



Desenvolvimento de Metodologia Analítica de Filtro Solar em CLAE

Marjana de Oliveira Sampaio

Projeto de Final de Curso

Orientador:

Prof. José Angel Ramón Hernández, D. Sc.

Co-Orientadora:

Simone Oliveira Penello, D. Sc.

Dezembro de 2024

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA DE FILTRO SOLAR EM CLAE

Marjana de Oliveira Sampaio

Projeto de Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Química Industrial.

Aprovado por:

Prof. Roymel Rodríguez Carpio, D. Sc.

Raissa Hellen da Silva Florindo, M. Sc

Orientado por:

Prof. José Angel Ramón Hernández, D. Sc.

Co-orientadora:

Simone Oliveira Penello, D. Sc.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil
Dezembro de 2024

Ficha Catalográfica

Sampaio, Marjana de Oliveira

Desenvolvimento de Metodologia Analítica de Filtro Solar em CLAE/ Marjana de Oliveira Sampaio, Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2024.

ix, 58p.; il.

(Projeto Final) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2024.

Orientador: Prof. José Angel Ramón Hernández, D. Sc.

Co-orientadora: Simone Oliveira Penello, D. Sc

1. Filtro Solar. 2. CLAE. 3. Metodologia Analítica. 4. Separação. 5. Monografia. (Graduação - UFRJ/EQ). 6. José Angel Ramón Hernández. I. D.Sc

“Devo ater-me a meu próprio estilo e seguir meu próprio caminho. E apesar de eu poder nunca mais ter sucesso deste modo, estou convencida de que falharia totalmente de qualquer outro.”
(Jane Austen)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, à Deus, pois nos momentos mais desafiadores da minha vida, a minha fé foi o meu alicerce para continuar na caminhada. Por ser alívio, força e ânimo em todas as horas. Aos meus amados pais e amigos. E meus eternos filhos Fred e Nina, que são anjos de Deus na minha vida.

Agradeço à toda equipe do LAQFA pela colaboração durante a pesquisa, especialmente ao setor de Pesquisa e Desenvolvimento, e a ten Sarah Palácio pelas dicas valiosas, e ajudas resolutivas.

Afirmo que esse trabalho só foi possível pelo esforço, dedicação e conhecimento da oficial farmacêutica Raquel Marchetti. Ao longo desse desafio, reconheço todo o trabalho que ela teve junto comigo, me ensinando e guiando da melhor forma, sempre com muita leveza, cuidado e carinho. A tenente Raquel Marchetti dividiu comigo seu conhecimento e experiências de forma leve e agregadora, e carregarei alegremente na minha vida pessoal e profissional. Gratidão por todo apoio, credibilidade, ensino e afeto.

Ao meu orientador Pepe, muito obrigada por todo apoio, resoluções, por acreditar e me encorajar positivamente na conclusão da graduação. E a co-orientadora tenente Penello, muito obrigada pela oportunidade ímpar de pesquisa e crescimento, e pela confiança.

A minha gratidão à professora Yordanka, coordenadora do meu curso, pela empatia e bondade. Existem pessoas que passam pela nossa vida e, com um gesto altruísta, são capazes de transformar nossa trajetória.

SAMPAIO, Marjana de Oliveira. Desenvolvimento de Metodologia Analítica de Filtro Solar em CLAE. Rio de Janeiro, 2024. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química Industrial) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2024.

Resumo

A radiação solar incidente na pele pode favorecer alguns distúrbios e doenças, como câncer cutâneo, fotoenvelhecimento precoce e aumento de dermatoses fotossensíveis. Para prevenir essas patologias, uma das opções é o uso de fotoprotetores, que geralmente são emulsões para uso tópico contendo filtros de radiação UV. Eles representam uma parte significativa do mercado de cosméticos e vêm se mostrando um segmento comercialmente promissor, e ainda, um nicho relevante dentro da ciência cosmética para pesquisas e desenvolvimento tecnológico. Os filtros solares são utilizados em combinações eficazes e seguras para obter a melhor proteção cutânea. O foco deste trabalho foi a análise qualitativa do método de separação simultânea dos filtros solares por Cromatografia Líquida de Alta Aficiênciia (CLAE) para os componentes do protetor solar do Laboratório Químico-Farmacêutico da Aeronáutica (LAQFA): butilmetoxidibenzoilmetano (BDM), metoxicinamato de octila (MCO), salicilato de octila (ES) e octocrileno (OCR). A análise preliminar efetuada possibilitou adquirir o conhecimento das características físico-químicas dos compostos, das metodologias analíticas, e elaborar as estratégias necessárias para maior assertividade na escolha do método a ser utilizado na cromatografia e na fase móvel. Foi realizado o estudo empregando a CLAE frente aos efeitos das fases móveis nas condições de metanol 78% (fase móvel 1), metanol 87% (fase móvel 2), metanol 85%, acetonitrila 5% e água 10% (fase móvel 3) e metanol 75%, acetonitrila 10% e água 15% (fase móvel 4). A separação efetiva dos cromatogramas foi alcançada com a coluna cromatográfica ACE C18 (250 mm x 4.6 mm, 5 µm), em eluição isocrática, e com fase móvel constituída por metanol 75%, acetonitrila 10% e água 15% (fase móvel 4), com velocidade de fluxo de 1,0 mL/min e detecção no ultravioleta a 240 nm.

Palavras-chave: Filtro Solar, Cromatografia Líquida de Alta Eficiênciia, Metodologia Analítica, Separação.

Abstract

Solar radiation incident on the skin can favor some disorders and diseases, such as skin cancer, premature photoaging and an increase in photosensitive dermatoses. To prevent these pathologies, one of the options is the use of photoprotectors, which are generally emulsions for topical use containing UV radiation filters. They represent a significant part of the cosmetics market and have proven to be a commercially promising segment, as well as a relevant niche within cosmetic science for research and technological development. Sunscreens are used in effective and safe combinations to obtain the best skin protection. The focus of this work was the qualitative analysis of the method of simultaneous separation of sunscreens by high-performance liquid chromatography (HPLC) for the sunscreen components of the Aeronautical Chemical-Pharmaceutical Laboratory (LAQFA): butylmethoxydibenzoylmethane (BDM), octyl methoxycinnamate (MCO), octyl salicylate (ES) and octocrylene (OCR). The preliminary analysis carried out made it possible to acquire knowledge of the physical-chemical characteristics of the compounds, analytical methodologies, and develop the necessary strategies for greater assertiveness in choosing the method to be used in chromatography and in the mobile phase. The study was carried out using HPLC against the effects of mobile phases under conditions of 78% methanol (mobile phase 1), 87% methanol (mobile phase 2), 85% methanol, 5% acetonitrile and 10% water (mobile phase 3) and 75% methanol, 10% acetonitrile and 15% water (mobile phase 4). Effective separation of the chromatograms was achieved with the ACE C18 chromatographic column (250 mm x 4.6 mm, 5 μ m), in isocratic elution, and with a mobile phase consisting of 75% methanol, 10% acetonitrile and 15% water (mobile phase 4), with a flow speed of 1.0 mL/min and ultraviolet detection at 240 nm.

Keywords: Solar Filter, High Performance Liquid Chromatography, Analytical Methodology, Separation.

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO.....	13
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
II.1 Radiação Solar.....	15
II.2 Protetor Solar.....	16
II.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.....	20
II.4 Protetor Solar LAQFA.....	27
II.4.1 Octocrileno (OCR).....	27
II.4.2 Butil Metoxidibenzoinometano (BDM).....	28
II.4.3 Salicilato de Octila (ES).....	30
II.4.4 Metoxicinamato de Octila (EMC).....	31
III. OBJETIVOS.....	34
III.1 Objetivo Geral.....	34
III.2 Objetivo Específico.....	34
IV. METODOLOGIA.....	35
IV.1 Materiais e Equipamentos.....	35
IV.2 Preparo da Solução Padrão.....	36
IV.2.1 Solução Padrão Octocrileno.....	36
IV.2.2 Solução Padrão Avobenzona.....	36
IV.2.3 Solução Padrão Metoxicinamato de Octila.....	37
IV.2.4 Solução Padrão Salicilato de Octila.....	37
IV.2.5 Solução Padrão dos Filtros Solares.....	37
IV.3 Preparo da amostra.....	37
V. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
V.1 Análise da CLAE.....	38
V.2 Análise dos Padrões.....	38
V.3 Análise do Efeito da Fase Móvel.....	41
V.3.1 Fase Móvel 1.....	43
V.3.2 Fase Móvel 2.....	43
V.3.3 Fase Móvel 3.....	44
V.3.4 Fase Móvel 4 (Otimizada) e Análise Solução Padrão dos Filtros Solares.....	45
V.3.5 Amostra LAQFA.....	47
VI. CONCLUSÃO.....	49
VII. PERSPECTIVA FUTURA.....	50
VIII. REFERÊNCIAS.....	51

LISTA DE SIGLAS E ABREVIAÇÕES

Anvisa: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ACN: Acetonitrila

AVO: Avobenzona

BDM: Butil metoxidibenzoilmetano

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CH₃CN: Acetonitrila

DMF: Dimetilformamida

EMC: Metoxicinamato de Octila

ES: Salicilato de Octila

EtOH: Etanol

FAB: Força Aérea Brasileira

FDA: Food and Drug Administration

FPS: Fator de Proteção Solar

H₂O: Água

HAc: Ácido Acético

H₃PO₄: Ácido Fosfórico

INCA: Instituto Nacional do Câncer

INCI: International Nomenclature for Cosmetic Ingredients

IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry

IV: Infravermelho

LAQFA: Laboratório Químico-Farmacêutico da Aeronáutica

MeOH: Metanol

mcg: micrograma

min: minuto

mL: mililitro

MS: Ministério da Saúde

nm: nanômetro

OCR: Octocrileno

PABA: Ácido para-aminobenzoico

PDA: Detector Photodiode Array

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

SBD: Sociedade Brasileira de Dermatologia

THF: Tetrahidrofuran

TR: Tempo de Retenção

UV/Vis: Radiações Ultravioleta e Visível

UV: Radiação Ultravioleta

UVA: Radiação Ultravioleta A

UVB: Radiação Ultravioleta B

UVC: Radiação Ultravioleta C

μ L: microlitro

μ m: micrômetro

λ : Comprimento de onda

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Esquema do Espectro de Radiação Solar.....	15
Figura 2 – Estrutura química do Octocrileno.....	28
Figura 3 – Estrutura química da Avobenzona.....	29
Figura 4 – Equilíbrio ceto – enol da AVO.....	30
Figura 5 – Estrutura química do Salicilato de Octila.....	30
Figura 6 – Estrutura química do Metoxicinamato de Octila.....	31
Figura 7 – E (Trans-) do Metoxicinamato de Octila.....	32
Figura 8 – Z (Cis-) do Metoxicinamato de Octila.....	32
Figura 9 – Solução A - Padrão Octocrileno.....	39
Figura 10– Solução B - Padrão Avobenzona.....	39
Figura 11– Solução C - Padrão Metoxicinamato de Octila.....	40
Figura 12 – Solução D – Padrão Salicilato de Octila.....	40
Figura 13 – Solução E – Fase Móvel Metanol 78%.....	43
Figura 14 – Solução E – Fase Móvel Metanol 87%.....	44
Figura 15 – Solução E – Fase Móvel Metanol 85%, Acetonitrila 5% e H ₂ O 10%.....	45
Figura 16 – Solução E – Fase Móvel Metanol 75%, Acetonitrila 10% e H ₂ O 15%.....	46
Figura 17 – Solução F – Fase Móvel Metanol 75%, Acetonitrila 10% e H ₂ O 15%.....	47
Quadro I – Estudos e Metodologias de Filtros Solares em CLAE. Adaptado de SALVADOR e CHISVERT, 2007; PERUCHI, 2010 e GONZÁLEZ, 2003.....	23
Quadro II – Solubilidade dos filtros solares. Adaptado de GONZÁLEZ, 2003.....	33
Quadro III – Parâmetros e Condições Cromatográficas.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela I – Filtros Solares Químicos, Nome INCI, Nome comercial, Absorbância UV(UVA/UVB) e λ máximo em solvente etanol.....	18
Tabela II – Filtros Solares Químicos - Nome IUPAC, concentração permitida em cosméticos.....	19
Tabela III – Componentes e concentrações do protetor solar LAQFA.....	27
Tabela IV – Tempos de retenção (min) das substâncias e da solução padrão e da amostra.....	48

I. INTRODUÇÃO

Os raios solares incidem na pele de forma irregular, dependendo das características de cada indivíduo, como a quantidade de melanina da pele e pré-disposições genéticas, bem como da distância do Sol à Terra (latitude e altitude), e da capacidade refletora do meio onde o indivíduo se encontra. O tempo de exposição e condições atmosféricas durante este contato também se fazem relevantes (CHARLET, 1996; GASPARRO *et al.*, 1998; PRISTA *et al.*, 1998; URBACH, 1997). A exposição ao sol traz muitos benefícios à saúde, no entanto, o excesso pode ocasionar danos cutâneos agudos e crônicos, dentre os quais se destacam as neoplasias, como os melanomas (NISHIKAWA *et al.*, 2013).

A Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) considera o índice de radiação ultravioleta excessivo, tornando-se uma preocupação cada vez mais importante para a saúde pública, devido ao risco de queimaduras na pele (eritema), fotoenvelhecimento precoce e, principalmente, de câncer de pele (SILVA *et al.*, 2008, INCA, 2023). Desde 1999, é promovida pela SBD a Campanha Nacional de Prevenção ao Câncer da Pele, com exame dermatológico e orientação sobre a exposição. Foi escolhido dezembro, o mês marcado pelo início do verão nos países do hemisfério sul, para instituir a campanha “Dezembro Laranja”, buscando a prevenção e detecção precoce do câncer no maior órgão do corpo humano (INCA, 2022).

Dentre as principais recomendações para a prevenção do câncer de pele, está o uso do protetor solar, e evitar a exposição ao Sol nos horários em que os raios são mais intensos (entre 10h e 16h), bem como utilizar acessórios com proteção UV (INCA, 2022). Assim, há alguns anos, os efeitos nocivos do Sol tornaram-se mais conhecidos e, por isso, a população está cada vez mais consciente da necessidade de buscar a fotoproteção, um mecanismo de prevenção contra a radiação solar (RANGEL e CORRÊA, 2002).

