

MAFALDA ALEXANDRA MARQUES PEIXE DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE PROTETORES SOLARES
BIOATIVOS**

Orientadores: Prof. Doutor Pedro Fonte & Prof. Doutor André Rolim Baby

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2018

MAFALDA ALEXANDRA MARQUES PEIXE DE OLIVEIRA

**DESENVOLVIMENTO DE PROTETORES SOLARES
BIOATIVOS**

Dissertação defendida em provas públicas na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 22 de Março de 2018, perante o júri, nomeado pelo Despacho de Nomeação nº 59/2018 de 9 de Fevereiro, com a seguinte composição:

Presidente: Prof. Doutor Nuno Almeida Saraiva

Arguente: Prof^ª. Doutora Catarina Fialho Rosado

Orientador: Prof. Doutor Pedro Lopes da Fonte

Vogais: Prof^ª. Doutora Ana Mirco (Especialista ULHT) e Prof^ª. Doutora Maria Dulce Várzea (Especialista ULHT)

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde**

Lisboa

2018

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer o apoio da minha família e amigos ao longo de todos os anos de curso que me incentivaram a ser mais e melhor.

À Universidade de São Paulo e toda a equipa que me recebeu, à Prof. Joana Mota, ao Prof. André Baby e à Prof. Claudineia Pinto, os meus mais sinceros agradecimentos porque sem eles todo o projeto não tinha sido desenvolvido, e por todo o apoio que me deram. Deixo também um feliz sentimento a todos os que me acompanharam na ida ao Brasil, foi uma jornada complexa, num mundo novo, mas que me trouxe muita felicidade e sobretudo crescimento.

À Prof. Joana deixo também um agradecimento especial pelo convite e pelo incentivo de participação no projeto.

A todos os colegas e professores que tive oportunidade de conhecer e conviver durante o curso gostaria também de deixar o meu apreço, e esperar que o futuro de todos seja muito promissor.

Ao Prof. Pedro Fonte por me ter apoiado na fase final da tese, e ter feito com que a finalização do projeto fosse mais eficaz.

À Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, e à Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde, pelos conhecimentos adquiridos ao longo do Mestrado.

Resumo

Palavras-chave: radiação UV, pele, cafeína, filtro solar, fotoprotetor.

A presença de filtros UV nos produtos de cuidado da pele e cosméticos representa um dos benefícios principais prestados aos consumidores a nível de saúde pública. Os perigos da exposição diária aos raios ultravioleta são, atualmente, bem conhecidos e descritos. Os raios UV têm influência em várias alterações cutâneas no fotoenvelhecimento. Os danos da radiação UV na pele verificam-se diretamente a nível do DNA e indiretamente no sistema imunitário a nível cutâneo.

As formulações cosméticas têm uma vasta gama de ingredientes fotoprotetores ativos para incorporação consoante os diferentes tipos de fotoprotetor desejado. A seleção dos mesmos é feita consoante a legislação e regulamentação do país de produção e qual será o produto final no mercado.

Nesta dissertação foi estudado o efeito da cafeína como fotoestabilizador de protetores solares bioativos contendo avobenzona e *p*-metoxicinamato de otilo (instáveis quando presentes na mesma formulação). Alguns dos efeitos benéficos da cafeína na saúde humana têm sido comprovados ao longo dos tempos. Os seus mecanismos de ação demonstram que incorporada em determinadas formulações e concentrações poderá funcionar como um filtro solar potente e trazer novidades ao mundo da proteção solar.

Abstract

Keywords: UV radiation, skin, caffeine, sunblock, photoprotector.

The presence of UV filters in skin care products and cosmetics represents one of the major benefits to consumers in public health. The risks associated to daily exposure to Ultraviolet (UV) rays are currently part of established knowledge. UV rays have influence on almost all skin changes related to photoaging. Skin damages provoked by UV radiation in the skin occur both directly at the DNA level and indirectly in the cutaneous immune system.

The cosmetic formulations have a wide range of photoprotective active ingredients that can be incorporated depending on the different types of photoprotector desired. Their selection is done according to the legislation and regulations in the country of production and what will be the final product in the market.

In this dissertation the effect of caffeine as a photo-stabilizer of bioactive sunscreens containing avobenzene and p-methoxycinnamate (unstable when present in the same formulation) was studied. Some of the beneficial effects of caffeine on human health have been proven over time. its mechanisms of action demonstrate that, as part of certain formulations and concentrations, caffeine can act as a potente sunscreen and bring innovation to the world of sun protection.

