução do protetor solar G-FPS 30

<i>SEP (mL)</i>			0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
<i>SE 1 (mL)</i>	<i>SE 2 (mL)</i>	<i>SE 3 (mL)</i>	0	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5

- SEP (solução estoque do produto)
- SE1 (solução estoque padrão da benzofenona-3)
- SE2 (solução estoque padrão de octil metoxicinamato)
- SE3 (solução estoque padrão de salicilato de octila)

### 3.7) DOSEAMENTO DOS ATIVOS NO PROTETOR SOLAR G - FPS 30

Amostra contendo 1,5988g do protetor solar G-FPS 30 foi pesada em tubo de centrifuga. Adicionou-se 1mL de uma solução 2M de ácido sulfúrico e 10mL de metanol. A mistura foi levada ao ultrassom por 30min e logo em seguida centrifugada a 1000G por 30min. O sobrenadante foi pipetado, filtrado com membrana Millipore 0,45µm/25mm, sendo transferido para balão volumétrico de 100mL e completado com metanol. Em seguida foram preparadas às soluções para serem injetadas no cromatógrafo líquido:

- Octil metoxicinamato e salicilato de octila - foram injetados sem diluição.

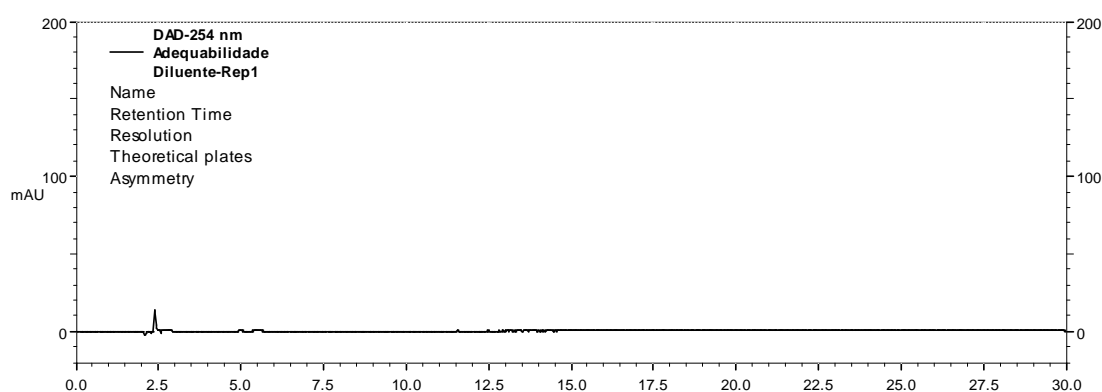
- Benzofenona-3- alíquota de 1,6mL foram pipetados e transferidos para balão volumétrico de 10mL, sendo completando com metanol.

Após as injeções das soluções, foram obtidas as áreas dos sinais correspondentes, para o doseamento dos ativos a partir das curvas analíticas.

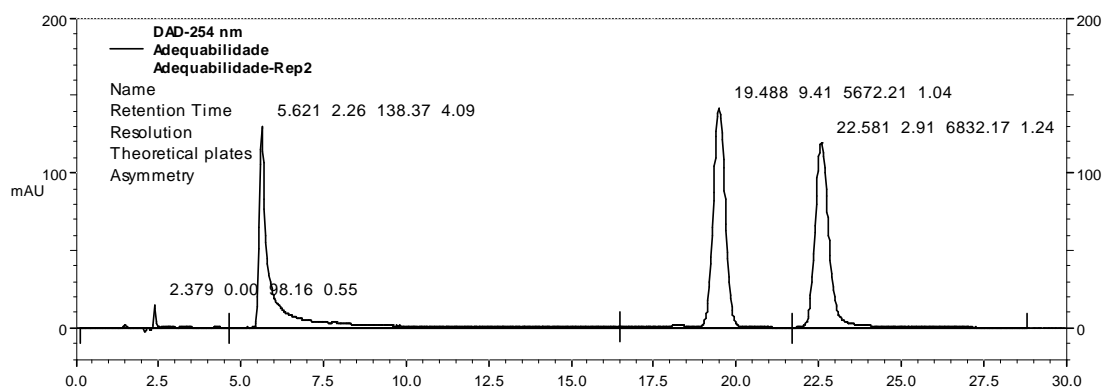
## 4.0) RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE I

### 4.1) RESULTADOS DA ADEQUAÇÃO DO SISTEMA

Os sinais cromatográficos da benzofenona-3; do octil metoxicinamato e do octil salicilato apresentaram completa separação em linha de base (Figura 11). A Figura 12 representa o cromatograma desta separação.



**Figura 11:** Cromatograma do diluente utilizado (metanol)



**Figura 12** -Separação da benzofenona-3 (5,62 min), do octil metoxicinamato (19,49 min) e do octil salicilato (22,58 min). Condições: coluna C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.), fase móvel mistura de 80 partes de acetonitrilado e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254nm, temperatura 30 $^{\circ}$  C, volume injetado 5  $\mu$ L

Na tabela 9 estão descritos os valores encontrados para os parâmetros: resolução, fator de assimetria, fator de retenção e número de pratos teóricos das áreas dos sinais correspondentes a benzofenona-3, octil metoxicinamato e octil salicilato.

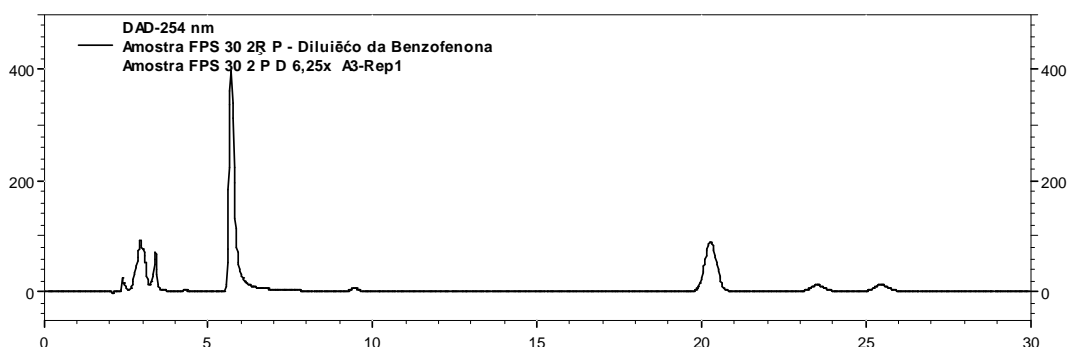
**Tabela 9** –Parâmetros cromatográficos analisados para a adequação do sistema

<i>Parâmetro cromatográfico</i>	<i>BZ</i>	<i>OMC</i>	<i>OS</i>
<i>Resolução</i>	2,3 - 2,4 - 2,1	9,4 - 9,9 - 8,9	2,9 - 2,9 - 2,9
<i>Fator de assimetria</i>	4,1 - 3,9 - 4,2	1,0 - 1,0 - 1,0	1,2 - 1,2 - 1,2
<i>Fator de retenção</i>	2,6 - 2,6 - 2,6	11,4 - 11,4 - 11,4	13,4 - 13,4 - 13,4
<i>Número de pratos teóricos</i>	138 - 162 - 118	5672 - 5673 - 5679	6832 - 6842 - 6845

#### **4.2) RESULTADOS DA SELETIVIDADE PARA A BENZOFENONA-3, OCTIL METOXICINAMATO E OCTIL SALICILATO.**

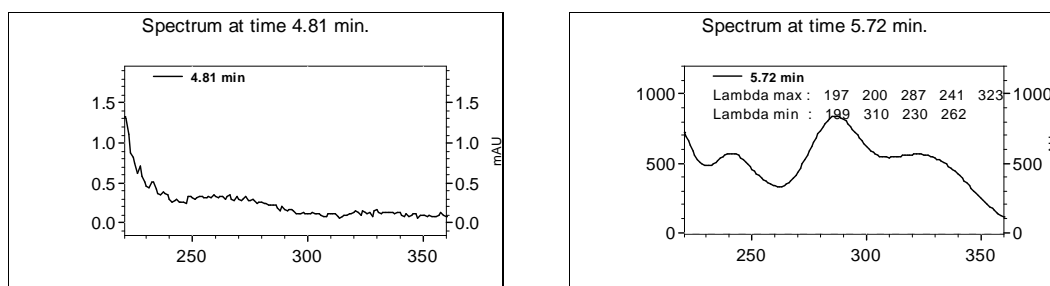
Para o monitoramento da pureza dos sinais cromatográficos, foram traçados os espectros de absorção molecular, no ultravioleta, antes e nos tempos de retenção dos sinais cromatográficos na amostra do produto de fotoproteção (Figura 13), e nos sinais cromatográficos das substâncias padrão utilizadas (Figuras 14, 15 e 16). Os espectros de absorção se sobrepuseram às respectivas substâncias (padrão), demonstrando desta forma a pureza e a seletividade dos sinais(Figuras 17 até 22).

A figura 13 - corresponde ao cromatograma da amostra do protetor solar G-FPS 30



**Figura 13** - Sinais cromatográficos da benzofenona-3 (5,72 min), do octil metoxicinamato (20,22 min) e do octil salicilato (23,22 min). Condições: coluna C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.), fase móvel mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254nm, temperatura 30 $^{\circ}$  C, volume injetado 5  $\mu$ L

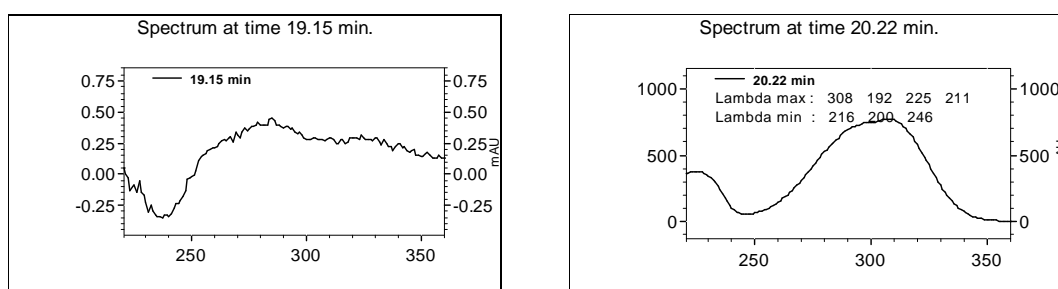
A Figura 14 demonstra o monitoramento da pureza do sinal da benzofenona-3. Antes do sinal em 4,81 min, há somente o ruído de linha de base. Em 5,72 min o espectro de varredura de absorção molecular no ultravioleta da substância.



**Figura 14** – Espectros de varredura no ultravioleta antes do sinal (4,81min) e no sinal da benzofenona-3 (5,72 min). Condições: coluna C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.), fase móvel mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254nm, temperatura 30 $^{\circ}$  C, volume injetado 5  $\mu$ L

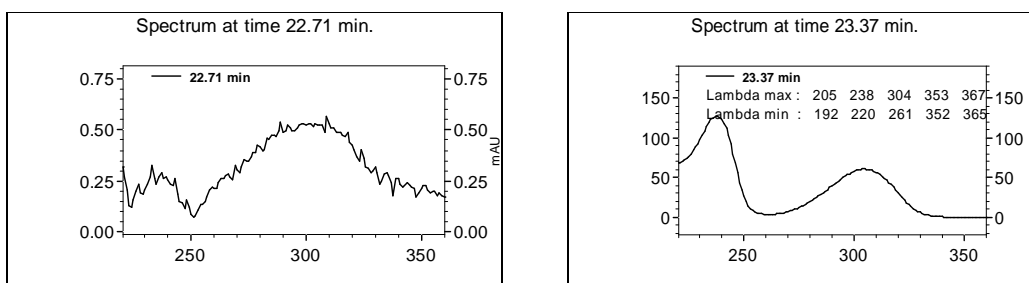
A Figura 15 demonstra o monitoramento da pureza do sinal do octil metoxicinamato. Antes do sinal em 19,15 min, há somente o ruído de linha de base. Em 20,22 min o espectro de varredura de absorção molecular no ultravioleta da substância.



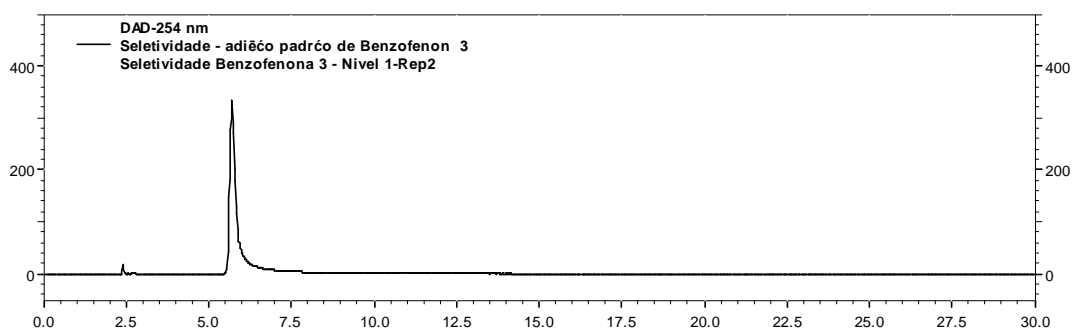


**Figura 15** – Espectros de varredura no ultravioleta antes do sinal (19,15min) e no sinal do octil metoxicinamato (20,22 min). Condições: coluna C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.), fase móvel mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254nm, temperatura 30° C, volume injetado 5  $\mu$ L

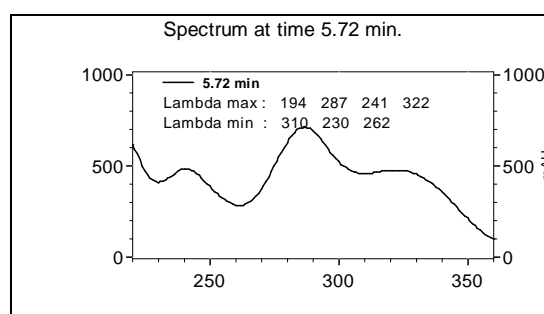
A Figura 16 demonstra o monitoramento da pureza do sinal do octil salicilato. Antes do sinal em 22,71 min, há somente o ruído de linha de base. Em 23,37 min espectro de varredura de absorção molecular no ultravioleta da substância.



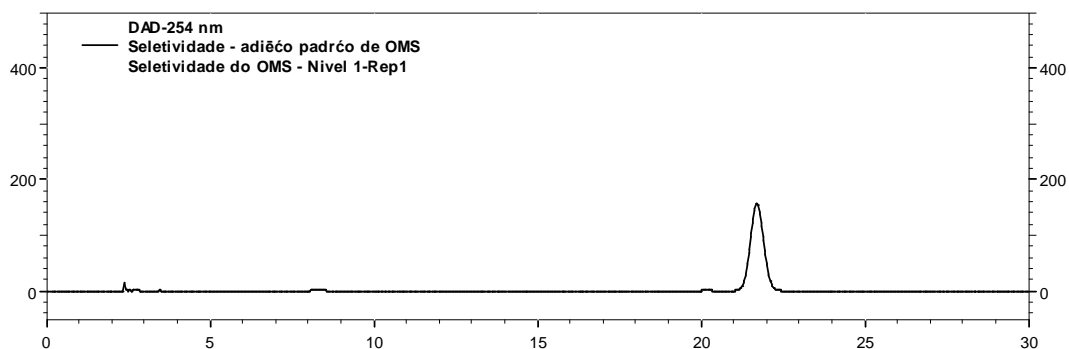
**Figura 16** – Espectros de varredura no ultravioleta antes do sinal (22,71 min) e no sinal do octil salicilato (23,37 min). Condições: coluna C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.), fase móvel mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254 nm, temperatura 30° C, volume injetado 5  $\mu$ L



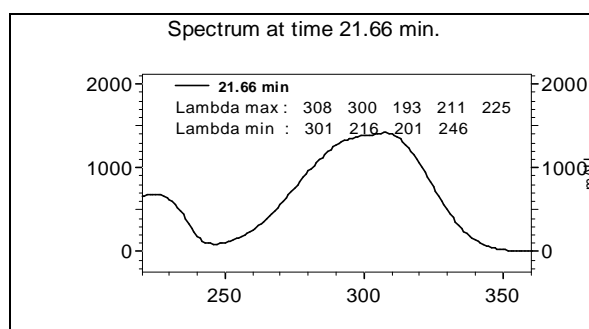
**Figura 17** - Sinal cromatográfico da benzofenona-3 (5,72 min) padrão. Condições: coluna C18 (5µm, 250 x 4,0 mm d.i.), fase movel mistura de 80 partes de acetonitrilade e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254 nm, temperatura 30° C, volume injetado 5 µL



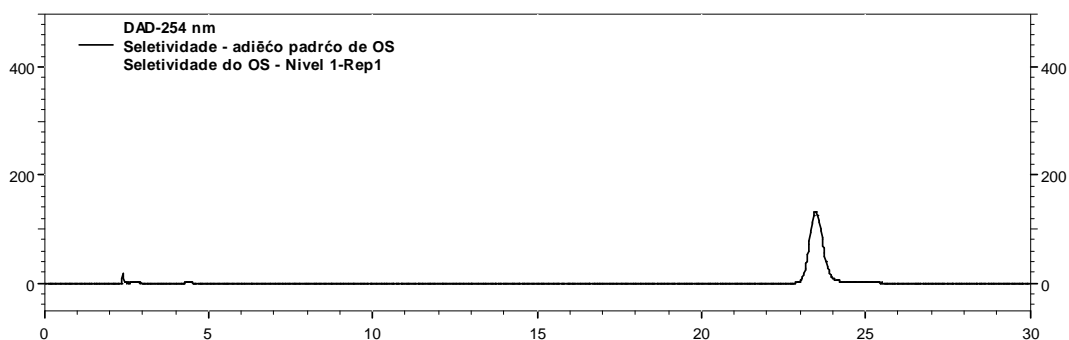
**Figura 18**– Espectro de varredura no ultravioleta do padrão benzofenona-3. Condições: coluna C18 (5µm, 250 x 4,0 mm d.i.), fase movel mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254 nm, temperatura 30° C, volume injetado 5 µL



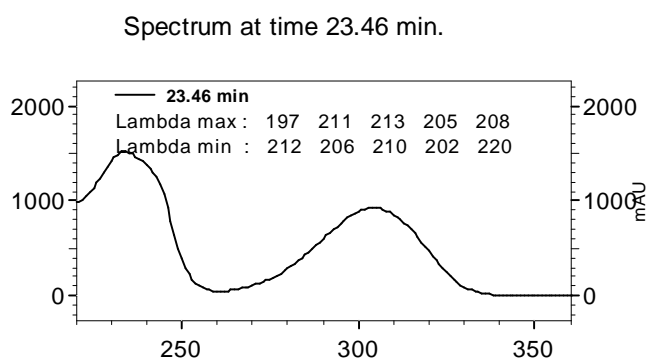
**Figura 19** - Sinal cromatográfico do octil metoxicinamato (21,66 min) padrão. Condições: coluna C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.), fase móvel mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254nm, temperatura 30 $^{\circ}$  C, volume injetado 5  $\mu$ L



**Figura 20** – Espectro de varredura no ultravioleta do padrão do octil metoxicinamato. Condições: coluna C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.), fase móvel mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254 nm, temperatura 30 $^{\circ}$  C, volume injetado 5  $\mu$ L



**Figura 21** - Sinal cromatográfico do octil salicilato (23,46 min) padrão. Condições: coluna C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.), fase móvel mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254 nm, temperatura 30<sup>o</sup> C, volume injetado 5  $\mu$ L



**Figura 22** – Espectro de varredura no ultravioleta do padrão do octil salicilato. Condições: coluna C18 (5 $\mu$ m, 250 x 4,0 mm d.i.), fase móvel mistura de 80 partes de acetonitrila e 20 partes de água, fluxo 1,0 mL/min, detecção 254 nm, temperatura 30<sup>o</sup> C, volume injetado 5  $\mu$ L

### 4.3) RESULTADO DA AVALIAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA DA BENZOFENONA-3

Foram preparadas três curvas analíticas com as soluções estoque padrão da benzofenona-3 (SE), contendo sete níveis de concentrações, com três replicatas independentes de cada nível. Após as injeções das soluções, foram obtidas as áreas do sinal correspondente.