O protetor solar é encontrado facilmente em mercados e farmácias, sob as mais variadas marcas, apresentações e com diferentes Fatores de Proteção Solar (FPS) (PRISTA *et al.*, 1998). Este produto é uma fórmula de aplicação tópica, capaz de prevenir ou minimizar os impactos nocivos das radiações solares à saúde humana, e é definido pela capacidade de bloquear, absorver, refletir e/ou espalhar 95% das radiações incidentes na pele (OLIVEIRA,

2013). E os filtros solares são as substâncias ativas usualmente utilizadas nas formulações de protetores solares para proteger a pele contra a radiação ultravioleta (UV) (RIBEIRO, 2004a).

No desenvolvimento em cosmetologia, os protetores solares são submetidos a análises cromatográficas para avaliação de suas propriedades e composições. O método cromatográfico para determinação dos filtros solares foi desenvolvido por Mansur e colaboradores (1986). A separação simultânea dos componentes de um protetor solar é uma etapa muito importante para a análise qualitativa e quantitativa dos filtros solares. O método de separação não deve modificar as características físico-químicas dos componentes da mistura (SHAATH, 1989; RANGEL e CORRÊA, 2002).

A metodologia usada neste projeto de pesquisa tem como base a identificação dos filtros solares presentes na amostra de protetor solar. E, posteriormente, a separação simultânea dos componentes presentes na amostra (filtros solares químicos lipossolúveis) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Considerando apenas a análise qualitativa do processo. O objetivo geral do trabalho é avaliar a separação da mistura de filtros solares pela CLAE, realizando uma análise físico-química dos elementos presentes no protetor solar LAQFA, além de uma avaliação preliminar desses filtros solares através da CLAE. Os objetivos específicos são a identificação, análise espectrofotométrica e separação dos filtros solares através da seleção de um método analítico específico envolvendo a CLAE.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1 Radiação Solar

A Radiação Solar consiste na emissão de energia de diferentes comprimentos de onda, ou seja, a energia sob a forma de ondas eletromagnéticas compreendidas a partir de 100 nm, que se propagam à velocidade da luz (KHURY *et al.*, 1995; SCOTTI e VELASCO, 2003). Considerando como referência a atmosfera terrestre, a divisão dessas energias compreende predominantemente as regiões do infravermelho (IV), luz visível ou branca e a ultravioleta (UV) (SCOTTI e VELASCO, 2003). A reunião dessas três zonas configura o espectro que atinge a superfície do planeta na proporção aproximada de 50% de IV, 45% de visível e 5% de UV, representada no Esquema do Espectro de Radiação Solar (Figura 1) (NASCIMENTO *et al.*, 2014; SCHIEKE *et al.*, 2003). O espectro eletromagnético solar que compete à radiação ultravioleta pode ser subdividida de acordo com seu comprimento de onda, características de propagação e efeitos fisiológicos em: UVA (320-400nm), UVB (290-320nm) e UVC (100-290nm) (KLEIN *et al.*, 2005; KULLAVANIJAYA e LIM, 2005).

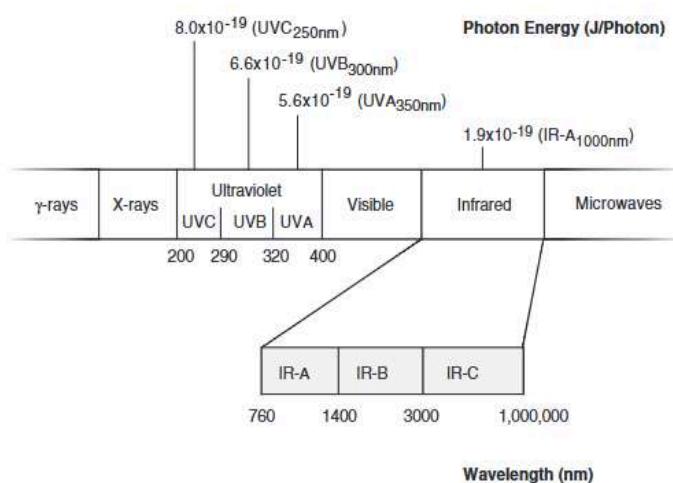


Figura 1– Esquema do Espectro de Radiação Solar
Adaptado de (SCHIEKE, SCHROEDER, KRUTMANN, 2003)

Segundo a definição da Anvisa, a radiação ultravioleta trata-se da radiação emitida pelo sol que compreende o espectro eletromagnético de 200 a 400 nm e está classificada em três tipos: ultravioleta A (UVA, encontra-se na faixa de 320 a 400 nm), ultravioleta B (UVB, faixa de 290 a 320 nm), e a ultravioleta C (UVC, faixa de 200 a 290 nm) (BRASIL, 2022).

Sabe-se que quanto menor o comprimento de onda, maior a energia da radiação. A radiação UVC é a mais nociva, seguida da UVB e, por último a radiação UVA. A incidência das radiações na atmosfera é inversamente proporcional à nocividade, devido a absorção por parte do ozônio (Diffey, 2002). A população está sempre exposta à radiação UV do sol e de muitas fontes artificiais utilizadas, como por exemplo as lâmpadas fluorescentes. E os sentidos corporais percebem essas radiações de diferentes formas (FLOR *et al.*, 2007; NASCIMENTO *et al.*, 2014).

A radiação UVA (320 – 400 nm) possui menor energia e maior poder de penetração na pele dentre as radiações UV. Sofre pouca absorção pelo O₃ estratosférico, assim comprehende quase a totalidade das radiações UV que atingem a superfície da Terra (UVA 95%, UVB 5%) (FLOR *et al.*, 2007). O excesso de exposição pode causar queimaduras e, em maior prazo, causa o envelhecimento precoce dos tecidos cutâneos. Além disso, favorece grande parte das dermatoses e induz a pigmentação da pele causada pela fotoxidação da leucomelanina, o que promove o escurecimento da melanina, causando o bronzeamento (VELASCO-DE-PAOLA e RIBEIRO, 1998; OLIVEIRA, 2013).

A radiação UVB (290 – 320 nm) possui alta energia, e é fortemente absorvida pelo O₃ estratosférico. É prejudicial à saúde humana, sendo a maior responsável pelos danos agudos, como queimaduras, eritemas, edemas e inflamações. Causa também malefícios oculares e ao sistema imunológico. Isso ocorre porque algumas moléculas, como o DNA, absorvem a radiação gerando reações fotoquímicas responsáveis pelos efeitos biológicos, como alterações nas células cutâneas. A radiação UVB também estimula a formação de radicais livres responsáveis pelo envelhecimento precoce (SILVA *et al.*, 2008; SCOTTI e VELASCO, 2003).

A radiação UVC (100 – 290 nm) com o menor comprimento de onda, é a que possui maior energia, e é a mais nociva para os seres vivos. No entanto, ela é completamente absorvida pelo O₂ e O₃ estratosférico, portanto, não atinge a superfície terrestre. É também conhecida como radiação germicida. É utilizada na esterilização de água e materiais cirúrgicos, e também em fluxos lâminares (SILVA *et al.*, 2008; RANGEL *et al.*, 2002).

II.2 Protetor Solar

No Brasil, os filtros solares são regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), segundo a resolução RDC N° 629, de 10 de março de 2022, que dispõe

sobre grau de proteção solar - Fator de Proteção Solar (FPS) e descreve os métodos analíticos para a determinação do FPS e da proteção à radiação UVA, bem como para resistência à água e os requisitos de rotulagem para produtos de proteção solar (BRASIL, 2022).

De acordo com a Anvisa, o protetor solar é definido como qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e lábios, com a finalidade exclusiva ou principal de protegê-la contra a radiação UVB (290-320nm) e UVA (320-400nm), absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação (BRASIL, 2022). Faz-se necessário, para a garantia da qualidade dos produtos cosméticos contendo filtro solar, o desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinar de forma qualitativa e quantitativa estes filtros nas preparações cosméticas (DUTRA, 2000b).

Os filtros ultravioletas são as substâncias que, quando adicionadas aos produtos para proteção solar, tem a finalidade de proteger a pele de certos efeitos danosos causados por raios ultravioletas (BRASIL, 2022). O próprio DNA tem a capacidade de absorver os raios UVB, porém não pode ser considerado um agente de proteção solar porque se altera quando exposto aos raios de alta intensidade. Da mesma forma, o ácido urocânico, um componente do suor, pode absorver radiação em comprimentos de onda entre 300 e 325 nm podendo ter algumas propriedades protetoras. No entanto, sofre isomerização cis para trans e perde atividade rapidamente (ZAMBON, 2011).

O principal objetivo do protetor solar é criar uma barreira físico-química para proteger a pele da radiação solar. Eles reduzem a quantidade de raios UV absorvidos pela pele humana, absorvendo e/ou refletindo esses raios, agindo como uma barreira protetora (ARAÚJO e SOUZA, 2008). A fotoproteção é uma forma de prevenir os efeitos nocivos dos raios ultravioleta (UV) na pele, a fim de preveni-los ou minimizá-los. Os raios UV de alta energia penetram na epiderme, agindo com efeito cumulativo, causando estresse oxidativo e, como consequência, desencadeando uma série de reações químicas e estruturais (BALOGH *et al.*, 2011).

A apresentação do fotoprotetores se dá por diversas formas farmacêuticas, sendo as mais comuns as soluções hidroalcoólicas, géis e cremes, e estes últimos são amplamente utilizados devido à sua capacidade de carregar tanto ativos lipossolúveis quanto hidrossolúveis, fator importante quando se trata de fotoprotetores (FLOR *et al.*, 2007).

Na tabela I, estão relacionados os filtros solares com suas capacidades de absorção ultravioleta e o comprimento de onda máximo teórico.

Tabela I: Filtros Solares Químicos, Nome INCI, Nome comercial, Absorbância UV(UVA/UVB) e λ máximo em solvente etanol.

SUBSTÂNCIA (NOME INCI)	NOME COMERCIAL	ABSORÇÃO UV λmáx (nm) etanol	ABSORBÂNCIA UV
BUTYL	AVOBENZONA	357	
METHOXYDIBENZOYL METHANE		(C. COUTEAU, 2007)	UVA
OCTOCRYLENE	OCTOCRILENO	304 (KOCLER, 2012; C. COUTEAU, 2007)	UVB
ETHYLHEXYL METHOXYCINNAMATE	METOXICINAMATO DE OCTILA	310 (KOCLER, 2012; C. COUTEAU, 2007)	UVB
ETHYLHEXYL SALICYLATE	SALICILATO DE OCTILA	306 (KOCLER, 2012; C. COUTEAU, 2007)	UVB

Os produtos fotoprotetores utilizam compostos que são considerados cosméticos tópicos pela legislação brasileira, e têm suas permissões para uso em produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes, com as máximas concentrações autorizadas, listadas na Resolução RDC N° 600, de 9 de fevereiro de 2022 (BRASIL, 2022). Os filtros ultravioletas podem ser adicionados às formulações de produtos dentro dos limites e condições discriminadas na tabela II.

Tabela II - Filtros Solares Químicos - Nome IUPAC, concentração permitida em cosméticos.

SUBSTÂNCIA (NOME IUPAC)	MÁXIMA CONCENTRAÇÃO AUTORIZADA
1-(4 - terc - butilfenil) - 3 - (4 -metoxifenil) propano - 1, 3 - diona	5%
2-Ciano - 3, 3'- difenilacrilato de 2 - etilexila	10% (expresso como ácido)
4-Metoxicinamato de 2 - etilhexila	10%
Salicilato de 2- etilhexila	5%

É de amplo conhecimento na área da saúde a necessidade do uso contínuo de protetores solares, e que deve estar acompanhada da conscientização dos efeitos danosos da radiação UV. As formulações que surgiram nas últimas décadas ampliaram o espectro de proteção, quando utilizaram mistura de filtros solares, para proteger a pele da radiação ultravioleta, numa faixa maior (UVA e UVB). Sendo assim, sua eficácia depende da capacidade de absorção de energia radiante que apresenta proporcionalidade às concentrações dos ativos absorventes ou refletores da sua formulação, ao intervalo de absorção e ao comprimento de onda onde ocorre a máxima absorção (MELQUIADES *et al.*, 2007; BARTH, 2000).

Com base no tipo de proteção que proporcionam, os filtros solares podem ser classificados em filtros solares físicos, denominados inorgânicos, e protetores solares químicos, denominados orgânicos. Em outras palavras, a classificação é baseada na reflexão ou absorção da radiação incidente, respectivamente. As substâncias chamadas de filtros físicos são capazes de refletir a radiação solar. Ao entrar em contato com a pele, forma uma barreira física que impede a passagem da radiação. O dióxido de titânio e óxido de zinco são os compostos mais usados para este fim. Os filtros solares químicos agem absorvendo a radiação solar incidente na pele e transformando essa energia. Cada filtro químico consegue absorver um ou mais comprimentos de onda específicos, convertendo-o em outro tipo de energia. Os compostos mais usados são derivados do PABA (ou p-aminobenzoatos),

salicilatos, cinamatos, benzofenonas, dibenzoilmetanos, derivados da cânfora e antranilatos (FLOR *et al.*, 2007; NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Considerando a quantidade de compostos, é possível obter uma gama de possibilidades de formulações de protetores químicos. Discorrendo sobre o mecanismo de ação dos filtros orgânicos, podemos ver que a estrutura destes permite que os raios UV nocivos ao ser humano sejam absorvidos, ou seja, radiações de alta energia, convertendo-as em radiações inócuas de baixa energia (RIBEIRO, 2006). As moléculas dos filtros químicos contidos no protetor solar possuem numerosas duplas ligações em sua configuração, seja no anel benzênico ou na cadeia linear. Este arranjo permite que muitos dos elétrons que se encontram em orbitais de mais baixa energia absorvam a radiação UV incidente e sejam excitados para orbitais de mais alta energia, realizando a conversão das radiações de alta energia e pequenos comprimentos de onda, que são altamente danosas, em radiações de pequena energia e altos comprimentos de onda (SALGADO *et al.*, 2004).

II.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma técnica analítica que se destina à identificação, separação e quantificação dos elementos presentes em diversas matrizes. Esse processo é realizado por meio da distribuição desses componentes entre duas fases distintas: uma em movimento e outra estacionária (COLLINS *et al.* 2006).