Abreviaturas e siglas

BMBM – Avobenzona

Colipa – The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association

CV – Coeficiente de variação

DEM – Dose eritematógena mínima

ADN - Ácido desoxirribonucleico

DP – Desvio Padrão

ERO – Espécies reativas de oxigénio

UE – União Europeia

EUA – Estados Unidos da América

FDA – Food and Drug Administration

FPS – Fator de proteção solar

FPU – Fator de proteção Ultravioleta

FPUVA – Fator de proteção UVA

FPUVB – Fator de proteção UVB

GTCC – Triglicéridos de ácido cáprico e ácido caprílico

IV – Infravermelho

MCO – p-Metoxicinamato de octilo

OTC – *Over-the-counter*

PABA- Ácido p-aminobenzóico

RUV – Radiação Ultravioleta

TiO₂ – Dióxido de titânio

UV – Ultravioleta

UVA – Ultravioleta A

UVB – Ultravioleta B

UVC – Ultravioleta C

ZnO – Óxido de zinco

Índice

1. Introdução.....	10
1.1. Questões étnicas e sociais	11
1.2. A Radiação Solar.....	12
1.3. Riscos, Benefícios e Patologias Associadas	13
2. Fotoproteção	15
2.1. Tipos de Fotoprotetores	17
3. Filtros Solares	18
3.1. Filtros UVB	18
3.1.1. PABA (Ácido <i>p</i> -aminobenzóico) e seus derivados.....	18
3.1.2. Cinamatos	19
3.1.3. Salicilatos	19
3.1.4. Derivados de Cânfora	19
3.1.5. Octocrileno	20
3.1.6. Ácido Fenilbenzimidazol Sulfónico	20
3.1.7. Triazonas.....	20
3.2. Filtros UVA	21
3.2.1. Benzofenonas	22
3.2.2. Antranilato de metilo.....	22
3.2.3. Metoxidibenzoilmetano butil	22
3.3. Protetores físicos.....	23
3.3.1. Dióxido de titânio	24
3.3.2. Óxido de zinco	25
4. Legislação e Mercado de Protetores Solares.....	26
4.1. Europa	26
4.2. Estados Unidos.....	27
4.3. Austrália / Nova Zelândia	27
5. Eficácia dos Fotoprotetores.....	28
5.1. Proteção e definição do Fator de Proteção Solar	29
5.2. Resistência à água e suor	31
5.2.1. FDA Guideline	31
5.2.2. Australian Guideline / Nova Zelândia	31
5.2.3. Colipa Guideline.....	32
5.3. Suplementos Alimentares.....	33
6. Formulação	35
6.1. Constituintes Normais de um Fotoprotetor	35

6.2. Reações Adversas e Toxicidade	36
6.3. Tipo de Emulsão	37
6.4. Cafeína	39
6.5. Avobenzona	40
6.6. <i>p</i>-Metoxicinamato Octilo	41
7. Objetivo	43
8. Materiais e Métodos	44
8.1. Otimização da formulação	45
8.2. Avaliação da Base (Estabilidade)	50
8.2.1. Caracterização funcional <i>in vitro</i> das preparações: Fator de Proteção Solar estimado	51
9. Resultados e Discussão	53
9.1. Comparação Final	53
10. Conclusão e Perspetivas Futuras	58
Referências bibliográficas	60
Anexos	
Anexo 1.....	I
Anexo 2.....	V
Anexo 3.....	VI
Anexo 4	VII

Índice de tabelas

Tabela 1. Evolução cronológica dos principais métodos de determinação do FPS no mundo (p.33).

Tabela 2. Composição qualitativa e quantitativa (%p/p) das emulsões preparadas para avaliação (p.46).

Tabela 3. Nomeação das formulações e constituintes em estudo (p.49).

Anexo 1. Relação de filtros solares aprovados no Brasil, Estados Unidos, Comunidade Européia e Austrália (p.I).

Anexo 2. Filtros Solares aprovados pelo FDA e espectro de proteção (p.V).

Anexo 3. Características básicas de procedimentos dos métodos European Cosmetics Association e United States para a determinação da eficácia fotoprotetora in vitro (p.VII).

Índice de figuras

Figura 1. Indicência da radiação UV na superfície cutânea com e sem filtro solar (p.17).

Figura 2. Modo como os diferentes raios solares na pele (p.28).

Figura 3. Compostos utilizados nas principais formulações de fotoprotetores (p.42).

