

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Faculdade de Farmácia
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SABONETE GRANULADO
PARA LIMPEZA DA PELE**

Bárbara da Silva e Souza Lorca

RIO DE JANEIRO

2007

Bárbara da Silva e Souza Lorca

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SABONETE GRANULADO
PARA LIMPEZA DA PELE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Elisabete Pereira dos Santos

Rio de Janeiro

2007

Bárbara da Silva e Souza Lorca

**DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE SABONETE GRANULADO
PARA LIMPEZA DA PELE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 20 de abril de 2007.

Profª Drª Elisabete Pereira dos Santos
Faculdade de Farmácia - UFRJ

Prof. Dr. Eduardo Ricci Júnior
Faculdade de Farmácia - UFRJ

Profª Drª Lúcia Maria Soares de Azevedo
Faculdade de Medicina - UFRJ

Profª Drª Sheila Garcia
Faculdade de Farmácia - UFRJ

À minha mãe e, principalmente, amiga, Célia Regina, por amar, incansavelmente, e ser exemplo em minha vida. E ao meu eterno namorado, Carlos Eduardo, pelo apoio e companhia, em todos os momentos, sem nunca esperar nada em troca.

AGRADECIMENTOS

À orientadora, Elisabete, que desempenhou com maestria sua função de professora e, melhor ainda, de amiga, naqueles dias em que parecia não haver saída.

Ao meu querido e dedicado “Nico”, pela paciência constante e pelos lindos momentos no dia-a-dia.

À minha avó, Therezinha, pois de onde está, abençoa e torce por mim.

À minha mãe, pela paciência que sempre me faltou e sobra em você e pelas palavras de apoio e admiração.

Ao meu noivo e amigo Carlos Eduardo, pelas horas de desespero que fiz você passar comigo e pelas mais alegres e divertidas que já passei ao lado de alguém.

Ao meu pai, Heitor, pelas experiências de vida e pelo orgulho que sente de mim.

À minha irmã, Bianca, que me ajudou e incentivou, silenciosamente.

À minha irmã, por escolha e por merecimento, Laís, pelas ajudas, ensinamentos incansáveis e pelos momentos de alegria e muita amizade.

À família de Resende, Carlos Alberto, Maria Dolores, Flora, Cristina e Clóvis, pela torcida e apoio, apesar da distância.

À Gláucia, por ser conforto e desabafo nas horas de desespero e pela ajuda fundamental na conclusão do trabalho.

À Ana Karla, pelo ombro amigo e pelas longas conversas e conselhos.

À Zaida, por me proporcionar momentos únicos e muito divertidos.

À Tailane, pelas grandes ajudas e por me mostrar que tudo é possível.

Ao eterno professor e atual chefe Luiz Fernando, pelas conversas diárias e pelos momentos em que permitiu uma maior dedicação ao mestrado.

À Lílian, por tudo que aprendi com seu jeito verdadeiro de ser.

Ao Felipe, por sempre resolver os meus problemas como se fossem dele.

Às professoras e amigas Andréa, Simone e Teresa por serem exemplos a serem seguidos no magistério.

À professora Nádia, que, prontamente, me auxiliou em tudo que a pedi.

Aos professores Carla e Lúcio, pelo apoio na banca de acompanhamento.

Aos colegas de mestrado, pelas horas de descontração no laboratório e nas aulas.

Aos colegas da Farmácia Universitária, por colaborarem, cada um da sua maneira, com a elaboração desta dissertação.

À Dr^a Ana Maria Mosca, pelo total apoio com os voluntários e pesquisa de opinião.

À Dr^a Lúcia Maria de Azevedo, pelo auxílio com os voluntários e por aceitar participar da banca de avaliação.

À Flávia, do LACMAC, pela fundamental ajuda no método de Kjeldahl.

Ao Sr. Souza, pela dedicação com que auxiliou nos testes de irritação dérmica e pelas lições de vida, em tão poucas horas.

À Capes, pelo auxílio financeiro.

À Ajinomoto, que muito bem entendeu o trabalho e, prontamente, aceitou nos auxiliar com informações e matérias-primas.

Aos voluntários, por colaborarem para o enriquecimento deste trabalho.

RESUMO

LORCA, Bárbara da Silva e Souza. **Desenvolvimento e avaliação de sabonete granulado para limpeza da pele.** Rio de Janeiro, 2007. 115p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007.

A acne é uma inflamação crônica da região pilosebácea que afeta, normalmente, tórax e rosto. A grande maioria das preparações tópicas manipuladas para o tratamento desta dermatose é constituída por cremes e pomadas. Entretanto, ainda não existe no mercado, um sabonete granulado com ácido salicílico, ativo largamente utilizado nesta doença. Esta apresentação facilita o transporte do medicamento pelo paciente e diminui o excesso de espuma gerado pela agitação constante.

Devido a estes fatores, duas formulações, em granulado, foram desenvolvidas e avaliadas: uma para limpeza da pele acneica, com ácido salicílico, e outra formulação sem o ativo, para simples lavagem das mãos. Preliminarmente, foram realizados testes de desnaturação proteica com os tensoativos que poderiam ser utilizados, sendo selecionados os menos irritantes como componentes das formulações propostas. Além disso, foram realizados testes de irritação dérmica e estabilidade em ambas as formulações, o que garantiu produtos seguros e estáveis.

Para os testes de estabilidade foi necessário avaliar o teor de ácido salicílico na formulação e, para isso, desenvolveu-se um método espectrofotométrico no UV-Vis, que foi, devidamente, validado.

Para garantir a aceitação do novo produto pelos pacientes acometidos de acne, e, também, testar a não irritação dos tensoativos derivados de aminoácidos, foram selecionados voluntários para avaliarem as formulações propostas. Os resultados obtidos foram satisfatórios e demonstraram o interesse na compra do sabonete granulado para limpeza da pele acneica, caso disponível no mercado.

ABSTRACT

Acne is a chronic inflammation of the pilosebaceous region which normally affects thorax and face. Topical preparations in the form of creams or ointments are the usual treatment for that dermatological disorder. However, there is not yet a commercially available granulated soap with salicylic acid, which would greatly enhance the drug transport in the patient. In addition, it would decrease the foam generated from constant agitation.

Due to those factors, two formulations in granulated form have been developed and evaluated: one with salicylic acid, for cleanness of acne skin, and another formulation, without the asset, for simple hand washing. Preliminary protein denaturing tests have been carried out with surfactants selected among the less irritating, as components of the formulations investigated. Moreover, tests of dermal irritation and stability have also been performed with the formulations, in order to guaranteed safe and stable products.

For the stability tests it was necessary to measure salicylic acid content in the formulation and, therefore, a spectrophotometer method in UV-Vis was developed and validated.

To guarantee the acceptance of the new product for the patients having acne, and also to test irritation absence of the surfactants, obtained from amino acids, the formulations were tested in selected volunteers. The results were satisfactory and there is interest in the use of granulated soap for cleanness of acne skin, if available in the market.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Comedões abertos e fechados	21
Figura 2	Pápulo-pústulas e lesões cicatriciais no rosto	21
Figura 3	Pápulas, cistos e nódulos eritematosos de acne inflamatória	21
Figura 4	Acne severa: cistos, pseudocistos na área submentoriana	21
Figura 5	Extensos macrocomedos	22
Figura 6	Estrutura molecular AS	27
Figura 7	Fórmula estrutural do cocoil glicinato de sódio	35
Figura 8	Fórmula estrutural do cocoil glutamato de sódio	36
Figura 9	Fórmula estrutural do lauroil glutamato de sódio	36
Figura 10	Fórmula estrutural do miristoil glutamato de sódio	37
Figura 11	Sistema Kjeldahl tradicional	47
Figura 12	Teste da espuma	52
Figura 13	Esquema do preparo das amostras para determinação da exatidão	62
Figura 14	Áreas de aplicação das amostras	64
Figura 15	Curvas padrão do AS	83
Figura 16	Resultado do ensaio de toxicidade dérmica da formulação A	87
Figura 17	Resultado do ensaio de toxicidade dérmica da formulação B	87
Figura 18	Frequência de não utilização do sabonete para acne	88
Figura 19	Preferência quanto à apresentação	89
Figura 20	Interesse de compra do produto	90
Figura 21	Motivos para não utilização do produto	91
Figura 22	Aceitação do produto proposto	92
Figura 23	Inconvenientes da formulação	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Sabonete granulado com ácido salicílico (formulação A)	54
Tabela 2	Sabonete granulado sem ácido salicílico (formulação B)	55
Tabela 3	Caracterização do ácido salicílico	69
Tabela 4	Caracterização do aerosil	69
Tabela 5	Caracterização do amido de milho	70
Tabela 6	Caracterização do BHT	70
Tabela 7	Caracterização do phenochem	71
Tabela 8	Caracterização da lactose	71
Tabela 9	Caracterização do LSS	72
Tabela 10	Caracterização do PVP	72
Tabela 11	Caracterização do talco	73
Tabela 12	Teor de nitrogênio dos tensoativos derivados de aminoácidos	73
Tabela 13	Teste de espuma dos tensoativos	74
Tabela 14	Valores de transmitância a 660 nm	75
Tabela 15	ANOVA - Comparação com o Grupo Controle	76
Tabela 16	Teste de espuma das formulações em estudo	77
Tabela 17	Resultado das características organolépticas das formulações	78
Tabela 18	Valores de pH da formulação A	79
Tabela 19	Valores de pH da formulação B	79
Tabela 20	Teor de umidade da formulação A	80
Tabela 21	Teor de umidade da formulação B	81
Tabela 22	Ensaio de recuperação	82
Tabela 23	Parâmetros médios das curvas padrão (5 níveis) utilizadas no doseamento do AS por espectrofotometria	83
Tabela 24	Precisão inter dia	84
Tabela 25	Precisão intra dia	84
Tabela 26	Resultado LD e LQ	85
Tabela 27	Análise do teor de AS (formulação A) à temperatura ambiente	86
Tabela 28	Análise do teor de AS (formulação A) na estufa (40°C ± 2°C)	86

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Patogênese da Acne	20
Quadro 2	Classificação dos transtornos psicocutâneos	23
Quadro 3	Terapia Tópica da Acne	25
Quadro 4	Antibióticos Orais na Acne	26

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1	Doseamento do ácido salicílico	46
Equação 2	Digestão ou Mineralização	48
Equação 3	Digestão ou Mineralização	48
Equação 4	Digestão ou Mineralização	48
Equação 5	Digestão ou Mineralização	48
Equação 6	Destilação	49
Equação 7	Destilação	49
Equação 8	Destilação	49
Equação 9	Titulação	50
Equação 10	Limite de Detecção	60
Equação 11	Limite de Quantificação	60

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AS	Ácido Salicílico
BHT	Butilhidroxitolueno
BP	British Pharmacopeia
CAS	<i>Chemical Abstract Service</i>
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
cm	Centímetro
CTFA	Cosmetics, Toiletries and Fragrance Association
Dp	Desvio Padrão
DPa	Desvio Padrão do Intercepto
DPR	Desvio Padrão Relativo
g	Grama
HUCFF	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
IC	Inclinação da Curva Analítica
Kg	Quilograma
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
LSS	Lauril Sulfato de Sódio
mg	Miligrama
mL	Mililitro
N	Normal
nm	Nanômetro
<i>P. acnes</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
PVP	Polivinilpirrolidona
RE	Resolução Específica
S/A	Sem Alteração
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
USP	United States Pharmacopeia
UV-Vis	Ultravioleta – Visível
V	Volume
$\lambda_{\text{máx.}}$	Comprimento de Onda Máximo

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	19
1.1	Acne Vulgar	19
1.1.1	Tratamento da acne vulgar	24
1.1.1.1	Tratamento Tópico	26
1.2	Ácido Salicílico	27
1.3	Formas Farmacêuticas Tópicas	28
1.3.1	Sabonete para limpeza pele acneica	29
1.3.2	Pó Granulado	30
1.4	Tensoativos	32
1.4.1	Lauril sulfato de sódio	34
1.4.2	Tensoativos derivados de aminoácidos	35
1.4.2.1	Cocoil glicinato de sódio	35
1.4.2.2	Cocoil glutamato de sódio	36
1.4.2.3	Lauroil glutamato de sódio	36
1.4.2.4	Miristoil glutamato de sódio	37
2.	OBJETIVOS	39
2.1	Objetivo Geral	39
2.2	Objetivos Específicos	39
3.	MATERIAIS E MÉTODOS	42
3.1	Materiais	42
3.1.1	Equipamentos e Acessórios	42
3.1.2	Reagentes, Solventes e outros	42
3.1.3	Matérias-primas	43
3.2	Métodos	43
3.2.1	Caracterização das matérias-primas	43
3.2.1.1	Aspecto	44
3.2.1.2	Avaliação da densidade	44
3.2.1.3	Análise de solubilidade	44
3.2.1.4	Determinação do pH	45
3.2.1.5	Determinação do ponto de fusão	45
3.2.1.6	Características microbiológicas	46

3.2.1.7	Doseamento do Ácido Salicílico	46
3.2.2	Caracterização dos tensoativos derivados de aminoácidos	46
3.2.2.1	Método de Kjeldahl	47
3.2.2.1.1	Digestão ou Mineralização	48
3.2.2.1.2	Destilação	49
3.2.2.1.3	Titulação	50
3.2.2.1.4	Cálculos	51
3.2.2.1.5	Fator de conversão	51
3.2.3	Ensaio para caracterização da espuma formada pelos tensoativos	51
3.2.4	Teste de desnaturação de proteínas	52
3.2.5	Preparo das formulações	53
3.2.6	Ensaio para caracterização da espuma formada pelas formulações desenvolvidas	55
3.2.7	Estudo de estabilidade	55
3.2.7.1	Características organolépticas	56
3.2.7.2	Determinação do pH	56
3.2.7.3	Determinação de água	57
3.2.7.4	Análise quantitativa do ácido salicílico por espectrofotometria no UV-Vis	57
3.2.7.4.1	Preparo das amostras	57
3.2.7.4.2	Curva Padrão	58
3.2.7.4.3	Validação do método espectrofotométrico	59
3.2.7.4.3.1	Especificidade	59
3.2.7.4.3.2	Linearidade	59
3.2.7.4.3.3	Precisão	60
3.2.7.4.3.4	Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)	60
3.2.7.4.3.5	Exatidão / Recuperação	61
3.2.7.4.3.6	Procedimento	61
3.2.8	Toxicidade dérmica	63

3.2.8.1	Toxicidade dérmica primária	63
3.2.8.2	Toxicidade dérmica cumulativa	64
3.2.9	Pesquisa de opinião	65
3.2.9.1	Sabonete granulado para limpeza da pele acneica	66
3.2.9.2	Sabonete granulado para lavagem das mãos	66
4.	Resultados e Discussão	69
4.1	Caracterização das matérias-primas	69
4.1.1	Ácido Salicílico	69
4.1.2	Aerosil (Tixosil 333)	69
4.1.3	Amido de milho	70
4.1.4	Butilhidroxitolueno (BHT)	70
4.1.5	Fenoxietanol/Parabenos (Phenobact)	71
4.1.6	Lactose	71
4.1.7	Lauril sulfato de sódio	72
4.1.8	Polivinilpirrolidona (PVP)	72
4.1.9	Talco	72
4.2	Caracterização dos tensoativos derivados de aminoácidos	73
4.3	Ensaio para caracterização da espuma formada pelos tensoativos	73
4.4	Teste de desnaturação de proteínas (potencial irritante <i>in vitro</i>)	74
4.5	Preparo das formulações	76
4.6	Ensaio para caracterização da espuma formada pelas formulações desenvolvidas	77
4.7	Estudo de estabilidade	77
4.7.1	Características organolépticas	78
4.7.2	Determinação do pH	78
4.7.3	Determinação de água	80
4.7.4	Validação do método espectrofotométrico para avaliação do teor de ácido salicílico	81
4.7.4.1	Especificidade	81

4.7.4.2	Linearidade	82
4.7.4.3	Precisão	83
4.7.4.4	Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)	84
4.7.4.5	Exatidão / Recuperação	85
4.7.5	Análise quantitativa do AS por espectrofotometria no UV-Vis	85
4.8	Toxicidade Dérmica	87
4.9	Pesquisa de opinião sobre sabonete granulado para limpeza da pele acneica	88
4.10	Pesquisa de opinião sobre sabonete granulado para lavagem das mãos	91
5.	CONCLUSÃO	96
	REFERÊNCIAS	99
	ANEXOS	109

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

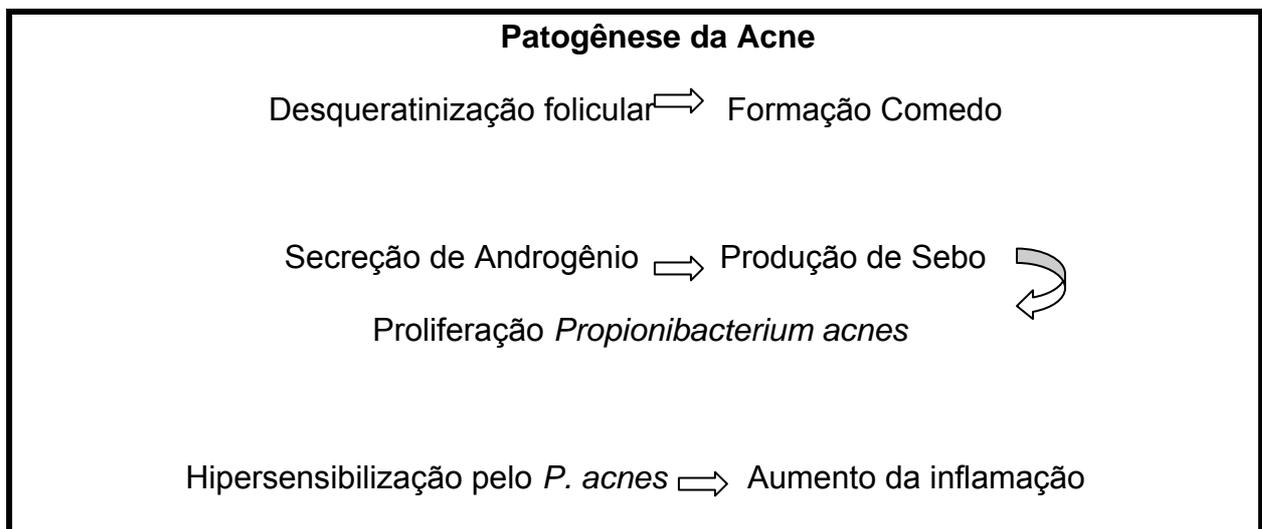
1.1 Acne Vulgar

Acne comum, tecnicamente conhecida como acne vulgar, é uma inflamação crônica da região pilosebácea (composta por folículo piloso e glândula sebácea). Essa disfunção afeta, normalmente, a região do tórax e do rosto, visto que são regiões do corpo onde esta unidade é maior e mais numerosa. Esta pode manifestar-se em todas as idades, inclusive após os cinquenta anos em eventos como estresse, tratamento medicamentoso ou durante a menstruação (PELLERANO, 2003; VAZ, 2003; FALCOCCHIO *et al.*, 2006). Possui alta prevalência entre os jovens e menor incidência em indivíduos com mais de 30 anos, com frequência de 61% aos 12 anos e de 83% aos 16, nas mulheres, pode estar relacionado aos hormônios femininos, estresse e ao uso de cosméticos. Já no sexo masculino, a prevalência é de 40% aos 12 anos e 95% aos 16. A persistência da afecção, até os 25 anos, pode ocorrer em 10% dos casos, mas, após esta idade, o aparecimento é reduzido (SHALITA, 2004; HERANE, 2005; HAGHEDOOREN *et al.*, 2006).