**Tabela 10** - Concentrações das soluções para cada nível das curvas de calibração (C.A)

	<i>Primeira C.A</i>	<i>Segunda C.A</i>	<i>Terceira C.A</i>
	<i>mg/mL</i>	<i>mg/mL</i>	<i>mg/mL</i>
<i>Nível 1</i>	0,07053	0,07126	0,07273
<i>Nível 2</i>	0,08060	0,08144	0,08312
<i>Nível 3</i>	0,09068	0,09162	0,09351
<i>Nível 4</i>	0,1008	0,1018	0,1039
<i>Nível 5</i>	0,1108	0,1120	0,1143
<i>Nível 6</i>	0,1209	0,1222	0,1247
<i>Nível 7</i>	0,1310	0,1323	0,1351

### 4.4) AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DA CURVA ANALÍTICA DA BENZOFENONA-3

Foi confirmada a linearidade da curva analítica da benzofenona-3, na faixa de concentração estudada. Os valores extremos foram confirmados e retirados pelo teste Jackknife (em preto na Tabela 11). A premissa de que os resíduos devem seguir a distribuição normal foi confirmada pelo teste Ryan-Joiner. A variabilidade dos resíduos da regressão ao longo dos níveis de concentração estudados foi constante, demonstrando homocedasticidade, a estatística *t* de Levene não foi significativa ( $p > 0,05$ ). A independência dos resíduos da regressão foi evidenciado pelo teste de Durbin-Watson. Alta significância da regressão ( $p < 0,001$ ) com desvio da linearidade não significativo ( $p > 0,05$ ) foi observado. O método está livre de tendência (valor *p* do intercepto  $> 0,05$ ).

**Tabela 11 – Curva analítica da benzofenona-3**

**Dados da Curva Analítica**

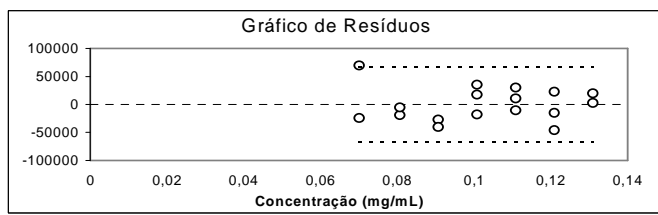
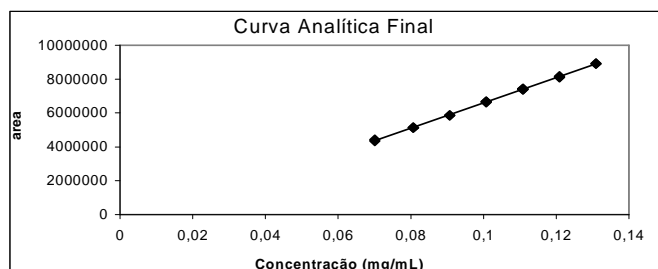
Análise:	Primeira curva analítica da benzofenona-3		
Data de Confeção da Curva:	Curva N <sup>o</sup>		
Replicatas por Nível (k):	3	N <sup>o</sup> de Níveis (n):	7
Equipamento:	Shimadzu	Responsável:	Sonia

**Tabela de dados originais**

Nível (k)	i	Conc. mg/mL	Resposta area
1	01	7,01E-02	4,34E+06
1	02	7,01E-02	4,43E+06
1	03	7,01E-02	4,43E+06
2	04	8,07E-02	5,13E+06
2	05	8,07E-02	5,15E+06
2	06	8,07E-02	5,06E+06
3	07	9,07E-02	5,87E+06
3	08	9,07E-02	5,86E+06
3	09	9,07E-02	5,83E+06
4	10	1,01E-01	6,63E+06
4	11	1,01E-01	6,69E+06
4	12	1,01E-01	6,67E+06
5	13	1,11E-01	7,43E+06
5	14	1,11E-01	7,41E+06
5	15	1,11E-01	7,39E+06
6	16	1,21E-01	8,18E+06
6	17	1,21E-01	8,14E+06
6	18	1,21E-01	8,11E+06
7	19	1,31E-01	8,91E+06
7	20	1,31E-01	8,93E+06
7	21	1,31E-01	9,01E+06

**Avaliação de Valores Extremos**  
 (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)

Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.



**Normalidade dos Resíduos**  
 (Teste de Ryan-Joiner)

Req	0,98
Rcrit (α = 0,05)	0,94

**Autocorrelação dos Resíduos**  
 (Teste de Durbin-Watson)

d (calculado)	1,96
dL (Limite Inferior) α = 0,05	1,13
dU (Limite Superior) α = 0,05	1,38

**Homogeneidade da Variância dos Resíduos**  
 (Teste de Brown-Forsythe)

Variância Combinada	1,15E+09
t <sub>L</sub> calculado	3,75E-01
t <sub>tabela</sub> (α = 0,05)	2,13E+00
p	7,13E-01

**Resumo da Avaliação**

Homogeneidade de variância	
Há Homocedasticidade	<i>p</i> > 0,05
Regressão e Teste de Desvio de Linearidade	
A regressão é significativa	<i>p</i> < 0,001
Não há desvio de Linearidade	<i>p</i> > 0,05
Autocorrelação dos Resíduos (α = 0,05)	
Não há autocorrelação	<i>d</i> > <i>dU</i>
Teste de Normalidade (α = 0,05)	
Segue a Normal	<i>Req</i> > <i>Rcrit</i>

**Análise de Regressão Linear (Modelo: Y = a + bX)**  
 Estatísticas da Regressão

Coefficiente Angular (b):	7,46E+07	Coefficiente Linear (a):	-8,67E+05
r	0,9998	R <sup>2</sup>	0,9996
N	17	Graus de Liberdade	15

**ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)**

fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	3,45E+13	3,45E+13	3,55E+04	1,00E-26
resíduos	15	1,46E+10	9,72E+08		
Ajuste	4	5,08E+09	1,27E+09	1,47E+00	2,76E-01
erro puro	11	9,50E+09	8,63E+08		
total	16	3,45E+13			

**Observações**

Responsável: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Verificado por: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Fonte: (SOUZA & JUNQUEIRA, 2005)

#### 4.5) RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA DO OCTIL METOXICINAMATO

Foram preparadas três curvas analíticas com as soluções estoque padrão do octil metoxicinamato (SE), contendo sete níveis de concentrações, com três replicatas independentes de cada nível. Após as injeções das soluções, foram obtidas as áreas do sinal correspondente.



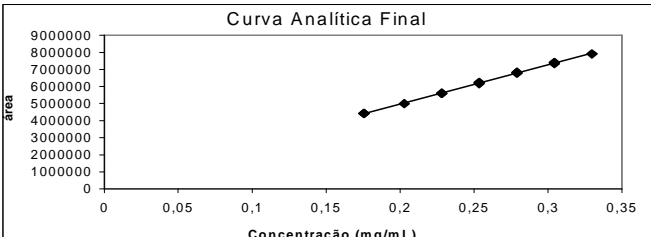
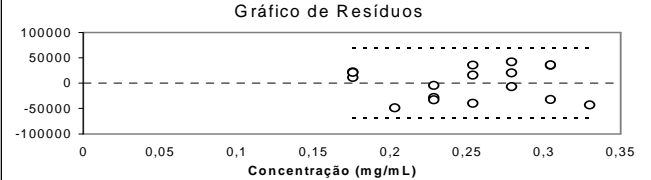
**Tabela 12** - Concentrações das soluções para cada nível das curvas de calibração (C.A)

	<i>Primeira C.A</i>	<i>Segunda C.A</i>	<i>Terceira C.A</i>
	<i>mg/mL</i>	<i>mg/mL</i>	<i>mg/mL</i>
<i>Nível 1</i>	0,1776	0,1807	0,1800
<i>Nível 2</i>	0,2029	0,2065	0,2057
<i>Nível 3</i>	0,2283	0,2323	0,2314
<i>Nível 4</i>	0,2537	0,2581	0,2572
<i>Nível 5</i>	0,2790	0,2839	0,2829
<i>Nível 6</i>	0,3044	0,3097	0,3086
<i>Nível 7</i>	0,3297	0,3355	0,3343

#### 4.6) AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DA CURVA ANALÍTICA DO OCTIL METOXICINAMATO.

Foi confirmada a linearidade da curva analítica do octil metoxicinamato, na faixa de concentração estudada. Os valores extremos foram confirmados e retirados pelo teste Jacknife (em preto na Tabela 13). A premissa de que os resíduos devem seguir a distribuição normal foi confirmada pelo teste Ryan-Joiner. A variabilidade dos resíduos da regressão ao longo dos níveis de concentração estudados foi constante, demonstrando homocedasticidade, a estatística *t* de Levene não foi significativa ( $p > 0,05$ ). A independência dos resíduos da regressão foi evidenciado pelo teste de Durbin-Watson. Alta significância da regressão ( $p < 0,001$ ) com desvio da linearidade não significativo ( $p > 0,05$ ) foi observado. O método esta livre de tendência (valor *p* do intercepto  $> 0,05$ ).

Tabela 13 – Curva analítica do OMC

	Ministério da Saúde <b>FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ</b> Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde				
<b>AValiação de Linearidade de Curva Analítica</b>					
<b>Dados da Curva Analítica</b>					
Análise:	Primeira curva analítica do OMC				
Data de Confeção da Curva:	3	Curva N°: 7			
Replicatas por Nível (k):	Shimadzu	N° de Níveis (n): 7			
Equipamento:		Responsável: Sônia			
<b>Tabela de dados originais</b>					
Nível (k)	i	Conc. mg/mL	Resposta área		
1	01	1,76E-01	4,42E+06		
1	02	1,76E-01	4,43E+06		
1	03	1,76E-01	4,43E+06		
2	04	2,03E-01	4,99E+06		
2	05	2,03E-01	4,98E+06		
2	06	2,03E-01	4,99E+06		
3	07	2,28E-01	5,60E+06		
3	08	2,28E-01	5,62E+06		
3	09	2,28E-01	5,59E+06		
4	10	2,54E-01	6,24E+06		
4	11	2,54E-01	6,17E+06		
4	12	2,54E-01	6,22E+06		
5	13	2,79E-01	6,83E+06		
5	14	2,79E-01	6,78E+06		
5	15	2,79E-01	6,81E+06		
6	16	3,04E-01	7,41E+06		
6	17	3,04E-01	7,41E+06		
6	18	3,04E-01	7,34E+06		
7	19	3,30E-01	7,92E+06		
7	20	3,30E-01	7,91E+06		
7	21	3,30E-01	7,82E+06		
<b>Avaliação de Valores Extremos</b> (Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)					
Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.					
<b>Curva Analítica Final</b>					
					
<b>Gráfico de Resíduos</b>					
					
<b>Normalidade dos Resíduos</b> (Teste de Ryan-Joiner)					
Req	0,96				
Rcrit (α = 0,05)	0,94				
<b>Autocorrelação dos Resíduos</b> (Teste de Durbin-Watson)					
d (calculado)	1,81				
dL (Limite Inferior) α = 0,05	1,13				
dU (Limite Superior) α = 0,05	1,38				
<b>Homogeneidade da Variância dos Resíduos</b> (Teste de Brown-Forsythe)					
Variância Combinada	1,16E+09				
t <sub>L</sub> calculado	-1,10E-01				
t <sub>tabelado</sub> (α = 0,05)	2,13E+00				
p	9,14E-01				
<b>Resumo da Avaliação</b>					
<b>Homogeneidade de variância</b>					
Há Homocedasticidade	p > 0,05				
<b>Regressão e Teste de Desvio de Linearidade</b>					
A regressão é significativa	p < 0,001				
Não há desvio de Linearidade	p > 0,05				
<b>Autocorrelação dos Resíduos (α = 0,05)</b>					
Não há autocorrelação	d > dU				
<b>Teste de Normalidade (α = 0,05)</b>					
Segue a Normal	Req > Rcrit				
<b>Análise de Regressão Linear (Modelo: Y = a + bX)</b>					
<i>Estatísticas da Regressão</i>					
Coeficiente Angular (b):	2,30E+07	Coeficiente Linear (a):	3,66E+05		
r	0,9996	R <sup>2</sup>	0,9992		
N	17	Graus de Liberdade	15		
<b>ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)</b>					
fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	2,02E+13	2,02E+13	1,88E+04	1,16E-24
resíduos	15	1,61E+10	1,07E+09		
Ajuste	4	8,22E+09	2,06E+09	2,87E+00	7,44E-02
erro puro	11	7,86E+09	7,15E+08		
total	16	2,02E+13			
<b>Observações</b>					
Responsável: _____ Data: ___/___/___ Verificado por: _____ Data: ___/___/___					
AVAliação de Linearidade de Curva Analítica				Pág.:1/1	



#### 4.7) RESULTADOS DA AVALIAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA DO OCTIL SALICILATO

Foram preparadas três curvas analíticas com as soluções estoque padrão do octil salicilato (SE), contendo sete níveis de concentrações, com três replicatas independentes de cada nível. Após as injeções das soluções, foram obtidas as áreas do sinal correspondente.

**Tabela 14** - Concentrações das soluções para cada nível das curvas de analíticas(C.A).

	<i>Primeira</i> C.A	<i>Segunda</i> C.A	<i>Terceira</i> C.A
	<i>mg/mL</i>	<i>mg/mL</i>	<i>mg/mL</i>
<i>Nível 1</i>	0,5448	0,5633	0,5567
<i>Nível 2</i>	0,6226	0,6438	0,6362
<i>Nível 3</i>	0,7004	0,7243	0,7157
<i>Nível 4</i>	0,7783	0,8048	0,7953
<i>Nível 5</i>	0,8561	0,8852	0,8748
<i>Nível 6</i>	0,9339	0,9657	0,9543
<i>Nível 7</i>	1,012	1,046	1,034

#### 4.8) AVALIAÇÃO DA LINEARIDADE DA CURVA ANALÍTICA DO OCTIL SALICILATO.

Foi encontrado um pequeno desvio da linearidade da curva analítica do octil salicilato, na faixa de concentração estudada. A premissa de que os resíduos devem seguir a distribuição normal foi confirmada pelo teste Ryan-Joiner. A variabilidade dos resíduos da regressão ao longo dos níveis de concentração estudados foi constante, demonstrando homocedasticidade, a estatística *t* de Levene não foi significativa ( $p > 0,05$ ). Foi evidenciado pelo teste de Durbin-Watson autocorrelação dos resíduos da regressão.

Tabela 15 – Curva analítica do Octil salicilato

**AVALIAÇÃO DE LINEARIDADE DE CURVA ANALÍTICA**

**Dados da Curva Analítica**

Análise:	Terceira curva analítica do OS		
Data de Confeção da Curva:		Curva N°:	
Replicatas por Nível (k):	3	N° de Níveis (n):	7
Equipamento:	Shimadzu	Responsável:	Sônia

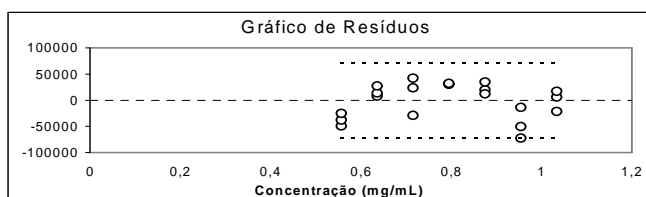
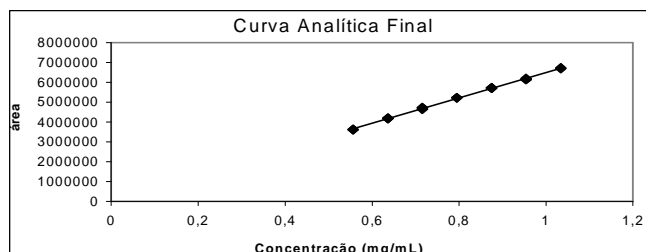
**Tabela de dados originais**

Nível (k)	i	Conc. mg/mL	Resposta área
1	01	5,57E-01	3,61E+06
1	02	5,57E-01	3,62E+06
1	03	5,57E-01	3,63E+06
2	04	6,36E-01	4,18E+06
2	05	6,36E-01	4,18E+06
2	06	6,36E-01	4,20E+06
3	07	7,16E-01	4,72E+06
3	08	7,16E-01	4,65E+06
3	09	7,16E-01	4,70E+06
4	10	7,95E-01	5,22E+06
4	11	7,95E-01	5,22E+06
4	12	7,95E-01	5,22E+06
5	13	8,75E-01	5,72E+06
5	14	8,75E-01	5,73E+06
5	15	8,75E-01	5,71E+06
6	16	9,54E-01	6,13E+06
6	17	9,54E-01	6,19E+06
6	18	9,54E-01	6,15E+06
7	19	1,03E+00	6,69E+06
7	20	1,03E+00	6,72E+06
7	21	1,03E+00	6,73E+06

**Avaliação de Valores Extremos**

(Teste de Jack-Knife para avaliação de valores extremos)

Os dados da tabela marcados em vermelho foram avaliados e retirados do conjunto de dados por se tratarem de valores extremos (outliers). Estes dados não serão considerados na avaliação das premissas.