Figura 4. Comparação entre o FPS sem radiação de todas as formulações (**F1:** 4%Aris/SCaf; **F2:** 6%Aris/SCaf; **F3:** 4% Crod/sCaf; **F4:** 6%Crod/sCaf; **F5:** 4% Aris/1%Caf; **F6:** 6% Aris/1%Caf; **F7:** 4% Crod/1%Caf; **F8:** 6%Crod/1%Caf) (p. 53).

Figura 5. Comparação entre o FPS sem radiação das Formulações F8, F9 e F10 (p.54).

Figura 7. Desmonstração da manutenção do FPS durante o tempo de exposição à radiação (p.54).

Figura 7. Avaliação do FPS ao longo do tempo de exposição à radiação (p.54).

Figura 8. Comparação entre Formulações Crodafos 4% e 6% com e sem cafeína(p.55).

Figura 9. Comparação dos resultados entre F4 e F8 (p.56).

Figura 10. Comparação entre as formulações F8, F9 e F10 (p.57).

Anexo 4. Fotografias pessoais durante o projeto de iniciação científica, na USP.

1. Introdução

Ao longo dos anos, a investigação na área da proteção solar sofreu um crescimento exponencial. A produção de métodos mais adequados e eficazes de combate contra os seus efeitos negativos constitui um dos temas de maior interesse por parte da indústria. A preocupação com o sol e a procura de meios para combater os efeitos negativos da exposição solar iniciou-se em 1880 quando o sulfato de quinina acidificado foi proposto como fotoprotetor químico (Tanner, 2006). No início do século XX, descobriu-se que a Esculina, extrato de castanha, usada na medicina popular durante muitos anos, tinha maior efeito como protetor solar do que o sulfato de quinina acidificado.

Entretanto começaram a surgir moléculas químicas com maior eficácia como o benzil salicilato e o benzil cinamato que foram os dois primeiros filtros UV a serem incorporados comercialmente nos protetores solares nos Estados Unidos em 1928. Em 1930, o fenil salicilato foi usado, pela primeira vez, num protetor solar australiano (Levy, 2012). O ácido *p*-amino benzóico (PABA), que hoje é dos filtros mais utilizados, foi patenteado em 1943, levando ao desenvolvimento de filtros UV derivados deste (Barata, 2002; Mitsui, 1998).

Nos anos 80, o interesse comercial nos protetores solares aumentou significativamente levando à pesquisa de produtos com maior aceitação por parte dos consumidores tornando-os mais eficazes nas duas décadas seguintes.

O aumento da consciência dos perigos da exposição à RUV provocou um aumento na utilização de produtos com FPS superior, começando a utilizar filtros UV nos produtos *de Day Care* como bases, cremes de rosto, aplicações capilares, entre outros (Barata, 2002; Dupont et al., 2013; Mitsui, 1998; Shai et al., 2009).

Preocupações relacionadas com a adequação da protecção solar para a prevenção do melanoma e fotoenvelhecimento levaram, nos últimos anos, a um maior interesse no amplo espectro de proteção solar em toda a faixa UV (Levy, 2005). Os efeitos benéficos da radiação solar para o corpo humano são inegáveis. O aquecimento do corpo, a estimulação da circulação sanguínea e o tratamento de doenças como o raquitismo, a icterícia, a psoríase, o eczema, a esclerose múltipla e a asma são benefícios diretos da exposição à radiação solar. Além disso, também proporciona sensação de bem-estar e produção de vitamina D, sendo esta essencial para a manutenção da saúde e prevenção de doenças. Apesar dos benefícios, o excesso de

exposição solar pode trazer danos agudos e crónicos ao organismo humano (Forestier, 2008).

O objetivo da investigação foi assim testar o efeito da cafeína como filtro solar e fotoestabilizador de um protetor solar com Avobenzona e MCO.

1.1. Questões étnicas e sociais

A crescente consciência sobre os efeitos nocivos da luz solar tem levado a uma demanda significativa para uma produção de novos e mais eficazes protetores solares que visem uma maior proteção e um alargamento do conceito de proteção solar (Dupont et al., 2013; Mitsui, 1998).

Esta mudança é claramente refletida pelo aumento constante no FPS. Os valores do FPS da maioria dos filtros solares existentes no mercado são agora entre 20 e 50, bastante elevados em comparação com 2 a 8, no final da década de 1980. Para além disso, já são encontrados, facilmente no mercado, protetores solares com FPS maior que 50 (Levy, 2005).

No entanto, a incapacidade de usar o protetor solar adequado é uma grande preocupação e é necessário um grande esforço educacional a respeito da quantidade de produto aplicado, a frequência de utilização, o FPS necessário, os horários de exposição solar, entre outros fatores (Dupont et al., 2013; Mitsui, 1998).