Diversos fatores causadores da acne têm sido estudados, tais como: idade, genética, tabagismo, raça, uso de medicamentos. A genética e a idade têm sido as causas mais importantes. O hábito de fumar, também é um desencadeante, uma vez que 40,8% dos fumantes ativos apresentam acne, comparados com 23,5% de não-fumantes. As raças hispânicas apresentam maior severidade e maior precocidade no aparecimento, diferentemente das negras e asiáticas. Assim como a acne é menor nas mulheres que fazem uso de anticoncepcionais orais (HERANE, 2005).

A patogênese da acne é multifatorial, envolvendo distúrbios de queratinização, secreção hormonal e imunidade (Quadro 1). O seu início,

normalmente, ocorre no período pré-puberal, quando androgênios estimulam as glândulas sebáceas e, possivelmente, o epitélio folicular. Posteriormente, na puberdade, hormônios masculinos e femininos estimulam efeitos que levam a uma maior coesão das células, formando o microcomedo, que é o precursor de todas as lesões da acne. Estes folículos podem ser colonizados pelo *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*), componente anaeróbico da flora normal da região sebácea da pele, produtor de uma variedade de fatores pró-inflamatórios extracelulares. Dessa forma, o microcomedo pode evoluir para lesões não-inflamatórias, com comedões abertos (poros visíveis) e/ou comedões fechados (Figura 1), ou lesões inflamatórias, como pápulas, pústulas e nódulos (Figura 2, 3 e 4). Importante lembrar que a presença de *Propionibacterium acnes* na superfície cutânea não está relacionada com a severidade da acne, porém, a diminuição do *P. acnes* e de seus mediadores influenciam a melhoria do quadro clínico (WEBSTER, 2001; SANTOS, 2003; SHALITA, 2004; HERANE, 2005).



Quadro 1: Patogênese da Acne (WEBSTER, 2001).



Figura 1

Figura 1: Comedões abertos e fechados (HERANE, 2005)

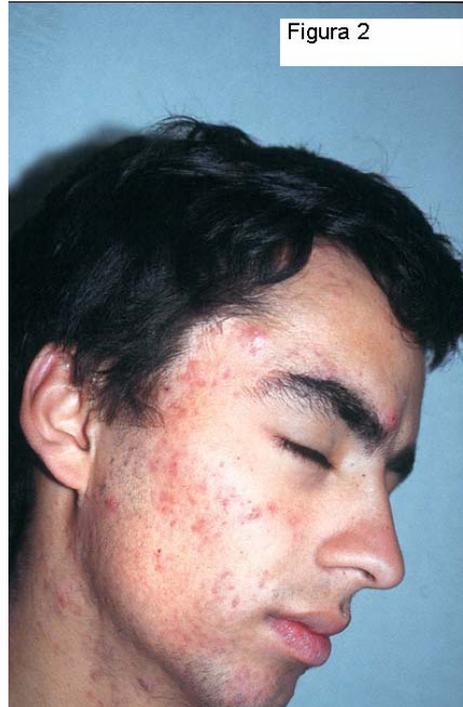


Figura 2

Figura 2: Pápulo-pústulas e lesões cicatríciais no rosto (HERANE, 2005)



Figura 3

Figura 3: Pápulas, cistos e nódulos eritematosos de acne inflamatória (HERANE, 2005)



Figura 4

Figura 4: Acne severa: cistos, pseudocistos na área submentoriana (HERANE, 2005)

O processo inflamatório ocorre quando linfócitos CD4 invadem a parede folicular, levando a migração de neutrófilos e a formação de pápulas. A ruptura do ducto folicular contribui para o extravasamento de lipídios, queratinócitos e bactérias dentro da derme, desencadeando fenômenos inflamatórios e imunes, além da ativação do complemento (HERANE, 2005).

A forma clássica desta doença dermatológica ocorre com a presença de comedões abertos e fechados, que, clinicamente, podem ser microcomedões ou macro (Figura 5) e um número variável de lesões inflamatórias, tendo seu pico entre 16-17 anos nas meninas e 17-18 anos nos meninos (CUNLIFE, HOLLAND, JEREMY, 2004; SHALITA, 2004).



Figura 5: Extensos macrocomedos (CUNLIFE, HOLLAND, JEREMY, 2004).

A acne apresenta um quadro que não ameaça a integridade física do paciente, mas afeta profundamente sua integridade psíquica por causar importante alteração da aparência e da auto-estima. Muitas vezes, os fatores emocionais, desencadeiam ou agravam a acne, como mostrado no estudo realizado com estudantes australianos, onde aqueles com quadro moderado a severo apresentavam mais sintomas de depressão e ansiedade do que os com quadros leves da doença (KILKENNY *et al.*, 1997; HANSTOCK, O'MAHONY, 2002; SILVA *et al.*, 2003).

De acordo com Taborda, Weber e Freitas (2005), esta doença dermatológica está enquadrada no grupo 2, ou seja, dermatoses influenciadas pelo estado emocional, onde condições psicológicas podem ser o gatilho inicial para o aparecimento das lesões dermatológicas, bem como fator de exacerbação durante sua evolução (Quadro 2).

Os estigmas físicos e psicológicos dessa afecção podem ser prevenidos por seu diagnóstico clínico precoce e pela instituição da terapêutica logo ao começar a doença (SILVA *et al*, 2003).

1. Condições dermatológicas com seqüela psiquiátrica secundária
 - Albinismo;
 - Alopecia areata;
 - Vitiligo.
2. Transtornos dermatológicos influenciados pelo estado emocional
 - Acne;
 - Dermatite atópica;
 - Eczema;
 - Psoríase;
 - Urticária.
3. Transtornos psiquiátricos com seqüelas dermatológicas
 - Transtorno obsessivo-compulsivo;
 - Transtornos somatoformes;
 - Transtorno delirante, tipo somático (parasitose)
 - Transtorno factício.
4. Drogas psicotrópicas que provocam quadros dermatológicos
 - Lítio;
 - Anticonvulsivantes
 - Antipsicóticos;
 - Antidepressivos;
 - Ansiolíticos.

Quadro 2: Classificação dos transtornos psicocutâneos, adaptado de Taborda, Weber e Freitas, 2005.

1.1.1 Tratamento da acne vulgar

O objetivo do tratamento da acne vulgar é prevenir ou tratar as lesões, reduzir o desconforto físico provocado pelas inflamações, manter a pele com aspecto saudável, prevenir ou minimizar a formação das indesejáveis cicatrizes, que se iniciam na adolescência e podem acarretar efeitos psicológicos e sociais adversos (GONTIJO *et al.*, 1995; VAZ, 2003).

O primeiro passo do tratamento é ter certeza de que o paciente, assim como seus pais, no caso de adolescentes, não “acreditam” nos diversos mitos que foram criados. A acne não é causada, por sujeira, pensamentos impuros ou má alimentação, apesar de estudos demonstrarem a influência da dieta no curso da doença, ou seja, alta ingestão de gorduras e/ou carboidratos influencia a produção de sebo (HERANE, 2005). Pacientes costumam achar que uma comida específica, geralmente, gordurosa ou doce, agrava o quadro, que cabelo caindo na testa causa espinhas ou que podemos tratar o quadro com sopa e água. Da mesma forma, estresse pode até afetar, mas o uso de calmantes não tem efeito positivo sobre a acne (WEBSTER, 2001).

A limpeza da pele com acne deve ser realizada, somente, duas vezes por dia, de forma suave, com sabões adequados. Toalhas e esponjas devem ser evitadas, pois podem aumentar a irritação no local. A lavagem exagerada e o uso de esfoliantes devem ser evitados, pois causam a ruptura dos folículos e podem aumentar a inflamação.

A primeira visita ao médico é de extrema importância e é o momento no qual o paciente cria expectativas realistas com relação ao tratamento e desmistifica alguns conceitos pré-existentes. Adolescentes, normalmente, querem respostas rápidas e milagrosas, porém, precisam saber que o tempo mínimo para a melhoria

do quadro gira em torno de seis meses. O início dos resultados só aparece a partir da quarta semana e conseqüentemente há melhora de 20% a cada dois meses. Por conta destes fatores, o paciente deve estar consciente que a acne, em uma grande porcentagem de casos, é uma condição que acompanha o adolescente e que precisa de um acompanhamento intenso, inclusive para evitar o reaparecimento (HERANE, 2005).

Com relação ao tratamento, propriamente dito, existe uma grande variação, pois alguns médicos usam de um a dois medicamentos, enquanto outros receitam de cinco a seis. Em geral, o paciente adere melhor com, no máximo, dois medicamentos, entretanto, o mais importante é analisar cada caso, individualmente.

Os tratamentos podem se subdividir em três grandes categorias:

- Tratamento Tópico (Quadro 3);
- Tratamento Sistêmico (Quadro 4);
- Tratamento Físico (extração de comedões, crioterapia e fototerapia).

Anticomedogênico	Antimicrobiano
Ácido Salicílico	Ácido Azelaico
Adapaleno	Clindamicina
Enxofre	Eritromicina
Tazaroteno	Peróxido de Benzoila
Tretinoína	Peróxido de Benzoila / Clindamicina
	Peróxido de Benzoila / Eritromicina

Quadro 3 - Terapia Tópica da Acne, modificado de WEBSTER, 2001.

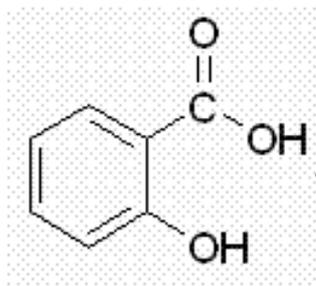
Medicamento e Dosagem	Incidência de <i>P. acnes</i> resistente	Efeitos Adversos Comuns	Efeitos Adversos Raros
Oxitetraciclina - Tetraciclina 500mg	Moderada.	Náusea, diarreia, disfagia, infecção esofágica.	Respostas alérgicas, fotosensibilidade, hepatotoxicidade
Eritromicina 500mg	Alta.	Náusea, diarreia, desconforto abdominal.	Respostas alérgicas.
Minociclina 100-200mg	Baixa (em 1999), mas aumentando.	Problemas gastrointestinais menos comuns que com oxitetraciclina/tetraciclina	Mudanças de pigmentação, hipertensão intracraniana benigna, hepatite autoimune.
Doxiciclina 100-200mg	Moderada.	Mesmos observados com oxitetraciclina/tetraciclina.	Fotosensibilidade (dose-dependente).
Limeciclina 300-600mg	Moderada.	Mesmos observados com oxitetraciclina/tetraciclina.	Mesmos observados com oxitetraciclina/tetraciclina.
Trimetoprim 200-300mg	Baixa (em 1999).	Náusea, vômito e rash cutâneo.	Fotosensibilidade, muito raramente agranulocitose.

Quadro 4 – Antibióticos Orais na Acne, modificado de LAYTON, 2005.

1.1.1.1 Tratamento Tópico

É a terapia de escolha para quadros de acne papulopustular ou comedões pequenos a moderados. Este tipo de tratamento é prolongado, deve ser aplicado em toda a área afetada, sem esquecimentos e, muitas vezes, necessita do auxílio de terceiros para a aplicação, o que pode dificultar a adesão. Outro fator que pode diminuir o uso é a localização da acne, como por exemplo, em torno da boca, queixo ou imediatamente abaixo do nariz, que por serem locais mais sensíveis à irritação tornam a terapia tópica mais difícil (GAMONAL, 1999; WEBSTER, 2000; KRAUTHEIM e GOLLNICK, 2004).

1.2 Ácido Salicílico (AS)



Fórmula Molecular – $C_7H_6O_3$

Peso Molecular – 138,125

Figura 6: Estrutura molecular AS

O ácido salicílico ou ácido 2-hidroxibenzóico ocorre na forma de éster em várias plantas e apresenta-se como cristais aciculares, brancos ou incolores, ou pó cristalino branco. É livremente solúvel em álcool e em éter; levemente solúvel em água; moderadamente, solúvel em clorofórmio (GONÇALVES e BARROS, 2003).

Possui função queratolítica, antiacneico, anti-seborréico e é muito bem tolerado, assim como já provou ser tão eficaz quanto o peróxido de benzoíla, em casos de acne com presença de comedões, utilizado isoladamente ou como adicional a uma outra terapia. Entretanto, em altas concentrações, é irritante, causando eritema e descamação e, eventualmente, aumento das lesões inflamatórias da acne. Por ser absorvido através da pele, não deve ser aplicado durante longos períodos, principalmente, em crianças. (GONÇALVES e BARROS, 2003; HERRA, 2003).

O ácido salicílico é um fármaco utilizado em medicamentos de uso tópico para tratamento da acne. É um ativo solúvel em óleo, capaz de penetrar no ambiente rico em sebo do poro. Dentro do poro, é capaz de liberar o tampão comedoniano e pode exercer algum pequeno efeito antiinflamatório. Pode ser adicionado a limpadores, hidratantes e bases faciais. Sua habilidade de induzir esfoliação, também permite que seja utilizado como componente antiacne em mulheres que combatem o

envelhecimento cutâneo. Estes produtos podem ser vendidos sem prescrição. é um ativo (DRAELOS, 2005).

No mercado, encontram-se disponíveis formulações queratolíticas com concentrações de ácido salicílico de 0,5 a 3,0%, associadas ou não, ao enxofre, 1 a 3%, além de soluções de limpeza, em concentrações próximas de 1,5%. Estes produtos tópicos têm por função modificar o nível de descamação epidérmica, impedir a formação dos comedões e colaborar para o desaparecimento dos cistos pré-existentes. Devem ser aplicados em toda a área afetada de duas a três vezes ao dia (HERRA, 2003; LEYDEN, 2003; MARTINEZ, 2003).

1.3 Formas Farmacêuticas Tópicas

A farmácia com manipulação resgata a prática de preparar, conservar, manipular e dispensar medicamentos, valoriza o médico que prescreve este receituário, melhora a relação “médico-paciente” e permite um equilíbrio da fórmula para o paciente que, como pessoa única e individual em sua sintomatologia, nem sempre se adapta a formulações já estabelecidas. Dessa forma, muitas preparações tópicas manipuladas são para o tratamento da acne e os veículos mais usuais ainda são os cremes e pomadas, como desenvolvido por Galeno \. Entretanto, os géis, soluções e loções, também são muito empregados (ROSALES e MUÑOZ, 2001; MIGUEL *et al*, 2002).

Os cremes e pomadas são preferidos em casos de pele normal a seca, enquanto os géis são mais usuais em peles oleosas, onde a quantidade de óleo adicional acaba aumentando ou prejudicando as características gerais da acne.

A escolha da melhor forma farmacêutica para este tipo de dermatose deve estar ligada ao local de aplicação, clima, umidade e, até mesmo, preferência do

paciente, para evitar o abandono ao tratamento. Outro fator importante é o efeito na velocidade de absorção transcutânea do ativo, já que os agentes não podem ultrapassar as camadas mais profundas da pele para produzirem o efeito esperado (VAZ, 2003; SOUZA, CHRISTIANSEN, JAMIE, 2005).

A oleosidade aumentada, normalmente observada na pele acneica, também interfere na escolha do veículo, que não deve aumentar diretamente a oleosidade da pele com afecção, ou seja, a forma farmacêutica de escolha não deve, de forma nenhuma, apresentar componente gorduroso ou que aumente a concentração de sebo no local.

1.3.1 Sabonete para limpeza da pele acneica

Os sabões tradicionais são obtidos por saponificação de gorduras animais e vegetais com álcalis, apresentando pH alcalino. Já os sabonetes produzidos com detergentes sintéticos, conhecidos como combars (combinação de tensoativos naturais com sintéticos) e syndets (sabonetes sintéticos em barra) apresentam pH menos alcalino e originam produtos menos irritantes. Também apresentam maior qualidade e quantidade de espuma, podem ser ajustados ao pH normal da pele, usualmente entre 5 e 6, além de fornecerem à pele mais brilho, textura e leveza, características estas que podem ser atribuídas à capacidade destes produtos em manter a integridade da barreira do estrato córneo e fornecer uma maior hidratação cutânea (FROSCH, 1982; WALSH e ROSSON, 2000; GHAIM e VOLZ, 2001; SUBRAMANYAN *et al.*,2005).

Muitos dermatologistas prescrevem para seus pacientes acneicos sabonetes para limpeza da pele, alguns com princípio ativo, como ácido salicílico, por exemplo.

Entretanto, as formas farmacêuticas empregadas para veicular este ativo são, normalmente, sabonete em barra, líquido, cremoso e gel.

1.3.2 Pó Granulado

Os grânulos são aglomerados preparados a partir de pequenas partículas de pó, têm formato irregular, mas podem ser preparados na forma esférica. São, em regra, constituídos por substâncias medicamentosas associadas a açúcar e/ou outros adjuvantes, apresentando-se formados por pequenos grânulos irregulares, cujo conjunto tem aspecto homogêneo (FERREIRA, 2002).

O seu preparo pode ser através de método seco ou úmido, sendo o último mais utilizado. O método úmido consiste em molhar o pó ou a mistura de pós e passar a pasta formada através de uma malha (tamis) para produzir grânulos no tamanho desejado, de acordo com a aplicação. Posteriormente, os grânulos úmidos são colocados em bandejas de secagem e secos pelo ar ou em estufas de aquecimento. São periodicamente movidos para evitar a adesão ou a formação de uma grande massa única (PRISTA *et al.*, 2002; ALLEN, POPOVICH e ANSEL, 2007).

Tradicionalmente, esta forma farmacêutica constitui um medicamento administrável via oral ou destina-se ao preparo de comprimidos. Porém, atualmente, também tem sido empregada para administração tópica com finalidade de limpeza, por exemplo.

Possuem duas principais vantagens em se tratando da utilização na pele:

- São mais estéticos que os pós comuns, pois não liberam partículas durante a utilização e armazenamento;

- Os grânulos constituintes não aderem entre si, em contato com a umidade (PRISTA *et al.*, 2002).

Ao se aplicar na pele qualquer substância em pó, ocorre aumento da área superficial de evaporação, resultante da somatória das superfícies das partículas pulveréas. Conseqüentemente, ocorre elevação da velocidade de evaporação da umidade da pele, que será maior ou menor de acordo com a temperatura ambiente, a tensão de vapor e a tenuousidade do pó.

A forma farmacêutica pó ou granulado pode ser usado na pele sadia, especialmente em crianças, para prevenir irritação da pele nos locais onde a evaporação do suor é dificultada ou para completar a secagem após o banho. Pode ser empregado na face para reduzir o brilho da pele, resultante das secreções sebácea e sudorípara ou para ocultar ligeiras imperfeições, como cicatrizes ou manchas (ANTUNES, 2002). Sendo que o grande diferencial é a possibilidade de diversos ativos serem incorporados em uma forma farmacêutica que por si só já possui atividade.

O pó granulado é uma forma farmacêutica que não apresenta característica oleosa, possibilita incorporação da grande maioria dos princípios ativos empregados na acne e é altamente estável. Além de permitir a incorporação de alguns componentes, que quando adicionados a cremes, loções, sabonetes e xampus são insolúveis, ocasionando dificuldade de dispersão do produto. Outra característica favorável às formulações em grânulos é a manutenção da concentração dos princípios ativos nas seguidas aplicações do produto, fato que, geralmente, não é observado nas formas farmacêuticas convencionais para tratamento e limpeza de pele acneica, devido à dificuldade de homogeneização.