A CLAE possui grande relevância na análise de medicamentos e é amplamente empregada na garantia da qualidade de produtos cosméticos e farmacêuticos. Esse método se destaca pela sua capacidade de analisar uma ampla gama de substâncias, oferecendo alta resolução, sensibilidade e rapidez em misturas de princípios ativos em meio a excipientes e produtos de degradação (COLLINS, 1990; DINUNZIO e GADDE, 1990; SHAATH, 1989).

Além disso, é o método mais utilizado para determinar filtros UV em protetores solares. Sendo versátil e prática, essa técnica é adequada para substâncias com baixa volatilidade, e permite a análise precisa dos ingredientes ativos presentes nas formulações de filtros solares, facilitando o controle de qualidade e a regulamentação desses produtos. A avaliação quantitativa e qualitativa de sua composição química é crucial para garantir a eficácia e a segurança do produto (JARDIM *et al.*, 2006).

Alguns trabalhos foram publicados com diferentes métodos utilizando a CLAE. Quase todos os estudos publicados usam a CLAE em fase reversa, a qual se mostrou ideal para análise de formulações que contém filtros solares, visto que a maioria delas tem base resistente à água (SALVADOR e CHISVERT, 2005). A cromatografia líquida em fase reversa se baseia em uma separação de compostos com base em suas interações hidrofóbicas, onde a fase estacionária é apolar e a fase móvel é polar, tornando-a eficaz para substâncias apolares ou fracamente polares (COLLINS *et al.* 2006). Shaath (1989) publicou um dos únicos procedimentos em fase normal, mas não houve reproduzibilidade do tempo de retenção. O método em fase normal tem a característica da separação com a fase estacionária polar e a fase móvel apolar (COLLINS *et al.* 2006; JARDIM *et al.*, 2006).

Alguns pesquisadores desenvolveram métodos cromatográficos para a determinação de diversas substâncias ativas de formulações fotoprotetoras. O método proposto foi por CLAE em fase reversa para uma determinação quantitativa e qualitativa de filtros solares como metoxicinamato de octila, salicilato de octila, octocrileno e avobenzona. Foram utilizados coluna C18 e fase móvel constituída de metanol e água (PERUCHI, 2010; DUTRA *et al.*, 2002; RIBEIRO, 2004b GONZÁLEZ, 2003; AGHA, 2013 e WHARTON, 2011).

As fases estacionárias para a fase reversa são apolares, e são usadas as sílicas modificadas (fase estacionária quimicamente ligadas) comumente ligadas a cadeias C8 (n-octil) ou C18 (n-octadecil). As cadeias mais longas produzem retenções mais espaçadas. Além disso, permitem a utilização de volumes de amostras maiores (SKOOG *et al.* 2006). Assim, a coluna utilizada na maioria dos casos é a do tipo C18. Tomasella e colaboradores (1991), e Vanquerp e colaboradores (1999) utilizaram uma coluna C8 apenas para testes de estabilidade dos filtros solares. Fases estacionárias C18 não apresentam efeito de memória e, portanto, os tempos de retenção são mais consistentes (GRANGER e BROWN, 2001).

Tanto eluições isocráticas quanto eluição por gradiente são usadas nessas metodologias analíticas. O método isocrático mantém a composição dos solventes constante durante todo o processo. A eluição por gradiente, que altera a composição dos solventes ao longo do tempo, permite uma grande faixa de polaridade do solvente, mas tem a desvantagem de requerer um maior tempo de análise, além de elevar o custo da análise. As fases móveis mais utilizadas são misturas de metanol, acetonitrila e água, visto que os filtros solares

geralmente têm o máximo de absorção na região entre 270-360 nm (SKOOG *et al.*, 2006; JARDIM *et al.*, 2006).

Ácidos ou tampões ácidos são utilizados na fase móvel em alguns trabalhos citados na literatura com o objetivo de reduzir a cauda dos picos, pois a maioria das colunas de fase reversa tem material de constituição a base de sílica que só são estáveis em pH entre 2 e 8 (GRANGER e BROWN, 2001).

Para o levantamento da bibliografia, foram selecionados artigos publicados com maior similaridade dos filtros químicos, e encontram-se no Quadro I. A busca pelos textos foi realizada a partir das seguintes palavras-chave: filtro solar, cromatografia líquida de alta eficiência, metodologia analítica e separação (solar filter, high performance liquid chromatography, analytical methodology, separation). Na literatura, como material de fundamentação teórica, foram consultados artigos acadêmicos, monografias, teses e revistas científicas.

Quadro I. Estudos e Metodologias de Filtros Solares em CLAE. Adaptado de SALVADOR e CHISVERT, 2007; PERUCHI, 2010 e GONZÁLEZ, 2003.

Componente / Tipo de matriz	Preparo da Amostra	Fase estacionária	Fase Móvel	Referência
BDM, EMC + (IDM), BZ3, CX, EDP / creme e loção	Diluída com THF, banho ultrassônico e filtrada	coluna C18	Isocrático MeOH:THF:H ₂ O	Ikeda, 1989
BM, MCO	Dissolvida em MeOH e filtrada	LiChrospher RP18 (125mm x 4 mm, 5 µm)	Isocrático Método 1 - MeOH:H ₂ O (85:15 v/v) Método 2 - ACN:H ₂ O:AcOH : (85:15:0,1v/v/v)	Gagliardi, 1987
BZ3, EDP, EMC, ES, MA, OCR / Não especificada	Dissolvida em THF e diluída com ACN. Alíquota é filtrada e diluída com H ₂ Oe THF	Coluna C18	Isocrático THF:AcOH:H ₂ O	DiNunzio e Gadde, 1990
BZ3, BDM, EMC / Loção	Extraída com EtOH 60°C e agitada. Diluída com EtOH, centrifugada e o sobrenadante é analisado	coluna C8	Gradiente MeOH:1%AcOH	Meijer an Loden, 1995

BDM, BZ3, EDP, EMC, ES / Creme e loção	Dissolvida em MeOH, diluída com o mesmo solvente, centrifugada e o sobrenadante analisado	coluna C18	Isocrático MeOH:H ₂ O	Jiang, 1996
BZ3, BZ4, EDP, EMC, ES, HS / Creme, loção e óleo	Dissolvida em EtOH e filtrada	coluna C18	Isocrático EtOH:1.7%AcOH	Chisvert, 2001
BDM, BZ3, BZ4, HS, EDP, EMC, ES / Creme e loção	Dissolvida em EtOH, vibração ultrassônica (sonicated) se necessário, e filtrada	coluna C18	Isocrático EtOH:1.7%AcOH, containing 65,4mM HP-beta-CD	Chisvert, 2001
B3, BM, SO, H	Dissolvida em EtOH e filtrada	coluna C18	Gradiente A - HAc:H ₂ O (15:85 v/v) B - MeOH:H ₂ O (85:15 v/v)	Chisvert <i>et al.</i> , 2003
BZ3, EMC, ES / Creme	Dissolvida em MeOH, banho ultrassônico (sonicated) e filtrada. Uma alíquota é diluída com a fase móvel	coluna C18, 25°C	Isocrático MeOH:H ₂ O	Dutra, 2002

EMC, ES, MBT, OCR / Creme e loção	Dissolvida em DMF, banho ultrassônico (sonicated) e diluída com a fase móvel	coluna C18	Isocrático MeOH:ACN	Smyrnio-takis e Archontaki, 2004
Benzofenona-3, BDM, OCR, ES, EMC, octil dimetil PABA / Creme	Diluída em EtOH	RP Shimpack (150mm x 4,6 mm, 5 µm)	Isocrático CH ₃ CN:H ₂ O pH=2,7: H ₃ PO ₄ (93:7 v/v)	Ribeiro, 2004
Benzofenona-3, octil dimetil PABA, EMC, ES, homosalato / Creme	Diluída em EtOH	LiChrospher 100RP18 (125mm x 4 mm, 5 µm)	Isocrático H ₂ O:HAc:EtOH (29,5:0,5:70 v/v/v)	Chisvert, 2001
Benzofenona-3, Octil Dimetil PABA, EMC, metilbenzilideno cânfora, BDM, ES, OCR, ácido fenilbenzimidazol sulfônico / Creme	Diluída em metanol, acetonitrila e tetraidrofurano	Zorbax, C18 (150mm x4,6 mm, 5 µm)	Isocrático MeOH:ACN:THF:H ₂ O (40:10:10:40 v/v/v/v) com 0,5% de HAc	Simeoni, 2005
Benzofenona-3, metilbenzilideno cânfora, metoxicinamato de octila	Diluída em metanol e extração assistida por microondas	Inertsil C18, ODS-2 (150mm x 1,0 mm, 5µm)	Isocrático ACN:H ₂ O (90:10 v/v)	Shih e Cheng, 2000

3-BZ, OMC, and OS / Gel creme	0,05g da formulação é dissolvida em 50mL de etanol. Aliquotas de 0,8, 1,0 e 1,2 mL são diluídas na fase móvel em balão volumétrico de 10mL	Supelcosil™ LC-18 (25 cm x 4.6 mm, 5 µm) coluna; C-18 (4 x 4 mm, 5 µm, Merck) pré-coluna	Isocrático MeOH/H ₂ O (84:16, v/v) mistura contendo 0.1% (v/v) Ac. acético	Vilela, 2011
benzofenona-3, metoxicinamato de octila e salicilato de octila. (2:3:2) / Creme	Dissolvida em MeOH	LiChrospher 100RP18 (125mm x 4 mm, 5 µm)	Isocrático MeOH:H ₂ O (85:15, v/v)	Dutra, 2000

II.4 Protetor Solar LAQFA

No desenvolvimento de protetores solares, busca-se definir a estrutura de um produto que apresente o máximo de aproveitamento das matérias-primas, determinando-se o qualitativo e o quantitativo de cada composto da formulação com o objetivo de obter-se um produto adequado dentro dos parâmetros de eficácia e segurança, relação custo/benefício e aceitação pelo consumidor (KHURY *et al.*, 1995; KLEIN *et al.*, 2005).

O protetor solar do Laboratório Químico Farmacêutico da Aeronáutica (LAQFA) foi desenvolvido em parceria com o laboratório Silvestre, e fornecido para as Organizações Militares da Força Aérea Brasileira (FAB), com a possibilidade de ampliar essa distribuição para outros órgãos públicos, de forma a contribuir na prevenção de doenças e danos causados à pele em decorrência da exposição à radiação solar. O laboratório Silvestre, com o relatório de ensaio, apresenta a proporção dos filtros no protetor solar LAQFA. Os ativos constituintes desta formulação são filtros solares químicos e estão listados na tabela III.

Tabela III. Componentes e concentrações (% m/m) do protetor solar LAQFA. Nome INCI.

Octocrileno (OCR)	10,00 %
Butil Metoxidibenzoinmetano (BDM)	4,50 %
Salicilato de Octila (ES)	4,50 %
Metoxicinamato de Octila (EMC)	10,00 %

II.4.1 Octocrileno (OCR)

O ativo químico 2-etilhexil-2-ciano-3,3-difenilprop-2-enoato ($C_{24}H_{27}NO_2$) (Figura 2), conhecido por octocrileno, tem a característica de um líquido viscoso, límpido e incolor, com uma massa molar de 341,68 g/mol, um ponto de fusão de 14 °C e um ponto de ebulição de 218 °C. É um composto orgânico de densidade de 1,05 g/cm³. Na classe dos ésteres, formado a partir da condensação de difenilcianoacrilato com 2-etil-hexanol (BAREL *et al.*, 2001; AGHA *et al.*, 2013).

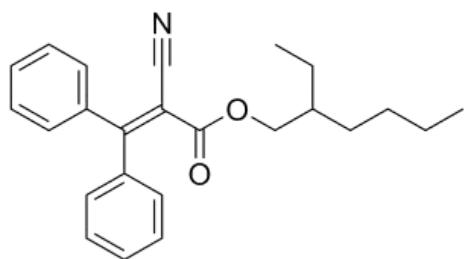


Figura 2 – Estrutura química do Octocrileno

O sistema conjugado estendido do grupo acrilato da molécula absorve radiação UVB e UVA (radiações UV menos energéticas), com comprimentos de onda dos 280 a 320 nm, protegendo a pele de dano direto ao DNA, mas se destaca com a fotoproteção na região UVB. A porção etil-hexanol é um álcool gordo, que confere capacidade emoliente ao protetor solar, devido à sua hidrofobicidade (BAREL *et al.*, 2001; AGHA *et al.*, 2013). A sua molécula possui uma insaturação extra conjugada com o anel benzênico e o grupo carbonilo, o que permite a deslocalização dos elétrons (KULLAVANIJAYA e LIM, 2005)

O Octocrileno tem baixa solubilidade em água, mas boa solubilidade em óleos e solventes orgânicos. Tem excelentes propriedades de dissolução para filtros UV cristalinos. É um filtro fotoestável que melhora a fotoestabilidade do produto final quando combinado com outros filtros solares, como por exemplo, a avobenzona (BREWSTER, 2006; RAI e SRINIVAS, 2007; BAREL *et al.*, 2001; AGHA *et al.*, 2013).

II.4.2 Butil Metoxidibenzoilmetano (BDM)

O ativo químico 4-tercio-butil-4'-metoxi-dibenzoilmetano ($\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_3$), conhecido por avobenzona (Figura 3), é um pó cristalino de cor ligeiramente castanha, com odor aromático fraco, ponto de fusão de aproximadamente 81 °C, massa molar igual a 310 g/mol e característica lipofílica, pouco solúvel em água, e solúvel em solventes orgânicos (SASSON, 2006). É um filtro orgânico, derivado do dibenzoilmetano, muito utilizado isolado ou combinado a outros filtros solares em numerosos produtos para proteção solar e cuidados para a pele (ARAÚJO e SOUZA, 2008). Fornece uma excelente proteção contra a radiação UVA, sendo muito eficiente e aprovado por agências regulatórias da Europa, Austrália, Estados Unidos e Japão (SIMEONI *et al.*, 2004).