**Normalidade dos Resíduos**

(Teste de Ryan-Joiner)

Req	0,96
Rcrit (α = 0,05)	0,95

**Autocorrelação dos Resíduos**

(Teste de Durbin-Watson)

d (calculado)	1,10
dL (Limite Inferior) α = 0,05	1,22
dU (Limite Superior) α = 0,05	1,42

**Homogeneidade da Variância dos Resíduos**

(Teste de Brown-Forsythe)

Variância Combinada	1,31E+09
t <sub>i</sub> calculado	-8,82E-02
t <sub>tabelado</sub> (α = 0,05)	2,09E+00
p	9,31E-01

**Resumo da Avaliação**

<b>Homogeneidade de variância</b>	
Há Homocedasticidade	p > 0,05
<b>Regressão e Teste de Desvio de Linearidade</b>	
A regressão é significativa	p < 0,001
<b>Há desvio de linearidade</b>	p < 0,05
<b>Autocorrelação dos Resíduos (α = 0,05)</b>	
Há autocorrelação	d < dL
<b>Teste de Normalidade (α = 0,05)</b>	
Segue a Normal	Req > Rcrit

**Análise de Regressão Linear (Modelo: Y = a + bX)**

Estadísticas da Regressão

Coeficiente Angular (b):	6,40E+06	Coeficiente Linear (a):	9,55E+04
r	0,9995	R <sup>2</sup>	0,9990
N	21	Graus de Liberdade	19

**ANOVA da Regressão e Teste de Desvio de Linearidade (Falta de Ajuste)**

fonte	G.L.	SQ	MQ	F	p
regressão	1	2,18E+13	2,18E+13	1,87E+04	6,42E-30
resíduos	19	2,21E+10	1,16E+09		
Ajuste	4	1,61E+10	4,02E+09	1,00E+01	3,73E-04
erro puro	15	6,01E+09	4,00E+08		
total	20	2,18E+13			

**Observações**

--

Responsável: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Verificado por: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

#### 4.9) DETERMINAÇÃO DA EXATIDÃO DA BENZOFENONA –3

Após as injeções das soluções de trabalho das curvas de adição padrão da benzofenona-3, foram obtidas as áreas do sinal correspondente. A Tabela 16 apresenta as respostas.

**Tabela 16** - Áreas medidas após injeção das soluções de trabalho de adição padrão da benzofenona-3

Nível (k)	i	Conc. mg/mL	Resposta área
1	01	8.30E-01	6.27E+06
	02	8.30E-01	6.30E+06
	03	8.30E-01	6.28E+06
2	04	9.33E-01	7.11E+06
	05	9.33E-01	7.10E+06
	06	9.33E-01	7.07E+06
3	07	10.40E-01	7.86E+06
	08	10.40E-01	7.76E+06
	09	10.40E-01	7.89E+06
4	10	11.40E-01	8.78E+06
	11	11.40E-01	8.73E+06
	12	11.40E-01	8.76E+06
5	13	12.40E-01	9.58E+06
	14	12.40E-01	9.54E+06
	15	12.40E-01	9.55E+06
6	16	13.40E-01	1.05E+07
	17	13.40E-01	1.05E+07
	18	13.40E-01	1.03E+07

#### 4.10) DETERMINAÇÃO DA EXATIDÃO DO OCTIL METOXICINAMATO

Após as injeções das soluções de trabalho das curvas de adição padrão do octil metoxicinamato, foram obtidas as áreas do sinal correspondente. A Tabela 17 apresenta as respostas.

**Tabela 17** - Áreas medidas após injeção das soluções de trabalho de adição padrão do octil metoxicinamato.

Nível (k)	i	Conc. mg/mL	Resposta área
1	01	2.13E+00	6.01E+06
	02	2.13E+00	6.00E+06
	03	2.13E+00	6.00E+06
2	04	2.39E+00	6.63E+06
	05	2.39E+00	6.63E+06
	06	2.39E+00	6.64E+06
3	07	2.64E+00	7.29E+06
	08	2.64E+00	7.28E+06
	09	2.64E+00	7.31E+06
4	10	2.90E+00	7.94E+06
	11	2.90E+00	7.91E+06
	12	2.90E+00	7.89E+06
5	13	3.16E+00	8.58E+06
	14	3.16E+00	8.59E+06
	15	3.16E+00	8.57E+06
6	16	3.42E+00	9.02E+06
	17	3.42E+00	9.13E+06
	18	3.42E+00	9.15E+06

#### 4.11) DETERMINAÇÃO DA EXATIDÃO DO OCTIL SALICILATO

Após as injeções das soluções de trabalho das curvas de adição padrão octil salicilato, foram obtidas as áreas do sinal correspondente. A Tabela 18 apresenta as respostas.

**Tabela 18** - Áreas medidas após injeção das soluções de trabalho de adição padrão do octil salicilato

Nível (k)	i	Conc. mg/mL	Resposta área
1	01	1.31E+00	6.01E+06
	02	1.31E+00	6.04E+06
	03	1.31E+00	6.03E+06
2	04	1.47E+00	6.78E+06
	05	1.47E+00	6.76E+06
	06	1.47E+00	6.78E+06
3	07	1.63E+00	7.43E+06
	08	1.63E+00	7.40E+06
	09	1.63E+00	7.35E+06
4	10	1.79E+00	8.18E+06
	11	1.79E+00	8.18E+06
	12	1.79E+00	8.15E+06
5	13	1.95E+00	8.84E+06
	14	1.95E+00	8.75E+06
	15	1.95E+00	8.68E+06
6	16	2.11E+00	9.36E+06
	17	2.11E+00	9.28E+06
	18	2.11E+00	9.27E+06

**Tabela 19** – Recuperação dos analitos, calculada a partir das curvas de adição padrão da benzofenona-3, octil metoxicinamato e do octil salicilato no protetor solar G – FPS 30.

Analitos	Recuperação(%)
Benzofenona-3	96,9
Octil metoxicinamato	96,4
Octil salicilato	102,2

Verifica-se, conforme a Tabela 19, que a recuperação dos analitos na curva de adição padrão do produto de fotoproteção, ficaram entre os limites estabelecidos de 90% a 107%, para a razão do nível de concentração dos analitos estudados, comprovando assim adequada exatidão do método para estas substâncias.<sup>51</sup>

#### 4.12) DETERMINAÇÃO DOS TEORES NA AMOSTRA DO PROTETOR SOLAR G - FPS 30.

**Tabela 20** – Teores dos princípios ativos benzofenona-3, octil metoxicinamato e salicilato de octila encontrados na análise da amostra do protetor solar G-FPS 30 e os declarados na rotulagem

	<i>Teor – BZ</i>	<i>Teor – OMC</i>	<i>Teor – OS</i>
<b>ENCONTRADO</b>	(3,19 ± 0,04) g/100g	(2,55 ± 0,04) g/100g	(1,9 ± 0,6) g/100g
<b>DECLARADO</b>	4,0 g/100g	7,5 g/100g	5,0 g/100g

Os teores dos princípios ativos encontrados na análise da amostra do protetor solar G FPS-30 estão abaixo dos teores declarado pelo fabricante, na rotulagem do produto:

benzofenona-3, ↔ 3,19g/100g encontrado, correspondem a 78,9 % do valor declarado.

Octil metoxicinamato ↔ 2,55g/100g encontrado, correspondem a 34,0 % do valor declarado.

salicilato de octila ↔ 1,9g/100g encontrado, correspondem a 38,0% do valor declarado.

## **PARTE II – ESTUDO DA FOTODEGRADAÇÃO**

## **5.0) ANALISAR E AVALIAR A FOTODEGRADAÇÃO DOS PROTETORES SOLARES.**

Devido ao seu elevado coeficiente de extinção molar na região UV-B, o octil metoxicinamato é um dos princípios ativos mais utilizados nas formulações dos protetores solares.

Existem, entretanto, na literatura estudos que indicam que ele pode sofrer fotodegradação, quando exposto à luz solar.<sup>52 e 53</sup>

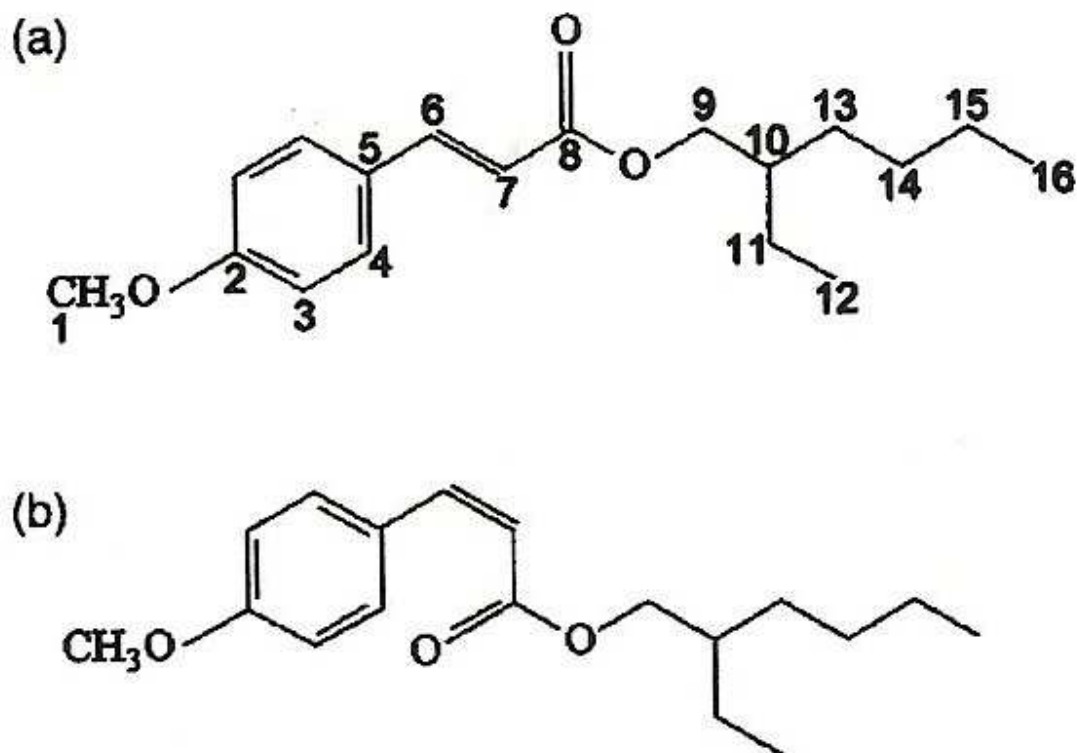
Pattanaargson e Limphong (2001), utilizando CLAE semi-preparativa e ressonância magnética nuclear, isolaram e identificaram, o isômero Z do octil metoxicinamato, como o único produto de fotodegradação.

No experimento, soluções de 1000 ppm de OMC em metanol, foram expostas à luz solar a temperatura ambiente. Depois de um dia, sob luz solar, aproximadamente metade da concentração da solução, havia se transformado em uma outra substância (figura 24).

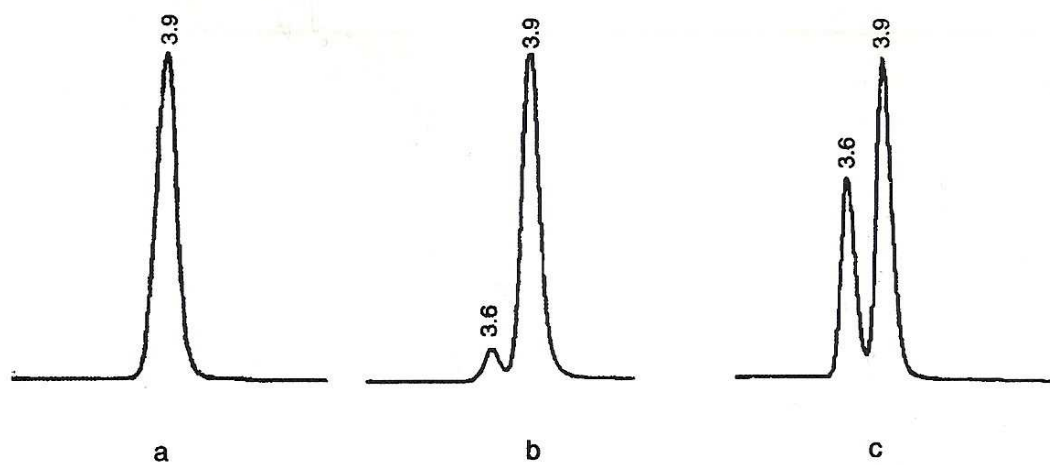
Nenhuma fotodegradação foi encontrada, em experimento, com as soluções mantidas ao abrigo da luz, nas temperaturas de 4, 25, 32 e 60° C, por um mês.<sup>52</sup>



**Figura 23:** (a) E-octilmetoxicinamato e (b) Z-octilmetoxicinamato



**Figura 24:** Fotodegradação do octil metoxicinamato – (a) antes de irradiar e (b) e (c) após.<sup>52</sup>



## **5.1) EXPERIMENTO PARA AVALIAR A POSSÍVEL FOTODEGRADAÇÃO DOS PROTETORES SOLARES, COMERCIALIZADOS NO BRASIL.**

Com o objetivo de verificar se a fotodegradação poderia também ocorrer com os produtos, comercializados aqui no Brasil, que apresentavam em suas formulações o octil metoxicinamato, amostras dos protetores solares D-FPS 20 e F-FPS 30, contendo em torno de 1g, foram aplicadas sobre placas de vidro e expostas a um simulador solar, por 30min. Amostras nas mesmas condições foram preparadas e colocadas ao abrigo da luz.

Após a irradiação, observou-se uma mudança na coloração do produto, de branco para amarelado. Não houve mudança de coloração nas amostras não irradiadas.

O material foi removido da placa de vidro e adicionado a 500 $\mu$ L de uma solução 2M de ácido sulfúrico e 10mL de metanol. A mistura foi levada ao ultrassom por 30min e logo em seguida centrifugada a 1000G por 10min. O sobrenadante foi pipetado, filtrado com membrana Millipore 0,45 $\mu$ m/25mm e em seguida preparadas às soluções por diluição. As soluções foram homogeneizadas e injetadas, sendo então analisadas por CLAE com detector de UV/visível.

## **5.2) IRRADIAÇÃO AO SOL**

Em teste paralelo, amostras nas mesmas condições experimentais foram expostas à radiação solar, para verificar se também apresentariam mudança de coloração. As amostras foram expostas à radiação solar, nos intervalos de tempo de 10 minutos e 30 minutos. O material foi removido, extraídos os componentes ativos e analisado em CLAE.

### **5.3) EXPERIMENTO VARIANDO O TEMPO DE IRRADIAÇÃO**

Para acompanhar a formação do produto de fotodegradação, amostras do protetor solar foram irradiadas nos intervalos de tempo: 15, 20, 40 e 60 minutos.

### **5.4) SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DO PRODUTO DE FOTODEGRADAÇÃO.**

Como o tempo de retenção do produto de fotodegradação é bem próximo do octil metoxicinamato foram testadas misturas de acetonitrila e água: 70:30; 60:40 e 65:35, com o objetivo de melhor separar as substâncias para poder quantificar o produto de fotodegradação.

### **5.5) EXPERIMENTO COM DETECTOR DE DIODE ARRAY.**

Foram pesadas em balança analítica duas amostras do protetor solar D-FPS 20, contendo em torno de 1g cada e espalhadas em placas de vidro. Uma delas foi irradiada durante trinta minutos em simulador solar e a outra colocada ao abrigo da luz.

Elas foram submetidas aos procedimentos de solubilização e extração, sendo analisadas por CLAE, com detector de UV-Visível, com arranjo diodos, para a obtenção dos espectros de absorção molecular, no ultravioleta, dos sinais cromatográficos referentes aos princípios ativos presentes no protetor solar D-FPS 20 e no sinal cromatográfico referente ao produto de fotodegradação.

### **5.6) EXPERIMENTO DE FOTODEGRADAÇÃO COM OS PRINCÍPIOS ATIVOS.**

Com o objetivo de verificar se a fotodegradação também ocorria com os princípios ativos isolados, foram preparadas soluções em torno de 100 mg/mL em metanol dos ativos: benzofenona-3, octil metoxicinamato e salicilato de octila.

Alíquotas de 5mL das soluções foram colocadas em placas de vidro e irradiadas no simulador solar por 30 minutos e amostras nas mesmas condições foram colocadas ao abrigo da luz. Após a irradiação o material foi removido, solubilizado com metanol e analisado por CLAE.

### **5.7) PRODUTOS FPS 30 DE FABRICANTES DIFERENTES.**

Amostras contendo em torno de 1g foram espalhadas em placas de vidro e irradiadas no simulador durante 30min. Após a irradiação observou-se que o produto havia se tornado amarelado na superfície, mas não na camada inferior, indicando que a espessura da camada do produto espalhado tem importância significativa na realização do ensaio.

### **5.8) EXPERIMENTO PARA ACOMPANHAR A FOTODEGRADAÇÃO DO OMC QUANTITATIVAMENTE.**

Como os produtos de fotoproteção são geralmente emulsões, o espalhamento do produto sobre a placa de vidro é ponto crítico para o experimento de fotodegradação, deste modo foram preparadas soluções do octil metoxicinamato em metanol para contornar este problema.

Alíquotas de 1mL da solução 0,2mg/mL do octil metoxicinamato em metanol foram colocadas em placas e expostas ao simulador solar nos intervalos de tempo: 30seg; 1min; 5min; 10min; 30min e 60min. Após irradiação o material foi retirado quantitativamente, avolumado em balão de 5mL e analisado por CLAE, sendo obtida, deste modo, a curva de calibração para quantificar o produto de fotodegradação, através do metoxicinamato de octila degradado.

Em ensaio paralelo, na mesma condição experimental, amostras de 1mL da solução foram expostas ao sol durante 1min, sendo removida quantitativamente e analisada em seguida por CLAE.