O ácido salicílico incorporado a esta forma farmacêutica ainda não existe no mercado, facilita o transporte do medicamento pelo paciente, diminui o excesso de espuma gerado pela agitação constante, além de fornecer melhorias para alguns outros problemas comumente vistos na manipulação, como a instabilidade e insolubilização de alguns ativos em meio aquoso, e no uso dos produtos disponíveis para o tratamento da acne vulgar.

1.4 Tensoativos

Tensoativos são substâncias com propriedades de limpeza, detergência e solubilização. Geralmente, possuem uma extremidade polar, que é solúvel em água e uma apolar, solúvel em óleo. Estes são anfifílicos possuindo propriedades hidrofílicas e hidrofóbicas em uma única molécula (ARNAU, 1995; YING, 2006).

Os tensoativos possuem cinco principais características: são molhantes, pois diminuem o ângulo de contato entre um sólido e um líquido; são dispersantes, sendo capazes de tornar solúveis substâncias aparentemente insolúveis no solvente utilizado; são capazes de emulsionar, estabilizando uma emulsão; formam espuma, pela tensão interfacial entre o líquido e o ar; são detergentes, podendo eliminar resíduos oleosos fixados à pele e ao couro cabeludo (ARNAU, 1995).

São produtos químicos de elevada importância mundial, cuja produção gira, em torno de 7,2 milhões de unidades ao ano, e vão desde detergentes de limpeza doméstica até tintas, pesticidas e produtos cosméticos e farmacêuticos. Entretanto, podem acarretar alterações à estrutura cutânea, visto que a pele é um órgão imunocompetente, totalmente capaz de iniciar uma reação inflamatória em resposta a produtos irritantes (BERNHOFER et al., 1999; CHARBONNIER et al, 2001; YING, 2006).

Grande parte dos detergentes possui propriedades físico-químicas cruciais para o aparecimento destes eventos, como a ligação destas moléculas químicas à queratina; a desnaturação de proteínas, causada pela entrada de irritantes no estrato córneo, levando a alterações na membrana, diretamente relacionadas à indução de respostas cutâneas e/ou a delipidação, processo no qual a balança de lipídeos é modificada, gerando uma alteração que diminui a função de barreira exercida pelo estrato córneo (EFFENDY e MAIBACH, 1996; HALL-MANNING et al., 1998; WELSS et al., 2004).

Estudos, *in vitro* e *in vivo*, têm sido realizados, com o intuito de conhecer e classificar os diversos tipos de reações de irritação dérmica, causadas pelos detergentes. Existem relatos na literatura que comprovam que os tensoativos causam modificações bioquímicas, quando aplicados topicamente. Alguns desencadeiam reações primárias, ou seja, são substâncias suspeitas de prejudicar a pele por ação citotóxica direta e sem causar sensibilização imunológica prévia. Um exemplo típico é o lauril sulfato de sódio, que interage, fortemente, com a pele causando grandes alterações nas suas propriedades (EFFENDY e MAIBACH, 1996).

Dessa forma, é importante que os produtos de limpeza da pele respeitem a fisiologia cutânea, não alterem as proteínas do estrato córneo, não destruam a proteção fornecida pela camada hidrolipídica, não modifiquem a acidez natural da pele. Entretanto, espera-se que contribuam para o equilíbrio da flora saprófita, protegendo a pele dos germes patógenos. Pensando nisso, as indústrias farmacêuticas e cosméticas, sensíveis ao que está relacionado à economia e aos cuidados diários com a pele, têm se mostrado cada vez mais preocupadas com a síntese de detergentes que sejam biodegradáveis e biocompatíveis com a pele dos

consumidores, não irritantes e incapazes de originar problemas dermatológicos, tais como acne, psoríase e dermatite de contato (ARNAU, 1995; INFANTE et al., 2004).

Uma interessante estratégia para obtenção destes surfactantes mais adequados é o uso da modelagem molecular, que mimetiza compostos naturais a partir de aminoácidos, oligossacarídeos, peptídeos e gliceróis (INFANTE et al., 1997). Destes derivados, os aminoácidos têm mostrado ser excelentes compostos para a síntese de biodetergentes com alta eficácia, baixo potencial de toxicidade e pequeno impacto ambiental (TABOHASHI *et al.*, 2001; INFANTE *et al.*, 2004; VAN ROOSMALEN *et al.*, 2004).

1.4.1 Lauril sulfato de sódio (LSS)

O lauril sulfato de sódio, designação genérica empregada para o dodecil sulfato de sódio, é um composto orgânico devidamente registrado no *Chemical Abstract Service* (CAS) sob o número 151-21-3.

Possui propriedades detergente, molhante, espumógena, emulsificante e solubilizante, características comuns a toda a classe de tensoativos. Por conta disso, vem sendo utilizado há vários anos para diferentes fins, como banhos de espuma, cremes emolientes, cremes depilatórios, loções para mãos, xampus, dentífrícios, além de produtos saneantes, como detergentes domissanitários (ANVISA, 2001).

Muitos estudos já comprovaram seu potencial de irritação à pele (EFFENDY e MAYBACH, 1996; CHARBONNIER *et al.*, 2001; HEYLINGS *et al.*, 2001; RIGANO *et al.*, 2002; BENAVIDES *et al.*, 2004; ROBINSON *et al.*, 2005). Em formulações cosméticas, o poder irritante pode ser atenuada em função da concentração utilizada, da associação entre os tensoativos, bem como das características da formulação pretendida para o produto final (ANVISA, 2001).

1.4.2 Tensoativos derivados de aminoácidos

Os aminoácidos, em geral, são cristais incolores ou brancos, praticamente, insolúveis em solventes orgânicos, mas solúveis em água e soluções aquosas ácidas ou básicas. Uma característica comum a todos é a presença de grupos amina e carboxil, por isso, são catiônicos em soluções ácidas, anfóteros em soluções neutras e aniônicos em soluções básicas.

Os surfactantes derivados de aminoácidos possuem características favoráveis, também do ponto de vista de conservação do meio ambiente, pois são biodegradáveis, além de possuírem um mínimo de efeito irritante e baixa toxicidade. São preparados eficientemente por catálise química ou enzimática, podendo contribuir para o aumento da demanda de tensoativos “benéficos” nas indústrias farmacêuticas, cosméticas e de alimentos (TABOHASHI *et al*, 2001).

1.4.2.1 Cocol glicinato de sódio (Amilite GCS-11[®])



Figura 7: Fórmula estrutural do cocol glicinato de sódio

É um tensoativo aniônico derivado de aminoácidos, especificamente da glicina, além de ácidos graxos de coco. Pode ser aplicado em condicionadores de cabelo e pele e em agentes de limpeza, com função tensoativa. Sua apresentação é em pó (CTFA, 2006a).

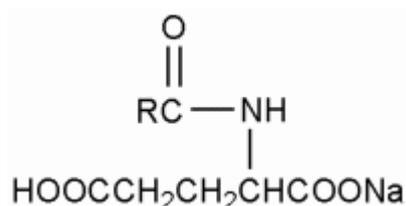
1.4.2.2 Cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®])

Figura 8: Fórmula estrutural do cocoil glutamato de sódio

Surfactante natural suave, em pó, derivado do aminoácido L-ácido glutâmico e de ácidos graxos de coco. Altamente biodegradável, fracamente ácido em solução (semelhante à pele) e possível de ser utilizado em faixas de pH que variam de 4,5 a 12,5 (AJINOMOTO, 2007). Pode ser empregado em agentes de limpeza, tanto para pele quanto para cabelos, com função tensoativa (CTFA, 2006b).

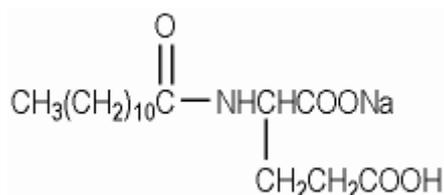
1.4.2.3 Lauroil glutamato de sódio (Amisoft LS-11[®])

Figura 9: Fórmula estrutural do lauroil glutamato de sódio

É um sal de sódio derivado do ácido glutâmico. Seu uso já foi reportado em óleos e sais de banho e em produtos de limpeza, como loções e sabonetes líquidos e “cold cream” (CTFA, 2006c).

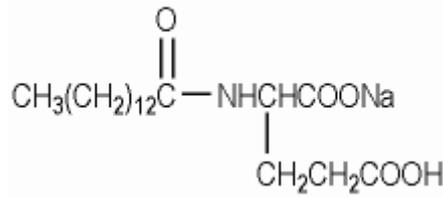
1.4.2.4 Miristoil glutamato de sódio (Amisoft MS-11[®])

Figura 10: Fórmula estrutural do miristoil glutamato de sódio

O miristoil glutamato de sódio, também, é derivado do ácido glutâmico, só diferenciando do lauroil glutamato de sódio pelo número de moléculas de carbono e hidrogênio encontrados em sua estrutura química. É, usualmente, empregado como tensoativo em produtos de higiene (CTFA, 2006d).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Desenvolvimento e avaliação de formulações sólidas, sob a forma de sabonete granulado contendo tensoativos derivados de aminoácidos, menos irritantes que os convencionais.

2.2 Objetivos Específicos

- Análise do potencial irritante, “*in vitro*” de tensoativo em pó, largamente utilizado, lauril sulfato de sódio, e tensoativos derivados de aminoácidos (cocoil glutamato de sódio, lauroil glutamato de sódio, miristoil glutamato de sódio e cocoil glicinato de sódio);
- Desenvolvimento de formulações com os tensoativos derivados de aminoácidos menos irritantes, sob a forma de sabonete granulado, com ácido salicílico a 2% para o tratamento da acne;
- Desenvolvimento de formulações com os tensoativos derivados de aminoácidos menos irritantes, sob a forma de sabonete granulado, para lavagem contínua das mãos;
- Realização de pesquisa de opinião com pacientes de pele acneica sobre a nova forma farmacêutica desenvolvida, dispensada sob a forma de *sachet* de dose unitária;
- Realização de pesquisa de opinião com voluntários da área da saúde sobre o sabonete granulado proposto para lavagem diária das mãos, dispensado sob duas formas (*sachet* e talqueira);

- Desenvolvimento e validação de um método analítico que avalie a qualidade da formulação proposta com ácido salicílico;
- Avaliação da estabilidade das formulações desenvolvidas (com e sem ativo);
- Avaliação da toxicidade dérmica das formulações com e sem ácido salicílico a 2% (teste de irritação “in vivo”).

MATERIAIS E MÉTODOS

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Equipamentos e Acessórios

- Agitador magnético CORNING;
- Aparelho de Karl-Fischer Metler, modelo DL-18;
- Balança Analítica Bioprecisa, modelo FA2104N;
- Banho de ultra-som Thornton, modelo T14;
- Destilador Fisatom, modelo NT425;
- Espectrofotômetro Biospectro[®] UV-Vis, modelo SP-220;
- Estufa termostaticada Full Gauge TIC17RGT;
- Máquina seladora Barbi, modelo M-300T;
- Misturador de pós Magic Bullet;
- Potenciômetro Analyser, modelo pH300M.

3.1.2 Reagentes, Solventes e outros

- Ácido Bórico (VETEC);
- Ácido Sulfúrico (VETEC) p.a.;
- Etanol (VETEC) p.a.;
- Hidróxido de Sódio (VETEC) p.a.
- Metanol (VETEC) p.a.;
- Mistura de selênio (MERCK);
- Reagente de Karl-Fischer (MERCK);
- Reagente Patterson (vermelho de metila + azul de metileno);
- Reativo de Nessler;
- Vermelho de Metila.

3.1.3 Matérias-primas

- Ácido Salicílico, lote: B05J585PHA, teor: 99,33%;
- Aerosil, lote: 051005, Viafarma;
- Amido de Milho, lote: CH069, Farnos;
- Butilhidroxitolueno (BHT), lote: 93, Sarfam;
- Cocoil glicinato de sódio (Amilite GCS-11[®]), lote:504146, Ajinomoto.
- Cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11), lote: 504021, Ajinomoto;
- Fenoxietanol/Parabenos (Phenobact), lote: P1399, Viafarma;
- Lactose, lote: 2044, Genix;
- Lauril sulfato de sódio (LSS), lote: HN5C040983, Spectrum;
- Lauroil glutamato de sódio (Amisoft LS-11), lote: 502081, Ajinomoto;
- Miristoil glutamato de sódio (Amisoft MS-11[®]), lote: 412091, Ajinomoto;
- Polivinilpirrolidona (PVP), lote: 20040123, Viafarma;
- Talco, lote: N50727-7, Farnos.

3.2 Métodos

3.2.1 Caracterização das matérias-primas

Foram realizadas análises específicas, baseadas no que é estabelecido pelos compêndios oficiais, para garantir a qualidade dos lotes de cada matéria-prima que foi utilizada no desenvolvimento do projeto.

3.2.1.1 Aspecto

As informações referentes à descrição de uma substância são genéricas e destinam-se à avaliação preliminar da integridade da mesma. Esta avaliação, por si só, não é indicativa de pureza, devendo estar associada a outros testes farmacopéicos para assegurar que a substância em análise esteja de acordo com a monografia (F. Bras. IV, 1988a).

Todas as matérias-primas utilizadas neste estudo passaram por avaliação do seu aspecto, que deveria ser exatamente como o estabelecido na fonte consultada.

3.2.1.2 Avaliação da densidade

A densidade relativa de uma substância é a razão de sua massa, pela massa de igual volume de água, ambas a 20° C, ou por massa de igual volume de água a 4° C (F. Bras. IV, 1988b).

Foi determinada em picnômetro limpo e seco, com capacidade de, no mínimo, 5 mL, previamente calibrado. A matéria-prima fenoxietanol/parabenos teve sua densidade avaliada através da razão da diferença entre o picnômetro cheio com o produto e vazio, pela diferença do produto com a água, devendo apresentar valor entre 1,060 a 1,180g/mL, de acordo com o laudo de análise do fornecedor (Viafarma).

3.2.1.3 Análise de solubilidade

A solubilidade da substância pura em dado solvente, à temperatura ambiente, é parâmetro característico da substância, podendo servir para fins de identificação (F. Bras. IV, 1988c).

Ácido salicílico, amido de milho, BHT e lactose foram avaliados de acordo com a solubilidade.

3.2.1.4 Determinação do pH

A determinação potenciométrica do pH é feita pela medida da diferença de potencial entre dois eletrodos adequados, imersos na solução em análise. Um destes eletrodos é sensível aos íons hidrogênio e o outro é o eletrodo de referência, de potencial constante (F. Bras. IV, 1988d).

Antes do início da análise, o aparelho foi aferido com soluções-tampão pH 7,0 e pH 4,0 (Merck), à temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$), que permitem linearidade nas respostas em relação às alterações de potencial observadas. A amostra analisada foi a lactose (solução a 10%), através de potenciômetro marca Analyser, modelo pH300M.

3.2.1.5 Determinação do ponto de fusão

Ponto de fusão de uma substância é a temperatura corrigida na qual esta se encontra completamente fundida. Enquanto faixa de fusão é aquela compreendida entre a temperatura corrigida na qual a substância começa a fluidificar-se ou a formar gotículas na parede do tubo capilar e a temperatura corrigida na qual está completamente fundida, o que é evidenciado pelo desaparecimento da fase sólida (F. Bras. IV, 1988e).

O método empregado foi o do capilar, onde se observou o ponto de fusão do ácido salicílico e do BHT. Após a obtenção dos valores, estes foram comparados a sua faixa de fusão específica.

3.2.1.6 Características microbiológicas

As amostras de lactose e amido de milho foram submetidas a testes específicos, que garantissem a ausência de contaminantes microbiológicos de acordo com as especificações fornecidas pelo fabricante de cada uma delas.

3.2.1.7 Doseamento do Ácido Salicílico (USP 27, 2004; BP, 1998)

O método de doseamento consiste em dissolver cerca de 275 mg (rigorosamente pesados) de ácido salicílico em 25 mL de etanol, previamente neutralizado com hidróxido de sódio 0,1N e fenolftaleína até leve cor rosa. A seguir, é feita titulação, em triplicata, em hidróxido de sódio 0,1N, como titulante, até leve cor rosa. Utiliza-se o valor médio obtido, sendo cada 1 mL de solução hidróxido de sódio 0,1N equivalente a 13,81 mg de ativo. O cálculo da porcentagem é feito de acordo com a equação 1 abaixo:

$$\% = \frac{\text{volume gasto} \times \text{FC} \times 13,81 \times 100}{\text{massa pesada em mg}}$$

Equação 1: Doseamento do ácido salicílico, onde FC= fator de correção da solução titulante e %= teor de ácido salicílico.

3.2.2 Caracterização dos tensoativos derivados de aminoácidos

Os tensoativos cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®]), lauroil glutamato de sódio (Amisoft LS-11[®]), miristoil glutamato de sódio (Amisoft MS-11[®]) e cocoil glicinato de sódio (Amilite GCS-11[®]) são derivados de aminoácidos, recentemente disponíveis à comercialização, por isso suas análises ainda não constam em nenhuma farmacopéia.

Para analisar estes compostos foi feito um grande levantamento bibliográfico para se chegar a algum método de análise que mais se aproximasse ao que poderia

ser realizado. E por se tratar de derivados de aminoácidos, o método de Kjeldahl é considerado o mais indicado, por determinar o teor de nitrogênio total.

3.2.2.1 Método de Kjeldahl

A determinação da quantidade de nitrogênio em uma amostra pelo método de Kjeldahl baseia-se no deslocamento do nitrogênio presente na amostra, sob a forma de sulfato de amônia; este passa a amônia volátil pela adição de hidróxido de sódio. A amônia é recolhida em solução de ácido padronizado, cujo excesso é titulado com hidróxido de sódio de mesma concentração (ou recolhido em ácido bórico e titulado com ácido sulfúrico). Assim, se determina a quantidade de nitrogênio presente na amostra, por retrocesso ou de forma indireta (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985, COTTA *et al.*, 2007)

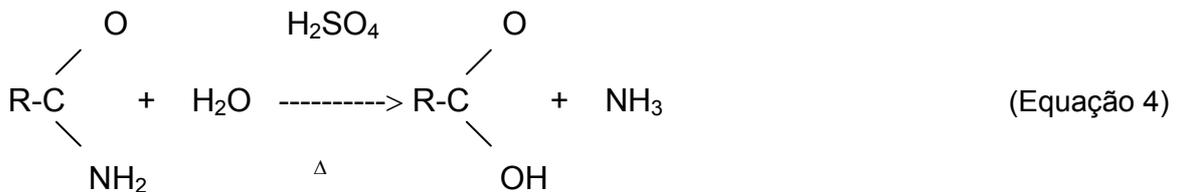
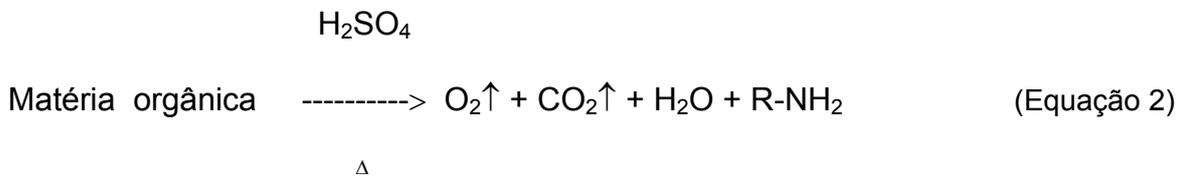
O método é dividido em três etapas e a aparelhagem pode ser vista, abaixo, na figura 11.