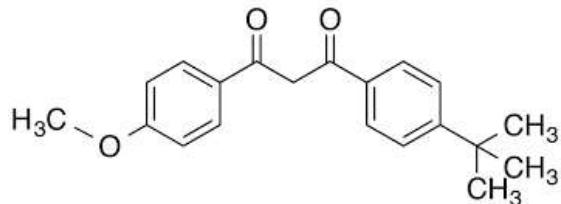


Figura 3 – Estrutura química da Avobenzona

A avobenzona é uma β -dicetona que está em equilíbrio tautomérico com sua forma enólica como representado na figura 4. Segundo DUBOIS *et al.*, 1998, a forma ceto existe somente em uma única forma, enquanto a forma enol existe em duas formas isoméricas. Em uma formulação de protetor solar, a avobenzona é encontrada predominantemente em sua forma enólica, que absorve a radiação no comprimento de onda UVA, enquanto a absorção da forma cetônica é na região do UVC. E, devido a sua capacidade de transição entre as funções cetônica e enólica, ou seja, sua estrutura altamente conjugada, esse filtro apresenta diferentes absorções de energia de radiação UVA (GANJE, 1986; MTURI e MARTINCIGH, 2008; KOCKLER *et al.*, 2013; SCALIA *et al.*, 2011).

Ainda considerando esse equilíbrio ceto-enólico, diante da exposição à radiação, a avobenzona está propensa a degradação. Então, apesar de possuir alta absorção na faixa de UVA, esse filtro tem sua capacidade fotoprotetora diminuída de 50% a 60% após uma hora de exposição à luz solar. Isso porque sob irradiação, a forma enólica é fotoisomerizada para a forma cetônica, causando considerável perda de proteção UVA, tornando a avobenzona fotoinstável (DUBOIS *et al.*, 1998; NASCIMENTO *et al.*, 2014; KOCKLER *et al.*, 2013).

Todavia, o BDM é um dos filtros orgânicos mais utilizados na proteção do espectro de radiação solar. Sua adição às formulações é considerada a fim de se obter uma proteção de amplo espectro, pois ela apresenta pico de absorção máxima no comprimento de onda de 355 nm. A forma ceto tem absorção no comprimento de onda de 260 nm, chegando até a região UVB (SOUZA, 2015; KULLAVANIJAYA e LIM, 2005; RAI e SRINIVAS, 2007).

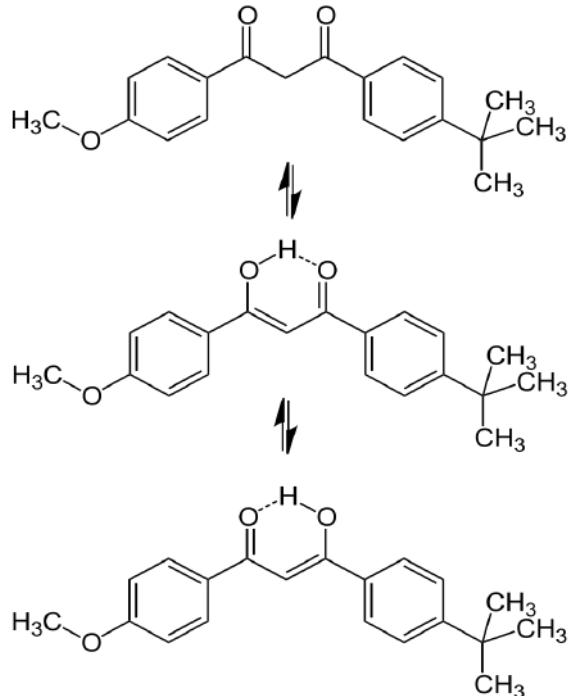


Figura 4 – Equilíbrio ceto – enol da AVO

II.4.3 Salicilato de Octila (ES)

O ativo químico 2-ethylhexil salicilato ($C_{15}H_{22}O_3$) conhecido por salicilato de octila (Figura 5), é um líquido incolor, quase amarelado com odor levemente aromático e possui baixa viscosidade, com uma massa molar de 250,4 g/mol, um ponto de fusão de -2 °C e um ponto de ebulição de 192 °C. É um composto orgânico que possui densidade específica a 25°C de 1,013-1,022 g/cm³ e índice de refração a 25 °C de 1,494-1,505. (GONZÁLEZ, 2003)

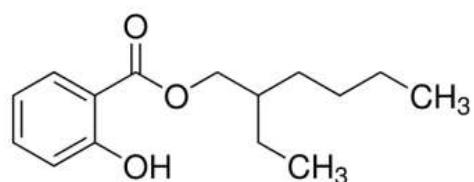


Figura 5 – Estrutura química do Salicilato de Octila

O ES é um salicilato orto-dissubstituído com um arranjo espacial que permite uma ligação de hidrogênio interna na molécula, absorvendo a radiação UV em torno de 300 nm. Essa ligação de hidrogênio intramolecular diminui a energia necessária para promover o composto ao seu estado excitado. Com isso, apresenta um pico de absorção máxima no espectro ultravioleta no comprimento de onda de 307-310 nm, efetivamente a radiação UVB,

mas absorve pouca ou nenhuma radiação UVA. E também atua como um agente emoliente na formulação de filtros solares, melhorando a textura e a aplicação do produto (SHAATH, 1989).

Da classe dos ésteres, é solúvel em álcoois, óleos e na maioria dos solventes orgânicos, e é insolúvel em água. Com absorvividade molar de (306 nm): 4.900L/mol.cm (LUZIN, 2011). Este filtro é muito utilizado como coadjuvante, auxiliando e potencializando outros filtros. Possui excelente estabilidade, justificados por este padrão de substituição em orto, que faz com que os dois grupos funcionais ativos fiquem ligados entre si por uma ligação intramolecular. Além disso, os elétrons de suas estruturas estão menos disponíveis para interações com outros componentes ou substratos biológicos da pele. Similarmente, numa formulação, esses compostos estão menos suscetíveis a efeito dos solventes e seu comportamento em todos os meios (polar e apolar) é estável (CABRAL *et al.*, 2011).

II.4.4 Metoxicinamato de Octila (EMC)

O ativo químico 4-Metoxicinamato de 2-etyl-hexila ($C_{18}H_{26}O_3$), também conhecido p-metoxicinamato de octila (Figura 6), é um líquido oleoso, transparente, ligeiramente amarelado, praticamente inodoro, com massa molar de 290,4 g/mol, ponto de fusão de -25 °C e o ponto de ebulição entre 185 °C e 195 °C (THE MERK INDEX, 2001; MARTINDALE, 1999). A sua densidade específica a 25 °C de 1,005-1,015 g/cm³, e índice de refração a 25 °C de 1,5390-1,5450. O coeficiente de partição octanol-água é 5,96, indicando que tem elevada solubilidade lipídica, e também em solventes orgânicos (MONTEIRO *et al.*, 2012; BALOGH, *et al.*, 2011).

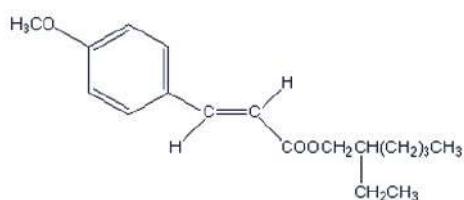


Figura 6 – Estrutura química do Metoxicinamato de Octila

O EMC é um cinamato substituído com uma insaturação extra, conjugada com o anel aromático e o grupamento carbonila que permite um deslocamento eletrônico. A energia

capaz de gerar essa transição eletrônica corresponde ao comprimento de onda nas proximidades de 305 nm. Absorve efetivamente a radiação UVB e pouca ou nenhuma radiação UVA. Apresenta pico de absorção máxima no espectro ultravioleta no comprimento de onda de 310 nm com absorvidade molar de (320nm): 23.300 L/mol.cm (SHAATH, 1989; NASCIMENTO *et al.*, 2014).

O metoxicinamato de octila contém um estereocentro e uma ligação dupla, apresentando quatro estereoisômeros (Figura 7 e 8). Estudos realizados por Pattanaargson e colaboradores em 2004 relatam que a conversão do isômero E (trans-) em Z (cis-) diante da exposição solar, minimiza o efeito fotoprotetor frente à radiação UVB deste filtro orgânico. O isômero mais ativo (E) possui absorção no comprimento de onda de 310 nm, sendo considerado um excelente filtro UVB. Mas com a sua degradação e consequente transformação no isômero CIS, cujo pico de absorção é em um comprimento de onda mais baixo – 265 nm, a eficácia é diminuída e, geralmente, é associado a filtros com espectro mais amplo, quando se deseja maior proteção (CABRAL *et al.*, 2011; KULLAVANIJAYA e LIM, 2005; NASCIMENTO *et al.*, 2014). Os estereoisômeros estão representados nas figuras 7 e 8.

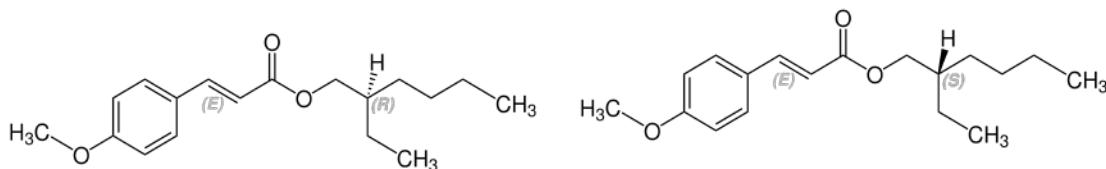


Figura 7 – E (Trans-) do Metoxicinamato de Octila

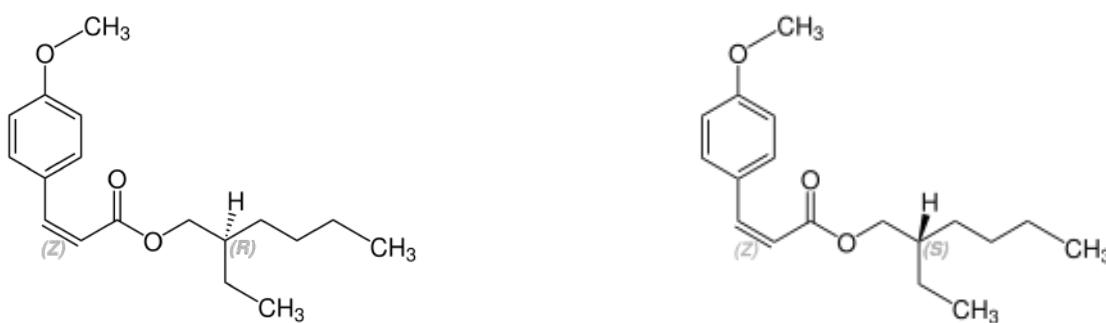


Figura 8 – Z (Cis-) do Metoxicinamato de Octila

Os ativos do protetor solar LAQFA apresentam perfis próximos de solubilidade. O estudo da solubilidade destes ativos se deu para favorecer a melhor escolha do solvente na análise. Ainda, é uma importante ferramenta para compreender e antever situações adversas durante a análise, como por exemplo, cristalizações dos filtros e consequente diminuição de eficácia na corrida cromatográfica, uma vez que o filtro precisa estar completamente solubilizado para desempenhar sua ação.

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

Quadro II: Solubilidade dos filtros solares (Adaptado de GONZÁLEZ, 2003).

NOME QUÍMICO	SOLUBILIDADE	
	SOLÚVEL	INSOLÚVEL
OCTOCRILENO	álcool etílico, álcool metílico, isopropílico, acetona e miristato de isopropila	água, glicerina, propilenoglicol e óleo mineral
METOXICINAMATO DE OCTILA	álcool etílico, álcool metílico, isopropílico, miristato de isopropila e óleo mineral.	água, glicerina e propilenoglicol
BUTILMETOXIDIBENZOILMETANO	álcool etílico, álcool metílico, isopropílico, miristato de isopropila e óleo mineral.	água, glicerina e propilenoglicol
SALICILATO DE OCTILA	álcool etílico, álcool metílico, isopropílico e miristato de isopropila	água, glicerina, propilenoglicol e óleo mineral

III. OBJETIVOS

III.1 Objetivo Geral

O propósito deste estudo consiste em realizar uma análise físico-química dos elementos presentes no protetor solar LAQFA, além de uma avaliação preliminar desses filtros solares através da CLAE, utilizando-se placas de fase reversa (C18), a fim de esclarecer uma análise qualitativa a respeito desses ativos químicos.

Por meio de técnicas adequadas às propriedades químicas e físicas, é possível identificar e separar os filtros lipossolúveis por meio da CLAE, considerando as características físico-químicas semelhantes. A seleção de um método analítico específico, envolvendo a CLAE, com estudo dos efeitos de fase móvel, permitirá a identificação, análise espectrofotométrica e separação dos filtros solares octocrileno, metoxicinamato de octila, avobenzona e salicilato de octila presentes na loção cremosa.

III.2 Objetivo Específico

Baseando-se nos métodos analíticos de GONZÁLEZ (2003), DUTRA (2000a), RIBEIRO (2004b) e PERUCHI (2010), serão utilizados os recursos disponíveis para análise qualitativa dos filtros solares, otimizando a fase móvel mais adequada, observando o desempenho de seus cromatogramas, com o objetivo específico de identificar e separar os ativos químicos presentes na formulação por meio da CLAE.

IV. METODOLOGIA

Para o desenvolvimento da metodologia, foram estudados os efeitos da fase móvel, a fim de otimizar a composição de fase móvel mais significativa para o objetivo deste trabalho. As condições cromatográficas para a metodologia proposta para a avaliação dos filtros solares estão no Quadro III.

Quadro III - Parâmetros e Condições Cromatográficas.

Parâmetros	Condições empregadas
Coluna	C18 ACE (250 mm x 4.6 mm, 5 µm)
Fase Móvel	Isocrático ACN:MeOH:H2O (10:75:15 v/v/v)
Fluxo	1,0 mL/min
Volume de injeção	20 µL
Temperatura	+/- 25°C
Tempo de corrida	<25 min
Comprimentos de onda	240 nm

Com a finalidade de avaliar a separação da mistura de filtros solares pela CLAE, foram utilizados os padrões dos filtros solares e uma mistura destes padrões, analisando os respectivos cromatogramas. Deste modo, as fases móveis foram testadas empiricamente, observando as características de cada filtro, possibilitando a identificação e, posteriormente, a melhor separação dos componentes (k' adequado), a melhor resolução (R), examinando os tempos de retenção de cada substância. Então, foram realizadas as análises entre a solução padrão de cada filtro, a solução padrão da mistura dos filtros e a amostra do protetor solar.