## **5.9) EXPERIMENTO PARA ISOLAR E IDENTIFICAR O PRODUTO DA FOTODEGRADAÇÃO.**

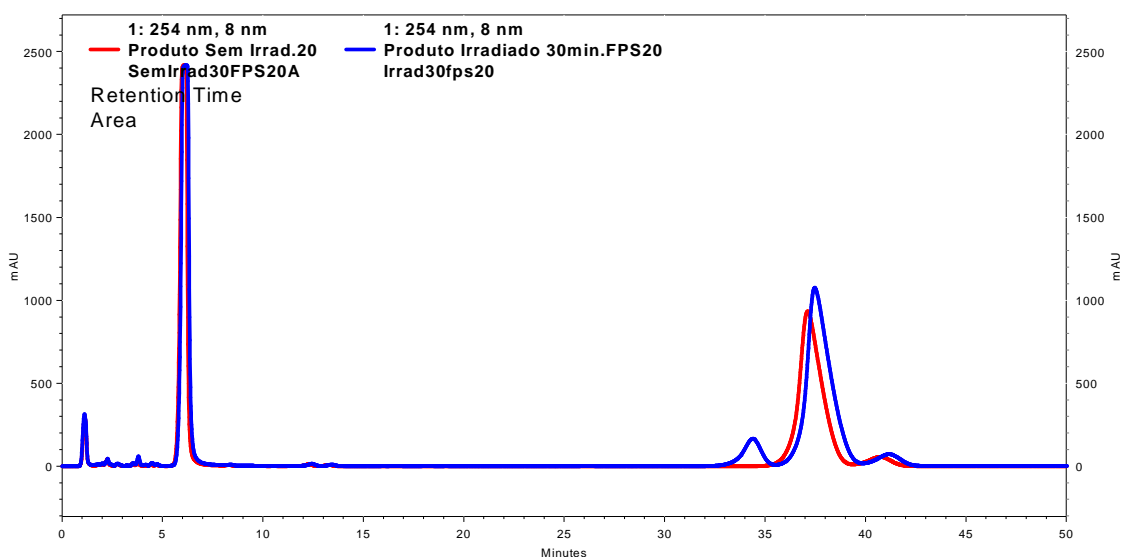
Uma solução 0,2mg/mL do octil metoxicinamato padrão foi colocada em placa de vidro e irradiada em um simulador solar por 10 minutos. Após a irradiação a solução foi removida quantitativamente com metanol, homogeneizada e injetada, utilizando CLAE semi-preparativa. As substâncias foram isoladas, liofilizadas e através da ressonância magnética nuclear, analisadas.

## 6.0) RESULTADOS E DISCUSSÃO DA PARTE II

### 6.1) EXPERIMENTO PARA AVALIAR A POSSÍVEL FOTODEGRADAÇÃO DOS PROTETORES SOLARES, COMERCIALIZADOS NO BRASIL.

Os cromatogramas das amostras de filtros solares irradiadas apresentaram mudanças com o surgimento de um novo sinal cromatográfico, comparativamente as amostras colocadas ao abrigo da luz.

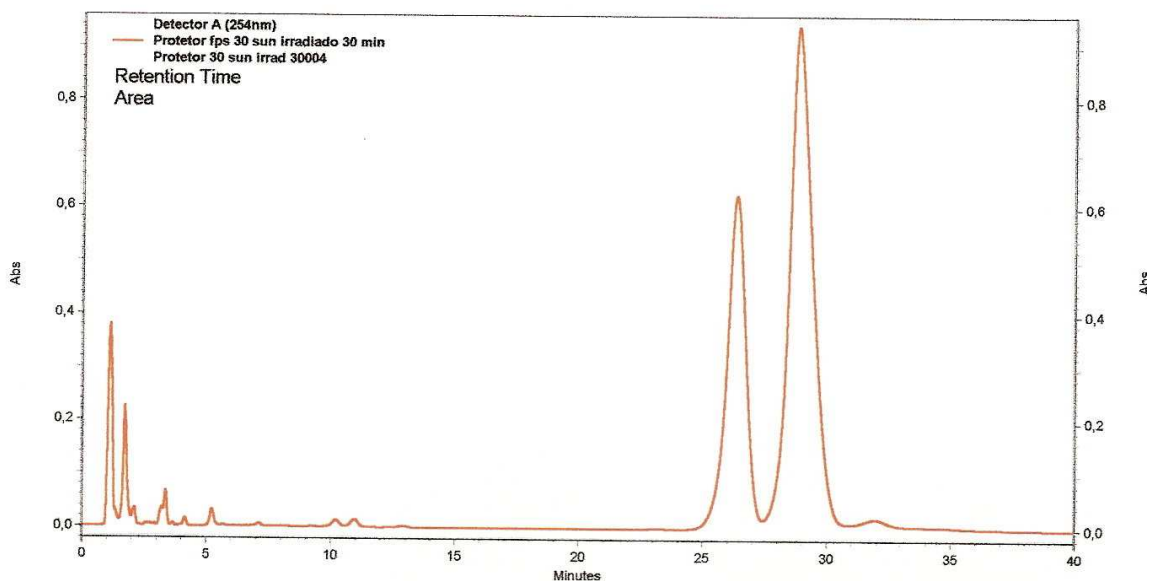
**Figura 25:** Cromatogramas do protetor solar D-FPS 20 sem irradiar e após 30 minutos de irradiação.



### 6.2) IRRADIAÇÃO AO SOL

Amostras nas mesmas condições experimentais, expostas à radiação solar, também apresentaram mudança de coloração. A análise por CLAE, apresentou mudança no perfil cromatográfico com o aparecimento de um novo sinal cromatográfico, com tempo de retenção menor que o sinal cromatográfico referente ao octil metoxicinamato

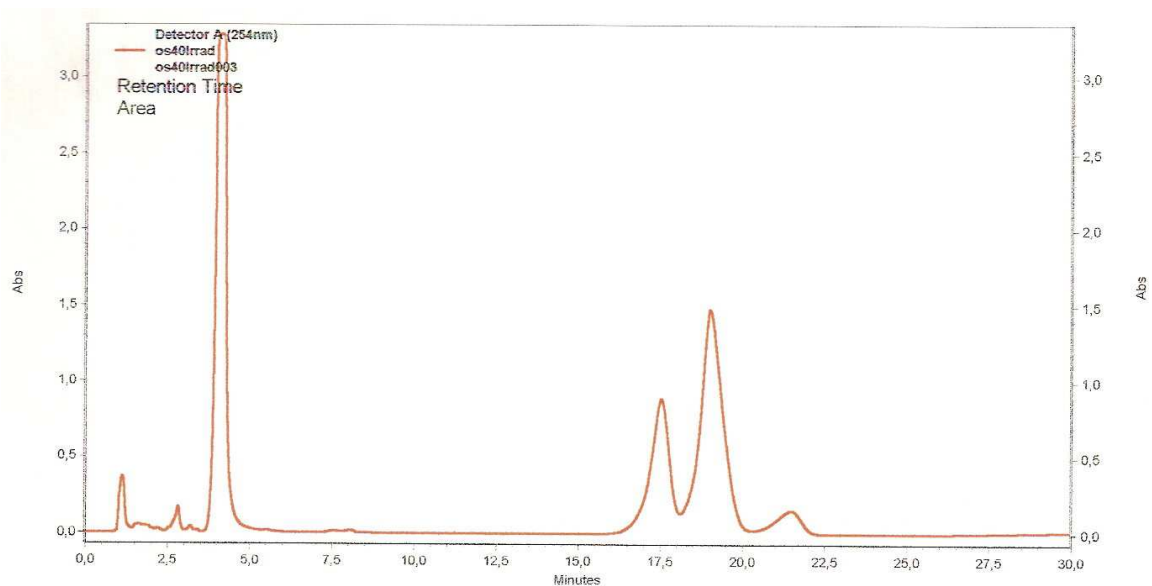
Figura 26: Cromatograma do protetor solar F - FPS 30 irradiado ao sol por 30 minutos



### 6.3) EXPERIMENTO VARIANDO O TEMPO DE IRRADIAÇÃO.

Em todos os intervalos de tempo observou-se a formação de um novo sinal cromatográfico.

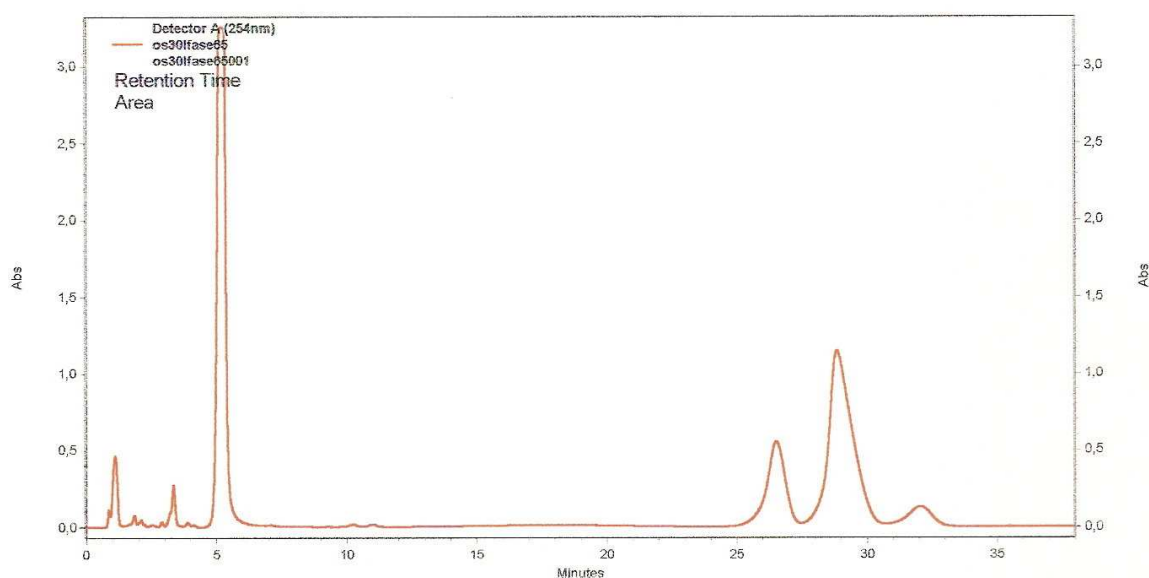
Figura 27: Cromatograma do protetor solar E-FPS 30 irradiado por 40 minutos.



## 6.4) SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DO PRODUTO DE FOTODEGRADAÇÃO.

Das misturas de acetonitrila e água testadas, a proporção 65:35 foi a que melhor separou os sinais cromatográficos referentes ao produto de fotodegradação e do octil metoxicinamato,

Figura 28: Separação cromatográfica de produto fotodegradado.



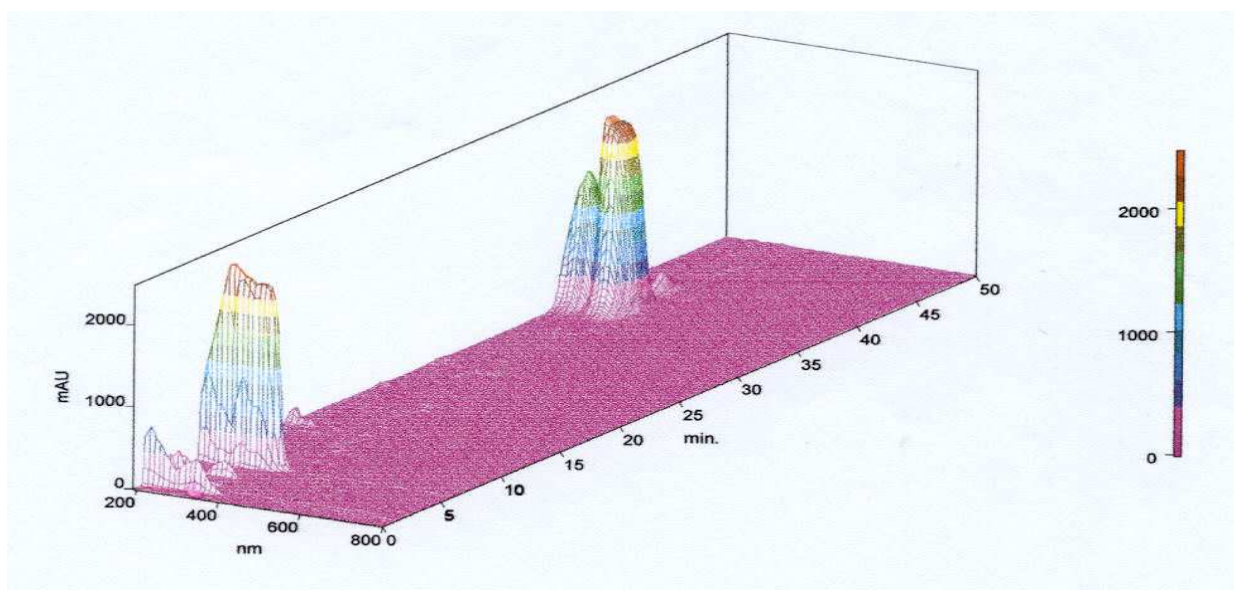
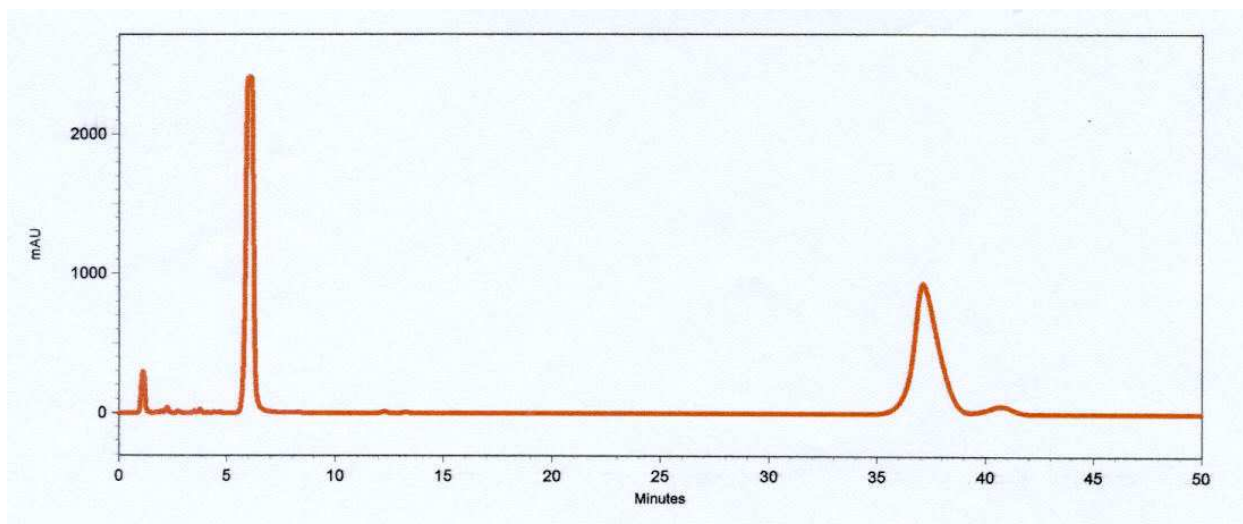
## 6.5) EXPERIMENTO COM DIODE ARRAY.

Através das análises por CLAE, com detector de UV-Visível, com arranjo diodos, foram obtidos os espectros de absorção molecular, no ultravioleta, dos sinais cromatográficos referentes aos princípios ativos, presentes nas amostras do protetor solar D-FPS 20 irradiado e do não irradiado.



**Figura 29:** protetor solar D-FPS 20 - não irradiado

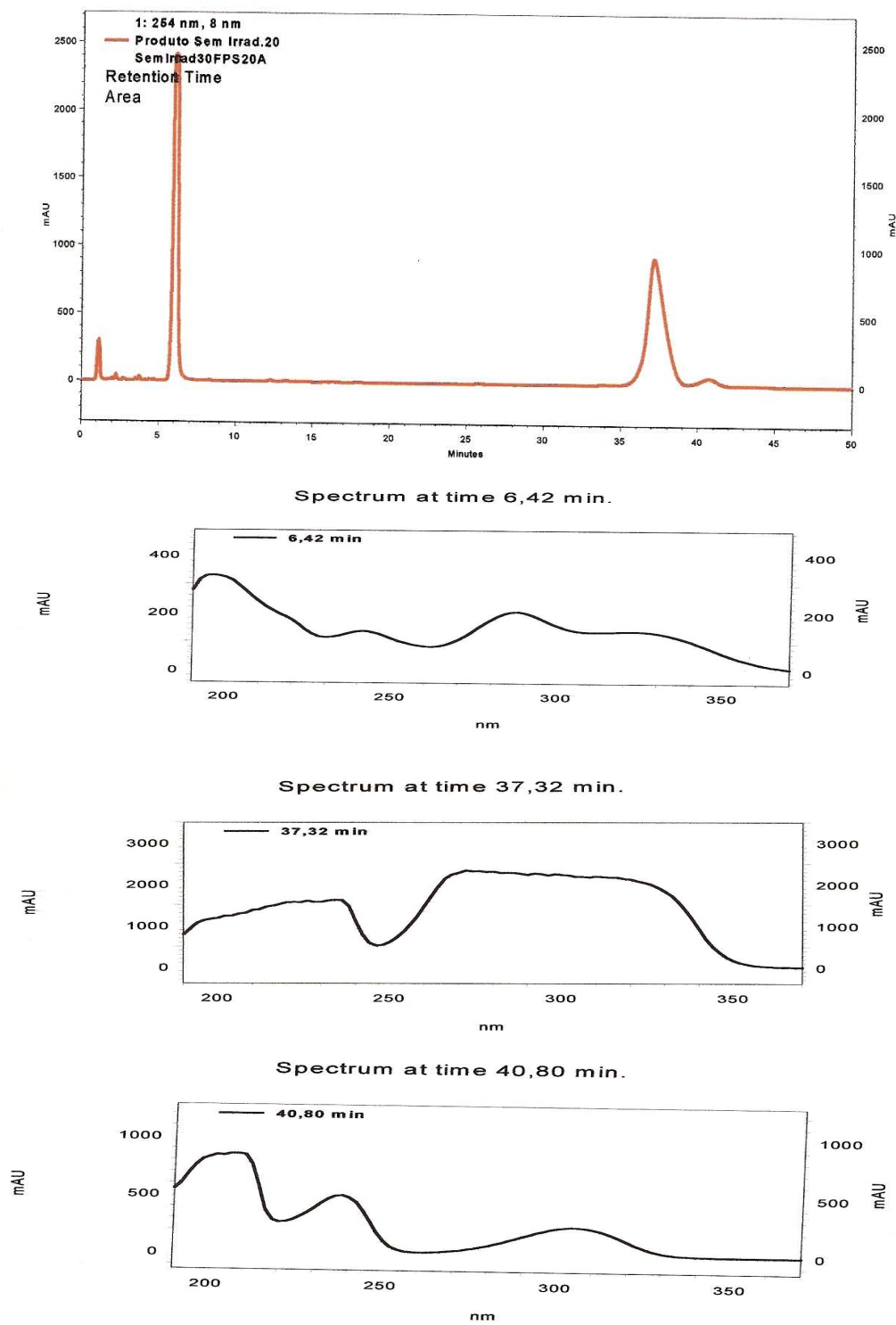
Cromatograma e espectro tridimensional de varredura no UV referente a cada sinal cromatográfico de benzofenona-3 (6,42 min), octil metoxicinamato (37,32 min) e do octil salicilato (40,80 min).