Figura 11: Sistema Kjeldahl tradicional, retirado de Cotta et al., 2007.

3.2.2.1.1 Digestão ou Mineralização

O nitrogênio orgânico foi transformado em amônia e os compostos orgânicos foram convertidos em CO_2 , H_2O , etc.



O carbono contido na matéria orgânica foi oxidado e o CO_2 se despreendeu; no final da digestão, o material ficou completamente claro, após passar por uma fase bastante escura, no início desta etapa (Equação 2).

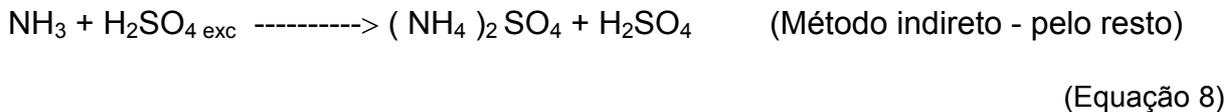
O nitrogênio foi transformado em NH_3 (Equação 3 e 4), que reagiu com ácido sulfúrico (H_2SO_4) formando $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Equação 5) e, após resfriamento, originou cristais no fundo do tubo. Nesta etapa, foi adicionado um catalisador (mistura de selênio Merck), para aumentar o ponto de ebulição do ácido sulfúrico.

3.2.2.1.2 Destilação

O sulfato de amônio foi tratado com hidróxido de sódio 40% levando ao desprendimento de amônia (Equação 6), posteriormente, destilada (Equação 7).



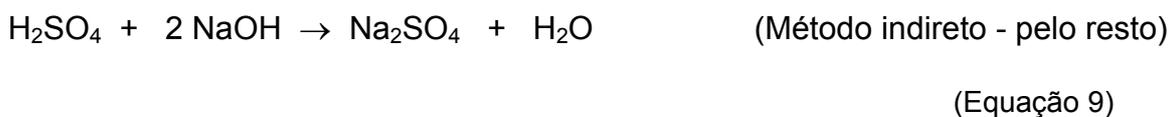
O NH_3 desprendido foi recebido em um erlenmeyer contendo H_2SO_4 (0,1N) de título conhecido (Equação 8):



Para confirmar o final da destilação foi realizado um teste de confirmação com Reativo de Nessler, onde o aparecimento de tom castanho amarelado indicava presença de amônia (NH_3) e a transparência, o final da destilação (ausência de NH_3).

3.2.2.1.3 Titulação

O ácido sulfúrico que não reagiu com a amônia foi titulado com solução padrão de hidróxido de sódio, usando vermelho de metila como indicador (Equação 9):



A quantidade de ácido sulfúrico foi suficiente para que houvesse completa destruição da matéria orgânica.

Em face das diferentes temperaturas exigidas para decomposição das substâncias orgânicas, pois algumas não se decompõem à temperatura normal de ebulição do ácido sulfúrico, tornou-se necessário aumentar a severidade da reação, pela adição de determinados sais, sendo os mais comuns o K_2SO_4 ou Na_2SO_4 , que elevam o ponto de ebulição do H_2SO_4 .

Ainda assim a oxidação da matéria orgânica é lenta, podendo, no entanto, ser acelerada pela adição de catalisadores ou agentes oxidantes. Os mais usados são sulfato de cobre (CuSO_4) e selênio metálico.

3.2.2.1.4 Cálculos

→ Volume de H₂SO₄ que reagiu com o nitrogênio:

Método semi-microKjeldahl: indireto

$(V_{H_2SO_4} 0,1N_{exc} \times fc) - (V_{NaOH} 0,1N \times fc) = V_{H_2SO_4} 0,1N$ que reagiu com N

1 Eq H₂SO₄ 1N ----- 1 Eq Nitrogênio = 14 g

1 mL H₂SO₄ ----- 0,0014 g N₂

Xg Nitrogênio → quantidade pesada da amostra

g % Nitrogênio ← 100

g % Nitrogênio = $\frac{g \text{ Nitrogênio} \times 100}{\text{Peso da amostra}}$

3.2.2.1.5 Fator de conversão

A maioria dos compostos possui proteínas com 16% de nitrogênio, assim:

16g N → 100g Proteína

1 g N → X

$X = 100/16 = 6,25$

Para converter o teor de nitrogênio em proteínas, basta multiplicar pelo fator de conversão (6,25).

3.2.3 Ensaio para caracterização da espuma formada pelos tensoativos

A partir de uma adaptação do teste de “Ross-Miles” (CHEAH e CILLIERS, 2005), foram preparadas soluções a 5% de cada um dos tensoativos estudados (lauril sulfato de sódio, cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®]), lauroil glutamato

de sódio (Amisoft LS-11[®]), miristoil glutamato de sódio (Amisoft MS-11[®]) e cocoil glicinato de sódio (Amilite GCS-11[®]). Após o preparo das soluções, 50 mL, de cada, foram vertidos para uma proveta de 100 mL e agitados 5 vezes seguidas, manualmente. A altura da espuma formada foi medida no instante após a última agitação e 5 minutos após o descanso, para avaliar a sua manutenção depois de um tempo pré-estabelecido. (Figura 12)

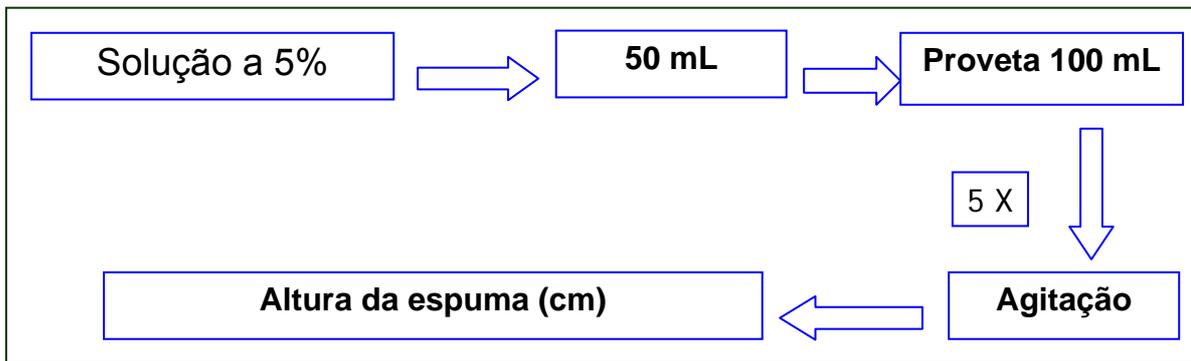


Figura 12: Teste da espuma.

3.2.4 Teste de desnaturação de proteínas

Em 1957, Blohm estudou a desnaturação da albumina do ovo (ovalbumina) através de uma série de sulfatos de sódio e mostrou que essa proteína possui uma solubilidade semelhante a das proteínas encontradas na epiderme, além de comprovar que os radicais lauril têm uma larga capacidade de promover desnaturação proteica, ou seja, causar irritação dérmica significativa (BREUER, 1978; Morén e Khan, 1999; GONZALEZ-PEREZ *et al*, 2004).

Testes de irritação dérmica ainda têm sido realizados em animais, mas por motivos éticos e científicos, estes não serão usados por muito mais tempo, em função disso, muita atenção tem sido dada ao desenvolvimento de métodos *in vitro* para este tipo de análise (BOELSMA *et al*, 1996).

Baseando-se nestas informações, foram preparadas soluções a 5%, dos surfactantes derivados de aminoácidos a serem avaliados (cocoil glutamato de sódio, lauroil glutamato de sódio, miristoil glutamato de sódio e cocoil glicinato de sódio) e o LSS, também em solução a 5%. Posteriormente, foram adicionados 10 g de claras de ovos, previamente homogeneizadas em agitador magnético por 5 minutos, a 2,5 g de solução de cada um dos tensoativos. A mistura formada (ovalbumina + tensoativo) permaneceu sob agitação por 2 minutos e, em seguida, foi realizada leitura da transmitância a 660 nm em espectrofotômetro UV-Vis (Biospectro® SP-220). A solução controle empregada foi clara de ovo e água destilada, nas mesmas proporções das amostras com tensoativos.

3.2.5 Preparo das formulações

Foram preparados dois tipos de formulações, uma contendo ácido salicílico a 2% (formulação A – Tabela 1) e outra somente com os componentes base (formulação B – Tabela 2). Os dois tensoativos que obtiveram melhores resultados no teste de desnaturação de proteínas (cocoil glutamato de sódio e lauroil glutamato de sódio) foram selecionados para que formassem uma mistura de surfactantes a ser empregada na formulação desenvolvida.

O processo de preparo ocorreu misturando-se os componentes da Fase A no misturador de pós, por 1 minuto. Em seguida, os dois primeiros componentes da Fase B foram adicionados, homogeneizando até a completa solubilização dos pós. A seguir, complementou-se com os dois últimos componentes da fase e tudo foi vertido para o misturador de pós, homogeneizando, por três etapas seguidas de um minuto cada, totalizando três minutos de homogeneização final. Em geral de porcelana, a formulação obtida foi adicionada à 15 mL de água:álcool (30:70) e

tamisada em tamis de malha número 10. Posteriormente, levada à estufa a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 30 minutos. Ao retirar do aquecimento, a massa granulada formada passou por novo tamis malha número 20.

O granulado obtido foi envasado em sachets metálicos e talqueiras plásticas de polipropileno.

Tabela 1: Sabonete granulado com ácido salicílico (formulação A).

Fase A:	
Amido de Milho.....	30,00%
Lactose.....	30,00%
Tensoativos*.....	20,00%
PVP.....	5,00%
Talco.....	q.s.p. 100g
Fase B:	
BHT.....	0,08%
Fenoxietanol e Parabenos (Phenochem).....	0,80%
Aerosil.....	0,80%
Talco.....	10,00%
Ácido Salicílico.....	2,00%

* cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®]) e lauroil glutamato de sódio (Amisoft LS-11[®])

Tabela 2: Sabonete granulado sem ácido salicílico (formulação B).

Fase A:	
Amido de Milho.....	30%
Lactose.....	30%
Tensoativos*	20%
PVP.....	5%
Talco.....	q.s.p.100g
Fase B:	
BHT.....	0,08%
Fenoxietanol e Parabenos (Phenochem).....	0,80%
Aerosil.....	0,80%
Talco.....	10,00%

* cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®]) e lauroil glutamato de sódio (Amisoft LS-11[®])

3.2.6 Ensaio para caracterização da espuma formada pelas formulações desenvolvidas

Da mesma forma, como foi feito com os tensoativos isolados, foi realizado teste para determinar o tamanho da espuma formada por cada uma das formulações desenvolvidas (A e B).

O método utilizado foi o mesmo, conforme Figura 12, acima.

3.2.7 Estudo de estabilidade

As formulações A e B foram submetidas a testes de acordo com o “Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos” (ANVISA, 2004), com o intuito de avaliar as características encontradas nos tempos 0,15,30,60 e 90 dias. Foram mantidas

amostras em temperatura ambiente, $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e em condição acelerada, ou seja, estufa a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, sob saturação de umidade relativa do ar.

Os parâmetros analisados nos tempos estabelecidos foram características organolépticas, pH, teor de umidade e, na formulação B, determinação do teor de ácido salicílico por método espectrofotométrico.

3.2.7.1 Características organolépticas

Durante o período de três meses em que foi realizado o teste de estabilidade, as duas formulações foram avaliadas observando mudança de coloração, presença de odor, aumento de umidade observada visualmente. Estas modificações podem caracterizar instabilidade físico-química e/ou microbiológica e indicar mudanças prejudiciais à estabilidade necessária na formulação em estudo.

3.2.7.2 Determinação do pH

A determinação do valor de pH está relacionada à compatibilidade dos componentes da formulação, eficácia e segurança de uso, dessa forma é um importante parâmetro a ser avaliado nos estudos de estabilidade.

O pH das amostras, em solução a 10%, armazenadas à temperatura ambiente ou em estufa ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), foi determinado através de potenciômetro (Analyser, modelo pH300M), previamente calibrado com soluções tampão pH 7,0 e pH 4,0 (Merck), à temperatura ambiente.

3.2.7.3 Determinação de água

Diversas substâncias farmacopeicas encontram-se na forma hidratada ou contém água absorvida, tornando importante o estabelecimento de teores-limite e sua determinação em ensaio de especificação (F. Bras. IV, 1988f). O mesmo é observado no caso de medicamentos ou dermocosméticos que se apresentam sob a forma farmacêutica pó, já que devem possuir uma faixa padronizada de teor de umidade na formulação.

Para avaliação do teor de água de cada uma das duas formulações, armazenadas em estufa ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) e à temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$), foi usado Aparelho de Karl-Fischer Metler, modelo DL-18, com 30 mL de metanol p.a. (Vetec) e reagente de Karl-Fischer (Merck) como titulante.

3.2.7.4 Análise quantitativa do ácido salicílico por espectrofotometria no UV-Vis

A análise do teor de ácido salicílico, em formulações em pó, não é descrita em nenhum compêndio oficial, dessa forma, foram determinados os parâmetros e as condições ideais para o estabelecimento e validação de um método por espectrofotometria de absorção no UV-Vis para determinação deste ativo nas formulações propostas. Para verificar o comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{max.}}$), foram feitas varreduras na região do UV e do visível para o ácido salicílico.

3.2.7.4.1 Preparo das amostras

Pesou-se, aproximadamente 25 mg do ativo, ou seja, em torno de 1,25 g de cada formulação a ser testada e foi transferida para balão de 100 mL com auxílio de 10 mL de etanol, para aumentar a solubilização do ácido salicílico. Posteriormente,

o volume foi completado com água destilada e levado ao ultra-som por 15 minutos para completa homogeneização. O etanol não foi utilizado como solvente único, pois a solução obtida não se mantinha estável durante o período de leitura no espectrofotômetro.

O mesmo procedimento foi realizado outras duas vezes, para que fosse feito em triplicata. Em seguida, as amostras foram filtradas e foi retirada uma alíquota de 2,0 mL para balão de 25,0 mL. As amostras foram analisadas em espectrofotômetro Biospectro® UV-Vis, modelo SP-220, onde foram lidas no λ_{\max} estabelecido, 295nm.

3.2.7.4.2 Curva Padrão

A cada dia de análise, realizou-se uma curva padrão para boa execução dos procedimentos além da avaliação da qualidade do sistema.

Primeiramente, foi preparada uma solução estoque de ácido salicílico. Para isso, foram pesados, com precisão analítica, cerca de 25,0 mg de AS padrão de trabalho, com teor obtido de 99,33%, e transferidos para balão volumétrico de 100,0 mL, adicionados 10 mL de etanol e o volume foi completado com água destilada, resultando em uma solução com concentração de 0,25 mg/mL. Antes de completar o volume, o balão ficou em banho de ultra-som por 15 minutos.

A partir da solução estoque foram retiradas 5 alíquotas, a fim de se obter uma curva com 5 pontos com as seguintes concentrações: 10, 15, 20, 25 e 30 $\mu\text{g/mL}$. Água destilada foi adicionada para completar o volume de cada balão.

3.2.7.4.3 Validação do método espectrofotométrico

A validação tem o intuito de demonstrar que o método é apropriado à finalidade pretendida. Para validação da metodologia de quantificação do AS, por espectrofotometria, foram realizados os testes que comprovassem a especificidade do método, a linearidade de resposta, a precisão intra e inter-dia, o limite de detecção e quantificação e exatidão / recuperação.

A validação foi baseada no Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos, anexo da RE nº 899, de 29 de maio de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil. Resolução – RE nº 899, 2003).

3.2.7.4.3.1 Especificidade

A especificidade é a capacidade que o método possui de medir exatamente o composto desejado na presença de outros compostos (Brasil. Resolução – RE nº 899, 2003, Ribani *et al.*, 2004).

Foi necessário comprovar a capacidade do método em quantificar o AS, na presença dos demais componentes inerentes ao granulado, que foi avaliada pelo ensaio de adição-padrão, explicado com mais detalhes abaixo no item 3.2.7.4.3.6.

3.2.7.4.3.2 Linearidade

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do princípio ativo na amostra (Brasil. Resolução – RE nº 899, 2003, Ribani *et al.*, 2004).

Para linearidade, foram preparadas duas curvas padrão de AS, padrão de trabalho, com faixa de concentração de 10 a 30 µg/mL. Em dias diferentes, foram feitas 5 pesadas, cada uma correspondente a um ponto da curva de calibração. A

linearidade do método foi determinada pela análise de regressão linear com auxílio do *software* Excel[®].

3.2.7.4.3.3 Precisão

Precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Para precisão intra e inter-dia foram preparadas duas soluções com concentração de 20 µg/mL, avaliadas em triplicata, em dois dias diferentes.

A análise da precisão foi realizada através do(s) desvio padrão(s) e desvio padrão relativo (DPR) dos valores de área encontrados (Ribani *et al.*, 2004).

3.2.7.4.3.4 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)

O cálculo desses limites pode ser feito pelo método baseado em parâmetros da curva padrão (Brasil. Resolução – RE nº 899, 2003, Ribani *et al.*, 2004).

O limite de detecção foi expresso como:

$$LD = DP_a \times \frac{3}{IC} \quad (\text{Equação 10})$$

Onde: DP_a é a estimativa do desvio padrão do intercepto com o eixo Y
 IC é a inclinação (“slope”) ou coeficiente angular da curva analítica.

Os mesmos critérios de LD podem ser adotados para o limite de quantificação, utilizando uma relação 10:1, a partir da equação 10:

$$LQ = DP_a \times \frac{10}{IC} \quad (\text{Equação 11})$$

3.2.7.4.3.5 Exatidão / Recuperação

A estimativa da exatidão foi realizada pelo método de adição padrão, onde se adicionam quantidades conhecidas da substância de referência (ácido salicílico) a preparações dos produtos, realizando-se a análise quantitativa do analito (Brasil. Resolução – RE nº 899, 2003).

3.2.7.4.3.6 Procedimento

Primeiramente preparou-se uma solução padrão, onde foram pesados, com exatidão, cerca de 25 mg de AS padrão de trabalho. Este foi transferido para balão volumétrico de 100,0 mL contendo 10 mL de etanol, para facilitar a solubilização e avolumado com água destilada, obtendo assim uma solução padrão (SP) final de 0,25 mg/mL.

Para o preparo das amostras foi realizada uma pesada de 1,25 g do placebo (formulação B) que foi transferida para balão volumétrico de 100,0 mL (solução estoque). Em seguida, foram retiradas alíquotas de 2,0 mL da solução estoque e levadas para balões volumétricos de 25,0 mL cada, onde realizou-se adição padrão em três níveis: 1,0 mL, 2,0 mL e 3,0 mL da solução padrão, contendo 0,25 mg/mL, conforme mostrado, esquematicamente, na Figura 13.

As preparações foram feitas em triplicata e todas as amostras foram avolumadas com água destilada.