IV.1 Materiais e Equipamentos

Equipamentos: Cromatógrafo à líquido (modelo 2696 - Waters) - injetor Rheodyne 7725 com loop de 100 µL, associado a um detector por arranjo de fotodiodos - PDA modelo 996 (Waters); Forno para coluna cromatográfica (modelo 1500 - Waters, USA); Ultrassom (Ultra Cleaner 1450 - Unique, Brasil); Balança analítica (modelo XT220A-Precisa, Brasil);

Materiais: Agitador Mecânico; Filtro com membrana 0,22 µm e 0,45 µm; Balão volumétrico; Proveta; Becker; Pipeta automática; Micropipeta; Pipeta pasteur; Frasco borossilicato;

Reagentes: Metanol grau HPLC; Acetonitrila grau HPLC; Padrão de Referência - Octocrileno; Padrão de Referência - Avobenzona; Padrão de Referência - Metoxicinamato de octila; Padrão de Referência - Salicilato de Octila.

IV.2 Preparo da Solução Padrão

As soluções padrão foram estabelecidas de acordo com concentrações já conhecidas do protetor solar. Foram usados os padrões de referência como base para todas as análises subsequentes. O solvente usado foi o metanol grau HPLC. A tabela III apresenta a porcentagem mássica e é a base de cálculos para o desenvolvimento deste estudo. As soluções da mistura dos filtros solares e da amostra foram submetidas ao ultrassom, a fim eliminar possíveis bolhas das soluções. As soluções individuais dos filtros UV foram preparadas nas concentrações de 40,0 µg de octocrileno/mL (**A**), 18,0 µg de avobenzona/mL (**B**), 40,0 µg de metoxicinamato de octila/mL (**C**) e 18,0 µg de salicilato de octila/mL (**D**). Em seguida, foi preparada a solução contendo todos os filtros solares nas mesmas concentrações.

IV.2.1 Solução Padrão Octocrileno

Foram pesados exatamente 100,0 mg de octocrileno e transferidos para um balão volumétrico âmbar de 100 mL, avolumando-se com metanol. Uma alíquota de 4,0 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico âmbar de 100 mL, avolumando-se com a fase móvel acetonitrila/metanol/água (10:75:15 v/v/v), obtendo uma solução com concentração final de 40,0 µg de octocrileno/mL (solução A).

IV.2.2 Solução Padrão Avobenzona

Foram pesados exatamente 45,0 mg de avobenzona e transferidos para um balão volumétrico âmbar de 100mL, avolumando-se com metanol. Uma alíquota de 4,0 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico âmbar de 100 mL, avolumando-se com a fase móvel acetonitrila/metanol/água (10:75:15 v/v/v), obtendo uma solução com concentração final de 18,0 µg de avobenzona/mL (solução B).

IV.2.3 Solução Padrão Metoxicinamato de Octila

Foram pesados exatamente 100,0 mg de metoxicinamato de octila e transferidos para um balão volumétrico âmbar de 100 mL, avolumando-se com metanol. Uma alíquota de 4,0 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico âmbar de 100 mL, avolumando-se com a fase móvel acetonitrila/metanol/água (10:75:15 v/v/v), obtendo uma solução com concentração final de 40,0 µg de metoxicinamato de octila/mL (solução C).

IV.2.4 Solução Padrão Salicilato de Octila

Foram pesados exatamente 45,0 mg de salicilato de octila e transferidos para um balão volumétrico âmbar de 100 mL, avolumando-se com metanol. Uma alíquota de 4,0 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico âmbar de 100 mL, avolumando-se com a fase móvel acetonitrila/metanol/água (10:75:15 v/v/v), obtendo uma solução com concentração final de 18,0 µg de salicilato de octila/mL (solução D).

IV.2.5 Solução Padrão dos Filtros Solares

Foram pesados exatamente 100,0 mg de octocrileno, 45,0 mg de avobenzona, 100,0 mg de metoxicinamato de octila e 45,0 mg de salicilato de octila, em seguida, transferidos para um balão volumétrico âmbar de 100 mL. Foram adicionados 50 mL de metanol para solubilizar, e a mistura foi submetida ao ultrassom por 15 min. Após isso, avolumou-se com metanol. Uma alíquota de 4,0 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico âmbar de 100mL, avolumando-se com a fase móvel acetonitrila/metanol/água (10:75:15 v/v/v), obtendo uma solução com concentração final de 40,0 µg de octocrileno, 18,0 µg de avobenzona, 40,0 µg de metoxicinamato de octila e 18,0 µg de salicilato de octila/mL (solução E).

IV.3 Preparo da amostra

Foram pesadas exatamente 500 mg da amostra, e transferidos para um balão volumétrico de 50 mL contendo 10 mL de metanol para solubilizar. A suspensão foi submetida ao ultrassom por 15 minutos. Após isso, avolumou-se com metanol. Uma alíquota de 5,0 mL desta solução foi transferida para um balão volumétrico âmbar de 50 mL, completando-se o volume com a fase móvel acetonitrila/metanol/água (10:75:15 v/v/v) (solução F).

V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

V.1 Análise da CLAE

O método de análise de identificação e separação dos filtros solares estudados é o cromatográfico – CLAE. Essa técnica de separação é usada para misturas de compostos semelhantes, termicamente instáveis bem como a solubilidade da amostra na fase móvel. Em correlação, as substâncias em estudo possuem estruturas semelhantes e, por isso, características físico-químicas semelhantes. E como evidenciado a priori no Quadro II, são filtros solúveis em solventes orgânicos (podendo compor a mesma fase móvel).

As propriedades como massa molecular, solubilidade e estrutura foram consideradas para escolher a melhor condição cromatográfica para a separação dos componentes da amostra do protetor solar LAQFA. E em relação à fase móvel, foi considerado que deve apresentar alto grau de pureza, dissolver a amostra sem decompor seus componentes, não decompor ou dissolver a fase estacionária, ter baixa viscosidade e ter polaridade adequada para permitir uma separação conveniente dos componentes da amostra.

A abordagem analítica escolhida foi fundamental para garantir a qualidade e a eficácia da pesquisa. A CLAE permite a separação e identificação dos ingredientes ativos presentes na formulação, podendo ser verificada através das áreas obtidas com as injeções dos padrões e amostra, observando a resolução (R , seletividade α), fator de retenção (k'), tempo de retenção (T_r) e simetria do pico (T).

As soluções padrão dos filtros solares foram cromatografadas e utilizadas para a identificação de cada componente do protetor solar. Após, foi cromatografada a solução padrão da mistura dos filtros, seguida da amostra. Após a identificação, foi possível definir a melhor separação dos componentes (k' adequado), a melhor resolução (R), observando-se os tempos de retenção de cada componente e a pressão resultante no sistema.

V.2 Análise dos Padrões

As soluções padrão A, B, C e D foram injetadas no equipamento e, nas figuras 9, 10, 11 e 12 é possível observar picos bem definidos e de boa intensidade. Os espectros de absorção UV determinaram os comprimentos de onda máximo para cada um dos filtros UV, demonstrando claramente a faixa de absorbância em que se encontram.

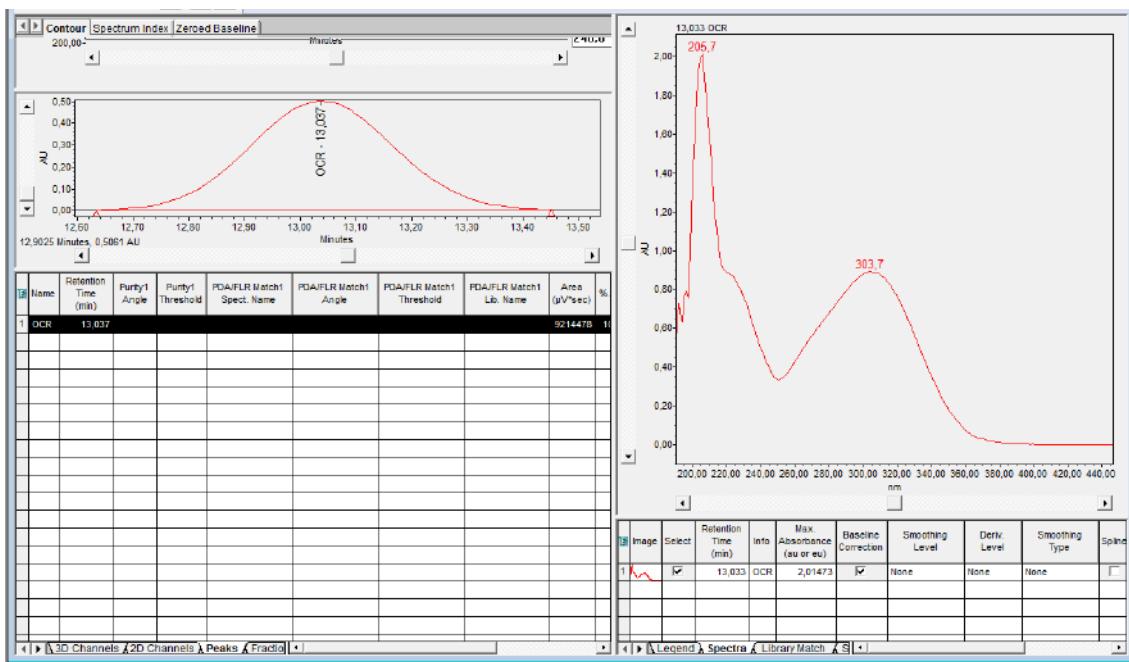


Figura 9. Solução A - Padrão Octocrileno.

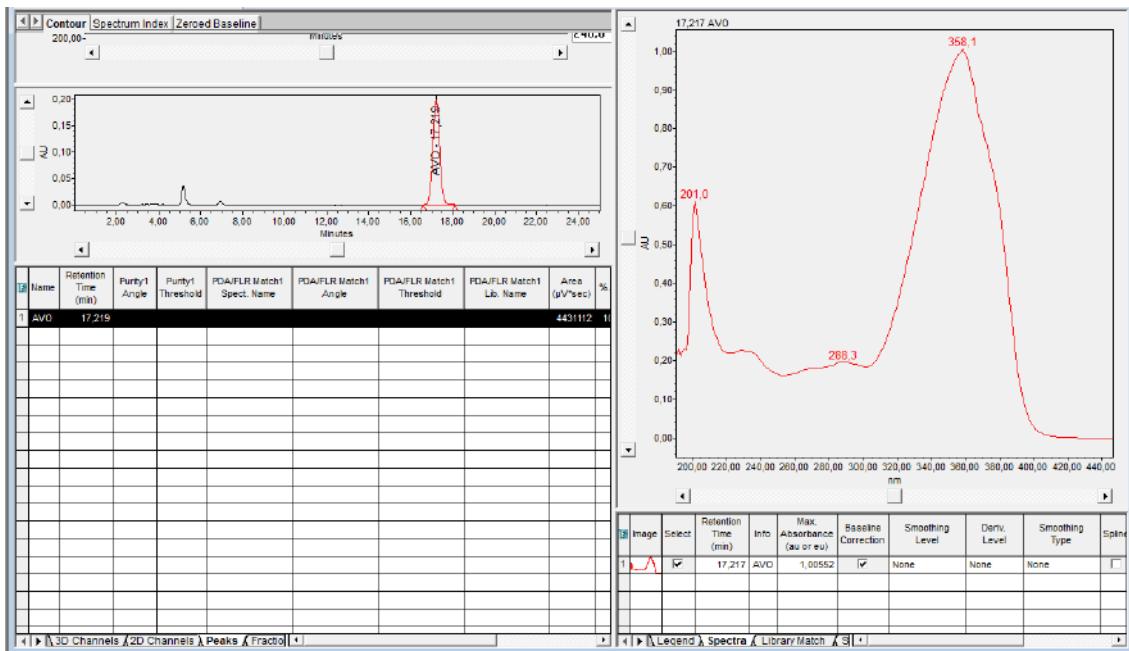


Figura 10. Solução B- Padrão Avobenzona.

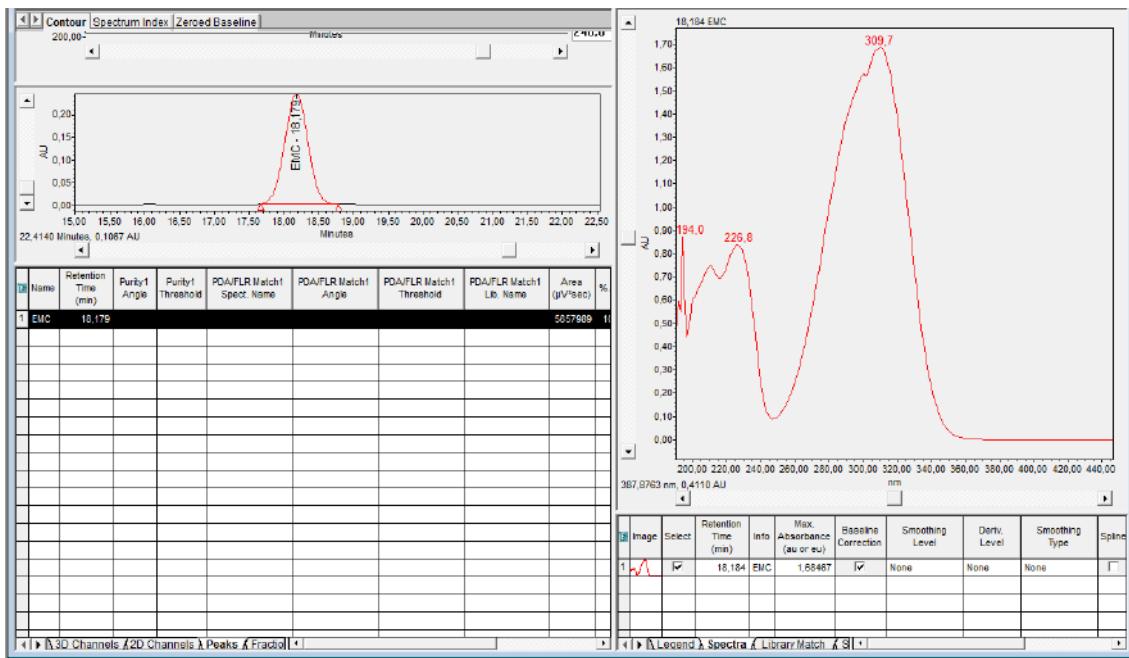


Figura 11. Solução C - Padrão Metoxicinamato de Octila.