**Figura 30:** protetor solar D-FPS 20 - não irradiado

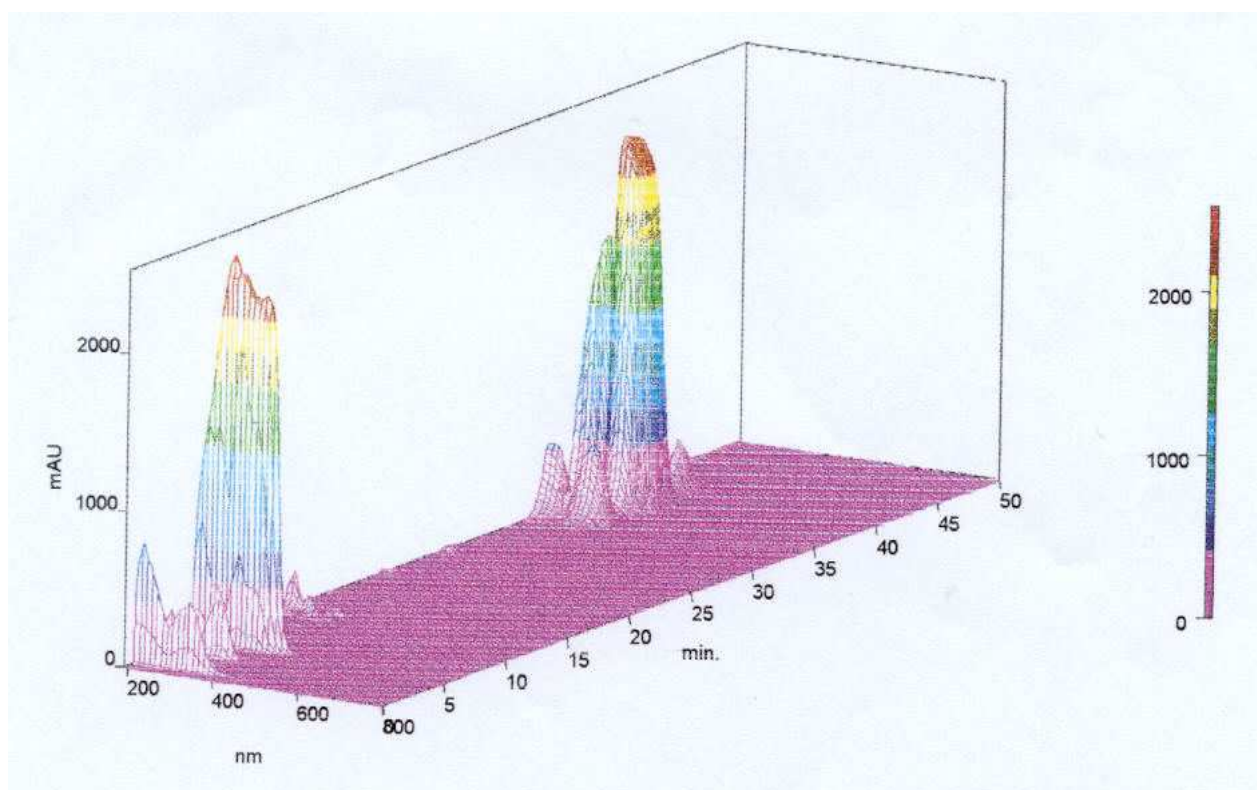
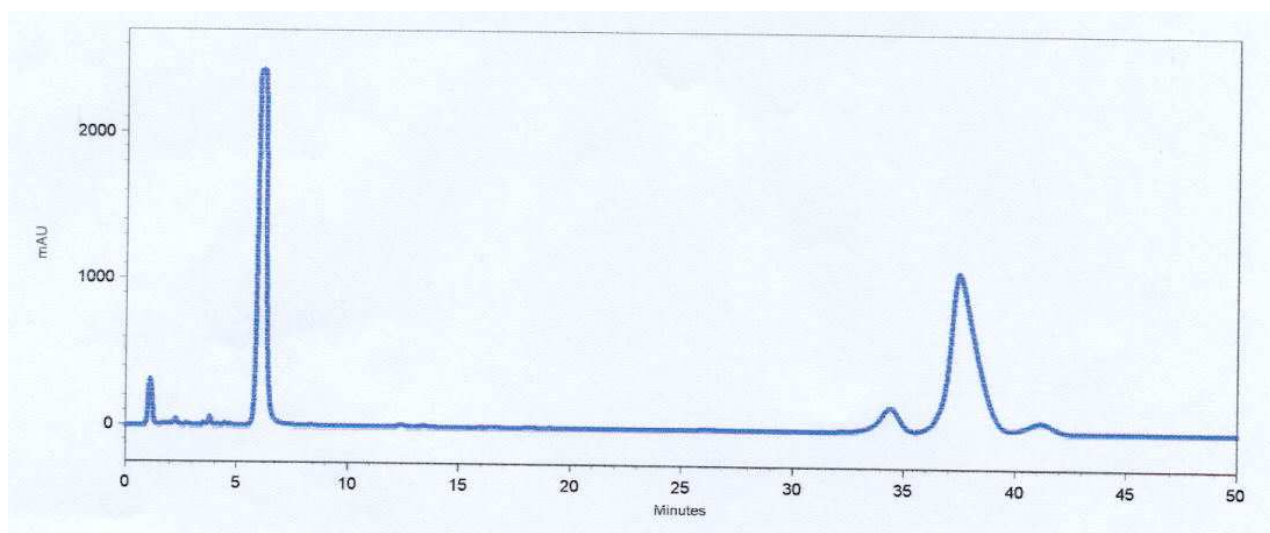
Cromatogramas e espectros de absorção referentes a cada sinal cromatográfico.

benzofenona-3 (6,42 min), octil metoxicinamato (37,32 min) e do octil salicilato (40,80 min).



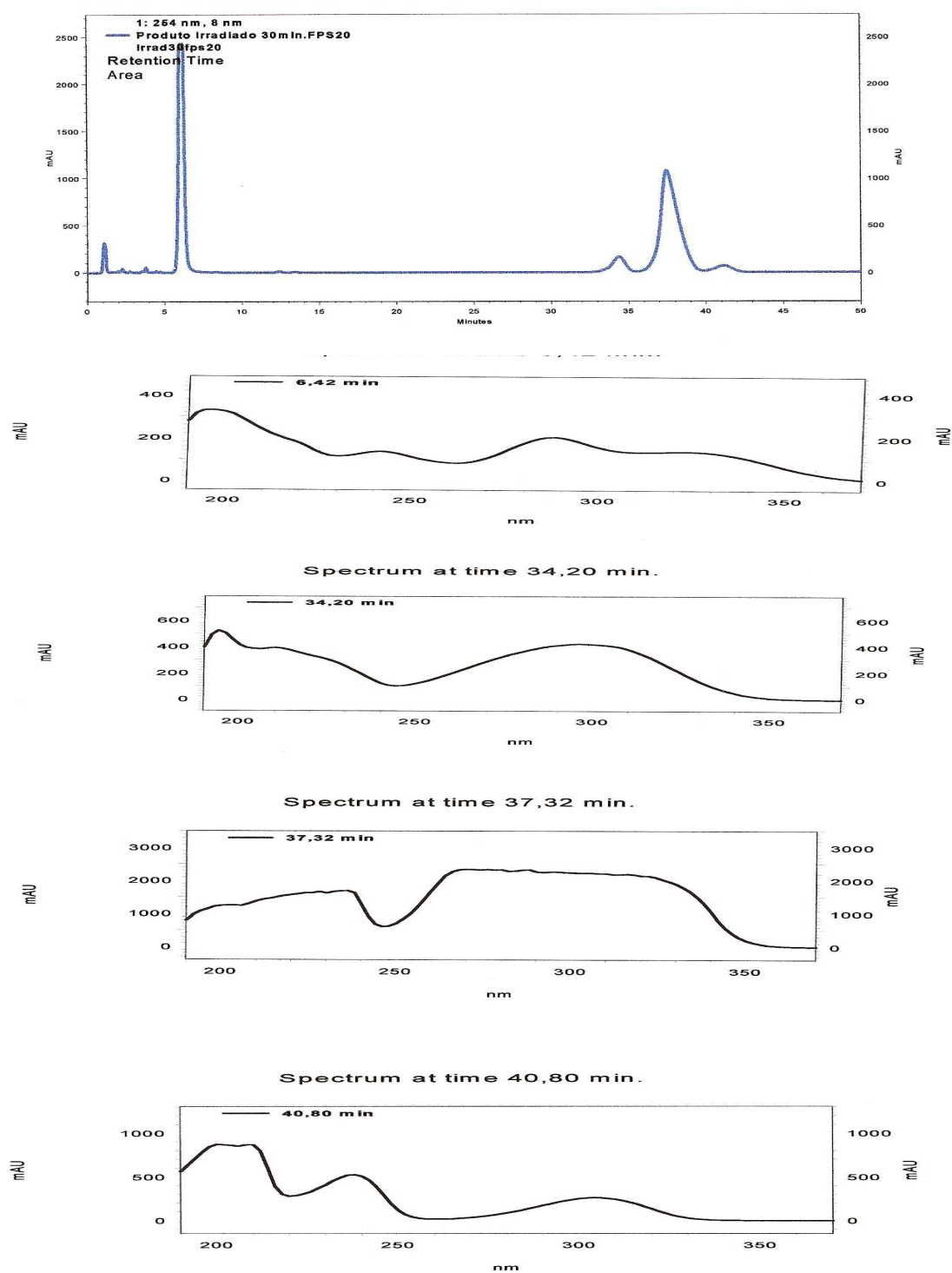
**Figura 31:** Protetor solar D-FPS 20 - irradiado

Cromatograma e espectro tridimensional de varredura no UV referente a cada sinal cromatográfico de benzofenona-3 (6,42 min), produto de fotodegradação (34,20), octil metoxicinamato (37,32 min) e do octil salicilato (40,80 min).



**Figura 32:** Protetor solar D- FPS 20 - irradiado

Cromatograma e espectros referentes a cada sinal cromatográfico de benzofenona-3 (6,42 min), produto de fotodegradação (34,20), octil metoxicinamato (37,32 min) e do octil salicilato (40,80 min).



## 6.6) EXPERIMENTO DE FOTODEGRADAÇÃO COM OS PRINCÍPIOS ATIVOS ISOLADOS.

Entre as amostras irradiadas dos princípios ativos somente a referente ao octil metoxicinamato apresentou um novo sinal, quando comparada a não irradiada.

Figura 33: Salicilato de octila – irradiado e não irradiado.

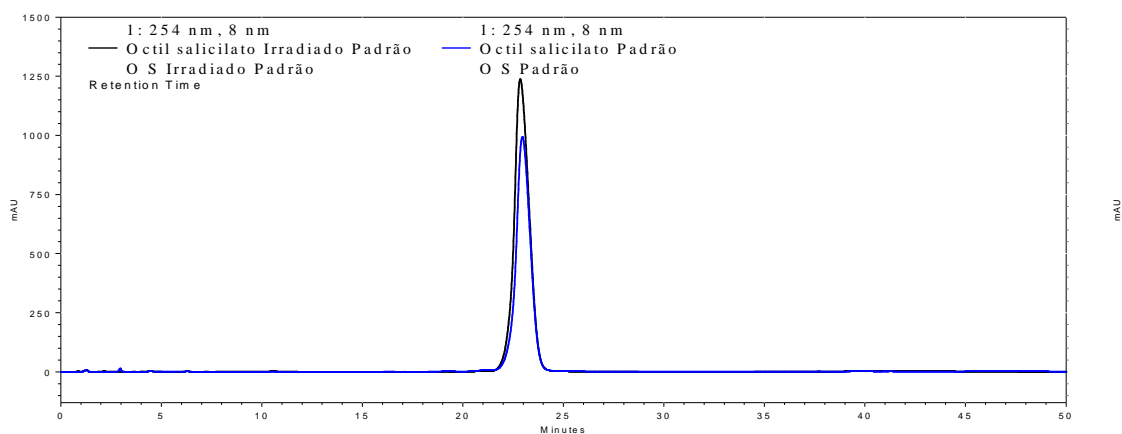
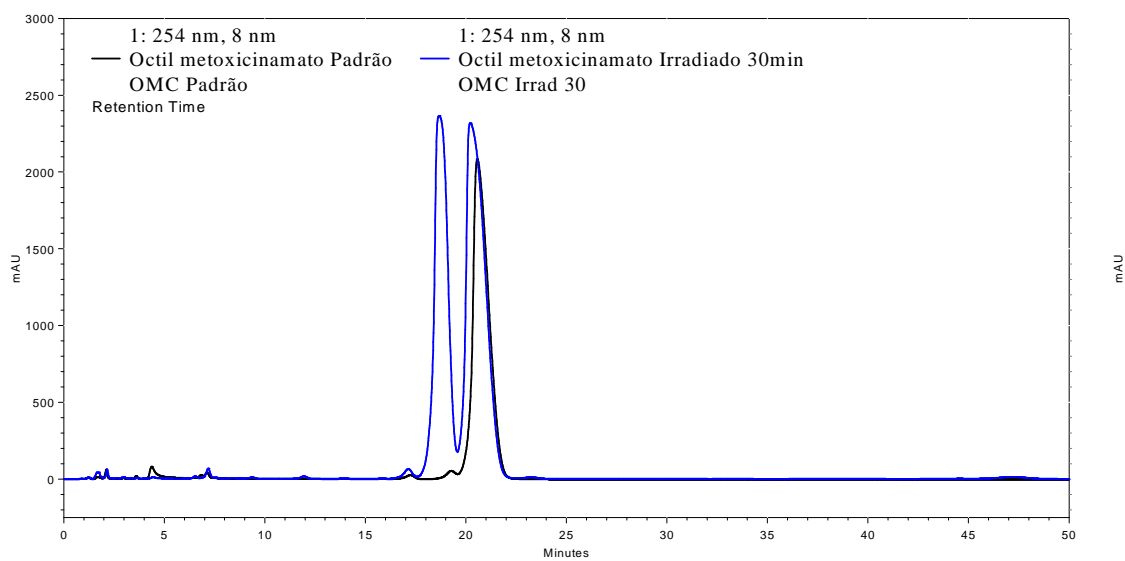


Figura 34: octil metoxicinamato – irradiado e não irradiado



## 6.7) EXPERIMENTO PARA ACOMPANHAR A FOTODEGRADAÇÃO DO OMC QUANTITATIVAMENTE.

Os cromatogramas das amostras das soluções do octil metoxicinamato em metanol, expostas ao simulador solar, nos intervalos de tempo: 30seg; 1min; 5min; 10min; 30min e 60min, apresentaram mudança no perfil cromatográfico com o aparecimento do sinal cromatográfico referente ao produto de fotodegradação (Figuras 35 a 40).

O cromatograma da amostra, exposta ao sol durante 1min, também apresentou mudança no perfil cromatográfico com o aparecimento do sinal cromatográfico referente ao produto de fotodegradação. O Gráfico 1 apresenta a curva de fotodegradação do OMC.

Figura 35: Octil metoxicinamato irradiado por 30 segundos.

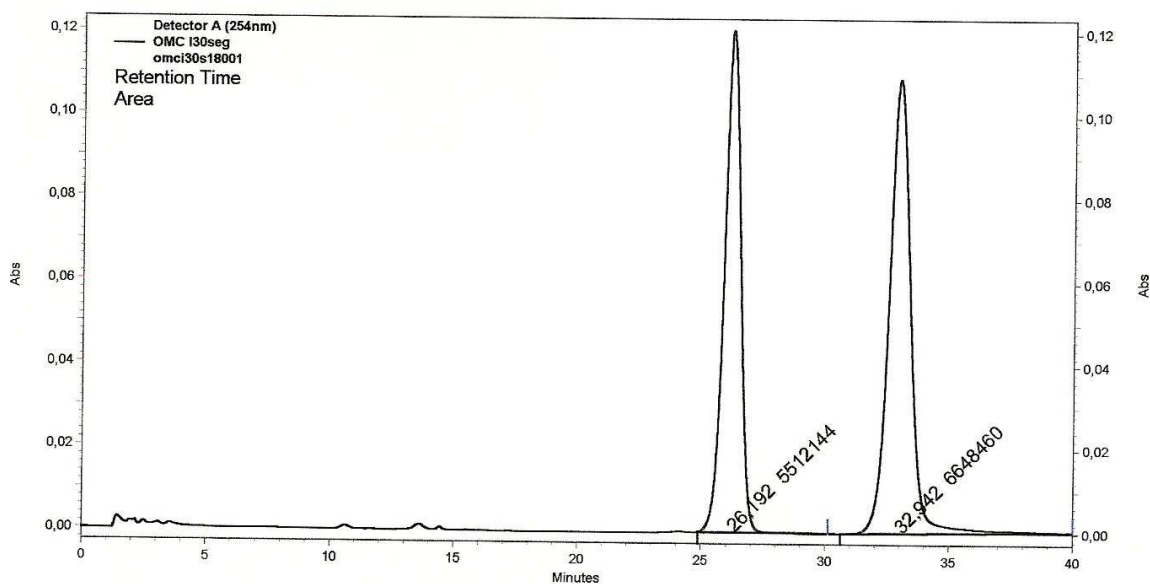


Figura 36: Octil metoxicinamato irradiado por 5 minutos.