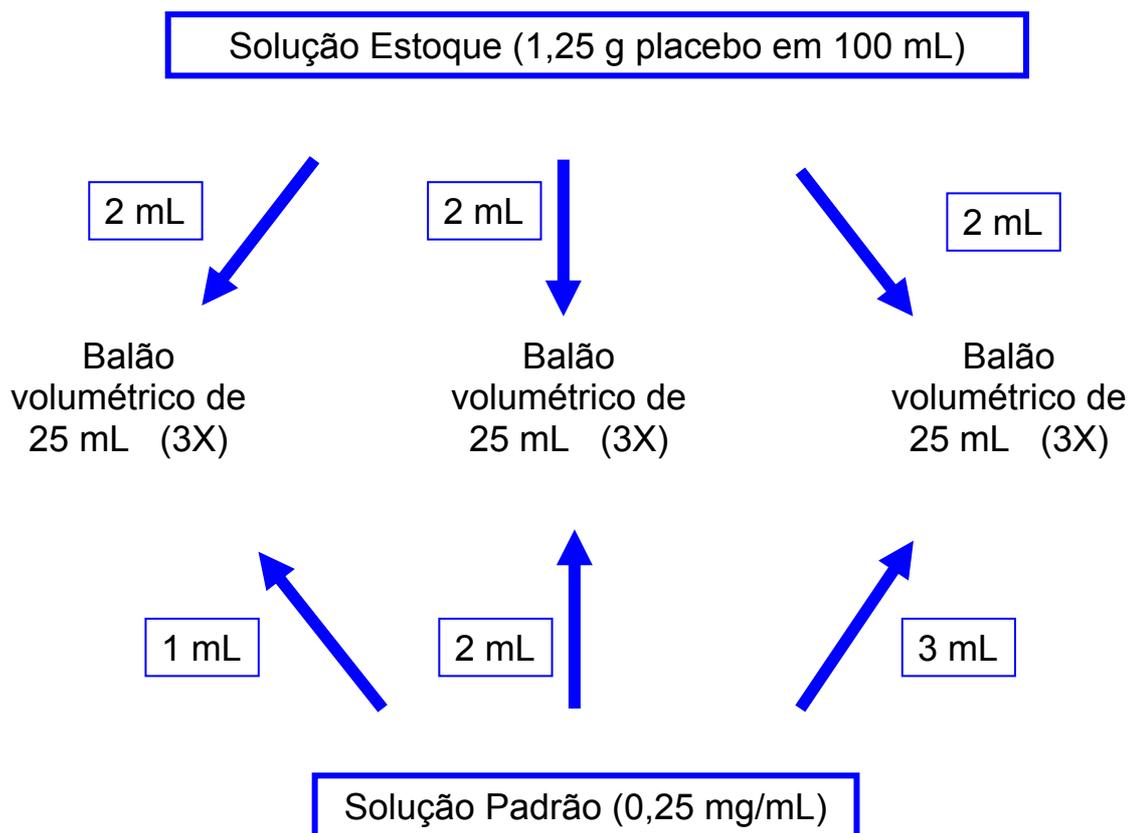


Figura 13: Esquema do preparo das amostras para determinação da exatidão, onde: 3x = triplicata de preparo.

As amostras foram analisadas em espectrofotômetro Biospectro® UV-Vis, modelo SP-220, onde foram lidas no λ_{\max} de 295nm. Neste estudo, foi utilizada nos cálculos, uma curva padrão com 5 pontos (10,15, 20, 25 e 30 $\mu\text{g/mL}$).

3.2.8 Toxicidade dérmica

Muitos esforços têm sido realizados pela comunidade científica com o intuito de diminuir a utilização de animais de laboratório, substituindo-os por outros testes. Embora o uso de modelo de pele reconstituída esteja validado como metodologia para análise de matérias-primas, este ainda não atende totalmente às necessidades de avaliação de produtos acabados.

Para avaliar a segurança das preparações desenvolvidas foram realizados testes baseados no “Guia de Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos”, publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária em 2003, pois produtos cosméticos e dermocosméticos, dependendo da concentração e do tipo de componentes empregados na formulação, podem apresentar riscos do tipo irritativo, alergênico e sistêmico.

Em se tratando de tensoativos, muitos de seus representantes já foram analisados e responderam positivamente a testes de toxicidade dérmica, o que torna necessária uma análise criteriosa e detalhista em formulações que contenham este tipo de componente.

3.2.8.1 Toxicidade dérmica primária

Foi realizado teste de irritação dérmica primária, em quatro coelhos albinos, previamente depilados, de aproximadamente 1,5 kg, para cada uma das amostras. A região dorsal dos animais foi dividida em quatro diferentes áreas (Figura 14), onde duas foram superficialmente rasuradas com auxílio de uma agulha estéril e as outras duas permaneceram intactas. Cada uma das formulações desenvolvidas (A → com ácido salicílico a 2% e B → sem ácido salicílico) foi aplicada em duas regiões, onde uma estava rasurada (1) e outra não (2), através de um “*patch* oclusivo”, composto

por gaze estéril fixada ao animal com fita adesiva. As áreas 3 e 4 (Figura 14) serviram de controle e, também, foram cobertas com o mesmo material. Após 4 horas de contato, o produto foi retirado, com auxílio de água. Passadas 24 e 72 horas da aplicação, foi avaliada a presença de eritema e/ou edema (ANVISA, 2003).

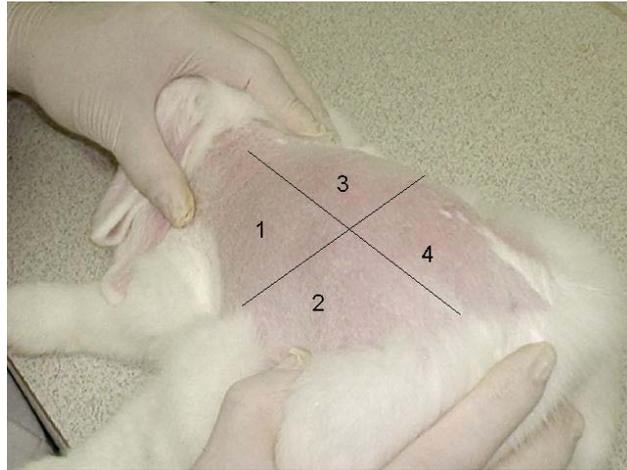


Figura 14: Áreas de aplicação das amostras.

3.2.8.2 Toxicidade dérmica cumulativa

No caso do ensaio para irritação dérmica cumulativa, as aplicações foram feitas seguindo a mesma técnica, ou seja, quatro coelhos albinos com, aproximadamente 1,5 Kg, foram, previamente depilados e tiveram sua região dorsal dividida em quatro diferentes áreas, sendo duas rasuradas e duas intactas. As formulações em estudo foram aplicadas em duas áreas, enquanto duas permaneceram como controle. A aplicação ocorreu por um período de 10 dias consecutivos, com frequência diária e a observação da integridade da pele dos animais foi realizada a cada 24 e 72 horas após a última aplicação (ANVISA, 2003).

3.2.9 Pesquisa de opinião

A pesquisa de opinião foi realizada a fim de se verificar a aceitação da nova forma de apresentação por parte dos pacientes com quadros de acne (formulação A → com ácido salicílico a 2%) e por profissionais da área de saúde para lavagem contínua das mãos (formulação B → sem incorporação de princípio ativo).

Essa análise, normalmente, é realizada mediante a utilização dos sentidos humanos: visão, olfato e sensibilidade-cutânea. Desta forma, as sensações que resultam da interação dos órgãos humanos dos sentidos com as amostras são usadas para avaliar sua qualidade, aceitabilidade por parte do consumidor e nas pesquisas para o desenvolvimento de novos produtos (MATSUURA, CARDOSO e RIBEIRO, 2002).

Antes de ser iniciada a pesquisa, dois protocolos de estudo foram elaborados, segundo o capítulo IV da resolução nº. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Estes documentos foram encaminhados ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF). Somente, após a aprovação (anexo I e II) por este órgão, as seleções dos voluntários foram realizadas, para utilização de cada uma das formulações estudadas (formulação A → ácido salicílico a 2% e formulação B → sem incorporação de princípio ativo).

A seleção dos voluntários foi feita de acordo com critérios específicos de inclusão e exclusão, descritos a seguir.

3.2.9.1 Sabonete granulado para limpeza da pele acneica

Foram selecionados 30 voluntários com histórico da doença de pele específica para o estudo, ambos os sexos, com idade entre 18 e 25 anos, capazes de fornecer seu consentimento livre e esclarecido pós-informação (por escrito) para participação voluntária no estudo.

Durante trinta dias consecutivos, cada um dos trinta voluntários (pacientes em tratamento para acne) selecionados utilizou a formulação A, contendo ácido salicílico a 2%, 3 (três) vezes ao dia, na área afetada. A embalagem final do sabonete granulado entregue aos pacientes foi sob a forma de sachets (alumínio) de dose unitária.

Após os trinta dias, os voluntários retornaram ao consultório de dermatologia da pesquisadora clínica responsável, Dr^a. Ana Maria Mósca de Cerqueira, para a avaliação dos resultados encontrados e o preenchimento do questionário (Anexo III), onde foram avaliados parâmetros relacionados à aceitação da nova forma farmacêutica proposta, a embalagem (sachet) e o sensorial do produto.

3.2.9.2 Sabonete granulado para lavagem das mãos

Foram selecionados trinta voluntários (profissionais da área de saúde) sem lesões cutâneas nas mãos e sem antecedentes de doenças da pele, de ambos os sexos, com idade entre 20 e 50 anos, capazes de fornecer seu consentimento livre e esclarecido pós-informação (por escrito) para participação voluntária no estudo. Indivíduos que apresentassem hipersensibilidade a algum componente da formulação foram excluídos da pesquisa.

Os voluntários foram orientados, individualmente, sobre a aplicação da formulação B, por 30 (trinta) dias consecutivos, sem intervalos, em todos os

momentos em que sentissem necessidade de lavagem das mãos, visto que se trata de um produto de higiene. O produto foi dispensado em duas apresentações, sachet metálico de dose unitária e talqueira plástica de polipropileno para múltiplas aplicações.

Duas avaliações clínicas foram realizadas no serviço de dermatologia do HUCFF – UFRJ, para serem avaliados os seguintes parâmetros:

Antes de iniciar o estudo:

1. Presença de lesões dermatológicas: xerose, descamação, ceratoses, fissuras, eritema.

Trinta dias após o uso diário da formulação:

1. Presença de lesões dermatológicas: xerose, descamação, ceratoses, fissuras, eritema;
2. Opinião sobre a forma de apresentação empregada e as embalagens (sachet e talqueira), através de questionário previamente elaborado (Anexo IV).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização das matérias-primas

Todos os resultados estão de acordo com os compêndios oficiais utilizados, conforme apresentado abaixo, separadamente, por matéria-prima.

4.1.1 Ácido Salicílico

A matéria-prima foi aprovada em todos os testes em que foi submetida, com teor de 99,33% (Tabela 3).

Tabela 3: Caracterização do ácido salicílico de acordo com USP 27, 2004 e BP 1998.

Testes realizados	Especificação	Resultados
Descrição	Pó branco, inodoro.	De acordo.
Solubilidade	Livemente solúvel em álcool e éter; muito pouco solúvel em clorofórmio.	De acordo.
Ponto de fusão	Entre 157° C e 161° C.	160,3° C.
Doseamento	Entre 99,0% a 101,0%.	99,33%.

4.1.2 Aerosil (Tixosil 333)

Os resultados que comprovam a aprovação da matéria-prima estão na Tabela 4.

Tabela 4: Caracterização do aerosil de acordo com BP, 1998.

Testes realizados	Especificação	Resultados
Descrição	Pó amorfo, leve, fino, branco e inodoro.	De acordo.
Solubilidade	Insolúvel em água e ácido clorídrico e solúvel em hidróxido de sódio 0,1N.	De acordo.
Determinação do pH	Suspensão aquosa 4% - 6,0 a 7,0	6,7.

4.1.3 Amido de milho

A matéria-prima amido de milho passou por testes de caracterização, como mostrado na Tabela 5 e foi aprovada.

Tabela 5: Caracterização do amido de milho de acordo com USP 27, 2004.

Testes realizados	Especificação	Resultados
Descrição	Pó fino, branco.	De acordo.
Solubilidade	Insolúvel em água fria, etanol e clorofórmio. Levemente solúvel em água quente.	De acordo.
Bolores e leveduras	< 3,0 x 10 ² UFC/g.	< 3,0 x 10 UFC/g.

4.1.4 Butilhidroxitolueno (BHT)

A matéria-prima foi aprovada nos testes a que foi submetida e os resultados estão na Tabela 6.

Tabela 6: Caracterização do BHT de acordo com Merck Index, 13^a ed.; USP 23, 2000.

Testes realizados	Especificação	Resultados
Descrição	Pó cristalino branco de leve odor característico.	De acordo.
Solubilidade	Insolúvel em água, levemente solúvel em álcool e clorofórmio.	De acordo.
Ponto de fusão	Máximo 70° C.	69,8° C.

4.1.5 Fenoxietanol/Parabenos (Phenobact)

O produto passou por testes para sua caracterização (Tabela 7).

Tabela 7: Caracterização do phenochem de acordo com laudo de análise do fornecedor (Viafarma).

Testes realizados	Especificação	Resultados
Descrição	Líquido claro, transparente, de odor suave.	De acordo.
Densidade	Entre 1,060 a 1,180 g/mL.	1,118 g/mL.

4.1.6 Lactose

A matéria-prima lactose foi aprovada em todos os testes de caracterização, como mostra a Tabela 8.

Tabela 8: Caracterização da lactose de acordo com USP 27, BP 1998 e especificações do fabricante.

Testes realizados	Especificação	Resultados
Descrição	Pó cristalino branco ou quase branco, estáveis no ar.	De acordo.
Solubilidade	Solúvel em 5 partes de água; 2,5 partes de água fervente. Muito pouco solúvel em álcool e insolúvel em éter e clorofórmio.	De acordo.
Determinação do pH	Entre 4,0 e 6,5.	6,4.
Bolores e leveduras	< 10 UFC/g.	< 10 UFC/g.

4.1.7 Lauril sulfato de sódio

Passou por testes que comprovam sua qualidade, conforme Tabela 9.

Tabela 9: Caracterização do LSS de acordo com USP 27, 2004; BP 1998.

Testes realizados	Especificação	Resultados
Descrição	Cristais brancos ou amarelados com leve odor característico.	De acordo.
Solubilidade	Solúvel em água, parcialmente solúvel em álcool e praticamente insolúvel em clorofórmio.	De acordo.
Determinação do pH	Solução a 1% - 7,0 a 9,0.	7,0.

4.1.8 Polivinilpirrolidona (PVP)

A matéria-prima lactose passou em todos os testes a que foi submetida (Tabela 10).

Tabela 10: Caracterização do PVP de acordo com USP 23, 2000.

Testes realizados	Especificação	Resultados
Descrição	Pó fino e branco.	De acordo.
Determinação do pH	Solução aquosa a 10% - 3,0 a 7,0.	4,3.

4.1.9 Talco

O talco farmacêutico é um silicato de magnésio hidratado pulverizado, contendo uma pequena quantidade de alumínio. Foi aprovado em todos os testes realizados, de acordo com o apresentado na Tabela 11.

Tabela 11: Caracterização do talco de acordo com USP 27, 2004 e especificações do fabricante.

Testes realizados	Especificação	Resultados
Descrição	Pó leve, homogêneo, quase branco e sem cheiro.	De acordo.
Bolores e leveduras	< 10 UFC/g.	< 10 UFC/g.

4.2 Caracterização dos tensoativos derivados de aminoácidos

Cada uma das amostras de tensoativos derivados de aminoácidos foi submetida ao método de Kjeldahl e foi aprovada sem restrições, de acordo com as especificações estabelecidas pelo laudo do fabricante, pois não existe metodologia oficial para estas matérias-primas (Tabela 12).

Tabela 12: Teor de nitrogênio dos tensoativos derivados de aminoácidos.

Tensoativo	Especificação (%)	Resultados (%)
Cocoil Glutamato de Sódio	93 - 101	95
Lauroil Glutamato de Sódio	93 - 99	93
Miristoil Glutamato de Sódio	93 - 101	96
Cocoil Glicinato de Sódio	87 - 112	99

4.3 Ensaio para caracterização da espuma formada pelos tensoativos

Ao ser realizado o teste de altura da espuma formada (adaptação de “Ross-Miles”) observou-se que, apesar do Amisoft MS-11[®] ter sido o único que manteve a coluna de espuma intacta após o tempo pré-estabelecido, este foi o que formou menos espuma depois da agitação. Outra característica, que, também pode ser encontrada

na Tabela 13, foi que o Amisoft LS-11[®], seguido do Amisoft CS-11[®] foram os dois com maior altura e uma manutenção da espuma consideravelmente boa.

Tabela 13: Teste de espuma dos tensoativos.

Tensoativo	Imediatamente (cm)	Após 5 minutos (cm)
Lauril Sulfato de Sódio	6,3	5,5
Cocoil Glutamato de Sódio	8,0	7,5
Lauroil Glutamato de Sódio	8,5	7,5
Miristoil Glutamato de Sódio	4,0	4,0
Cocoil Glicinato de Sódio	7,0	6,0

4.4 Teste de desnaturação de proteínas (potencial irritante *in vitro*)

A avaliação dos tensoativos através do método de análise da desnaturação de proteínas obteve valores de transmitância que podem ser observados na Tabela 14. Após avaliação estatística dos resultados através de análise de variância, com $\alpha = 0,05$, observou-se que $p \leq 0,001$ é considerado uma diferença estatisticamente significativa (Tabela 15). Com isso, lauroil glutamato de sódio (Amisoft LS-11[®]) e miristoil glutamato de sódio (Amisoft MS-11[®]) não apresentaram ação sobre as proteínas do ovo nas condições avaliadas, pois seus valores comparados ao do controle não possuem diferença estatisticamente significativa. Já o cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®]) aparece com valor estatisticamente diferente ao do controle (Tabela 14), mas como é um valor superior, também, não apresenta ação desnaturante.

Cocoil glicinato de sódio (Amisoft GCS-11[®]) e lauril sulfato de sódio apresentaram diferença estatisticamente significativa ao serem comparados ao controle, caracterizando desnaturação de ovalbuminas.

Conforme afirmado, anteriormente, a ocorrência de desnaturação proteica é característica de irritação dérmica, pois as proteínas do ovo (ovalbumina) possuem uma solubilidade semelhante às encontradas na epiderme. Com isso, verificou-se que os tensoativos que *in vitro* não apresentam potencial irritante são cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®]), lauroil glutamato de sódio (Amisoft LS-11[®]), miristoil glutamato de sódio (Amisoft MS-11[®]).

Tabela 14: Valores de transmitância a 660 nm.

Amostra	Transmitância a 660 nm (%)
Controle (clara de ovo + água)	80,1
Lauril Sulfato de Sódio	10,5
Lauroil Glutamato de Sódio	80,5
Miristoil Glutamato de Sódio	80,2
Cocoil Glutamato de Sódio	82,9
Cocoil Glicinato de Sódio	0,5

Tabela 15: ANOVA - Comparação com o Grupo Controle, onde LSS= lauril sulfato de sódio.

Comparações (controle x tensoativos)	Diferença entre Médias	t	P	Nível Crítico	Significante
controle X cocoil glicinato de sódio	79,600	273,324	$1,057 \times 10^{-20}$	0,010	Sim
controle X LSS	69,567	238,872	$4,065 \times 10^{-20}$	0,013	Sim
controle X cocoil glutamato de sódio	2,767	9,500	0,00000254	0,017	Sim
controle X lauroil glutamato de sódio	0,367	1,259	0,237	0,025	Não
controle X miristoil glutamato de sódio	0,100	0,343	0,738	0,050	Não

4.5 Preparo das formulações

Preliminarmente, foram manipuladas formulações contendo cada um dos tensoativos, ditos menos irritantes pelo teste *in vitro*, ou seja, cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®]), lauroil glutamato de sódio (Amisoft LS-11[®]), miristoil glutamato de sódio (Amisoft MS-11[®]). Ao analisar em separado, cada uma delas, observou-se que o miristoil glutamato de sódio é altamente pulverulento e irritante das mucosas, logo este componente foi descartado da pesquisa, pois traria inconvenientes tanto na manipulação quanto na utilização do produto final pelos pacientes.