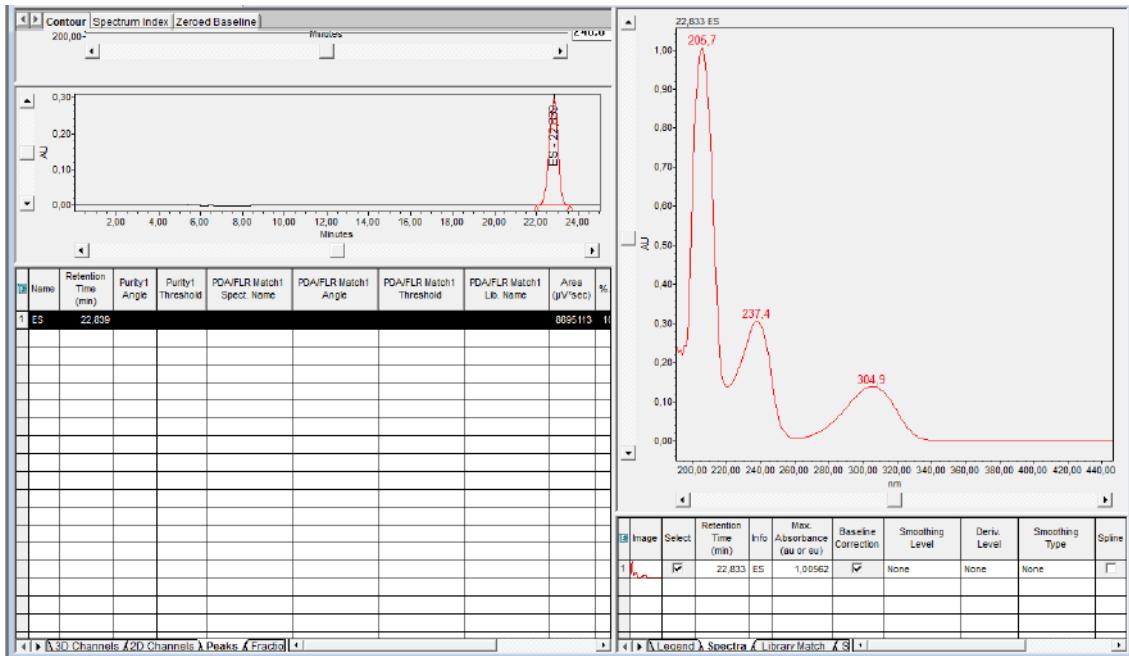


Figura 12. Solução D – Padrão Salicilato de Octila.

Os registros da espectrofotometria UV aplicada a cada um dos filtros solares, evidenciaram os comprimentos de onda experimentais onde é máxima a absorção de: 303,7 nm para o octocrileno, 358,1 nm para a avobenzona, de 309,7 nm para o metoxicinamato de octila e de 304,9 nm para o salicilato de octila. Tais valores são aproximados aos encontrados

na tabela I deste trabalho, denotando que as bandas de absorção máxima dos filtros foram correspondentes com as encontradas na literatura.

Podemos verificar na bibliografia que as regiões UV de fotoproteção que os filtros solares químicos em questão atuam são: avobenzona em UVA, e metoxicinamato de octila, octocrileno e salicilato de octila em região UVB. Com os comprimentos de onda em 320-400nm (UVA), 290-320nm (UVB) e 200-290nm (UVC). Nas análises espectrofotométricas no HPLC, o espectro da avobenzona mostra sua predominância na forma enólica, com ótima absorção UVA; E os espectros do metoxicinamato de octila e salicilato de octila apresentam ótima absorção UVB. O espectro do octocrileno elucida uma absorção leve em região UVA, de 320 a 360 nm, mas tem seu pico de absorção entre 290 e 320nm, absorvendo efetivamente a radiação UVB. Assim, concluímos que os espectros de absorção experimentais, medidos na região UV, são consistentes com a literatura.

Durante a eluição dos filtros solares através da coluna, o detector UV registra a absorbância ideal dentro dos espectros específicos. Com o registro da varredura do sistema cromatográfico, foi escolhido o comprimento de onda de 240 nm, o mesmo usado para detecção espectrofotométrica. A fim de obter o melhor valor de absorbância para se estudar a separação dos filtros solares, essa escolha proporcionou uma leitura interessante para a distinção e separação dos compostos, melhor definição dos picos e minimização de ruídos.

V.3 Análise do Efeito da Fase Móvel

A otimização das condições cromatográficas deste estudo se deu através das escolhas dos parâmetros cromatográficos baseados em artigos descritos no Quadro I, e na disponibilidade de recursos materiais. Com os testes realizados foram obtidas as variações dos tempos de corrida a partir de propostas diferentes de concentrações de fase móvel, bem como da seletividade.

A fase estacionária escolhida para este trabalho foi a coluna C18. Khalikova e colaboradores (2018), realizaram um estudo com fases estacionárias para a separação de 9 filtros solares, dentre estes, as substâncias presentes no protetor solar LAQFA. As colunas C8, C18, 2-picolinamina (2-PIC), dietilamina (DEA) e diol de alta densidade (Diol) foram testadas a fim de otimizar a seletividade na eluição. E a coluna C18, uma fase de sílica ligada a C18, mais longa, forneceu uma separação mais adequada aos filtros EMC, OCR e AVO.

A fase móvel foi selecionada na proporção que apresentasse uma melhor resolução dos picos, com o tempo de retenção adequado e ordem de eluição. Para encontrar a mais adequada, foram realizadas as corridas cromatográficas com diferentes proporções e foram observadas as condições mais apropriadas para a separação dos filtros solares. E conforme maior disponibilidade e menor custo do solvente metanol em relação a acetonitrila, optamos por iniciar a verificação da melhor fase móvel com este componente. Os cromatogramas das figuras 13, 14 e 15 referem-se à solução padrão de filtros solares (E) injetada com composições de fase móvel testadas.

Para este trabalho, ficamos restritos apenas aos modificadores orgânicos metanol e acetonitrila, devido a disponibilidade para uso. Durante as análises, verificamos que a quantidade de modificador orgânico na fase móvel, altera significativamente a retenção dos filtros solares na coluna usada, e que a separação do ES e EMC foi alcançada com a adição da acetonitrila. DiNunzio e Gadde (1990) examinaram os cromatogramas sob os efeitos de componentes orgânicos na fase móvel, sendo eles o metanol, acetonitrila e THF. Para avaliar os efeitos de modificadores orgânicos da fase móvel em relação à seletividade cromatográfica, foram usados os filtros metoxicinamato de octila e salicilato de octila. Estes autores concluíram que o aumento da proporção de acetonitrila na fase móvel diminui drasticamente o tempo de retenção de compostos de proteção solar selecionados, em uma coluna C18. Ainda, evidenciando que o metanol e a acetonitrila deram seletividade semelhante. E a separação parcial do salicilato de octila e do metoxicinamato de octila foi alcançada apenas quando a acetonitrila foi usada na fase móvel.

De acordo com SKOOG e colaboradores (2006), metanol e acetonitrila são excelentes solventes para serem usados como fase móvel, já que os mesmos possuem altas transmitâncias e misturam com água em qualquer proporção. A água é um solvente ideal quando se deseja ajustar a força de eluição. É frequentemente usada em combinação com solventes orgânicos. O metanol pode promover a eluição de compostos com maior solubilidade em solventes polares, mas pode não ser tão eficiente quanto a acetonitrila para a separação de certos filtros solares que são menos polares. Os estudos no Quadro I destacam a eficácia da acetonitrila em melhorar a separação de compostos em CLAE.

V.3.1 Fase Móvel 1

A fase móvel composta por 78% de metanol e 22% de água resultou em uma separação ineficaz dos filtros solares, conforme observado na figura 13. A corrida permaneceu em teste por sessenta minutos, e apenas o OCR, AVO e EMC foram eluídos da coluna. Os tempos de retenção dos compostos foram muito altos, evidenciando uma baixa força cromatográfica de fase móvel. A alta proporção de água, que é o solvente mais fraco na cromatografia em fase reversa, sugere essa fase móvel muito fraca para essas moléculas, e, consequentemente, um fator de retenção (k') muito alto. Assim, a força de eluição muito fraca desfavoreceu a interação dos componentes com a fase móvel, implicando em tempo de análise extremamente longo.

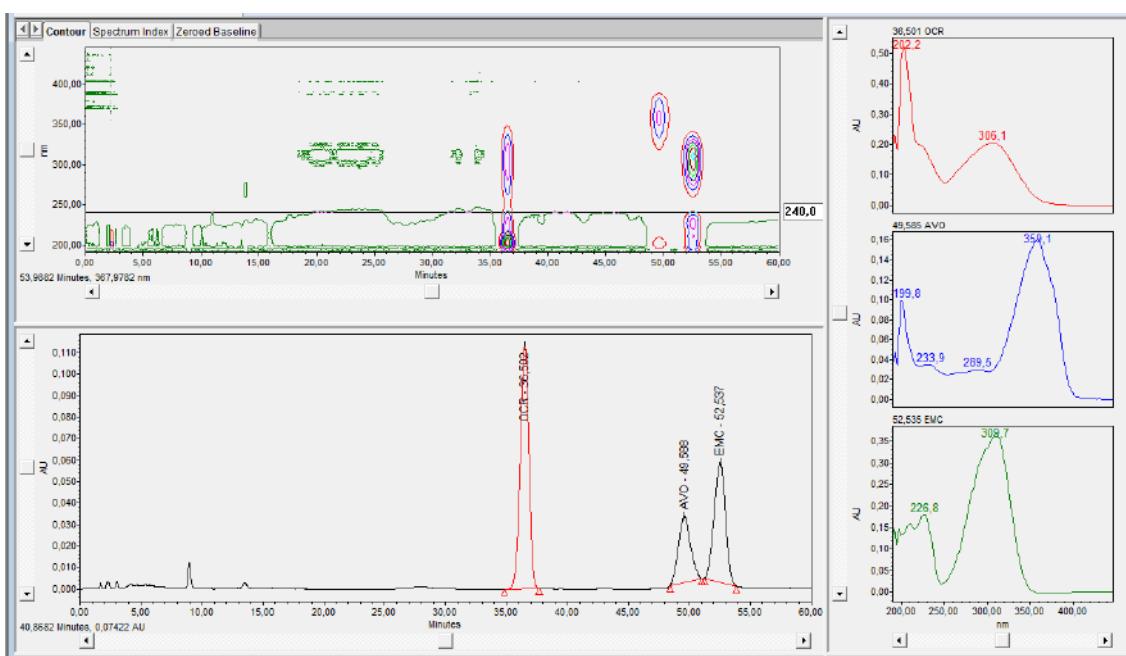


Figura 13. Solução E – Fase Móvel Metanol 78%

V.3.2 Fase Móvel 2

O ajuste da fase móvel se deu para uma composição de 87% de metanol e 13% de água. Para corrigir o alto tempo de análise, a proporção de água da fase móvel foi diminuída. Com isso, a força da fase móvel aumenta, e, consequentemente, aumentamos a força de eluição, e os componentes passam a interagir melhor com o eluente, diminuindo o tempo de retenção.

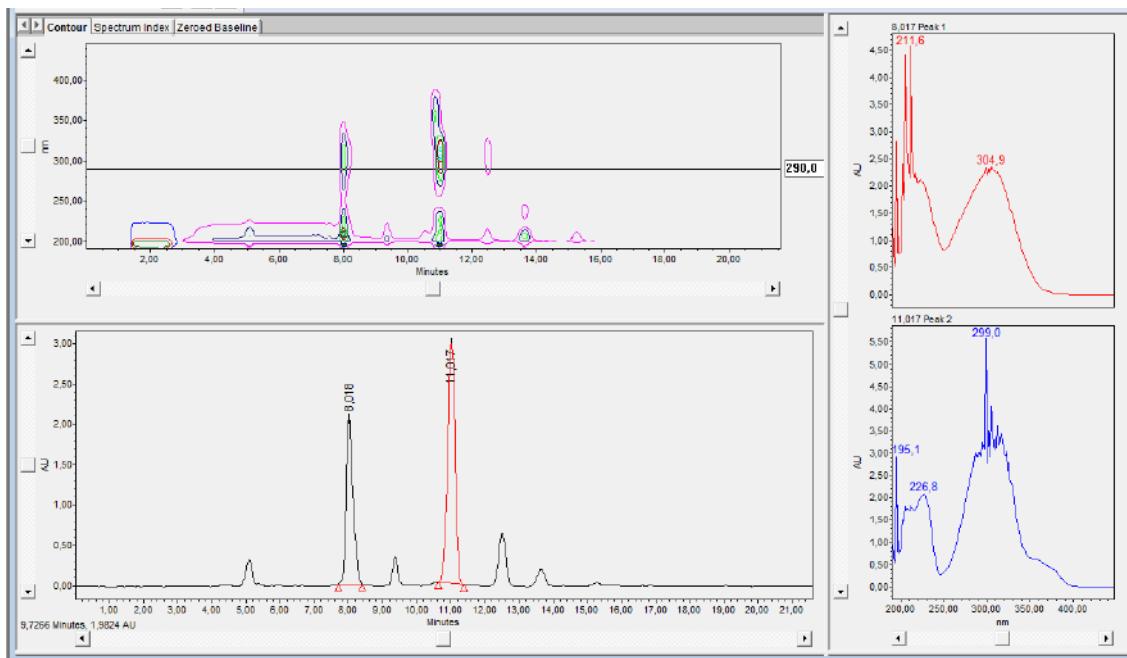


Figura 14. Solução E – Fase Móvel Metanol 87%

Analizando a figura 14, foi observado que a nova fase móvel escolhida permaneceu com um ambiente de eluição que afetou negativamente a eficácia da separação dos filtros solares. O tempo de análise reduziu para menos de 20 minutos (k' baixo), mas o cromatograma apresentou uma provável sobreposição de picos e interações indesejadas. Apenas dois sinais com boa intensidade podem ser observados, e outros sinais como interferência. A seletividade é baixa, não sendo possível diferenciar os componentes de interesse.

A diversidade na composição da fase móvel (87% de metanol contra apenas 13% de água) pode ter sido um fator limitante à capacidade de separar adequadamente ingredientes ativos que requerem um balanço mais equilibrado entre força cromatográfica e interação. Isso também pode ter levado à falta de resolução entre os picos.

V.3.3 Fase Móvel 3

De acordo com a disponibilidade, e com os estudos dos artigos do Quadro I, foi explorada outra combinação de fase móvel, adicionando mais um composto orgânico, a acetonitrila – separação parcial do salicilato de octila do metoxicinamato de octila alcançada apenas com o uso deste solvente. A fase móvel escolhida foi Metanol 85%, Acetonitrila 5% e H₂O 10%.