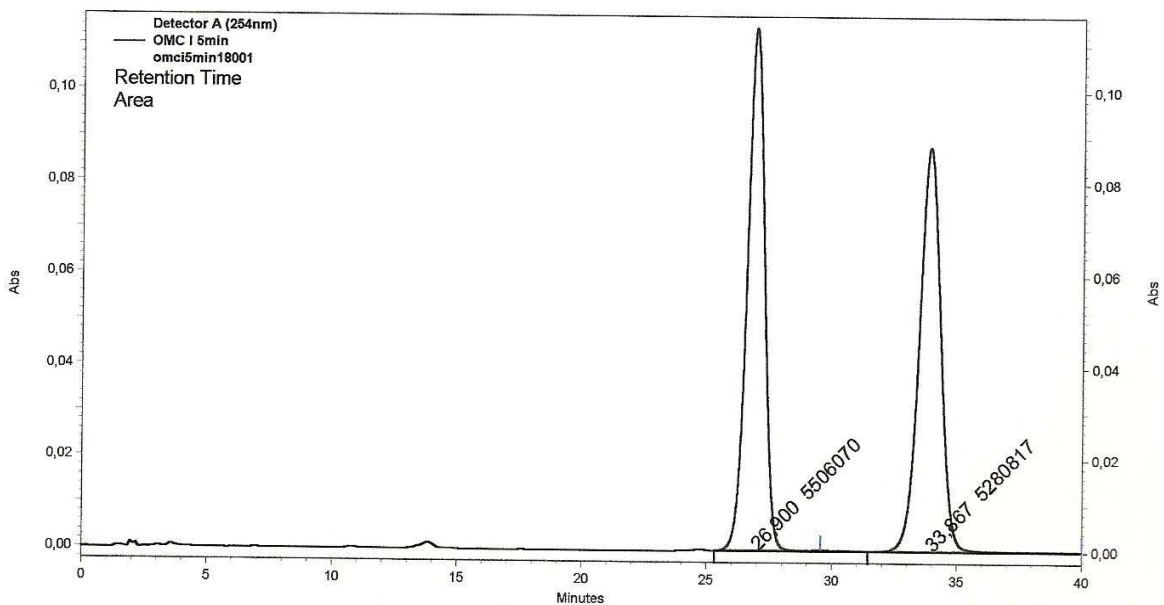


Figura 37: Octil metoxicinamato irradiado por 10 minutos.

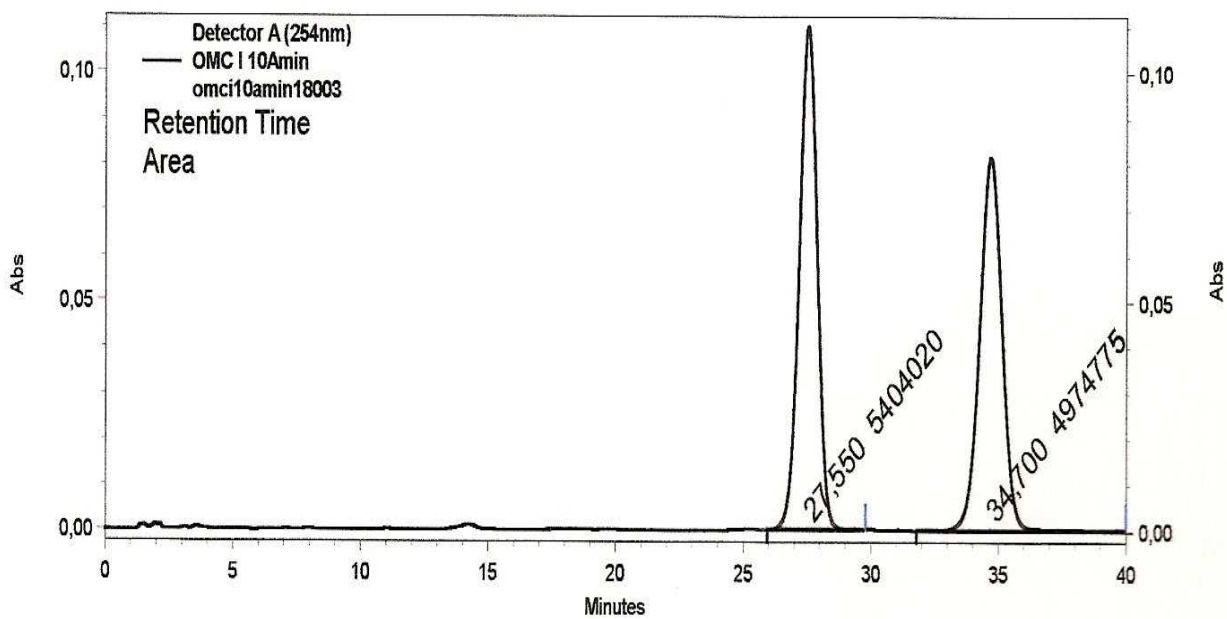


Figura 38: Octil metoxicinamato irradiado por 30 minutos.

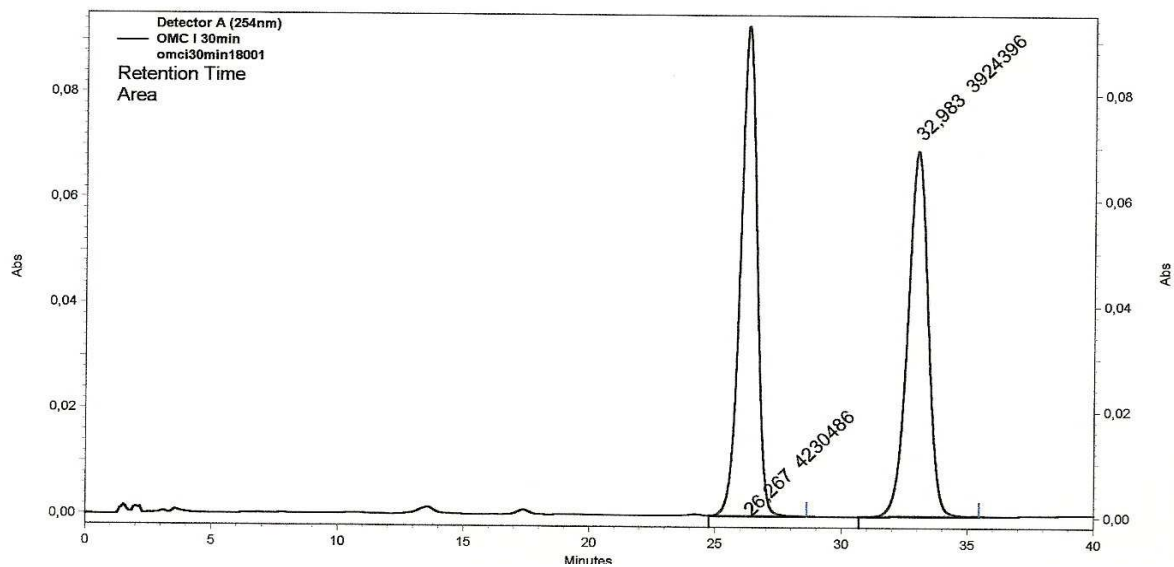


Figura 39: Octil metoxicinamato irradiado por 1 hora.

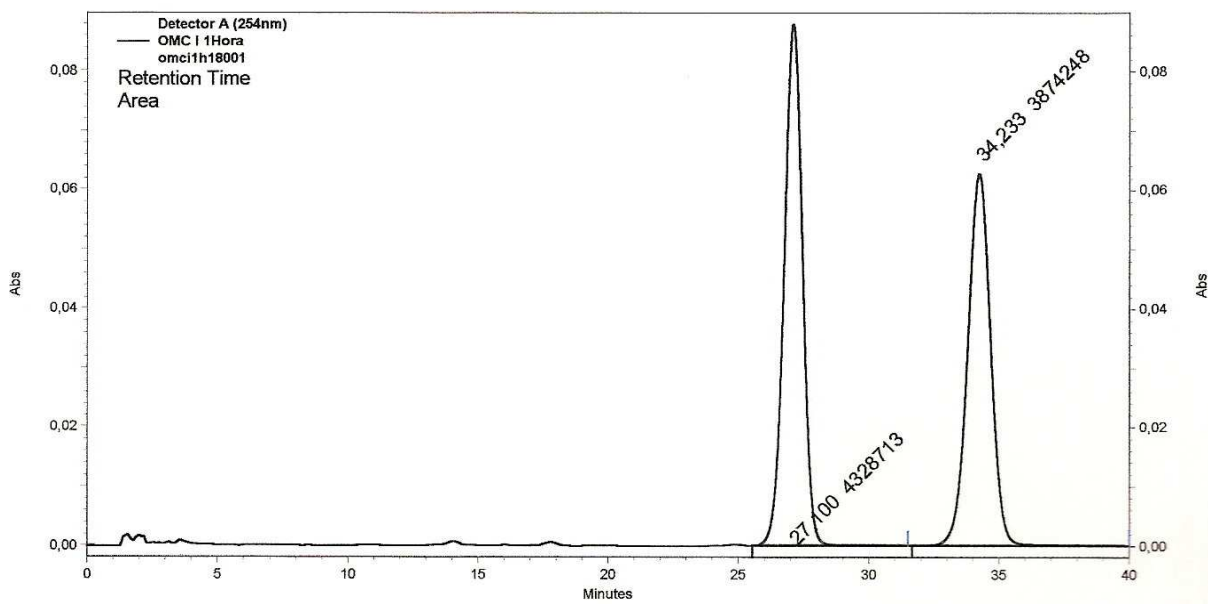




Figura 40: Octil metoxicinamato irradiado ao Sol por 1 minuto.

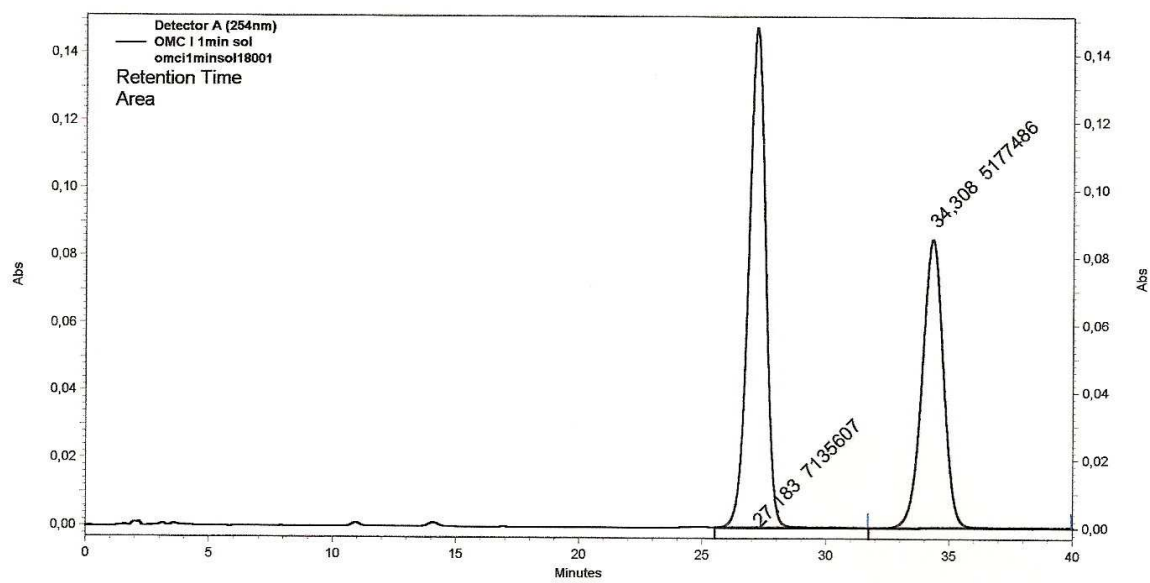






Figura 42 – Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do isômero E-octil metoxicinamato.

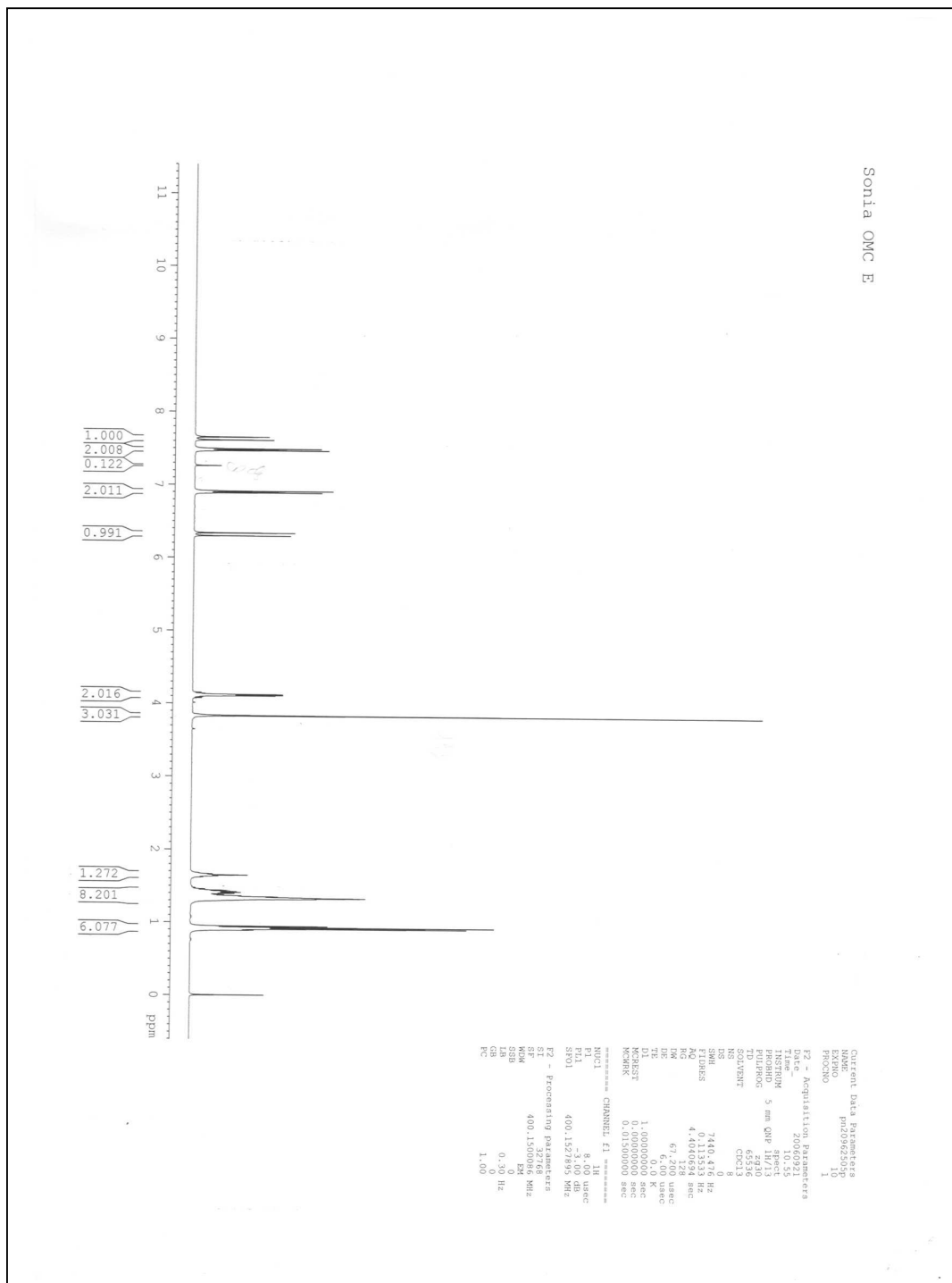


Figura 43 – Espectro expandido de <sup>1</sup>H RMN do isômero E-octil metoxicinamato.

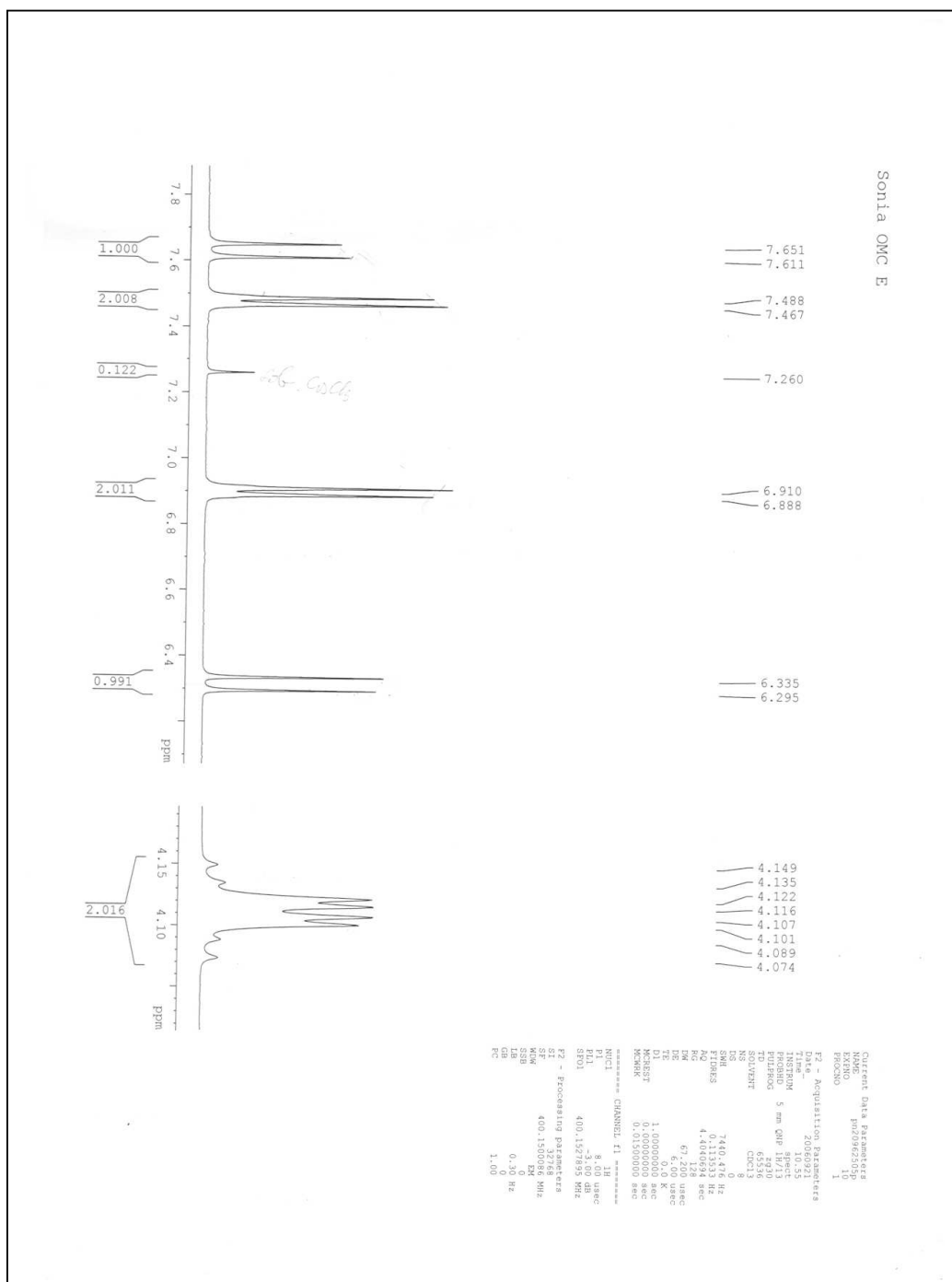


Figura 44 – Espectro de  $^{13}\text{C}$  RMN do isômero Z-octil metoxicinamato.