A intensidade e quantidade de radiação UV que atinge a pele humana variam consoante a posição geográfica, a época do ano e o período do dia (Mitsui, 1998).

Há também diferenças significativas a nível da exposição solar nas diferentes culturas e países. Em determinadas culturas, visto não existir praticamente horário solar, nomeadamente na época de inverno, têm uma necessidade física e psicológica de obter radiação solar para o seu bem-estar. Em sentido inverso, nas culturas onde a radiação solar é abundante os habitantes tendem a proteger-se fisicamente do sol. Nos países em que a exposição solar é intermédia há uma sobrevalorização dos conceitos estéticos associados ao sol (Tanner, 2006).

Em muitos países da Ásia, por exemplo, ainda se considera que o tom de pele bronzeada representa pobreza e, como tal, existe por parte da alta sociedade um cuidado muito superior com a radiação solar e com os possíveis danos causados pela mesma. Por outro lado, existe um descuido muito grande por parte das pessoas mais carenciadas, por falta de conhecimento e principalmente poder económico (Tanner, 2006).

Ao longo dos anos o conceito tradicional "filtro solar" tem sido ampliado para "fotoproteção", incluindo a radiação UVA e as suas consequências como um problema de saúde pública em geral (Levy, 2005). A fotoproteção surge assim como uma medida terapêutica e profilática frente aos efeitos induzidos pela radiação UV, a curto e longo prazo (González et al., 2008).

1.2. A Radiação Solar

O espectro de radiação solar é composto por radiação eletromagnética que é dividida consoante o seu comprimento de onda (λ) em radiação ultravioleta (RUV), com λ entre 100 e 400nm, luz visível, que vai de 400 a 780nm, e radiação infravermelha (IV) superior a 780nm (Balogh et al., 2011; Shai, Maibach, & Baran, 2009; Svobodova, Walterova, & Vostalova, 2006).

A radiação UV que atinge a superfície da terra pode ser dividida em UVC (100-290nm), UVB (290-320 nm) e UVA (320-400 nm) (Balogh et al., 2011; Shai, Maibach, & Baran, 2009; Svobodova, Walterova, & Vostalova, 2006).

A radiação UVA é a que apresenta um maior λ mas mais baixa energia, com capacidade de penetração elevada através da pele. Esta é responsável pelo escurecimento da pele e pelo aparecimento dos sinais de fotoenvelhecimento cutâneo (Mitsui, 1998; Prista & Baía, 1992).

As radiações UVA podem ainda ser divididas entre UVA-I (340-400 nm) e UVA-II (320-340 nm), sendo as primeiras as que têm maior capacidade de penetração na superfície cutânea (Balogh et al., 2011; Shai, Maibach, & Baran, 2009; Svobodova, Walterova, & Vostalova, 2006).

As radiações UVB têm menor capacidade de penetração na pele mas são as mais destrutivas. São estas as responsáveis pelo eritema que surge após exposição solar e pelos danos diretos no DNA (Balogh et al., 2011; Shai, Maibach, & Baran, 2009; Svobodova, Walterova, & Vostalova, 2006).

As radiações UVA e UVB provocam efeitos diferentes na pele. A radiação UVA é uma radiação que penetra profundamente através da epiderme até atingir a derme. Já a radiação UVB atua maioritariamente ao nível das células da epiderme (Balogh et al., 2011; Shai, Maibach, & Baran, 2009; Svobodova, Walterova, & Vostalova, 2006).

Se as radiações UVC conseguissem atingir a terra seriam as mais nocivas para o Homem, porém, ao ficarem quase totalmente retidas na camada de ozono, ainda

não são uma preocupação para a saúde pública (Dupont et al., 2013; Prista & Baía, 1992; Shai et al., 2009).

O Fator de Proteção Solar (FPS) é definido como a dose de RUV necessária para produzir uma Dose de Eritema Mínimo (DEM) na pele, protegida após a aplicação de 2 mg/cm^2 , a dividir pela RUV necessária para produzir uma DEM na pele desprotegida (Balogh et al., 2011; Shai, Maibach, & Baran, 2009; Svobodova, Walterova, & Vostalova, 2006).

O DEM é a quantidade de energia efetiva, expressa em J/cm^2 , requerida para a produção da primeira reação eritematógena perceptível e com bordas claramente definidas (Prista & Baía, 1992).

1.3. Riscos, Benefícios e Patologias Associadas

A superexposição aos raios invisíveis do sol pode ser prejudicial para a pele humana. Os efeitos causados pela radiação dependem de muitos fatores, tais como o comprimento de onda da radiação, a dose, o tipo e as características dos tecidos da pele (Juez & Gimier, 1995; Svobodova et al., 2006).