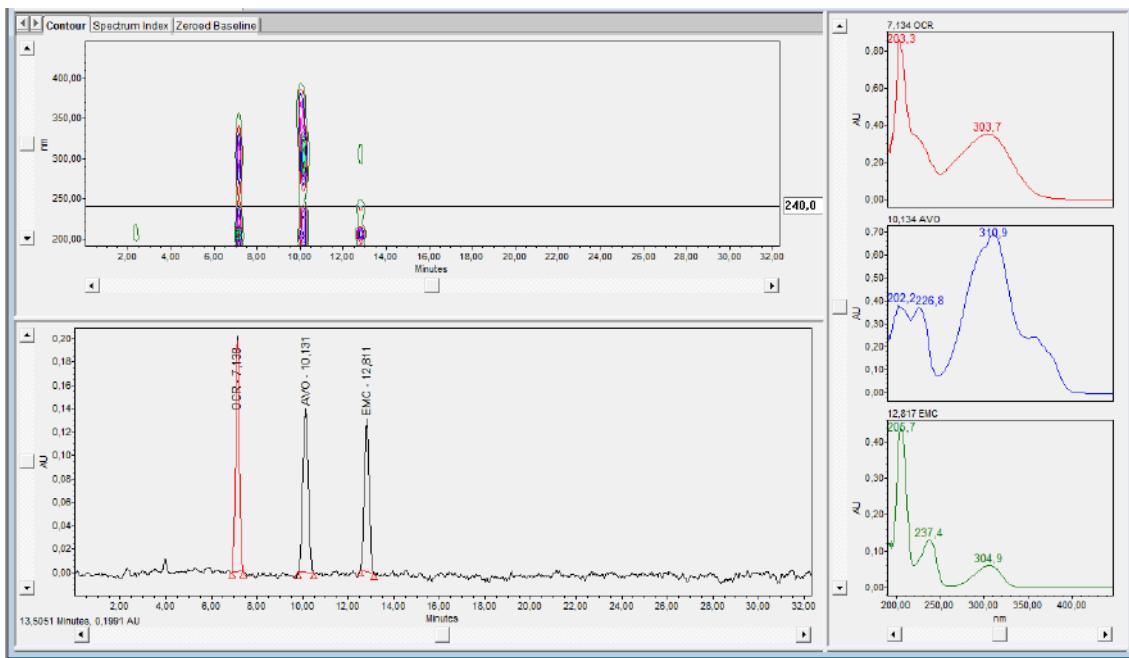


Figura 15. Solução E – Fase Móvel Metanol 85%, Acetonitrila 5% e H₂O 10%

A acetonitrila também é um solvente polar, e tem a capacidade de aumentar a força da fase móvel. Na figura 15 é observado um cromatograma com uma linha de base muito ruidosa. O tempo de análise foi reduzido para menos de 15 minutos (k' mais baixo). Os componentes tiveram uma alta interação com a fase móvel, eluindo muito rápido pela coluna, o que sugere uma força cromatográfica da fase móvel muito elevada. Há também, provável sobreposição de picos, visto que só foram registrados três sinais. Complementando, a solução E tem diferentes concentrações para cada filtro solar, e injetados nessa proporção diferente, seria esperado um pico de menor intensidade para a avobenzona e o salicilato de octila. Então, verificamos que essa nova composição de fase móvel não proporcionou uma separação eficaz dos ativos, a resolução dos picos foi inadequada, resultando em uma análise imprecisa e com limitações na interatividade química necessária para eluí-los com eficiência.

V.3.4 Fase Móvel 4 (Otimizada) e Análise Solução Padrão dos Filtros Solares

Para o ajuste da fase móvel, aumentamos a proporção de acetonitrila e da água, e diminuímos a do metanol. Obtendo uma nova a fase móvel composta por 10% de acetonitrila, 75% de metanol e 15% de água.

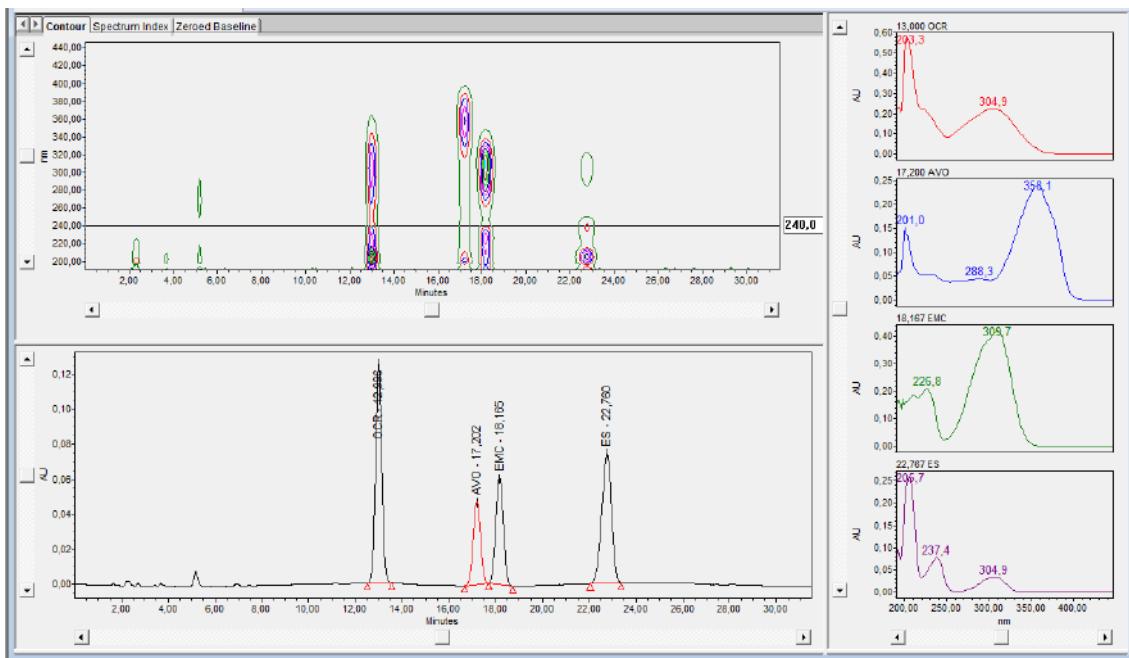


Figura 16. Solução E – Fase Móvel Metanol 75%, Acetonitrila 10% e H₂O 15%.

A fim de diminuir ligeiramente a força cromatográfica, aumentou-se a proporção de água, o que levou a um k' aceitável e melhorou a resolução entre os picos. A presença de água também é defendida porque muitas vezes contribui para melhorar a forma do pico. Isso pode ter favorecido picos bem definidos.

Considerou-se então aumentar a proporção da acetonitrila e diminuir a do metanol, mantendo o equilíbrio na mistura ternária. O metanol ajuda a manter a ótima eluição da fase móvel e a proporcionar uma interface de interação ideal com os ativos, mas em uma porcentagem menor, causa pouca interferência. E apesar do estudo de seletividade demonstrar comportamentos parecidos entre esses dois modificadores orgânicos, a acetonitrila desempenhou um papel mais eficaz na separação de filtros solares dos artigos do Quadro I.

A figura 16 registra um tempo de análise de vinte e quatro minutos, com um fator de retenção (k') bem adequado, bem como os tempos de retenção (T_r). Os picos cromatográficos separados, verificando boa resolução, a simetria do pico (T), com boa intensidade e sem alargamento. A otimização da fase móvel, com a combinação de solventes em Ac:MeOH:H₂O (10:75:15 v/v/v) permitiu que todos os ativos fossem eluídos com eficácia.

V.3.5 Amostra LAQFA

Na figura 17 podemos verificar o cromatograma da amostra do protetor solar LAQFA (solução E). A corrida cromatográfica se deu com a fase móvel acertada Ac:MeOH:H₂O (10:75:15 v/v/v) e foram registrados picos bem definidos com os tempos de retenção correspondentes aos compostos da solução padrão. A ausência de picos adicionais pode indicar a ausência de impurezas ou subprodutos não desejados, o que auxilia na avaliação da pureza dos compostos, interferindo positivamente na eficácia do filtro solar.

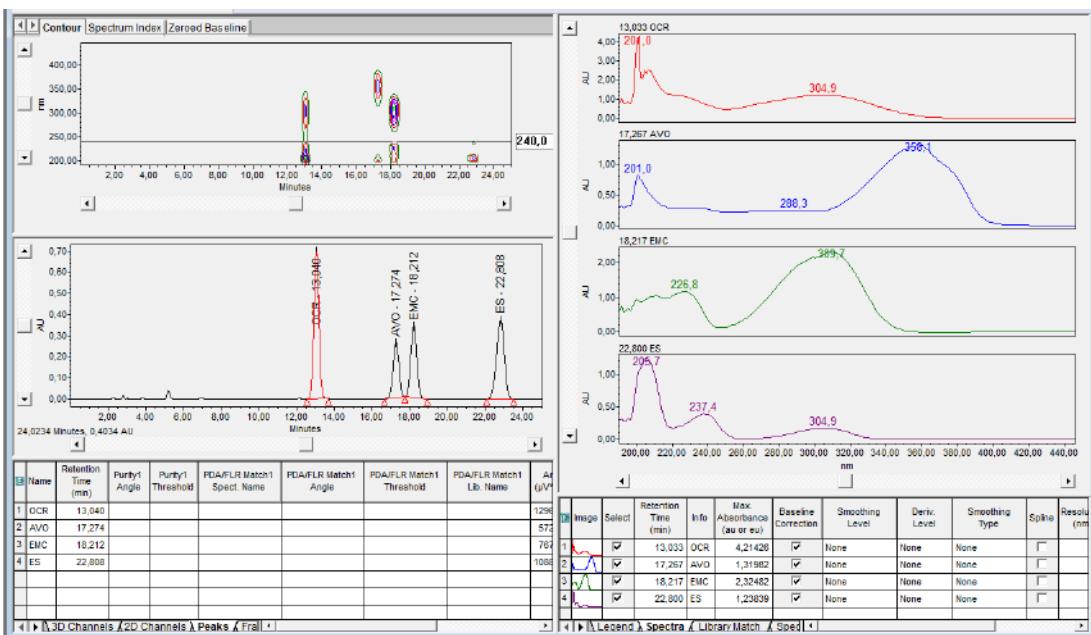


Figura 17. Solução F – Fase Móvel Metanol 75%, Acetonitrila 10% e H₂O 15%.

Ao correlacionarmos as figuras 9 a 12, com a figura 17, identificamos cada ativo da amostra de acordo com os tempos de retenção. Dentro dos mesmos parâmetros cromatográficos, as substâncias apresentam o mesmo tempo de eluição. Assim, tempos de retenção dos picos na amostra coincidentes com os das soluções padrão (Tabela IV), indicam a presença dos mesmos compostos ativos. Analogamente, verificamos o mesmo perfil espectrofotométrico na amostra e nas soluções padrão, permitindo validar a identificação dos compostos.

Tabela IV. Tempos de retenção (min) das substâncias e da solução padrão e da amostra

COMPOSTO	Tr (min) (slç padrão)	Tr (min) (amostra)
Octocrileno (OCR)	13,033	13,040
Butil Metoxidibenzoilmetano (BDM)	17,217	17,274
Salicilato de Octila (ES)	18,184	18,212
Metoxicinamato de Octila (EMC)	22,833	22,808

A comparação entre os cromatogramas de uma solução padrão dos filtros solares e da amostra de protetor solar LAQFA é fundamental para determinar a identidade e a pureza dos compostos analisados. O cromatograma da amostra em comparação aos cromatogramas dos padrões certifica que o protetor solar estudado é constituído pelos filtros solares octocrileno, metoxicinamato de octila, avobenzona e salicilato de octila, observando os tempos de retenção coincidentes e espectros UV de cada analito. E reafirma a efetiva separação destes com as condições cromatográficas escolhidas.

VI. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, foi possível concluir que o método desenvolvido mostrou eficiência na separação dos filtros solares estudados dentro da amostra de protetor solar LAQFA. A especificidade do método foi avaliada comparando os cromatogramas. A identificação de cada pico cromatográfico dos filtros solares foi confirmada com a solução dos padrões por comparação de tempos de retenção. Os espectros de absorbância característicos para cada composto estudado também foram uma vantagem significativa para sua identificação. As condições cromatográficas foram otimizadas através das corridas realizadas e foi obtida boa resolução e formatos dos picos, bem como um curto tempo de execução, demonstrando a eficiência da fase móvel.

A escolha da fase móvel com a mesclagem de solventes orgânicos para ajustar a força de eluição e melhorar a interação dos compostos é necessária. Mas os modificadores orgânicos em grande quantidade também produzem formatos de picos inadequados e rejeito significativo. E a presença de água é capaz de melhorar a qualidade do pico, e temperar a força de eluição para um bom ajuste do tempo de retenção e da seletividade. Portanto, a otimização da porcentagem da fase móvel é essencial para alcançar uma boa separação dos filtros solares na análise por HPLC.

A pesquisa reforçou a necessidade de testes sistemáticos para estabelecer as melhores condições de cromatografia para cada tipo de filtro solar a ser analisado, levando em consideração as características específicas de cada composto e seu comportamento em diferentes amostras.

VII. PERSPECTIVA FUTURA

Como perspectiva de trabalho futuro, propõe-se aumentar a sensibilidade do método, realizando a curva de calibração de cada analito, a fim de se obter a concentração exata dos componentes, e uma percepção quantitativa da composição do protetor solar LAQFA. O refinamento contínuo da metodologia analítica é fundamental para atender às exigências regulatórias do setor e garantir a segurança dos consumidores. Ainda, pretende-se realizar a separação dos filtros com a fase móvel proposta neste estudo, com foco para o desenvolvimento de metodologia analítica baseada em CLAE para o protetor solar LAQFA, com a validação do método. Sendo possível a análise dos parâmetros de reproduzibilidade, precisão, linearidade, especificidade, e melhorando os limites de detecção e quantificação para que seja possível ampliar as validações a nível industrial. A aplicação deste conhecimento na indústria permite aprimorar a qualidade do produto.

VIII. REFERÊNCIAS

AGHA, N.; Y., HAIDAR, S.; AL-KHAYAT, M.A.; **Int. J. Pharm.**, n.43, 254-258, 2013.