Estabeleceu-se preparar amostras contendo os dois surfactantes que apresentaram características melhores com relação à não desnaturação protéica, melhor altura e manutenção de espuma e ausência de irritação das mucosas: cocoil glutamato de sódio e lauroil glutamato de sódio. Estes foram empregados em concentrações iguais, num total de 20% da mistura de tensoativos, nas duas

formulações desenvolvidas (A → com ácido salicílico a 2% e B → sem adição de princípio ativo).

4.6 Ensaio para caracterização da espuma formada pelas formulações desenvolvidas

Apesar de se ter conhecimento da não influência da espuma na atividade de uma formulação dermocosmética ou medicamentosa, a maioria das pessoas tende a preferir utilizar um produto que faça uma quantidade maior de espuma, por isso a importância de se avaliar o tamanho da espuma formada e sua manutenção durante um tempo pré-estabelecido.

Com a realização do teste de altura da espuma nas formulações A e B obteve-se resultados bem semelhantes (Tabela 16), o que caracteriza a não interferência do princípio ativo empregado, ácido salicílico, na formação e manutenção da espuma gerada pelos tensoativos utilizados (Amisoft CS-11 e Amisoft LS-11).

Tabela 16: Teste de espuma das formulações em estudo.

Formulação	Imediatamente após agitação (cm)	5 minutos após agitação (cm)
A (AS 2%)	7,5	7,0
B (sem ativo)	7,7	7,1

4.7 Estudo de estabilidade

Amostras das formulações A e B foram mantidas em temperatura ambiente, $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, e em condição acelerada, estufa a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por um período de três meses, sendo avaliados aspecto, pH e teor de umidade, de ambas as formulações.

O teor de ácido salicílico da formulação A foi medido durante todo o teste de estabilidade.

4.7.1 Características organolépticas

Nos tempos 0, 7, 15, 30, 60 e 90 dias, as formulações, contendo ou não ácido salicílico, foram visualizadas e não apresentaram nenhum tipo de alteração relacionadas à coloração, formação de grumos e odor, conforme descrito na Tabela 17.

Tabela 17: Resultado das características organolépticas das formulações.

Tempo (dias)	0	7	15	30	60	90
Formulação A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A
Formulação B	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A	S/A

S/A → sem alterações organolépticas.

4.7.2 Determinação do pH

Mesmo o ativo empregado sendo o ácido salicílico, não ocorreu nenhum tipo de alteração considerável entre as duas formulações (A → com ácido salicílico a 2% e B → sem adição de ativo), conforme apresentado na Tabela 18. Assim como, também, não foi observada nenhuma variação dos valores de pH nos tempos 0, 7, 15, 30, 60 e 90 dias entre cada uma das formulações (Tabela 19).

Como a pele apresenta pH levemente, ácido (4,6 a 5,8), que contribui para que ocorra a proteção bactericida e fungicida em sua superfície, acredita-se que os

valores de pH das formulações estudadas são adequados, uma vez que a determinação e o controle do pH cutâneo são de extrema utilidade. Principalmente, em se tratando da presença de substâncias detergentes, que costumam, freqüentemente, agredir a pele e, até mesmo alterar seu pH original (LEONARDI, GASPAR e CAMPOS, 2002).

Tabela 18: Valores de pH da formulação A.

Tempo (dias)	Temperatura Ambiente	40°C ± 2°C
0	5,38	5,36
7	5,35	5,35
15	5,31	5,30
30	5,39	5,31
60	5,36	5,38
90	5,30	5,30

Tabela 19: Valores de pH da formulação B.

Tempo (dias)	Temperatura Ambiente	40°C ± 2°C
0	5,44	5,44
7	5,43	5,44
15	5,48	5,46
30	5,44	5,48
60	5,43	5,44
90	5,45	5,45

4.7.3 Determinação de água

Através do aparelho de Karl-Fischer, as amostras das formulações A e B foram avaliadas em diferentes tempos, por um período de três meses cada. Observou-se que a formulação B apresentou um teor de umidade superior à que contém ácido salicílico (formulação A) e que ambas apresentaram variações esperadas, ou seja, pequenos aumentos de teor de água quando em temperatura ambiente ($25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) e diminuição quando armazenadas a temperatura de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

As formulações em teste, mesmo após os 90 dias de análise, mantiveram-se estáveis com relação ao teor de umidade, independente se à temperatura ambiente ou na estufa. Com isso, estabeleceu-se que o teor de água não deve ultrapassar a faixa de 6,5% e, normalmente, não é inferior a 4,5%, conforme ficou comprovado através dos valores nos tempos 0, 7, 15, 30, 60 e 90 dias, listados nas tabelas 20 e 21, abaixo.

Tabela 20: Teor de umidade da formulação A.

Tempo	Teor umidade (%) Temperatura Ambiente (n=3)	Teor umidade (%) Estufa ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) (n=3)
0	4,6510	5,1965
7	4,6482	5,2093
15	4,7777	4,8685
30	4,7709	4,7770
60	5,0147	4,7934
90	5,7981	4,6891

Tabela 21: Teor de umidade da formulação B.

Tempo	Teor umidade (%) Temperatura Ambiente (n=3)	Teor umidade (%) Estufa (40°C ± 2°C) (n=3)
0	5,2841	5,5048
7	5,0747	5,4702
15	6,1079	6,0461
30	5,7022	6,0962
60	6,3729	5,4031
90	5,7834	4,6434

4.7.4 Validação do método espectrofotométrico para avaliação do teor de ácido salicílico

4.7.4.1 Especificidade

A maneira utilizada para se avaliar a especificidade foi através do método de adição-padrão. De acordo com os valores encontrados na Tabela 22 pode-se observar que há uma recuperação de aproximadamente 100% para a formulação A, alvo do estudo, ajudando a comprovar a especificidade do método, pois mostra a não interferência dos excipientes na absorção do ácido salicílico presente nos granulados.

Tabela 22: Ensaio de recuperação.

Quantidade adicionada de AS (padrão) (mg/mL) (n=3)	Quantidade recuperada de AS (padrão) (mg/mL)	Recuperação (%)
0,01	0,0102	101,9
0,01	0,0101	101,5
0,01	0,0100	100,3
0,02	0,0200	100,1
0,02	0,0199	99,5
0,02	0,0199	99,3
0,03	0,0306	102,0
0,03	0,0305	101,8
0,03	0,0303	101,0

4.7.4.2 Linearidade

A linearidade de um método analítico é a habilidade do mesmo em produzir resultados que são, diretamente proporcionais, à concentração do analito, dentro de uma dada faixa (USP 29, 2006). Na determinação desse parâmetro foram utilizadas curvas padrão em cinco níveis preparadas em dias diferentes. Os dados relacionados à linearidade estão expostos na Tabela 23 e na Figura 15 abaixo.

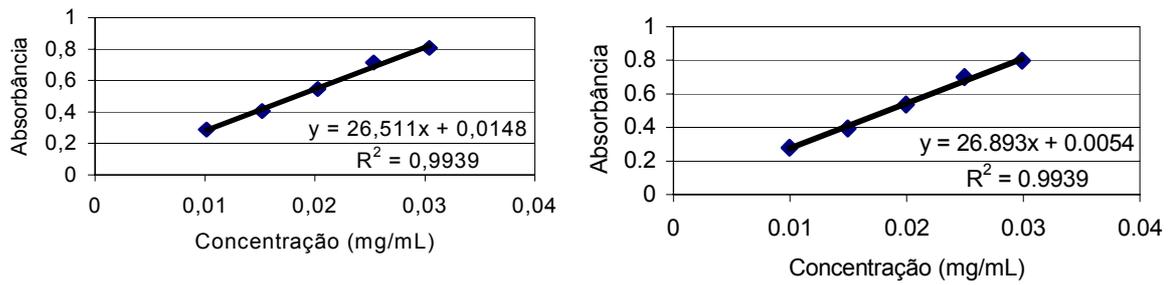


Figura 15: Curvas padrão do AS.

Tabela 23: Parâmetros médios das curvas padrão (5 níveis) utilizadas no doseamento do AS por espectrofotometria

Intercepto	Inclinação	Coefficiente de correlação
0,0106 ± 0,0079	26,702 ± 0,2701	0,9939

Analisando os resultados obtidos, observou-se adequada correlação linear, pois os coeficientes de correlação encontrados possuem valores superiores a 0,99, conforme preconizado pela Resolução 899 da ANVISA de 2003.

4.7.4.3 Precisão

A precisão foi avaliada inter e intra dia e os valores do DPR estão apresentados nas Tabelas 24 e 25, abaixo.

Tabela 24: Precisão inter dia

Dia 1			Dia2		
Valores Individuais (%)	Média ± dp	DPR (%)	Valores Individuais (%)	Média ± dp	DPR (%)
99.15			100.85		
99.9	99,77 ± 0,57	0.5719	101.24	101,17 ± 0,30	0.2923
100.27			101.43		
100.37			98.38		
100.74	100,68 ± 0,28	0.2829	98.18	98,31 ± 0,12	0.1174
100.93			98.38		
100.39			101.07		
99.64	100,26 ± 0,57	0.5691	102.23	101,78 ± 0,62	0.6113
100.76			102.04		

Tabela 25: Precisão intra dia.

Dias	Média ± dp	DPR (%)
	99,77 ± 0,56	
Dia 1	100,68 ± 0,28	0.5796
	100,26 ± 0,57	
	101,17 ± 0,30	
Dia 2	98,31 ± 0,12	1.634
	101,78 ± 0,62	
Entre Dias	100,33 ± 1,20	1.1939

O método para análise quantitativa do ácido salicílico no sabonete granulado mostrou-se preciso para as formulações em estudo, uma vez que o desvio padrão relativo foi inferior a 2,0% em todos os casos, de acordo com o estabelecido pela Resolução 899 da ANVISA (2003).

4.7.4.4 Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ)

Os resultados para os limites inferiores de quantificação e de detecção estão apresentados na Tabela 26, e foram calculados com base em todas as curvas padrão preparadas para os ensaios de doseamento do ácido salicílico.

Tabela 26: Resultado LD e LQ.

LQ (mg/mL)	Abs teórica LQ	LD (mg/mL)	Abs teórica LD
0,0100	0,2773	0,0033	0,0302

4.7.4.5 Exatidão / Recuperação

A exatidão foi calculada pelo procedimento de adição-padrão, conforme já foi descrito no item 3.2.7.4.3.6.

De acordo com a Tabela 22 acima, pode-se verificar que a metodologia aplicada é exata uma vez que os resultados obtidos na recuperação estão dentro da faixa de 98,0 a 102,0% (JENKE, 1996; BRITO *et al.*, 2003).

4.7.5 Análise quantitativa do AS por espectrofotometria no UV-Vis

Como não existe metodologia oficial para sabonete granulado com ácido salicílico, padronizou-se considerar a faixa de 90,0% a 110,0% estabelecida para espuma tópica de AS (USP 27, 2004) como especificação usual para o teor, de modo que todas as formulações estariam de acordo para este teste, conforme Tabelas 27 e 28. Da mesma forma, após os noventa dias de estudo, também, não foi observada diminuição considerável do teor do princípio ativo (ácido salicílico), em condições padrão (temperatura ambiente - $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$) e em estabilidade acelerada (estufa a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Este resultado comprova a estabilidade da formulação, apesar de se conhecer a instabilidade do ativo empregado e a necessidade de certos cuidados tanto durante a manipulação do dermocosmético, quanto durante as análises.

Tabela 27: Análise do teor de AS (formulação A) à temperatura ambiente.

Dia 0			Dia 7		
Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)	Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)
105.9			106.6		
107.8	106.67 ± 1.00	0.9391	108.9	107.53 ± 1.21	1.1249
106.3			107.1		
Dia 15			Dia 30		
Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)	Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)
105.2			107.2		
104.5	104.83 ± 0.35	0.335	104.5	105.93 ± 1.36	1.2816
104.8			106.1		
Dia 60			Dia 90		
Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)	Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)
104.6			103.6		
104.8	104.3 ± 0.70	0.6711	104.2	103.77 ± 0.38	0.3649
103.5			103.5		

Tabela 28: Análise do teor de AS (formulação A) na estufa (40°C ± 2°C).

Dia 0			Dia 7		
Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)	Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)
108.4			105.6		
108.6	108.30 ± 0.36	0.3329	108.5	106.97 ± 1.46	1.3622
107.9			106.8		
Dia 15			Dia 30		
Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)	Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)
109.8			105.5		
108.5	109.17 ± 0.65	0.596	105.8	105.20 ± 0.79	0.7545
109.2			104.3		
Dia 60			Dia 90		
Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)	Teor AS(%)	Média ± dp	DPR (%)
106.7			107.2		
106.2	105.8 ± 1.10	1.0365	106.3	106.8 ± 0.45	0.4223
104.6			106.8		

4.8 Toxicidade Dérmica

Como pode ser observado nas Figuras 16 e 17, não houve nenhum sinal de eritema e/ou edema nos coelhos testados, já que a pele dos animais permaneceu íntegra após 24, 72 horas e entre os 10 dias consecutivos de aplicações e análises. Dessa forma, as formulações desenvolvidas com os tensoativos cocoil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®]) e lauroil glutamato de sódio (Amisoft LS-11[®]) não apresentam irritação dérmica primária ou cumulativa, logo são consideradas seguras, podendo ser aplicadas até mesmo em áreas mais sensíveis como a face.



Figura 16: Resultado do ensaio de toxicidade dérmica da formulação A.



Figura 17: Resultado do ensaio de toxicidade dérmica da formulação B.

4.9 Pesquisa de opinião sobre sabonete granulado para limpeza da pele acneica

De um total de 30 voluntários inicialmente no estudo, somente 24 pacientes retornaram após os trinta dias de uso do sabonete, sendo 15 mulheres e 9 homens. A utilização do produto não foi constante para 12 voluntários, principalmente, por esquecimento e a frequência de não utilização está apresentada na Figura 18.

Veze sem usar o sabonete:

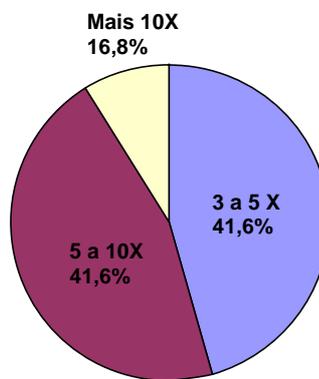


Figura 18: Frequência de não utilização do sabonete para acne.

Com relação aos inconvenientes na utilização do produto, 70,8% destacaram não haver motivos para a não utilização, enquanto, dentre os 29,2%, restantes, alguns afirmaram presença de prurido, não adaptação à embalagem, ausência de cheiro, falta de espuma e de praticidade.

A preferência com relação à forma farmacêutica utilizada para a incorporação do ácido salicílico na limpeza da pele acneica ficou entre os sabonetes em barra e cremosos, conforme observado na Figura 19.

Forma farmacêutica preferencial

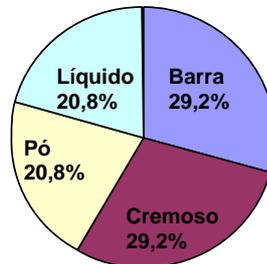


Figura 19: Preferência quanto à apresentação.

Das pessoas com pele acneica questionadas, 58,3% acharam que a forma farmacêutica proposta atendeu melhor do que as outras já utilizadas, 62,5% gostaram da ausência de cheiro e 75% ficaram satisfeitos com a sensação na pele com relação ao toque após a utilização. A forma de apresentação, ou seja, sachet de uso unitário, agradou 62,5% e foi regular para outros 33,3%, sendo desagradável somente para 4,2%. Os motivos apresentados para a forma farmacêutica ter sido agradável foram: ausência de desperdício, facilidade de utilização fora da residência e quantidade ideal. As qualidades que desagradaram foram: tipo de apresentação (granulado), ressecamento da pele e necessidade de diluição em água para aplicação.

A maioria, ou seja, 62,5% achou que a oleosidade da pele foi alterada com a formulação em teste, enquanto 16,7% não notaram diferença com relação a este parâmetro avaliado. Já 54,2% não observaram maior ressecamento da pele.

Com relação ao resultado final, 54,2% ficaram satisfeitos e 58,3% comprariam o produto se este estivesse disponível no mercado (Figura 20). Os motivos apresentados para a compra foram facilidade no transporte, diminuição do sebo e da

oleosidade da pele acneica, praticidade, produto mais higiênico. Já entre os 20,9% que não adquiririam o sabonete granulado, 2 não gostaram e 1 paciente achou a forma proposta pouco prática, discordando da maioria dos voluntários pesquisados.

Compraria o produto?

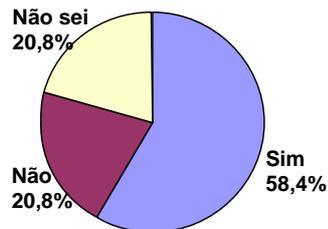


Figura 20: Interesse de compra do produto.

Analisando os dados apresentados, chegou-se a um resultado favorável no que diz respeito à aceitação e aprovação do sabonete granulado proposto para limpeza da pele acneica. Avaliando as respostas, ficou claro que se o produto estivesse disponível no mercado teria procura e interesse por parte dos pacientes acometidos desta dermatose. Mesmo assim, poderia sofrer algumas alterações que melhorassem a forma de apresentação, como, por exemplo, a incorporação de uma essência atrairia mais os pacientes, já que a ausência de perfume foi um dos inconvenientes citados. Outro ponto citado foi com relação ao pouco granulado dispensado em cada sachet, 1,0 g; porém, esta crítica foi isolada, tendo vindo, somente, de um voluntário. A grande maioria elogiou a quantidade, considerada ideal, em cada invólucro, evitando o desperdício e auxiliando para que soubessem quanto do produto iriam utilizar.

4.10 Pesquisa de opinião sobre sabonete granulado para lavagem das mãos

A pesquisa iniciou com 30 voluntários, mas, somente, 26 retornaram para avaliação clínica e preenchimento do questionário, ao final de trinta dias. Destes, nenhum apresentou lesões dermatológicas (xerose, descamação, ceratose, fissura ou eritema) ao iniciar ou ao finalizar o estudo. Foram questionados 23 voluntários do sexo feminino e 3 do sexo masculino, onde 88,5% deixaram de usar o produto, ao menos três vezes, e o principal motivo foi esquecimento, 56,5%. Outros motivos também citados para a não utilização foram, ausência de fragrância, viagem, e pouca praticidade, conforme mostrado na Figura 21.

Motivos para não utilização do produto

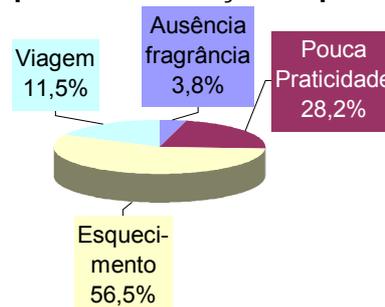


Figura 21: Motivos para não utilização do produto.