O dano pode ser imediato, com efeitos visíveis, tais como a eritema e queimaduras solares, levando à degradação da célula e do tecido. Podem também ser a longo prazo com efeitos cumulativos da exposição prolongada a serem agora cada vez mais reconhecidos como a possível causa de alterações degenerativas na pele como rugas precoces e melanoma (Mitsui, 1998; Prista & Baía, 1992).

Na verdade, mudanças de pele que, muitas vezes são identificadas com o envelhecimento, podem ter resultado de danos causados por exposição solar muito acentuada (Juez & Gimier, 1995; Svobodova et al., 2006).

Para exercer efeitos biológicos, os fótons energéticos da RUV são transmitidos, em primeira instância, através das camadas da pele e depois absorvidos por moléculas celulares. A partir daqui, desencadeia-se um conjunto de reações que levam ao aparecimento dos efeitos benéficos ou malignos da exposição solar (Barata, 2002; Dupont et al., 2013; Mitsui, 1998; Shai et al., 2009).

Desta forma, é fundamental classificar o tipo de pele de cada pessoa para uma melhor compreensão da sensibilidade à RUV e, assim, perceber as necessidades de proteção da pele em função das suas características (Mitsui, 1998; Prista & Baía, 1992).

Comprovou-se que a exposição à radiação UVB é a principal causa de queimaduras solares agudas e bronzeamento. Deste modo, a eficácia do filtro solar é predominantemente dirigida às radiações UVB sendo a contribuição relativa de radiação

UVA à queimadura solar considerada apenas cerca de 15-24%. Além disso, a exposição à radiação UVB é imunossupressora, mutagénica e carcinogénica (Balogh et al., 2011; Shai et al., 2009; Svobodova et al., 2006).

A importância dos efeitos biológicos da radiação UVA tem sido valorizada, tendo como consequência direta reações fotobiológicas significativas nomeadamente de carácter indirecto. Estas exigem a presença de oxigénio causando reacções de bronzeamento imediatos e posterior e nova formação de melanina (Balogh et al., 2011; Shai et al., 2009; Svobodova et al., 2006; Mitsui, 1998; Prista & Baía, 1992).

Há agora uma evidência considerável de que a RUV contribui, a longo prazo, para alterações degenerativas da pele, tais como o dano significativo do tecido conjuntivo (envelhecimento prematuro da pele) e a formação de tumores. Pode também contribuir para a carcinogénese induzida pelos raios UVB (Balogh et al., 2011; Shai et al., 2009; Svobodova et al., 2006).

Mas nem tudo é negativo: a radiação solar é necessária e foi comprovado que traz vários benefícios ao ser humano, não só a níveis químicos, mas também psicológicos.

Um dos efeitos benéficos mais importantes da exposição à RUV é a estimulação da produção de vitamina D que é fundamental no desenvolvimento ósseo e no funcionamento do sistema imunitário. É também usada no tratamento de algumas patologias cutâneas como a psoríase e o vitiligo, por ter efeito imunossupressor e, assim, aliviar os sintomas cutâneos (Shai et al., 2009).

A RUV tem também a capacidade de estimular a circulação sanguínea periférica, ao exercer uma ação vasodilatadora na rede circulatória (Balogh et al., 2011).

Contudo, para qualquer um dos benefícios da RUV, a necessidade de exposição solar é mínima e reflecte-se em alguns minutos por dia (Shai et al., 2009; Prista & Baía, 1992).

2. Fotoproteção

2.1. Tipos de Fotoprotetores

A protecção contra os efeitos dos RUV na pele é conseguida por moléculas (filtros UV) incorporadas em formulações apropriadas (protetores solares), tais como, cremes, loções, óleos, geles, pós, entre outros. No entanto, tendo em conta o conhecimento crescente da fotobiologia sobre os mecanismos de efeitos induzidos pela RUV na pele, esta definição deverá agora ser revista para incluir novos conceitos (Brenner & Hearing, 2008; Svobodova et al., 2006).

Além de proporcionarem uma probabilidade mínima de ocorrência de queimaduras solares, os filtros solares atuais são agora obrigados a comprovar uma protecção significativa contra os efeitos induzidos pela radiação UVA (Barel et al., 2009; Svobodova et al., 2006).