ARAÚJO, T. S.; SOUZA, S. O. “Protetores solares e os efeitos da radiação ultravioleta”. **Scientia Plena**, v. 4 (11), p. 1-7, 2008.

BALOGH, T. S.; BABY, A. R. **Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção.** An Bras Dermatol, v. 86, n. 4, p. 732–742, 2011.

BAREL, Andre O.; PAYE, Marc; MAIBACH, Howard I. **Cosmetic science and technology.** Edisi kedua. New York: John Willy and Son Inc. Hal, v. 626, 2009.

BARTH, A.L. **Fator de proteção solar versus coeficiente de carga de filtros solares químicos: avaliação fotobiológica de uma mistura de filtros solares químicos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2000.

BRASIL, Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.** Disponível em https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/Anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html. Acesso em 20 dez. 2022.

BRASIL. RDC nº 629, de 10 de março de 2022. Disponível em Página 125 do **Diário Oficial da União** - Seção 1, número 51, de 16/03/2022 - Imprensa Nacional. Acesso em: 16 jan. 2023.

BRASIL. RDC nº 600, de 9 de fevereiro de 2022. Disponível em Página 136 do **Diário Oficial da União** - Seção 1, número 33, de 16/02/2022 - Imprensa Nacional. Acesso em: 10 de maio de 2024.

BREWSTER, B. **Photostability: the back story of UV filters.** Cosmetics & Toiletries magazine, v.121, n.6, p.22-28, 2006.

CABRAL, Lorena Dias da Silva ; PEREIRA, Samara de Oliveira; PARTATA, Anette Kelsei. **Filtros Solares E Fotoprotetores Mais Utilizados Nas Formulações No Brasil.** Revista Científica do ITPAC, Araguaína, v.4, n.3, Pub.4, 2011.

CHARLET, E. **Protección Cosmética antisolar.** In: CHARLET, E. Cosmética para Farmacéutico. Zaragoza: Acribia, p.11-138, 1996.

CHISVERT, A.; SALVADOR, A. **Determination of water-soluble UV-filters in sunscreen sprays by liquid chromatography.** J. Chromatogr. A, 2002.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia.** Campinas, SP: Ed. Unicamp, 453p. 2006.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos.** Campinas: UNICAMP, p.183-238, 1990.

COUTEAU, C. *et al.* **Study of the efficacy of 18 sun filters authorized in European Union tested in vitro.** Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 62, n. 6, p. 449-452, 2007.

OLIVEIRA, Marcia Maria Fernandes De. **Radiação ultravioleta/índice ultravioleta e câncer de pele no Brasil: condições ambientais e vulnerabilidades sociais.** Revista Brasileira de Climatologia, v. 13, 2013.

MONTEIRO, Mariana Sato de S. B. *et al.* **Evaluation of octyl p-methoxycinnamate included in liposomes and cyclodextrins in anti-solar preparations: preparations, characterizations and in vitro penetration studies.** International journal of nanomedicine, p. 3045-3058, 2012.

DIFFEY, B. L. **Sources and measurement of ultraviolet radiation.** Methods, v. 28, n. 1, p. 4-13, 2002.

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

DUBOIS, M. *et al.* **Photoisomerisation of the sunscreen filter PARSOL 1789.** Journal de Chimie Physique et de Physico-Chimie Biologique, v. 95, n. 2, p. 388–394, 1998.

DUTRA, Elizângela Abreu. **Filtros Solares: determinação espectrofotométrica e cromatográfica.** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000a.

DUTRA, E.A. Filtros Solares: **Determinação espectrofotométrica e cromatográfica.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000b.

DUTRA, Elizângela Abreu; KEDOR-HACKMANN, Erika Rosa Maria; SANTORO, Maria Inês Rocha Miritello. **Validation of a high performance liquid chromatography method for sunscreen determination in cosmetics.** International journal of cosmetic science, v. 24, n. 2, p. 97-102, 2002.

FLOR, Juliana; DAVOLOS, Marian Rosaly; CORREA, Marcos Antonio. **Protetores solares.** Química nova, v. 30, p. 153-158, 2007.

GANGE, R. William *et al.* **Efficacy of a sunscreen containing butyl methoxydibenzoylmethane against ultraviolet. A radiation in photosensitized subjects.** Journal of the American Academy of Dermatology, v. 15, n. 3, p. 494-499, 1986.

GASPARRO, Francis P.; MITCHNICK, Mark; NASH, J. Frank. **A review of sunscreen safety and efficacy.** Photochemistry and photobiology, v. 68, n. 3, p. 243-256, 1998.

GONZÁLEZ, María Luisa de Lourdes Pérez. **Validação de metodologia para a separação e quantificação de filtros solares empregando cromatografia líquida de alta eficiência.** 2003. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

GRANGER, K. L.; BROWN, P. R. **The chemistry and HPLC analysis of chemical sunscreen filters in sunscreens and cosmetics.** Journal of liquid chromatography & related technologies, v. 24, n. 19, p. 2895-2924, 2001.

IKEDA, K.; SUZUKI, S.; WATANABE, Y. **Determination of sunscreens agents in cosmetic product by reversed-phase high-performance liquid chromatography.** J. Chromatogr., v. 482, p. 240 – 245, 1989.

JARDIM, Isabel Cristina S. Fontes; COLLINS, Carol H.; GUIMARÃES, Luís Fernando Lopes. **Cromatografia líquida de alta eficiência.** Fundamentos de cromatografia, 2006.

KHALIKOVA, Maria A. *et al.* **Development and validation of ultra-high performance supercritical fluid chromatography method for quantitative determination of nine sunscreens in cosmetic samples.** Analytica chimica acta, v. 1034, p. 184-194, 2018.

KHURY, E.; NAKAZAWA, T.A.; SILVA, A.M.Q.R. **Fotoprotetores de alta eficiência.** Cosmet. Toiletries ed. Port., São Paulo, v.7, n.4, p.41- 46, 1995.

KLEIN, Kenneth; PALEFSKY, Irwin. **Formulating sunscreen products.** In: Sunscreens. Boca Raton, FL: Taylor Francis, 2005. p. 356-370.

KOCKLER, Jutta *et al.* **Photostability of sunscreens.** Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews, v. 13, n. 1, p. 91-110, 2012.

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

LUZIN, R. M. **Metodologias para verificação da estabilidade térmica e fotoelétrica de estruturas absorvedoras de radiação UV.** (Dissertação de Mestrado) IQ Universidade Federal de Goiás, 2011.

MANSUR, João de Souza et al. **Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria.** An. Bras. Dermatol, p. 121-4, 1986.

MARTINDALE, **The Complete Drug Reference.** Thirty Second Edition. Editado por Katheleen Parfitt, Pharmaceutical Press, London, UK, ISBN: 085369429, P.1487. 1999.

MEIJER, J.; LODEN, M. **Stability analysis of three UV-filters using HPLC.** Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, v. 18, n. 9, p. 1821-1832, 1995.

MELQUIADES, F. L. *et al.*, **Análise de bloqueadores solares através da metodologia de EDXRF.** Publicação Técnica do Laboratório de Física Nuclear Aplicada, v.11, n.1, p.1–21, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - Dezembro Laranja: prevenção e detecção precoce do câncer de pele — Ministério da Saúde (www.gov.br) - Tratamento e prevenção — **Ministério da Saúde.** Acesso em 25 set. 2023.

MTURI, Georges J.; MARTINCIGH, Bice S. **Photostability of the sunscreening agent 4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane (avobenzone) in solvents of different polarity and proticity.** Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, v. 200, n. 2-3, p. 410-420, 2008.

NASCIMENTO, Luciano F. D.; DOS SANTOS, Elisabete P.; DE AGUIAR, Alcino P. **Fotoprotetores orgânicos: pesquisa, inovação e a importância da síntese orgânica.** Revista Virtual de Química, v. 6, n. 2, p. 190-223, 2014.

NISHIKAWA, D. O. *et al.* **Stability and efficacy of sunscreens containing inorganic filters and quercetin.** Biomed Biopharm Res, v. 10, n. 1, p. 91-100, 2013.

PERUCHI, L.M. **Desenvolvimento de método cromatográfico para determinação de ingredientes ativos de formulações fotoprotetoras e uso da fluorescência de raios-x para a determinação do fator de proteção solar.** Tese de Doutorado.- Dep. Quim. Analítica, Unicamp, Campinas/SP, 2010.

PINTO, Claudinéia Aparecida Sales de Oliveira. **Influência da rutina na fotoestabilização da avobenzona (filtro UVA) e do ß-metoxicinamato de octila (filtro UVB).** Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

PRISTA, L.N., BAHIA, M.G., VILAR, E. **Dermofarmácia e Cosmética.** Porto: Associação Nacional de Farmácia, v.1, p.239-298, 1992.

RAI, Reena; SRINIVAS, C. R. **Photoprotection.** Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology, v. 73, p. 73, 2007.

RANGEL, V. L. B. I.; CORRÊA, M. A. **Fotoproteção.** Cosmet Toil (edição em português), v. 14, p. 88-95, 2002.

RIBEIRO, Renata Pietsch *et al.* **Avaliação do Fator de Proteção Solar (FPS) in vitro de produtos comerciais e em fase de desenvolvimento.** Infarma-Ciências Farmacêuticas, v. 16, n. 7/8, p. 85-88, 2004a.

RIBEIRO, Renata Pietsch. **Desenvolvimento e validação da metodologia de análise do teor de filtros solares e determinação do FPS in vitro em formulações fotoprotetoras comerciais.** Tese de Doutorado. PhD Thesis, UFRJ, Rio de Janeiro, 2004b.

RIBEIRO, Claudio de Jesus. **Fotoproteção e fotoprotetores.** Cosmetologia Aplicada a Dermoestética. São Paulo: Pharmabooks, p. 77-120, 2006.

SALGADO, C.; GALANTE, M. C.; LEONARDI, G. R. **Filtros solares: Mecanismos de ação e metodologias em preparações magistrais.** Int. J. Pharm. Compound, Edição Brasileira, v. 6, n. 4, p. 224-236, 2004.

SALVADOR, A.; CHISVERT, A. **Sunscreen analysis: a critical survey on UV filters determination.** Analytica Chimica Acta, v. 537, n. 1-2, p. 1-14, 2005.

SASSON, C. S. “**Influência dos veículos cosméticos na permeação cutânea da associação de filtros solares e acetato de tocoferol**”. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

SCALIA, Santo; MEZZENA, M.; RAMACCINI, D. **Encapsulation of the UV filters ethylhexyl methoxycinnamate and butyl methoxydibenzoylmethane in lipid microparticles: effect on in vivo human skin permeation.** Skin pharmacology and physiology, v. 24, n. 4, p. 182-189, 2011.

SCHIEKE, Stefan M.; SCHROEDER, Peter; KRUTMANN, Jean. **Cutaneous effects of infrared radiation: from clinical observations to molecular response mechanisms.** Photodermatology, photoimmunology & photomedicine, v. 19, n. 5, p. 228-234, 2003.

SCOTTI, Luciana; VELASCO, Maria Valéria Robles. **Envelhecimento cutâneo à luz da cosmetologia:** estudo das alterações da pele no decorrer do tempo e da eficácia das substâncias ativas empregadas na prevenção. 2003.

SHAATH, N. A. **Analysis of sunscreen chemicals: separation and identification techniques.** Cosmetics and toiletries, v. 104, n. 11, p. 75-84, 1989.

SKOOG, D. A; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A., **Princípios de Análise Instrumental**, 5^a edição, Editora Bookman, 2006.

SMYRNIOTAKIS, C. G.; ARCHONTAKI, Helen A. **Development and validation of a non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of four chemical UV filters in suncare formulations.** Journal of Chromatography A, v. 1031, n. 1-2, p. 319-324, 2004.

SOUSA, R. R. **Caracterização e avaliação da fotoestabilidade do filtro solar butil metoxidibenzóilmethano (avobenzona) através de IV e RMN.** Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, IQ, Goiânia, 2015.

SILVA, Francisco Raimundo Da; DE OLIVEIRA, Hugo Sérgio Medeiros; MARINHO, George Santos. **Variação do índice de radiação solar ultravioleta em Natal-RN entre 2001 e 2007.** In: Anais Congresso Brasileiro de Energia Solar - CBENS, 2008.

SIMEONI, S.; SCALIA, Santo; BENSON, H. A. E. **Influence of cyclodextrins on in vitro human skin absorption of the sunscreen, butyl-methoxydibenzoylmethane.** International journal of pharmaceutics, v. 280, n. 1-2, p. 163-171, 2004.

PATTANAARGSON, Supason *et al.* **Photoisomerization of octyl methoxycinnamate.** Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, v. 161, n. 2-3, p. 269-274, 2004.

THE MERCK INDEX - Avobenzone | The Merck Index Online (rsc.org). Octocrylene | The Merck Index Online (rsc.org). Octyl Salicylate | **The Merck Index** Online (rsc.org). Acesso em 10 de jan de 2023.

TOMASELLA, Frank P.; ZUTING, Pan; LOVE, LJ Cline. **Determination of sun-screen agents in cosmetic products by micellar liquid chromatography.** Journal of Chromatography A, v. 587, n. 2, p. 325-328, 1991.

URBACH, Frederick. **Ultraviolet radiation and skin cancer of humans.** Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v. 40, n. 1, p. 3-7, 1997.

VANQUERP, Véronique et al. **High-performance liquid chromatographic method for the comparison of the photostability of five sunscreen agents.** Journal of Chromatography A, v. 832, n. 1-2, p. 273-277, 1999.

VELASCO-DE-PAOLA, M. V. R; RIBEIRO, M. E. **Interação entre filtros solares.** Cosmetics & Toiletries, v. 10, n. 5, p. 40-50, 1998.

VILELA, Fernanda Maria Pinto *et al.* **Determination of three ultraviolet filters in sunscreen formulations and from skin penetration studies by high-performance liquid chromatography.** Quimica Nova, v. 34, p. 879-883, 2011.

WHARTON, M. *et al.* **A rapid High Performance Liquid Chromatographic (HPLC) method for the simultaneous determination of seven UV filters found in sunscreen and cosmetics.** International journal of cosmetic science, v. 33, n. 2, p. 164-170, 2011.

ZAMBON, Ana Paula Lopes Bacaglini. **Influência da associação de filtros solares sobre a estabilidade, liberação, permeação e retenção cutânea do p-metoxicinamato de octila em formulações fotoprotetoras**, 2011.