Os recipientes utilizados para armazenar o sabonete granulado (formulação B) não agradaram a grande maioria, a talqueira apresentou um dosador de tamanho não adequado para 22,2%, o rótulo de papel se desmanchou em contato com a água em 3,8% e o sachet foi de difícil abertura para 56% dos voluntários que observaram inconvenientes no produto. Ainda em se tratando dos inconvenientes, alguns acharam a sensação nas mãos desagradável, ou seja, observaram aspereza e ressecamento das mãos (34,6%) e, outros, inalaram o pó (7,7%).

Para 61,5%, o sabonete proposto para simples lavagem das mãos não atendeu melhor do que os já disponíveis no mercado nas outras formas farmacêuticas, como líquido e barra. Não souberam opinar 19,25%, enquanto outros 19,25% preferiram a formulação sob a forma de granulado (Figura 22).

Fórmula proposta atendeu melhor?

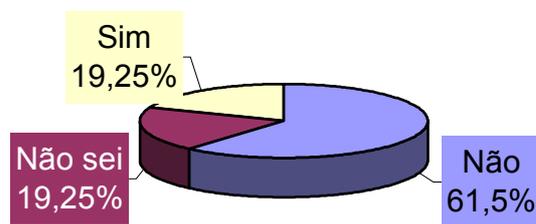


Figura 22: Aceitação do produto proposto.

Este resultado pode estar relacionado ao fato do produto não ter recebido nenhum adicional hidratante, ter sido dispensado sem fragrância e ser uma nova forma de apresentação, que, normalmente, só é veiculada como produto para limpeza de roupa. Isto pode levar a uma não intencional comparação ao “sabão em pó” tradicional, que, normalmente, resseca e descama as mãos, sem trazer nenhum benefício à pele do usuário.

Para fins de pesquisa, a avaliação não é considerada negativa, visto que o interesse maior com esta nova apresentação é a adição de ativos de difícil incorporação nas formas líquidas e semi-sólidas convencionais. Dessa forma, se a idéia fosse comercializá-la como simples sabonete de limpeza, certamente teriam que ser adicionados componentes que valorizem e melhorem o sensorial do produto,

já que o público, em geral, compara com os disponíveis no mercado, que possuem alto poder hidratante e essências agradáveis.

Um fator fundamental para a avaliação da forma farmacêutica sem princípio ativo (formulação B) foi observar se não causaria nenhum tipo de irritação e nem possuía algum inconveniente tão grave que inviabilizasse a sua utilização. Os inconvenientes citados foram: falta de praticidade; talqueira apresentar poros pequenos, que dificultaram a saída do granulado; sachet com difícil abertura; pouca espalhabilidade, conforme mostrado na Figura 23.

Fatores desagradáveis da formulação

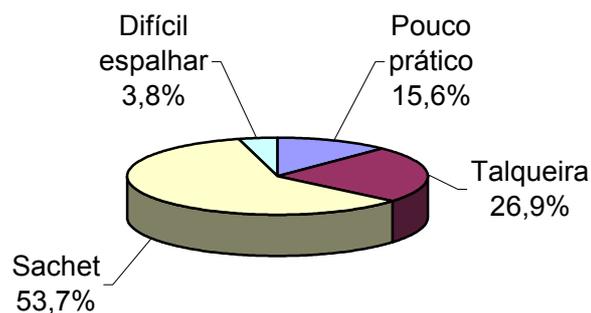


Figura 23: Inconvenientes da formulação.

Estes itens negativos apresentados não interferem na utilização do sabonete, visto que problemas relacionados com a embalagem são facilmente solucionados ao serem substituídos os recipientes, e a falta de praticidade foi apresentada como inconveniente somente para 11,5%, enquanto 30,8% enfatizaram a praticidade no transporte e na aplicação como fatores que beneficiam a formulação.

Analisando o interesse na compra do produto, na forma como foi oferecido aos voluntários, obteve-se 53,8% de pessoas desinteressadas contra 30,8% que comprariam, e 15,4% que não souberam responder. Este resultado, frente a todo o exposto, não foi surpreendente, visto que algumas pessoas que utilizaram o sabonete granulado não gostaram da ausência de perfume, da embalagem disponibilizada (talqueira com poros estreitos e sachets com dificuldade na abertura) e nem da característica de simples limpeza das mãos.

Torna-se importante ressaltar que, apesar da maioria não ter aprovado o sabonete granulado para lavagem das mãos, muitos comentários valiosos foram feitos e vêm de encontro ao que se esperava obter com o desenvolvimento desta nova forma de apresentação para incorporação de princípios ativos: aproveitamento do produto; quantidade exata sem necessidade de armazenar o recipiente (sachet); produto mais higiênico; menor contaminação, por ser uma forma em pó; facilidade de transporte e menor irritabilidade frente aos sabões disponíveis no mercado.

CONCLUSÃO

5. CONCLUSÃO

A análise do potencial irritante *in vitro* realizada com os tensoativos derivados de aminoácidos em estudo (cocoil glutamato de sódio, lauroil glutamato de sódio, miristoil glutamato de sódio, cocoil glicinato de sódio) mostrou que o cocoil glicinato de sódio apresentou desnaturação proteica, utilizando o lauril sulfato de sódio como controle. Cocoil glutamato de sódio, lauroil glutamato de sódio e miristoil glutamato de sódio apresentaram-se menos irritantes que o lauril sulfato de sódio. Dessa forma, estes três tensoativos estariam aptos a serem utilizados nas formulações em desenvolvimento, já que a proposta foi o desenvolvimento de uma nova forma de apresentação menos irritante que os sabonetes convencionais. Na experiência prática com a manipulação destes surfactantes, preferiu-se trabalhar, somente, com o cocoil e lauroil glutamato de sódio (Amisoft CS-11[®] e Amisoft LS-11[®]), pois o miristoil glutamato de sódio, por ser um pó muito fino, mostrou-se, altamente, irritante das mucosas até mesmo durante o preparo dos granulados.

As formulações desenvolvidas (A e B) foram baseadas numa mistura 1:1 dos dois tensoativos selecionados (Amisoft CS-11[®] e Amisoft LS-11[®]), sendo que na primeira (formulação A) foi incorporado ácido salicílico a 2%. O método de preparo seguiu o padrão de granulado e se mostrou bem rápido e prático, até para produção em maior escala.

As duas formulações passaram por testes de espuma, onde os resultados comprovaram que a manutenção da espuma é a mesma, independente da presença ou não de princípio ativo, comprovando que este não será um fator negativo para a aceitação da forma de apresentação testada.

Para avaliação do teor de princípio ativo (ácido salicílico), na formulação A, desenvolveu-se um método analítico através de espectrofotometria no UV-Vis, que

foi, devidamente, validado e mostrou-se específico, linear, preciso e exato, de acordo com a Resolução 899/2003 do Ministério da Saúde / Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Os estudos de estabilidade realizados com as formulações (A e B) forneceram resultados adequados e satisfatórios, ou seja, o sabonete granulado para limpeza da pele acneica, assim como o sabonete granulado para simples lavagem das mãos são estáveis, tanto em temperatura ambiente como estabilidade acelerada ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Os testes de irritação dérmica primária e cumulativa são qualitativos e se mostraram eficazes ao que foram propostos, ou seja, as formulações não apresentaram eritema e/ou edema, confirmando assim o teste de irritabilidade “in vitro” (desnaturação proteica) e comprovando a segurança das formulações desenvolvidas.

A pesquisa de opinião realizada para avaliar a aceitação da nova forma farmacêutica forneceu resultados satisfatórios, pois demonstrou boa aceitação pelos pacientes acometidos de acne, foco principal do trabalho. Já na avaliação dos voluntários que usaram a formulação B (sem incorporação de ácido salicílico), foram apresentadas sugestões, como a troca das embalagens por recipientes de mais fácil utilização, que poderão ser desenvolvidas, uma vez que estas não se encontram disponíveis no mercado.

Outros pontos também serão reavaliados, como a possibilidade da adição de componentes que tornem o produto com um sensorial mais agradável e, com isso, mais atraente, pois ficou claro nos questionários dos voluntários que utilizaram o sabonete sem princípio ativo, o interesse por inovação e superação de expectativas e, não, somente, limpeza das mãos.

*REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS*

Referências:

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). CATEC, Câmara Técnica de Cosméticos, Parecer técnico de 10 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/informa/parecer_lauril.htm>. Último acesso em: 25 de março de 2007.

_____. Guia para avaliação da segurança de produtos cosméticos. Brasília, 2003. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/guia/index.htm>>. Acesso em: 09 de janeiro de 2007.

_____. Resolução nº 899 de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&word=>>>. Último acesso em: fevereiro de 2007.

_____. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília, 2004. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/series/cosmeticos.pdf>>. Acesso em: 24 de julho de 2006.

ABULAFIA, L.A. Tratamento do acne pela isotretinoína. Argumentos a favor do seu uso. An. Bras. Dermatol., v. 65 (5), p. 220, 1990.

AJINOMOTO. Produtos para indústria – Cosméticos – Tensoativos. Disponível em: <<http://www.ajinomoto.com.br/novo/industria.php?prod=amisoft2.shtml>> Último acesso em: março de 2007.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. *Formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos*. 8. ed. Editora Artmed, p. 207-221, 2007.

ANTUNES, D. *Farmácia de manipulação – Noções básicas: curso revisado e atualizado*. Editora Tecnopress, p.82-84, 2002.

ARNAU, A.M.G. *Higiene cutânea: jabones y syndets*. Actualidad Dermatologica, p.85-94, 1995.

BENAVIDES, T.; MITJANS, M.; MARTINEZ, V.; CLAPÉS, P.; INFANTE, M.R.; CLOTHIER, R.H.; VINARDELL, M.P. *Assessment of primary eye and skin irritants by in vitro cytotoxicity and phototoxicity models: an in vitro approach of new arginine-based surfactant-induced irritation*. *Toxicology*, v. 197, p. 229–237, 2004.

BERNHOFER, L. P., BARKOVIC, S., APPA, Y., MARTIN, K. M. *IL-1 α and IL-1 β Secretion from Epidermal Equivalents and the Prediction of the Irritation Potential of Mild Soap and Surfactant-based Consumer Products*. *Toxicology in Vitro*, v.13, p.231-239, 1999.

BOELSMA E., TANOJO, H., BODDÉ, H.E., PONEC, M. *Assessment of the Potential Irritancy of Oleic Acid on Human Skin: Evaluation In Vitro and In Vivo*. *Toxicology in Vitro*, v. 10, p. 129-142, 1996.

BRITISH PHARMACOPEIA 1998. London. The Stationery Office.

BREUER, M.M. *Cosmetic Science*. New York: Academic Press, p.334-338, 1978.

BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. A.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. *Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão*. *Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v.13, p. 129-146, 2003.

CHARBONNIER, V., MORRISON, B.M., PAYE, M., MAIBACH, H.I. *Subclinical, non-erythematous irritation with an open assay model (washing): sodium lauryl sulfate (SLS) versus sodium laureth sulfate (SLES)*. *Food and Chemical Toxicology*, v. 39, p. 279-286, 2001.

CHEAH, O.; CILLIERS, J.J. *Foaming behaviour of Aerosol OT solutions at low concentrations using a continuous plunging jet method*. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v. 263, p. 347–352, 2005.

COTTA, J.A.O., SALAMI, F.H., MARQUES, A.R., REZENDE, M.O.O., LANDGRAF, M.D. *Validação do método para determinação de nitrogênio kjeldahl total*. *Revista Analitika*, 26, Dezembro/2006, Janeiro/2007.

COSMETICS, TOILETRIES AND FRAGRANCE ASSOCIATION. *Ficha Técnica do cocoil glicinato de sódio*. Disponível em: <<http://www.ctfa-online.org>>, último acesso em: janeiro de 2006a.

COSMETICS, TOILETRIES AND FRAGRANCE ASSOCIATION. Ficha Técnica do cocoil glutamato de sódio. Disponível em: <<http://www.ctfa-online.org>>, último acesso em: janeiro de 2006b.

COSMETICS, TOILETRIES AND FRAGRANCE ASSOCIATION. Ficha Técnica do lauroil glutamato de sódio. Disponível em: <<http://www.ctfa-online.org>>, último acesso em: janeiro de 2006c.

COSMETICS, TOILETRIES AND FRAGRANCE ASSOCIATION. Ficha Técnica do miristoil glutamato de sódio. Disponível em: <<http://www.ctfa-online.org>>, último acesso em: janeiro de 2006d.

CUCÉ, L.C.; OLIVEIRA, J.; FESTA, C.; SALEME, D.; DI CAMILLO, S. *Eritromicina tópica na acne vulgar*. An. Brás. Dermatol., v. 60 (6), p. 409-410, 1985.

CUNLIFE, W.J.; HOLLAND, D.B.; JEREMY, A. *Comedone Formation: Etiology, Clinical Presentation, and Treatment*. Clinics in Dermatology Y. 22, p. 367-374, 2004.

DRAELOS, Z.D. Acne, em “*Cosmecêuticos*”, Saunders Elsevier, p.125-126; 185-186, 2005.

EFFENDY, I., MAIBACH, H.I. *Detergent and Skin Irritation*. Clinics in Dermatology, v.14, p.15-21, 1996.

FALCOCCHIO, S.; RUIZ, C.; PASTOR, F.I.J.; SASO, L.; DIAZ, P. *Propionibacterium acnes GehA lipase, an enzyme involved in acne development, can be successfully inhibited by defined natural substances*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2006, IN PRESS.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988a. IV.2 Generalidades – Descrição de substância.

_____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988b. V.2.5. Determinação da densidade de massa e densidade relativa.

_____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988c. V.2.21. Análise de solubilidade por fases.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988d. V.2.19. Determinação do pH.

_____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988e. V.2.2. Determinação da temperatura e faixa de fusão.

_____. 4. ed. São Paulo: Atheneu Ed. São Paulo, 1988f. V.2.20. Determinação de água.

FERREIRA, A.O. *Guia Prático da Farmácia Magistral*. 2ª edição. Juiz de Fora, 2002. 844p.

FROSCH, P.J. *Irritancy of soaps and detergents bars*, em “Principles of cosmetics for the dermatologist”, editado por P. Frost e S. N. Horwitz, The C.V. Mosby Company, p.5-15, 1982.

FURTADO, C.; SANTOS, S.M.B. *Tratamento do acne pela isotretinoína. Contra-indicações e argumentos contrários*. An. Brás. Dermatol., v. 65 (5), p. 221-223, 1990.

GAMONAL, A. *Dermatologia Farmacêutica* 1ª edição. Juiz de Fora: Concorde, p. 17-317, 1999.

GHAIM, J. B.; VOLZ, E. D. Skin Cleansing Bars. In *Handbook of Cosmetic Science and Technology*; Barel, A. O., Paye, M., Maibach, H. I., Eds.; Marcel Dekker: New York, 2001.

GONÇALVES, A.O.; BARROS, R.C.A. *Memento Terapêutico da Farmácia Universitária da UFRJ*. Rio de Janeiro, p. 26-27; 2003.

GONTIJO, B.; SOUZA, E.M.; RIVITTI, E.A.; PONZIO, H.; LASTÓRIA, J.; SANCHES, J.A.; ENOKIHARA, M.; ROTTA, O.; MARQUES, S.A.; ROSA, S.P. *Acne vulgar no tratamento da acne vulgar leve e moderada: experiência clínica brasileira*. An. Brás. Dermatol., v. 70 (6), p. 517-522, 1995.

GONZALEZ-PEREZ, A., RUSO, J.M., PRIETO, G., SARMIENTO, F. *Physicochemical study of ovalbumin in the presence of sodium dodecyl sulphate in aqueous media*. Colloid Polym Sci, v. 282: p. 351–356, 2004.

HAGHEDOOREN, E.; RAJU. K. K. R. B.; DEHOUCK, P.; GOVAERTS, C.; SCHEPDAEL, A.V.; HOOGMARTENS, J.; ADAMS, E. *Investigation of degradation products in a topical gel containing erythromycin and benzoyl peroxide by liquid chromatography–mass spectrometry*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 41, p. 165–175, 2006.

HALL-MANNING T. J., HOLLAND, G. H., RENNIE², G., REVELL, P., HINES, J., BARRATT, M. D., BASKETTER, D. A. *Skin Irritation Potential of Mixed Surfactant Systems*. Food and Chemical Toxicology, v.36, p. 233-238, 1998.

HANSTOCK, T.L.; O'MAHONY, J.F. *Perfectionism, acne and appearance concerns*. Personality and Individual Differences, v. 32, p. 1317–1325, 2002.

HERANE, M.I. *Atualización terapéutica en acne vulgaris*. Dermatol Pediatr Lat, v. 3(1), p. 5-19. 2005.

HERRA, C.G. *El acne e su tratamiento*. Centro Nacional de Informacion de Medicamentos. 2003

HEYLINGS, J.R.; CLOWES, H.M.; HUGHES, L. *Comparison of tissue sources for the skin integrity function test (SIFT)*. Toxicology in Vitro, v. 15, p. 597–600, 2001.

INFANTE, M.R., PÉREZ, L., PINAZO, A., CLAPÉS, P., MORÁN, M.C., ANGELET, M., GARCÍA, M.T., VINARDELL, M.P. *Amino acid-based surfactants*. C. R. Chimie v.7, p. 583–592, 2004.

INFANTE, M.R., PINAZO, A., SEGUER, J. *Non-conventional Surfactants from Amino Acids and Glycolipids*. Structure, Preparation and Properties. Colloids Surfaces A. Physicochem. Eng Aspects v. 123 124 p.49 70, 1997.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ, São Paulo. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*, 3ª ed., São Paulo, p. 21-27, 42, 1985.

JENKE, D. R. *Chromatographic method validation: a review of current practices and procedures. II Guidelines for primary parameters*. Journal Liquid Chromatographic Related Technologies, v. 19, n.5, p. 737-757, 1996.

KILKENNY M., STATHAKIS V., HIBBERT M.E., PATTON G., CAUST J., BOWES G. *Acne in Victorian adolescents: associations with age, gender, puberty and psychiatric symptoms*. Journal Paediatric Children Health, v. 33(5), p. 430-433, 1997.

KORTING, H.C., BRAUN-FALCO, O. *The Effect of Detergents on Skin pH and Its Consequences*. Clinics in Dermatology, v.14, p.23-27, 1996.

KRAUTHEIM, A.; GOLLNICK, H.P.M. *Acne: Topical Treatment*. Clinics in Dermatology, Y. 2, p. :398–407, 2004.

LAYTON, A.M. *Acne vulgaris and similar eruptions*. The Medicin Publishing Company, p. 44-48, 2005.

LEONARDI, G.R.; GASPAR, L.R.; CAMPOS, P.M.B.G.M. *Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva*. Anais Brasileiro de Dermatologia, Rio de Janeiro, v.77(5), p.563-569, 2002.

LEYDEN, J.J. *A review of the use of combination therapies for the treatment of acne vulgaris*. J AM ACAD DERMATOL, v. 49, n. 3, 2003.

MARTINEZ, V.; CORSINI, E.; MITJANS, M.; PINAZO, A.; VINARDELL, M.P. *Evaluation of eye and skin irritation of arginine-derivative surfactants using different in vitro endpoints as alternatives to the in vivo assays*. Toxicology Letters, 2006. Article in press.

MATSUURA F. C. A.U.; CARDOSO, R. L.; RIBEIRO, D. E. *Qualidade sensorial de frutos de híbridos de bananeira cultivar Pacovan*. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.24, n.1, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>>. Acesso em: 29 de setembro de 2006.