Além disso, podem não só conter produtos físicos que absorvem, refletem ou dispersam a RUV, mas também produtos químicos que interferem com as reacções secundárias, tais como a geração de radicais livres e espécies de oxigénio reactivas na pele, geração de mediadores inflamatórios, fotoexcitação de moléculas diferentes, e, finalmente, exercer efeitos de protecção a longo prazo sobre os danos degenerativos na pele (Balogh et al., 2011; Shai et al., 2009).

Os filtros UV utilizados em formulações de protecção solar são normalmente divididos em dois grupos: moléculas orgânicas, com capacidades de absorção de RUV (filtros UV orgânicos) e moléculas inorgânicas, partículas que absorvem, reflectem ou dispersam RUV (filtros inorgânicos) (Gambichler, Laperre, & Hoffmann, 2006; Wang et al., 2010).

Os dois tipos de filtros visam impedir a RUV de atingir negativamente a pele. Ao absorver a RUV, os filtros UV são transferidos para um estado eletrónico de excitação, a partir do qual a energia se pode dissipar em vibrações moleculares e em calor através de colisões com as moléculas vizinhas (Balogh et al., 2011; Shai et al., 2009; Svobodova et al., 2006).

Quando uma dissipação eficiente da energia absorvida não é possível por meio de, por exemplo, fluorescência, fosforescência, calor, ou conversão interna (isomerização) de uma molécula orgânica, o filtro UV pode quebrar e alterar, irreversivelmente, a sua estrutura química. Isto acontece quando a molécula escolhida não é fotoestável (Barata, 2002; Levy, 2012).

Como consequência, a eficácia do filtro solar pode ser alterada e daí ser fundamental o estudo de estabilidade de todos os filtros UV utilizados no mercado, quando usados singularmente ou em sinergia com outros filtros (Gambichler, Laperre, & Hoffmann, 2006; Wang et al., 2010).

Os filtros solares químicos são geralmente compostos aromáticos conjugados com um grupo carbonilo. Estes produtos químicos absorvem os raios UV de alta intensidade com excitação a um estado de maior energia. A energia perdida resulta na conversão da energia restante em comprimentos de onda mais longos de baixa energia com retorno ao estado inicial. A evolução dos modernos produtos químicos de proteção solar representa um estudo protótipo na utilização das relações estrutura-atividade para a concepção de novos constituintes ativos. Esta evolução tem sido estudada e avaliada intensivamente (Barata, 2002; Levy, 2012).

Quanto maior for o comprimento de onda e o número de ondas, maior a profundidade com que o raio UV penetra na pele. Quanto mais curto o comprimento de onda e menor o número de ondas, maior é o nível de energia da luz, e maior os danos que pode fazer. A radiação UVC é altamente eficiente em causar queimaduras solares e pode destruir a pele, mas, felizmente, é completamente absorvida pelo ozono na parte mais alta da atmosfera da Terra (Balogh et al., 2011; Shai et al., 2009; Svobodova et al., 2006).

A RUV da luz solar na superfície da Terra é, portanto, constituída por proporções variáveis de UVB e UVA passando através da atmosfera, mesmo num dia nublado (S Gonzalez et al., 2011).

Esta variabilidade deve-se a diferentes fatores tais como a latitude, a altura do Sol acima do horizonte (hora do dia), a altitude, as condições atmosféricas, entre outras. Em regra, a quantidade de radiação UVA que atinge a superfície da terra pode ser considerada como sendo de 10 a 30 vezes maior do que a de UVB (Balogh et al., 2011; Shai et al., 2009; Svobodova et al., 2006).

Resumindo, os filtros químicos são assim capazes de absorver a RUV, actuando ou só contra UVA, ou só contra UVB ou contra ambas. Os bloqueadores físicos, ou filtros inorgânicos atuam dispersando, refletindo e/ou absorvendo a RUV, não permitindo que penetre nas camadas da pele (Shai et al., 2009).