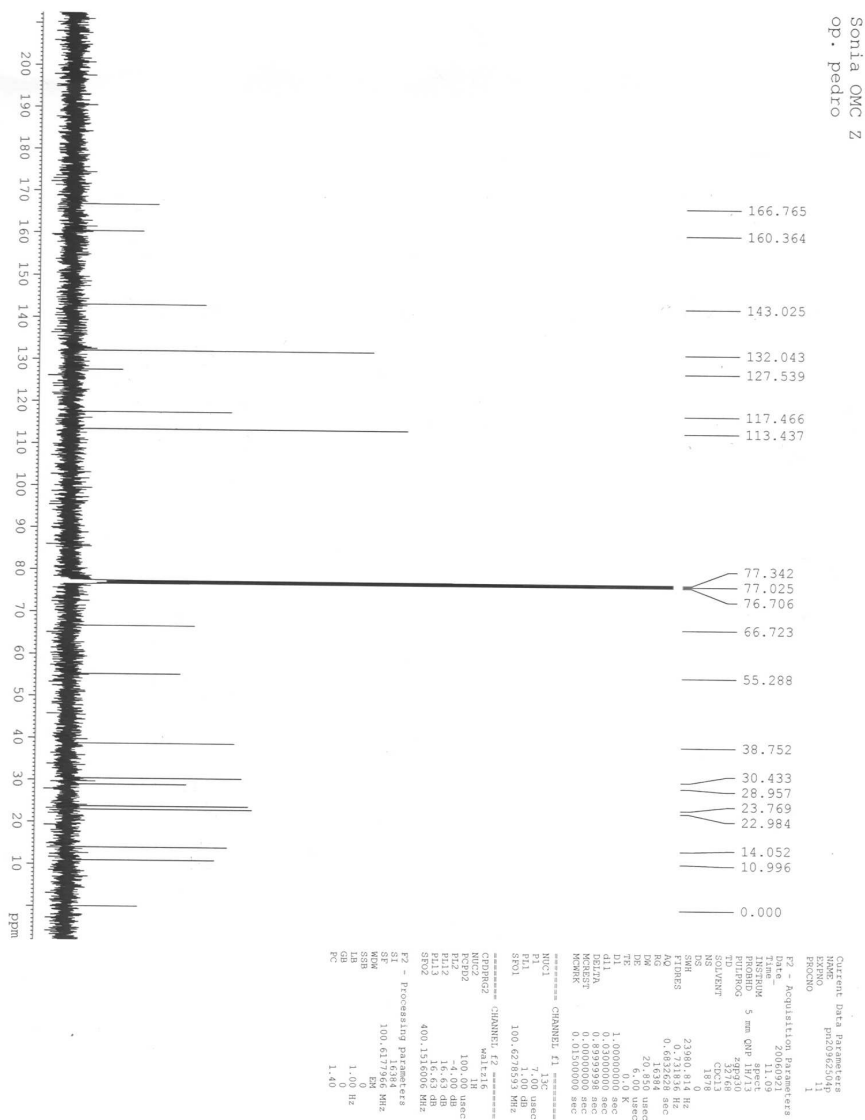


Figura 45 – Espectro de  $^1\text{H}$  RMN do isômero Z-octil metoxicinamato.

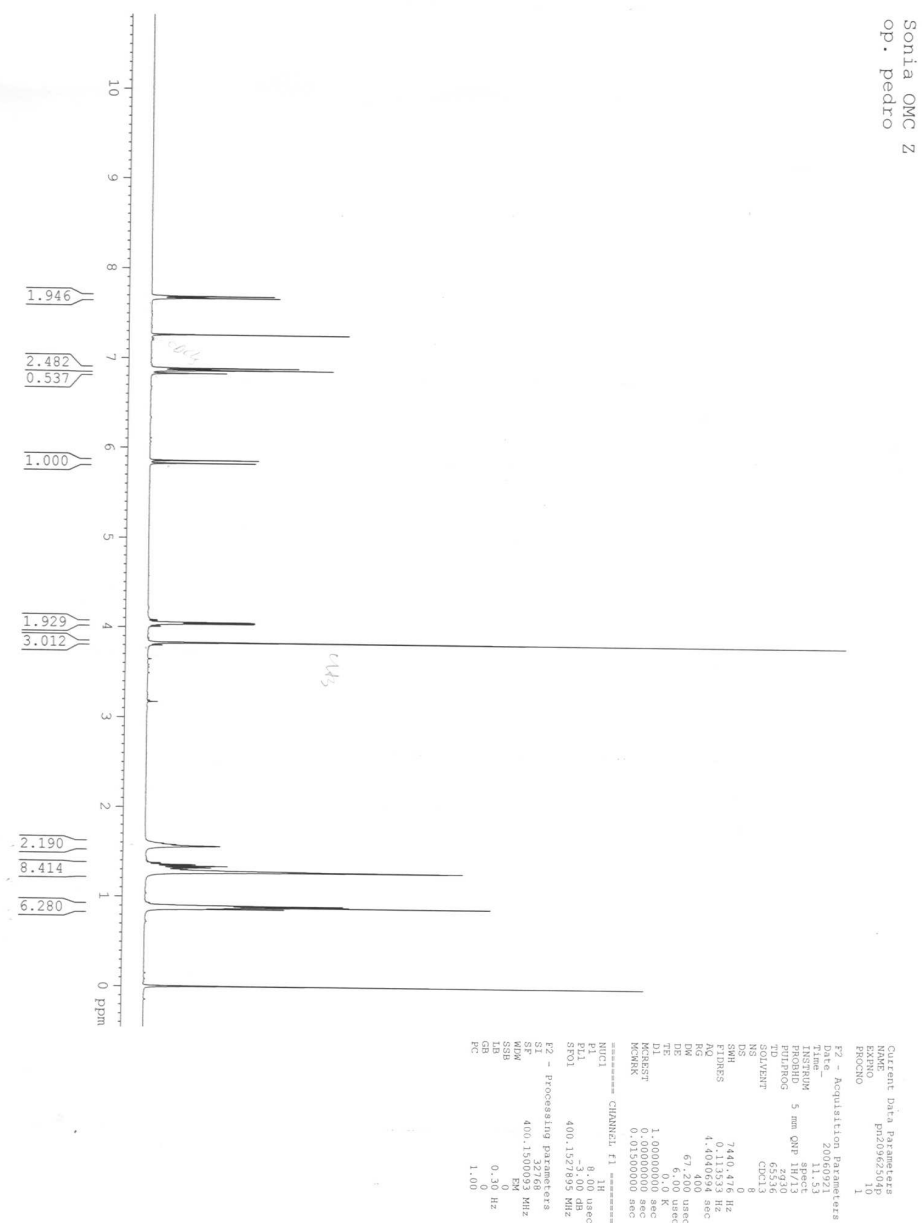
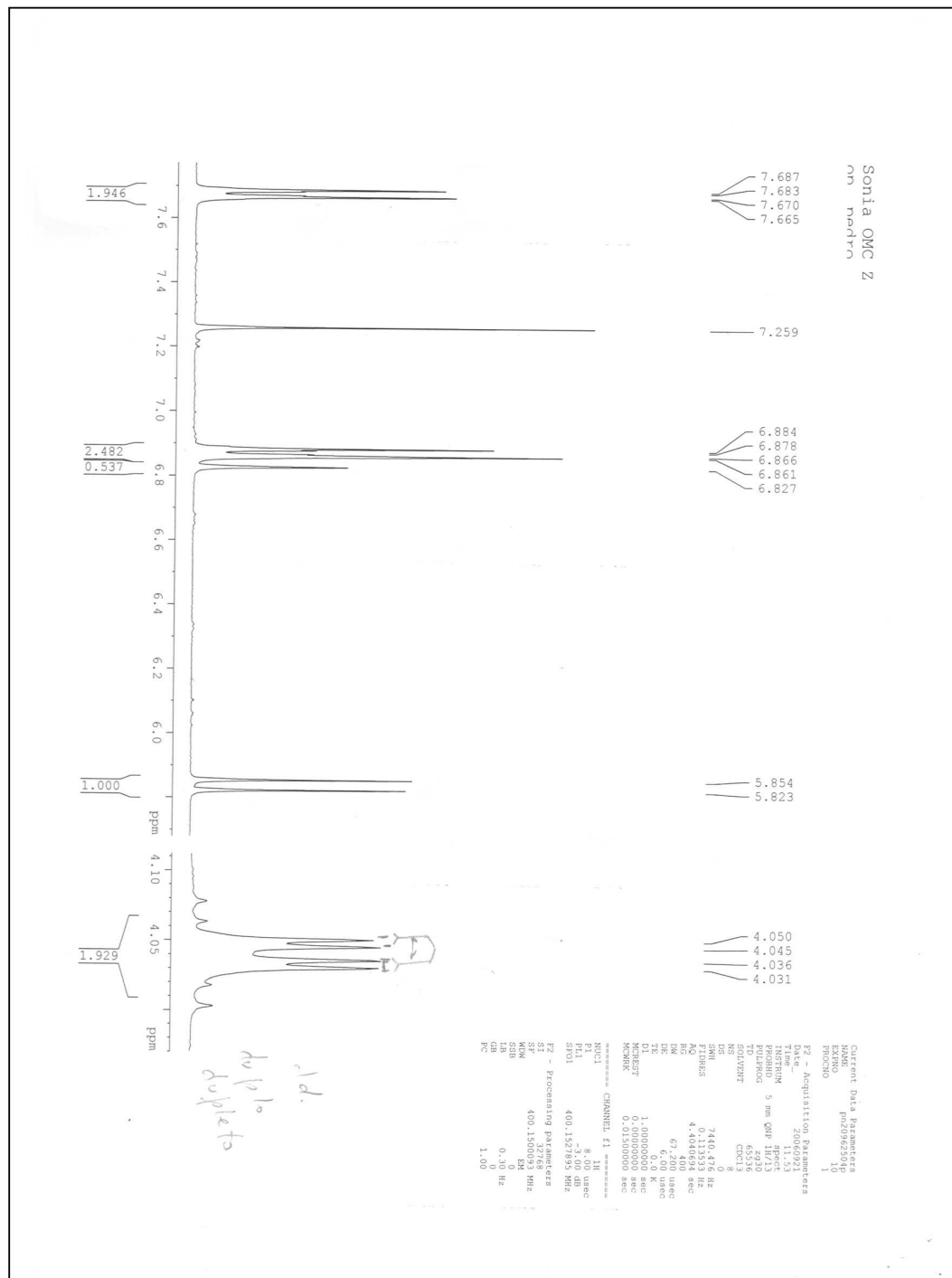


Figura 46 – Espectro expandido de  $^1\text{H}$  RMN do isômero Z-octil metoxicinamato.



Embora haja uma diferença nos deslocamentos químicos dos carbonos 6 ( 143,1 e 144,1 ppm) e 7 (115,9 e 117,4 ppm) dos isômeros E e Z OMC (Tabela 21), a constante de



acoplamento (J) dos hidrogênios nos carbonos 6 e 7 ( $J^{6,7} = 16$  e  $J^{6,7} = 12,4$  Hz) é o dado determinante para confirmar as estruturas, tendo em vista o valor de J trans ser maior que o de Jcis.<sup>58</sup>

**Tabela 21** – Comparação dos deslocamentos químicos dos espectros de  $^{13}\text{C}$  RMN dos isômeros E e Z com os dados da literatura<sup>15</sup>

Carbono	Isômero E <sup>15</sup>	Isômero E	Isômero Z	Isômero Z <sup>15</sup>
1	167,5	167,6	166,8	167,5
2	162,1	161,3	160,4	161,0
3	143,1	144,2	143,0	144,2
4	129,7	129,7	132,0	132,0
5	127,2	127,3	127,5	127,2
6	115,8	115,9	117,4	117,5
7	114,3	114,3	113,4	113,3
8	66,8	66,8	66,7	66,7
9	55,3	55,4	55,3	55,3
10	38,9	38,9	38,8	38,8
11	30,5	30,5	30,4	30,5
12	28,9	29,0	29,0	28,9
13	23,8	23,9	23,8	23,7
14	23,0	23,0	23,0	23,0
15	14,1	14,1	14,0	14,1
16	11,0	11,0	11,0	11,0

Adicionalmente, além dos dados qualitativos e quantitativos das composições (formulações) destes produtos cosméticos que estão diretamente ligados ao cumprimento de suas funções quando em uso, algumas informações que devem constar em seus rótulos também têm parcela importante de contribuição.

## **PARTE III – ESTUDO DAS ROTULAGENS**

## **7.0) AVALIAÇÃO DAS INFORMAÇÕES CONTIDAS NAS ROTULAGENS DOS PROTETORES SOLARES MAIS COMERCIALIZADOS NO BRASIL.**

A rotulagem é parte integrante do produto, sendo um instrumento de informação para o consumidor, como também, para o sistema de Vigilância Sanitária, devendo conter informações sobre a fabricação, origem, modo de uso e atributos dos produtos de forma clara e objetiva, seguindo as exigências legais.

Foi verificado se as informações contidas nos rótulos dos protetores solares estão de acordo com as legislações vigentes e avaliar se elas orientam o consumidor quanto à escolha e uso do produto.

## **8) MÉTODOS EMPREGADOS**

Este estudo foi realizado em duas etapas: uma qualitativa e outra quantitativa. Para a etapa qualitativa foi realizada uma análise crítica da rotulagem, avaliando as informações concernentes à escolha e utilização do produto.

A etapa quantitativa constitui um estudo Seccional. Os dados foram coletados em um estabelecimento comercial pertencente a uma grande rede de drogarias no Estado do Rio de Janeiro – RJ, no Bairro do Catete, em dezembro de 2006.<sup>54-57</sup>

A amostra estudada foi escolhida por conveniência, com tamanho amostra considerando uma estimativa de 95% de confiança. Para tanto, foram selecionados 38 produtos de 13 fabricantes, os mais comercializados no Brasil, com FPS variando de 2 a 100.

Como instrumento de coleta de dados, foi utilizado o roteiro de inspeção para análise da rotulagem dos produtos de fotoproteção, elaborado e empregado pelo INCQS, com base nas normas, (figura 47) (Lei 6360/1976; Decretos 79.094/1977 e 83.239/1979 e RDC nº 211/2005, nº 237/2005, nº 48/2006 e nº 47/2006).<sup>23-29</sup> Os dados obtidos foram processados e analisados pelo programa estatístico SPSS, versão 12.0. O teste estatístico empregado foi o  $X^2$

( $p > 0,05$ ). Para manter a identidade dos fabricantes preservadas e facilitar a apresentação dos dados, os mesmos foram codificados por números (Gráficos 2 e 3).

**Figura 47:** Instrumento para coleta dos dados

### **ROTEIRO PARA ANÁLISE DE RÓTULO DE PROTETORES SOLARES**

Produto:.....

#### **Decreto nº 79.094/1977**

1. Data de fabricação.....
2. Responsável técnico/nº de inscrição/sigla da autarquia profissional.....

#### **Resolução – RDC nº 211/2005**

3. Nome do produto e grupo / tipo a que pertence no caso de não estar implícito no nome (embalagens primária e secundária).....
4. Marca (embalagens primária e secundária).....
5. Nº de registro.....
6. Lote ou partida.....
7. Prazo de validade.....
8. Conteúdo (volume/peso).....
9. Fabricante / Importador / Titular.....
10. Domicílio do Fabricante / Importador / Titular.....
11. País de Origem.....
12. Modo de Uso.....
13. Ingredientes / Composição.....

#### **Resolução – RDC nº 237/2005**

14. Texto de rotulagem para produtos que:

14.1. Não satisfaçam os requisitos de “Resistente à Água” ou “Muito Resistente à Água”:

14.1.a) Número de Proteção Solar precedido da sigla SPF ou FPS, ou das palavras “Fator de Proteção Solar” (em destaque nas embalagens primária e secundária).....

14.1.b) Expressões orientativas quanto a explicação dos Fatores de Proteção Solar.....

Baixa (FPS $\geq 2 < 6$ )	Pele pouco sensível	“Oferece Baixa proteção contra queimaduras solares”
Moderada (FPS $\geq 6 < 12$ )	Pele sensível	“Oferece Moderada proteção contra queimaduras solares”
Alta (FPS $\geq 12 < 20$ )	Pele muito sensível	“Oferece Alta proteção contra queimaduras solares”
Alta (FPS $\geq 20$ )	Pele extremamente sensível	“Oferece Muito Alta proteção contra queimaduras solares”

14.1.c) Frases obrigatórias

“É necessária a reaplicação do produto para manter a sua efetividade”.....

“Ajuda a prevenir as queimaduras solares”.....

14.1.d) Frases obrigatórias somente para produtos de uso infantil

“Para crianças menores de (6) seis meses, consultar um médico”.....

“Este produto não oferece nenhuma proteção contra insolação”.....

“Evitar exposição prolongada das crianças ao sol”.....

“Aplique generosamente ou livremente antes da exposição ao sol e sempre que necessário”, incluindo tempo determinado pelo fabricante, caso seja requerido período de espera.....

14.2. Satisfaçam os requisitos de “Resistente à Água” ou “Muito Resistente à Água”:

14.2.a) Número de Proteção Solar precedido da sigla SPF ou FPS, ou das palavras “Fator de Proteção Solar” (em destaque nas embalagens primária e secundária).....

14.2.b) Expressões orientativas quanto a explicação dos Fatores de Proteção Solar.....

Baixa (FPS $\geq 2 < 6$ )	Pele pouco sensível	“Oferece Baixa proteção contra queimaduras solares”
Moderada (FPS $\geq 6 < 12$ )	Pele sensível	“Oferece Moderada proteção contra queimaduras solares”
Alta (FPS $\geq 12 < 20$ )	Pele muito sensível	“Oferece Alta proteção contra queimaduras solares”
Alta (FPS $\geq 20$ )	Pele extremamente sensível	“Oferece Muito Alta proteção contra queimaduras solares”

14.2.c) Frases obrigatórias

“É necessária a reaplicação do produto para manter a sua efetividade”.....

“Ajuda a prevenir as queimaduras solares”.....

“Resistente à Água”, “Resistente à Água/suor” ou “Resistente à Água/transpiração”.....

“Aplicar tão freqüentemente quanto necessário após nadar, secar com toalha, sudorese intensa ou tempo de exposição prolongada ao sol”.....

14.2.d) Frases obrigatórias somente para produtos de uso infantil

“Para crianças menores de (6) seis meses, consultar um médico”.....

“Este produto não oferece nenhuma proteção contra insolação”.....