MERCK INDEX. 13.ed. New Jersey: Merck & Co, 2001.

MIGUEL, M.D.; ZANIN, S.M.W.; MIGUEL, O.G.; ROZE, A.O.; OYAKAWA, C.N.; OLIVEIRA, A.B. *O cotidiano das farmácias de manipulação*. Visão Acadêmica, v. 3, n. 2, p. 103-108, 2002.

MOREN, A.K., KHAN, A. *Phase Behavior and Phase Structure of Protein–Surfactant–Water Systems*. Journal of Colloid and Interface Science, v.218, p. 397–403, 1999.

PELLERANO, G. *Acné ¿qué hacer?* Arch.argent.pediatr;, v. 101(6) , p. 510-512, 2003.

PEREIRA, C.A.C.; SOUZA, S.L.P.; TAVARES, N.S.L.; PICCININI, V.C.; MATINS, L.H.A. *Tratamento do acne vulgar pela eritromicina tópica*. An. Brás. Dermatol., v. 60 (6), p. 411-414, 1985.

PIQUERO, J. *Isotretinoína: su uso en el acné del adolescente*. Dermatol Pediatr Lat, v. 2(1), p. 72-81, 2004.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R.M.R. *Tecnologia Farmacêutica*. 6ª edição, v.1. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, p. 314-315, 2002.

RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F., MELO, L. F. C. *Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos*. Química Nova, v 27, n 5. p. 771-780, 2004.

RIGANO, L.; TRENTI, R.; GUALA, R.; MERLO, E.; VILLA, G.; Gazzaniga, G.; Zschimmer, G.R. *Selective cleansing with natural multifunctional surfactants*. Cosmetics and Toiletries Manufacture Worldwide, p.41-45, 2002.

ROBINSON, M.K.; Kruszewski, F.H.; Al-Atrash, J.; Blazka, M.E.; R. Gingell; Heitfeld, F.A.; Mallon, D.; Snyder, N.K.; Swanson, J.E.; Casterton, P.L. *Comparative assessment of the acute skin irritation potential of detergent formulations using a novel human 4-h patch test method*. Food and Chemical Toxicology, v. 43, p. 1703–1712, 2005.

ROSALES Z.J.M.; MUÑOZ B.J.C. *Formulación magistral en atención primaria*. Medicina de Familia ,v. 2, n. 1, 2001.

SANTOS, L.P. *Acne Vulgar – Ativos mais utilizados e proposta de um sabonete antiacne*. Rio de Janeiro, 2003. 57p. Dissertação de Especialização em Manipulação Farmacêutica, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

SHALITA, A.R. *Acne: Clinical Presentations*. Clinics in Dermatology Y. 22, p. 385–386, 2004.

SILVA, M.R.; CARNEIRO, S.C.S.; PONZIO, H.A.; ASSUNÇÃO, B.F.G.; CARDOSO, A.E.C.; ALMEIDA, F.A.; ZAITZ, C.; CAMPBELL, I. *Estudo clínico aberto multicêntrico da efetividade e tolerabilidade do gel de adapaleno a 0,1% em pacientes com acne vulgar*. An bras Dermatol, v., 78(2), p. 155-168, 2003.

SOUZA, A.; CHRISTIANSEN, C.; JAMIE, S. *The Use of Salicylic Acid in a New Delivery System as a Co-Adjuvant Topical Treatment for Acne Vulgaris*. Aesthetic Surgery Journal, v. 25, p. 40-43, 2005.

SUBRAMANYAN, K., HAWKINS, S., JOHNSON, A. *Cosmetic Benefits of Mild Cleansing Syndet Bars Versus Soap*. J. Am. Acad. Dermatol., p.88, 2005.

TABOHASHI, T., TOBITA, K., SAKAMOTO, K., KOUCHI, J., YOKOYAMA, S., SAKAI, H., ABE, M. *Solution properties of amino acid-type new surfactant*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces v.20, p. 79–86, 2001.

TABORDA, M.L.V.V.; WEBER, M.B.; FREITAS, E.S. *Avaliação da prevalência de sofrimento psíquico em pacientes com dermatoses do espectro dos transtornos psicocutâneos*. An Bras Dermatol., v. 80(4), p. 351-354, 2005.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. Official monographs, *Validation of compendial methods*. 23. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2000.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. General Chapters, *In vitro and in vivo evaluation of dosage forms*. 27. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2004. Cap. 1088, p. 2670-2675.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. Official monographs, *Validation of compendial methods*. 29. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2006. Cap.1225, p. 3050-3053.

VAN ROOSMALEN, M.J.E., WOERLEE, G.F., WITKAMP, G.J. *Amino acid based surfactants for dry-cleaning with high-pressure carbon dioxide*. J. of Supercritical Fluids, v.32, p. 243–254, 2004.

VAZ, A.L. *Acne vulgar: bases para o seu tratamento*. Rev Port Clin Geral, v. 19, p. 561-570, 2003.

WALSH, J., ROSSON, G. *Syndet – A Skyn friendly alternative to soap*. *Cosmetics and Toiletries Manufacture Worldwide*, p. 240-244, 2000.

WEBSTER, G. *Combination azelaic acid therapy for acne vulgaris*. *J Am Acad Dermatol*, v. 43, p. S47-50, 2000.

WEBSTER, G.F. *Acne Vulgaris and Rosacea: Evaluation and Management*. *Office Dermatology*, v. 4, n.1, p. 15-22, 2001.

WELSS, T., BASKETTER, D.A., SCHRODER, K. R. *In vitro skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models*. *Toxicology in Vitro*, v. 18, p.231–243, 2004.

YING, G.G. *Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment*. *Environment International*, v.32, p.417–431, 2006.

ANEXOS

ANEXOS

Anexo I – Aprovação CEP/HUCFF Sabonete Granulado Limpeza Pele Acneica



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Coordenador:

Luiz Carlos Duarte
de Miranda
Médico - Prof. Adjunto

Secretário:

Mírio Teisara Antonio
Farmacêutico - Especialista

Membros Titulares:

Alice Helena Dutra Violante
Médico - Prof. Adjunto

Antonio de Magalhães
Marinho

Enfermeiro - Mestre

Beatriz Moritz T rope
Médico - Doutorando

Eduardo Jorge Bastos
Cortes

Médico - Prof. Assistente

Eliza Regina Ambrosio
Assistente Social - Mestre

Luiz Bordin Pereira da
Ouriha

Médico - Especialista

Maria de Fátima Gustavo
Lopes

Representante dos Usuários

Paulo Façó Barros

Médico - Prof. Adjunto

Zuzmara Rodrigues da Silva
Professora

Membros Suplentes

Alberto Knyyem Arbex
Médico - Doutorando

Daniel Savignon Marinho
Farmacêutico - Especialista

Halina Warzynsky
Representante dos Usuários

Luzia da Conceição de
Araújo Marques

Enfermeiro - Mestre

Maria Adelaide Moreira
dos Santos

Nutricionista - Mestre

Mírio Fernando Petzhold
Engenheiro - Doutor

Orlando Nunes Cosenza
Sociólogo - Doutor

Roberto Coury Pedrosa
Médico - Doutor

Vaníia Dias de Oliveira
Assistente Social

CEP - MEMO - n.º 940/06

Rio de Janeiro, 04 de dezembro de 2006.

Do: Coordenador do CEP

A (o): Sr. (a) Pesquisador (a): Dra. Elisabete Pereira dos Santos

Assunto: Parecer sobre projeto de pesquisa

Sr. (a) Pesquisador (a),

Informo a V. Sa que o CEP constituído nos Termos da Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao protocolo e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Protocolo de Pesquisa: 160/06 - CEP

Título: “Desenvolvimento de Sabonete Granulado Suave para Uso Tópico na Limpeza da Pele Acneica.”

Pesquisador (a) responsável: Dra. Elisabete Pereira dos Santos

Data de apreciação do parecer: 13/11/06

Parecer: “APROVADO”

Informo ainda, que V. Sa. deverá apresentar relatório semestral, previsto para 13/05/07, anual e/ou relatório final para este Comitê acompanhar o desenvolvimento do projeto. (item VII. 13.d., da Resolução n.º 196/96 – CNS/MS).

Atenciosamente,

Prof. Luiz Carlos Duarte de Miranda
Coordenador do CEP

Anexo II – Aprovação CEP Sabonete Granulado Lavagem das Mãos



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
Faculdade de Medicina
Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Coordenador:

Luiz Carlos Duarte
de Miranda

Médico - Prof. Adjunto

Secretário:

Mário Teixeira Antonio
Farmacêutico - Especialista

Membros Titulares:

Alice Helena Dutra Viobante

Médico - Prof. Adjunto

Antonio de Magalhães
Marinho

Enfermeiro - Mestre

Beatriz Moritz Tropé

Médico - Doutorando

Eduardo Jorge Bastos
Cortes

Médico - Prof. Assistente

Eliza Regina Ambrosio
Assistente Social - Mestre

Luiz Botelho Passarada
Cunha

Médico - Especialista

Maria de Fátima Gustavo
Lopes

Representante dos Usuários

Paulo Eloy Barros

Médico - Prof. Adjunto

Tamara Rodrigues da Silva
Professora

Membros Suplentes

Alberto Kinyem Arbex

Médico - Doutorando

Daniel Savignin Marinho
Farmacêutico - Especialista

Helena Warzynsky

Representante dos Usuários

Lúcia da Conceição de
Araújo Marques

Enfermeiro - Mestre

Maria Adelaide Moreira
dos Santos

Nutricionista - Mestre

Márcio Fernando Petzhold
Engenheiro - Doutor

Orlando Nunes Cosenza
Sociólogo - Doutor

Roberto Górgy Reutrosi
Médico - Doutor

Vania Dias de Oliveira
Assistente Social

CEP - MEMO - n.º 948/06

Rio de Janeiro, 05 de dezembro de 2006.

Do: Coordenador do CEP

A (o): Sr. (a) Pesquisador (a): Dr.ª Bárbara da Silva e Souza Lorca

Assunto: Parecer sobre projeto de pesquisa

Sr. (a) Pesquisador (a),

Informo a V. Sa que o CEP constituído nos Termos da Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e, devidamente registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, recebeu, analisou e emitiu parecer sobre a documentação referente ao protocolo e seu respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme abaixo discriminado:

Protocolo de Pesquisa: 219/06 - CEP

Título: "Desenvolvimento de Sabonete Granulado Hidratante para Lavagem das Mãos."

Pesquisador (a) responsável: Dr.ª Bárbara da Silva e Souza Lorca

Data de apreciação do parecer: 13/11/06

Parecer: "APROVADO"

Informo ainda, que V. Sa. deverá apresentar relatório semestral, previsto para 13/05/07, anual e/ou relatório final para este Comitê acompanhar o desenvolvimento do projeto. (item VII. 13.d., da Resolução n.º 196/96 - CNS/MS).

Atenciosamente,

Prof. Luiz Carlos Duarte de Miranda
Coordenador do CEP

Anexo III – Questionário Sabonete Granulado Limpeza Pele Acneica

PESQUISA DE OPINIÃO

Não é necessário se identificar, porém sua opinião é muito importante para o projeto.
Agradecemos a sua participação!

Idade: ____ anos.

Sexo:

Feminino Masculino

Você deixou de usar o produto durante esses 30 dias?

sim não

Se sim, quantas vezes?

entre 1 e 2 entre 3 e 5 entre 5 e 10 vezes mais de 10 vezes

Por quê? _____

Observou algum inconveniente ao usar o produto?

sim não

Qual? _____

Qual a sua preferência em relação à forma de apresentação de um sabonete?

líquido barra pó creme

Em relação aos demais sabonetes utilizados normalmente, este atendeu melhor?

sim não não sei

Qual a sensação do produto na pele em relação ao cheiro?

desagradável não sei agradável

Qual a sensação do produto na pele em relação ao toque após o uso?

desagradável não sei agradável

Qual a sua opinião com relação à forma de apresentação do produto?

desagradável razoável agradável

Por quê? _____

A apresentação em sachet facilitou o uso do produto fora da sua residência?

sim não não observado

Por quê? _____

A quantidade de pó em cada sachet foi suficiente?

sim não não observado

O sachet foi uma apresentação de manuseio agradável?

sim não não observado

Em caso negativo, por quê?

O enxágue foi fácil?

sim não não observado

A quantidade de espuma interferiu no uso do produto?

sim não não observado

Observou alguma mudança quanto à oleosidade da pele?

sim não não observado

Se não, sua pele ficou mais ressecada?

sim não não observado

Em relação ao resultado final, você ficou:

insatisfeito indiferente satisfeito

Você usaria esta apresentação em pó em outra parte do corpo, como couro cabeludo?

sim não não sei

Compraria este produto caso estivesse disponível no mercado?

sim não não sei

Por quê? _____

Você acrescentaria algum comentário em relação à pesquisa e ao produto que não tenha sido abordado?

Anexo IV – Questionário Sabonete Granulado Lavagem das Mãos

PESQUISA DE OPINIÃO

Não é necessário se identificar, porém sua opinião é muito importante para o projeto.
Agradecemos a sua participação!

Idade: ____ anos.

Sexo:

Feminino Masculino

Você deixou de usar o produto durante esses 30 dias?

sim não

Se sim, quantas vezes?

entre 1 e 2 entre 3 e 5 entre 5 e 10 vezes mais de 10 vezes

Por quê? _____

Observou algum inconveniente ao usar o produto?

sim não

Qual? _____

Qual a sua preferência em relação à forma de apresentação de um sabonete?

líquido barra pó creme

Em relação aos demais sabonetes utilizados normalmente, este atendeu melhor?

sim não não sei

Qual a sensação do produto na pele em relação ao cheiro?

desagradável não sei agradável

Qual a sensação do produto na pele em relação ao toque após o uso?

desagradável não sei agradável

Qual a sua opinião com relação às formas de apresentação do produto?

desagradável razoável agradável

Por quê? _____

A apresentação em sachet facilitou o uso do produto fora da sua residência?

sim não não observado

Porque? _____

A quantidade de pó em cada sachet foi suficiente?

sim não não observado

O sachet foi uma apresentação de manuseio agradável?

sim não não observado

Em caso negativo, por quê?

A talqueira foi uma apresentação de manuseio agradável?

sim não não observado

Em caso negativo, por quê?

O enxágüe foi fácil?

sim não não observado

A quantidade de espuma interferiu no uso do produto?

sim não não observado

Observou alguma mudança quanto à hidratação das mãos?

sim não não observado

Se não, suas mãos ficaram mais ressecadas?

sim não não observado

Em relação ao resultado final, você ficou:

insatisfeito indiferente satisfeito

Você usaria esta apresentação em pó em outra parte do corpo, como couro cabeludo?

sim não não sei

Compraria este produto caso estivesse disponível no mercado?

sim não não sei

Porque? _____

Você acrescentaria algum comentário em relação à pesquisa e ao produto que não tenha sido abordado?

Anexo V – Trabalho aprovado para 21º Congresso de Cosmetologia / 2007.

ANÁLISE “*IN VITRO*” E “*IN VIVO*” DO POTENCIAL IRRITANTE DE TENSOATIVOS DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS

Bárbara da Silva e Souza Lorca¹, Nádia Maria Volpato², Laís Bastos da Fonseca¹, Elisabete Pereira dos Santos¹.

1- Faculdade de Farmácia – Departamento de Medicamentos - Universidade Federal do Rio de Janeiro

2- Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Introdução: Os detergentes, muito empregados em cosméticos e produtos de higiene, possuem propriedades físico-químicas cruciais para o aparecimento de reações inflamatórias na pele. Estas alterações são causadas, normalmente, pela desnaturação de proteínas encontradas na epiderme, pela ligação das moléculas irritantes à queratina ou delipidação¹. Para diminuir o potencial de toxicidade, os tensoativos derivados de aminoácidos mimetizam os compostos naturais e apresentam alta eficácia, além de pequeno impacto ambiental². O baixo poder de irritação destes novos derivados pode ser avaliado através de testes “*in vitro*” e/ou “*in vivo*”^{3,4,5}. **Objetivos:** Avaliar a desnaturação de proteína dos compostos derivados de aminoácidos e do lauril sulfato de sódio (LSS) e realizar testes de irritação dérmica primária e cumulativa com os detergentes estudados que não apresentaram irritação “*in vitro*”. **Metodologia:** A partir de soluções a 5% de cada um dos tensoativos (cocoil glutamato de sódio, lauroil glutamato de sódio, miristoil glutamato de sódio e cocoil glicinato de sódio e LSS) e claras de ovos (ovalbumina) foi realizado teste de desnaturação protéica, baseado em estudo que comprovou a irritação causada pelos surfactantes com radical lauril e observou que a ovalbumina apresenta a mesma solubilidade das proteínas encontradas na epiderme⁶. A leitura da transmitância foi feita a 660nm após 2 minutos de agitação da mistura (tensoativo + clara de ovo). No teste de irritação dérmica primária e cumulativa foram usados coelhos albinos, de 1,5 kg, com região dorsal depilada e dividida em áreas, onde parte recebeu aplicação de patch oclusivo contendo amostra a ser analisada e outra funcionou como controle. A pele dos animais foi avaliada quanto à sua integridade, ou seja, presença de eritema e/ou edema, 24 e 72 horas após cada aplicação. **Resultados:** Os tensoativos derivados de aminoácidos cocoil glutamato de sódio, lauroil glutamato de sódio, miristoil glutamato de sódio não apresentaram ação sobre as proteínas do ovo, já cocoil glicinato de sódio e LSS, ao serem comparados com o controle (clara de ovo + água destilada), apresentaram diferença significativa, caracterizando desnaturação protéica. Os testes de irritação “*in vivo*” foram realizados, somente, com os detergentes que, “*in vitro*”, não apresentaram poder irritante, caracterizado pela ação desnaturante. Não foi observado edema ou eritema na pele de nenhum dos animais submetidos ao teste. **Discussão e Conclusão:** No teste de desnaturação protéica, a partir de valores de transmitância, foi avaliada presença de desnaturação, que caracteriza ação irritante do composto. Baseado nos resultados em proteínas de ovo foi realizada análise, em coelhos, dos tensoativos que não apresentaram ação desnaturante. Esta confirmou os resultados obtidos na análise “*in vitro*”, visto que a pele dos coelhos permaneceu íntegra em todos os tempos avaliados. Com isso, cocoil glutamato de sódio, lauroil glutamato de sódio, miristoil glutamato de sódio não são tensoativos potencialmente irritantes e pode-se afirmar que os métodos propostos são satisfatórios para avaliação de irritabilidade. **Bibliografia:** 1)WELSS, T., BASKETTER, D.A., SCHRODER, K. R. *In vitro* skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models. *Toxicology in Vitro*, v. 18, p.231–243, 2004. 2)INFANTE, M.R.et al. Amino acid-based surfactants. *C. R. Chimie* v.7, p. 583–592, 2004. 3)MOREN, A.K., KHAN, A. Phase Behavior and Phase Structure of Protein–Surfactant–Water Systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, v.218, p. 397–403, 1999. 4)GONZALEZ-PEREZ, A., RUSO, J.M., PRIETO, G., SARMIENTO, F. Physicochemical study of ovalbumin in the presence of sodium dodecyl sulphate in aqueous media. *Colloid Polym Sci*, v. 282: p. 351–356, 2004. 5)AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia para avaliação da segurança de produtos cosméticos, maio, 2003.6)BREUER, M.M. *Cosmetic Science*. New York: Academic Press, p.334-338, 1978.