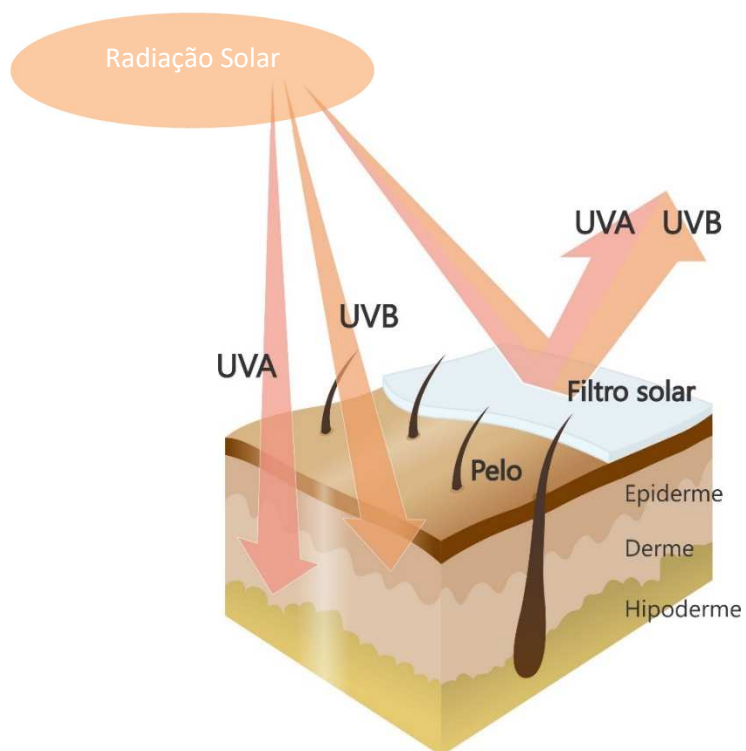


Figura 1: Incidência da radiação UV na superfície cutânea com e sem filtro solar (Adaptado de: <http://medderm.com.br/site/fotoenvelhecimento-e-fotoproteção>).

3. Filtros Solares

Como anteriormente explicado, os filtros solares podem dividir-se em filtros químicos e filtros físicos. Os maiores desenvolvimentos desta área da saúde têm-se baseado na pesquisa de uma eficácia superior destes filtros, com menores efeitos para a saúde humana.

3.1. Filtros UVB

Os filtros UVB são bastante eficientes, bloqueando 90% da radiação nesse espectro de absorção (González et al., 2008). Neste grupo incluem-se o PABA e derivados, cinamatos, salicilatos, octocrileno e ensulizol (Reyes & Vitale, 2013). Os mais utilizados são os cinamatos, como o octinoxato e cinoxato, mas devido à sua instabilidade, estes são utilizados em combinação com outros filtros (Balogh et al., 2011; González et al., 2008).

3.1.1. PABA (Ácido *p*-aminobenzóico) e seus derivados

O PABA foi um dos primeiros produtos químicos com capacidade de proteção solar amplamente disponível. Vários problemas limitam a sua utilização: é muito solúvel em água, foi frequentemente utilizado em veículos alcoólicos, mancha roupas, e foi associado a fotossensibilização (Levy, 2005). Atualmente o PABA foi retirado do mercado em quase todas os países.

Os derivados ésteres de PABA, principalmente o Padimato O, tornaram-se mais populares com uma maior compatibilidade numa variedade de veículos mais substanciais e com menor potencial de coloração ou reações adversas (Reyes & Vitale, 2013).

O Padimato O ou PABA octil dimetil é o mais potente na absorção da RUV na gama UVB (Levy, 2005). Devido a problemas com algumas formulações contendo PABA, o mercado tem enfatizado a declaração "livre de PABA". Apesar do Padimato O ainda ser usado, é confundido muitas vezes com PABA, limitando a sua escolha. O declínio no uso deste derivado de PABA, juntamente com a procura de produtos com FPS maior conduziu à incorporação de vários ingredientes activos num produto para atingir o FPS desejado (Levy, 2005; Reyes & Vitale, 2013).

3.1.2. Cinamatos

Os segundos absorventes UVB mais potentes no mercado, permitidos pela monografia da FDA, são os cinamatos. Estes têm substituído em grande parte os derivados de PABA. Octinoxato ou *p*-metoxicinamato de octilo é o ingrediente mais utilizado nos protetores solares atuais (Reyes & Vitale, 2013).

O *p*-metoxicinamato de octilo é, em ordem de grandeza, menos potente do que o Padimato O e requer absorventes de UVB adicionais para atingir os níveis mais elevados de FPS num produto final. O Cinoxato caiu em desuso devido aos seus custos elevados e possíveis efeitos adversos.

Outro dos cinamatos utilizados é o isoamil *p*-metoxicinamato e está disponível para incorporação em filtros solares na Europa (Barel et al., 2009; Levy, 2005; Reyes & Vitale, 2013).

Atualmente tem sido estudado o encapsulamento em nanopartículas do octinoxato, demonstrando-se uma diminuição da sua fotodegradação (González et al., 2008).