“Evitar exposição prolongada das crianças ao sol”.....

“Aplique generosamente ou livremente antes da exposição ao sol e sempre que necessário”, incluindo tempo determinado pelo fabricante, caso seja requerido período de espera.....

**Resolução – RDC nº 48/2006**

15. Substâncias proibidas.....

**Resolução – RDC nº 47/2006**

16. Filtros ultravioletas permitidos.....

16.1. Concentração autorizada.....

17. Frase de advertência  
Contém oxibenzona ( concentração acima de 0,5% de benzofenona-3).....

Analista:..... Data:.....  
Revisor:..... Data:.....

## 9) RESULTADOS E DISCUSSÃO

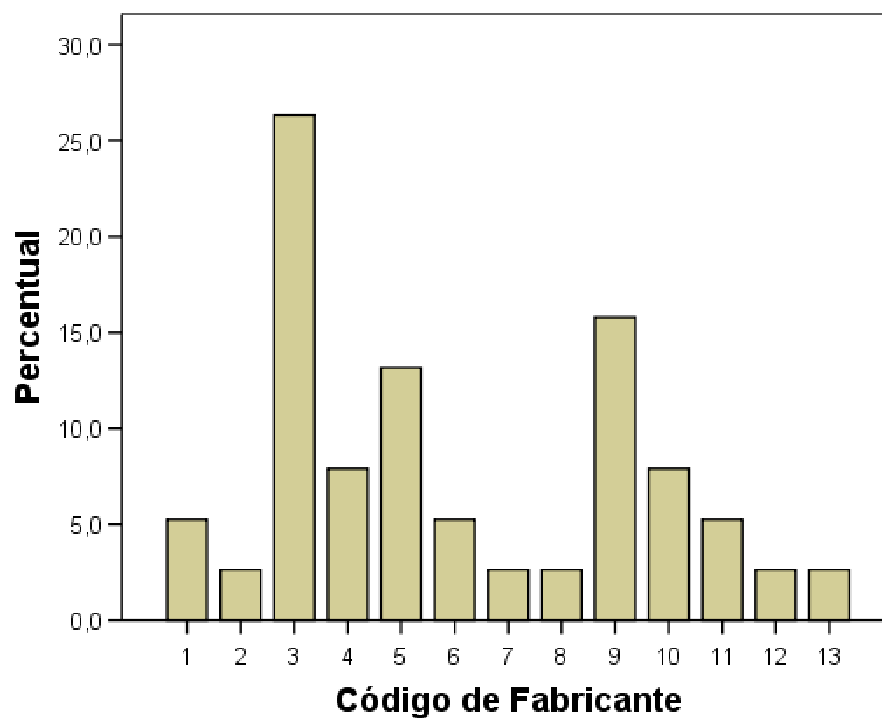
**Análise qualitativa:** em todos os produtos analisados verificou-se a insuficiência de informações necessárias para a escolha e uso. Sugere-se em adição às recomendações exigidas pelas legislações, à utilização de embalagem secundária (caixa) contendo uma tabela com todos os fototipos de pele e os fatores de proteção solar correspondentes. Estes dados permitirão ao consumidor classificar o seu tipo de pele e fazer a escolha do produto adequado. O fabricante deve declarar o tempo máximo de proteção solar que aquele produto oferece ao consumidor, incluindo também a descrição quantitativa dos componentes ativos na formulação, facilitando assim, o monitoramento dos produtos postos ao consumo pelos órgãos de Vigilância Sanitária.

O produto deve conter instruções de uso com tamanho de letra que possibilite a fácil leitura, redigido de forma objetiva, descrevendo a quantidade do produto que deverá ser usado para garantir a proteção e as regiões do corpo onde devem também ser aplicado, como por exemplo, orelhas, pescoço, nariz, pés, mão, couro cabeludo e lábios (depende do tipo de produto). Estes locais mais expostos ao sol são os mais pré-dispostos ao desenvolvimento do câncer de pele. Deverá conter a recomendação para reaplicar o produto, toda a vez que houver remoção, informando que a reaplicação não ampliará o tempo máximo de exposição solar.

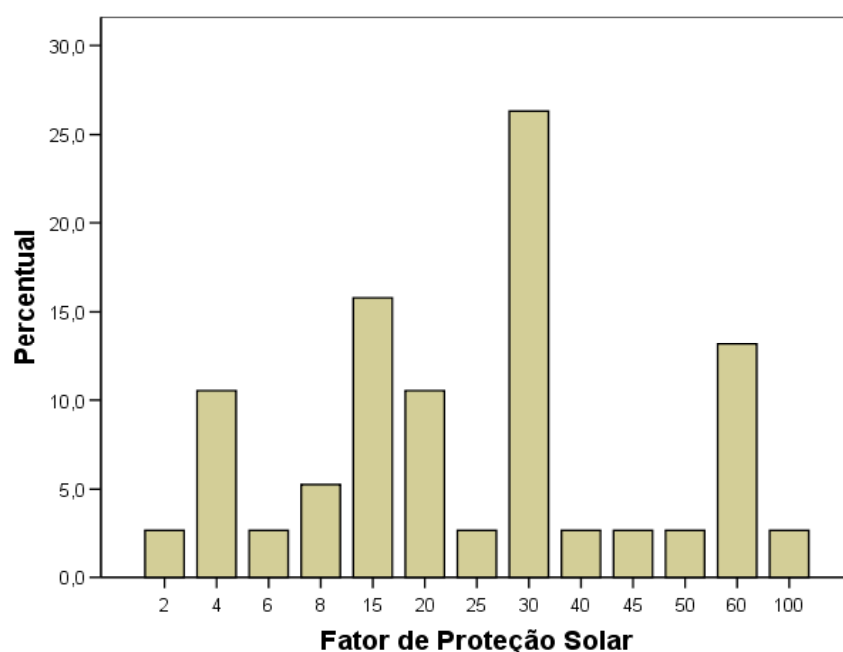
**Análise quantitativa:** foram avaliados 33 requisitos nas rotulagens dos protetores solares dos 38 produtos analisados. Verificou-se que (76,3%) não estavam em conformidade com a legislação. Em (63,2%) não constava a data de fabricação do produto, dado importante para a determinação do cumprimento das legislações vigentes, visto que, o produto está sujeito às legislações pertinentes a data em que foi fabricado. (27%) não apresentaram o nome do responsável técnico com o número de inscrição e a sigla da autarquia profissional. Este profissional é habilitado junto à autoridade sanitária para a atividade que a empresa realiza, sendo responsável pela fabricação dos produtos sob sua direção técnica e elaboração de relatórios ao órgão de vigilância. (36,8%) não continham os esclarecimentos obrigatórios, como as frases de orientação, advertência e indicação específica do produto. Foram

encontrados produtos com até 4 diferentes não conformidades. Apenas 23,7% estavam em conformidade com as legislações vigentes.

**GRÁFICO 2. Percentual dos protetores solares por fabricante**



**GRÁFICO 3 Percentual dos protetores solares por FPS**





## 10) CONCLUSÕES:

A análise dos resultados obtidos nos permite concluir que:

- O método desenvolvido para a determinação dos teores dos principais princípios ativos, presentes nas formulações dos protetores solares, permitiu quantificar a benzofenona-3, o octil metoxicinamato, e o octil salicilato, simultaneamente. Demonstrando abrangência, versatilidade e facilidade operacional, características essenciais para um método destinado ao controle de qualidade;

- Através da determinação dos parâmetros de desempenho analítico, o método evidenciou-se apropriado para a determinação quantitativa destes princípios ativos, conduzindo a resultados confiáveis e adequados;

- O octil metoxicinamato é um dos princípios ativos mais utilizados. Quando foi exposto à radiação solar e artificial, sofreu degradação. Em apenas 30 segundos exposto à radiação, 7 % do octil metoxicinamato havia se transformado em uma nova substância. Ela foi isolada e identificada como o isômero Z do octil metoxicinamato.

- O estudo das informações contidas nas rotulagens dos protetores solares mais comercializados, no Brasil, demonstrou que (76%) dos produtos analisados não cumpriam os requisitos técnicos estabelecidos pelas legislações e nem eram suficientes e adequadas para orientar o consumidor de modo a obter a proteção solar necessária. Essas informações são fundamentais para a segurança, eficácia e para o controle de qualidade destes produtos, necessitando com urgência de uma revisão criteriosa. A omissão dos requisitos técnicos estabelecidos, além de constituir infração sanitária, acarreta prejuízo para as ações correspondentes de vigilância.

## 11) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) COSTA, E.A; ROZENFELD, S. *Constituição da Vigilância Sanitária no Brasil*. In: ROZENFELD, S (org.) *Fundamentos de Vigilância Sanitária*. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2000. 301p. p. 15-40.
- 2) BUSS, P.M. Promoção da Saúde e Qualidade de Vida, *Ciência & Saúde Coletiva* v.5 n.1 p.163-177, 2000.
- 3) <http://anvisa.gov.br/divulga/noticias/2007/151107.htm>: acessado em novembro 2007.
- 4) [www.ensp.fiocruz.br/pubti/radis/prgradis.htm](http://www.ensp.fiocruz.br/pubti/radis/prgradis.htm): acessado em março de 2004.
- 5) <http://www.inca.gov.br> acesso em: acessado em 03 julho 2006.
- 6) <http://www.sbd.com.br> acesso em: acessado em 25 junho 2006.
- 7) BAKOS, L. et.al. Melanoma hereditário: prevalência de fatores de risco em um grupo de pacientes no Sul do Brasil, *An. Bras. Dermatol*, Rio de Janeiro v.79 n.1 p.53-60, 2004.
- 8) The International Commission on Non-ionizing Radiation Protection. Guidelines on limits of exposure to ultraviolet radiation of wavelengths between 180nm and 400nm (incoherent optical radiation), *Health Physics*, 2004; v. 87n. 2 p-171-186, 2004.
- 9) <http://www.inmetro.gov.br/protosolar.html>: acesso em: 01 setembro 2006.
- 10) DIFFEY, B.L. Solar ultraviolet radiation effects on biological systems, *Physis in Medicine and Biology*, v.36 n.3 p.299-328,1991.
- 11) MAES, D; MARENUS, K and SMITH, W.P. *New advances in photoprotection*, *Cosmet. Toileteries* v. 105 n.12 p.50-52,1990.
- 12) HIEGER, M .M *Cosmet.Toileteries* v.1 n.6 p.33-40, 1990.
- 13) GASPARRO, P.F.; MITCHNIC, M. and FRANK, J.N. A review of sunscreen safety and efficacy, *Photochemistry and Photobiology*, v.3 n.68 p.243-256, 1998.
- 14) SERPONEN, S.A; EMELINI A.V. An in vitro systematic spectroscopic examination of the photostabilities of a random set of commercial sunscreen lotions and their chemical UVB/UVA active agents, *Photochem. Photobiol. Sci.*v.1 p.970-981, 2002.
- 15) PATTANAARGSON, S. and LIMPHONG, P. Stability of octyl methoxycinnamate and identification of its photo-degradation product, *International Journal of Cosmetic Science* v. 23 p.153-160, 2001.
- 16) KIMBROUGH, D.R.The photochemistry of sunscreens, *Journal of Chemical Education* v.74 n.1 p.51-53, 1997.

- 17) Autier P.et.al. Quantity of sunscreen used by European students. *Br.J. Dermatol.* V.144 p. 288-291, 2001.
- 18) ARZUDIA, R.M.et.al. Sunscreen application by photosensitive patients is inadequate for protection. *Br. J. Dermatol.*1999;v.140 p.255-258, 1999.
- 19) SHAATH, N.A.; FARES,H.M. and KLEIN, K. Photodegradation of sunscreens chemicals:solvent considerations, *Cosmet.Toil.* v.105 p.41-44, 1990.
- 20) Maes D, Marenus K and Smith WP. New advances in photoprotection, *Cosmet.Toil.* 105 (12). 50-52, 1990.
- 21) HONEYMAN, J. M. VI Regional Conference of IFSC, *Cosmet.Toil.*v.1p.18-21, 1989.
- 22) SZEPIETOWSKI, J. C. et.al. Application of sunscreen preparations among Young Polish people. *J. Cosmet. Dermatol.* v.3 p.69-72, 2004.
- 23)BRASIL. ANVISA/MS. RDC nº 237, de 22 de agosto de 2002. Aprova o regulamento técnico sobre protetores solares. *D.O.U. Poder Executivo*, Brasília, de 23 de agosto de 2002.
- 24) BRASIL. Lei 6360, de 23 de setembro de 1976. Submete ao sistema de vigilância os medicamentos, insumos farmacêuticos, drogas, correlatos, produtos de higiene, saneantes e outros. *D.O.U. Poder Executivo*, Brasília, de 24 de setembro de 1976.
- 25) BRASIL. Decreto n. 79.094, de 05 de janeiro de 1977, *D.O.U. Poder Executivo*, Brasília, de 05 de janeiro de 1977.
- 26) BRASIL. Decreto n. 83.239, de 06 de março de 1979. *D.O.U.Poder Executivo*, Brasília, de 07 de março de 1979.
- 27) BRASIL. ANVISA/MS. RDC nº47, de 16 de março de 2006. Aprova o regulamento técnico “Lista de filtros ultravioleta permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes”. *D.O.U. Poder Executivo*, Brasília, de 17 de março de 2006.
- 28) BRASIL. ANVISA/MS nº 211, de 14 de julho de 2005. Estabelece as definições e a classificação de produtos de higiene pessoal. *D.O.U. Poder Executivo*, Brasília, de 18 de julho 2005.
- 29) BRASIL. ANVISA/MS nº 48, de 16 de março de 2006. *D.O.U. Poder Executivo*, Brasília. Aprova o regulamento técnico “Lista de substâncias que não podem ser utilizadas em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes”, de 17 de março de 2006.
- 30) <http://www.abihpec.org.br>: acesso em: 14 de abril de 2004.
- 31) DAVIS, M.R.and QUIGLEY, M.N Liquid Chromatography Determination of UV absorbers in Sunscreens, *Journal of Chemical Education* v.72 n.3 p.279-281, 1995.

- 32) JAMES E. DINUNZIO and R. RAO GADDE. Determination of Sunscreen Compounds in Topical Sunscreen Products, *J. Chromatography* v.519 p.117-124,1990.
- 33) IKEDA, K. K., SUKEJI, Y and WATANABE, Y. H. Determination of Sunscreen Agents in Cosmetic Products by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatography* v.482 p.240-245, 1989.
- 34) GALIARDI, L.; AMATO, A.; BASILI, A. and CAVAZZUTTI, G. Determination of Sunscreen Agents in Cosmetic Products by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatography* v.408 p.409-415, 1987.
- 35) GALIARDI, L. and CAVAZZUTTI, G. Determination of Sunscreen Agents in Cosmetic Products by Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Part II*, *J. Chromatography* , v. 464 p. 428-43, 1989.
- 36) CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G. Desenvolvimento de métodos por HPLC: Fundamentos, estratégias e validação. Ed. UFSCar. Universidade Federal de São Carlos, *Série apontamentos, São Paulo*: 2001.
- 37) FERRAZ, V. Cromatografia líquida de alta eficiência. *Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte*, P.32 , 2001.
- 38) FURMAN, W. B.; DORSEY, J.G.; SNYDER, L.R. Testes de sensibilidade do sistema para métodos oficiais de cromatografia líquida e gasosa: ajustes versus modificações. *Pharm. Techno.*, 1998.
- 39) HORWITZ, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies. *Pure Appl. Chem*, v.67, p. 331-343, 1995.
- 40) VESSMAN, J. *Selectivity or specificity?* Validation of analytical methods from the perspective of an analytical chemist in the pharmaceutical industry. *J.Pharm.Biom. Anal.*, v. 14, p. 867-869, 1996.
- 41) VESSMAN, J.; STERFAN, R.I.; VAN STADEN, J.E.; DANZER, K.; LINDNER, W.; BURNS, D.T.; FAJGELJ, A.; MULLER, H. Selectivity in analytical chemistry. *Pure Appl. Chem.*; v. 73, p. 1381-1386, 2001.
- 42) ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003 *Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos*, D.O.U. 02/06/2003.
- 43) BROWN, M.B.; FORSYTHE, A.B. Robust tests for the equality of variances. *J.Am. Stat. Assoc.*, v. 69, p. 364-367, 1974.
- 44) DURBIN, J.; WATSON, G.S. Testing for serial correlation in least squares regression ii. *Biometrika*, v. 38, p. 159-178, 1951.

- 45) JENKE, D.R. Chromatographic method validation: a review of current practices and procedures. I. General concepts and guidelines. *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.*, v. 19, p. 719-736, 1996.
- 46) RYAN, T.A.; JOINER, B.L. Normal probability plots and tests for normality. *The State College: Pennsylvania State University*, v.15 p.204-209, 1976.
- 47) SOUZA, S.V.C.; JUNQUEIRA, R.G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. *Minas Gerais: Universidade Federal de Minas Gerais/Faculdade de Farmácia/Departamento de Alimentos*, 2005.
- 48) SOUZA, Scheilla Vitorino Carvalho. Procedimento para validação intralaboratorial de métodos de ensaio: delineamento e aplicabilidade em análises de alimentos. *Minas Gerais/Faculdade de Farmácia/Departamento de Alimentos Gerais: Universidade Federal de Minas*, 2007.
- 49) ICH (International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use). Validation of analytical procedures: methodology. *Geneva: ICH/IFPMA*, 1996. 8 p.
- 50) INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). *DOQ-CGCRE-008*. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. Rio de Janeiro: *INMETRO*, 2007.
- 51) AOAC (Association of Official Analytical Chemists). *AOAC Official methods of analysis*. Appendix D: guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. Washington: AOAC, 2002.
- 52) PATTANAARGSON, S. and LIMPHONG, P. Stability of octyl methoxycinnamate and identification of its photo-degradation product, *International Journal of Cosmetic Science* v. 23 p.153-160, 2001.
- 53) PATTANAARGSON, S.; MUNHAPOL T.; PIYAWAN H. And LUANGTHONGARAM P. Photoisomerization of octyl methoxycinnamate, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v.161, p.269-274, 2004.
- 54) <http://www.jnjbrasil.com.br>: acesso em: 03 de outubro de 2006.
- 55) <http://www.cosmeticosbr.com.br>: acesso em: 16 de novembro de 2006.
- 56) <http://www.abihpec.org.br>: acesso em: 20 de outubro de 2006.
- 57) ARMITAGE, P.; BERRY, G. Statistical methods in medical research. *Oxford: Blackwell Science Ltda.*, p.620, 1999.
- 58) SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. 6ª Ed., Rio de Janeiro, LTC, 2000.