3.1.3. Salicilatos

Os salicilatos são os mais fracos absorventes UVB do mercado. Têm uma longa história de uso, mas foram suplantados pelos derivados PABA e cinamatos mais eficientes. Os salicilatos, como o octilsalicilato, homossalato e salicilato de trietanolamina, são compostos aromáticos bastante estáveis, sendo frequentemente utilizados há vários anos como solventes para filtros pouco solúveis como as benzofenonas, também filtros UVB, e os cinamatos (González et al., 2008; S Gonzalez et al., 2011).

O salicilato de trietanolamina é solúvel em água e, logo, é facilmente removível da pele (Walters & Roberts, 2008). Com a tendência e necessidade de FPS mais elevados, o octilsalicilato está a ser substituído por homosalicilato.

Ambos os materiais têm a capacidade de solubilizar a oxibenzona e a avobenzona (Reyes & Vitale, 2013).

3.1.4. Derivados de Cânfora

Os derivados de cânfora não foram aprovados pelo FDA para uso nos Estados Unidos, e há seis derivados de cânfora aprovados na Europa, a cânfora 4-metilbenzilideno é o mais utilizado (Levy, 2005; Reyes & Vitale, 2013).

3.1.5. Octocrileno

O Octocrileno é quimicamente semelhante aos cinamatos, e pode ser usado para impulsionar o FPS e melhorar a resistência à água numa dada formulação. Tem uma estabilidade elevada, podendo melhorar a fotoestabilidade de outros protectores solares. É caro e pode apresentar dificuldades na formulação (Levy, 2005; Reyes & Vitale, 2013).

3.1.6. Ácido Fenilbenzimidazol Sulfónico

O ácido fenilbenzimidazol sulfónico ou Ensulizol é um absorvente da radiação UVB solúvel em água que pode ser usado na fase aquosa dos sistemas de emulsão, em contraste com a maioria dos filtros solares que são normalmente solúveis em óleo, juntamente com outros ingredientes. Permite assim uma formulação menos gordurosa, esteticamente mais agradável, como um hidratante de uso diário contendo filtro solar. Este estimula o FPS de filtros solares orgânicos e inorgânicos e pode também ser usado em geles claros, devido à sua solubilidade em água (Levy, 2005; Reyes & Vitale, 2013).

3.1.7. Triazonas

Etilhexilo triazona é um filtro de UVB disponível na Europa. Está aprovado pela FDA para ser incorporado na composição de um protetor solar mas respeitando algumas regras como o tempo específico do processo, o modo de aplicação e a medida de quantidade da substância, sendo que ainda não está disponível no mercado.

Nesta categoria a *Ciba Speciality Chemicals*, na Suíça, desenvolveu dois filtros de largo espectro: Tinosorb S e Tinosorb M (Walters & Roberts, 2008):

- O Tinosorb S, designado de bis-etilexiloxifenol-metoxi-feniltriazina ou Bemotrizinol é um óleo solúvel de elevada estabilidade e peso molecular, que confere proteção de largo espectro de 280 a 380nm, com dois picos de absorção a 310 e 343nm (Rai et al., 2012; Walters & Roberts, 2008; Wang et al., 2010). Este tem um efeito sinérgico e estabilizador quando utilizado

em combinação com alguns filtros, como a avobenzona e o octinoxato (S Gonzalez et al., 2011).

- O Tinosorb M, também denominado de metileno-bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol ou bisoctriazol, é igualmente um filtro de largo espectro com dois picos de absorção, a 303 e a 360nm (Rai et al., 2012; Wang et al., 2010). Apresenta elevado peso molecular e é extremamente foto-estável, o que lhe permite estabilizar outros filtros UVA, tais como a avobenzona (Wang et al., 2010). Esta molécula combina os benefícios dos filtros orgânicos e inorgânicos, tendo a capacidade de absorver a radiação e libertá-la como os filtros orgânicos, mas também de dispersar e refletir a radiação UV (Rai et al., 2012; Walters & Roberts, 2008). É composta por partículas orgânicas microfinas dispersas numa fase aquosa do protetor solar (González et al., 2008; Walters & Roberts, 2008).

Devido às suas características, os Tinosorbs são compostos que atuam na prevenção do envelhecimento cutâneo causado pela radiação UV (González et al., 2008). Para além disso, devido ao tamanho das suas partículas, a penetração através da pele é pequena, o que faz com que a absorção sistémica seja baixa (Walters & Roberts, 2008).

3.2. Filtros UVA

A maioria dos filtros UVA consegue absorver alguma radiação UVB (González et al., 2008). Dentro dos agentes orgânicos mais importantes que conferem proteção contra a radiação UVA destaca-se as benzofenonas, o meridamato e a Avobenzona.

A oxibenzona é a benzofenona mais utilizada, absorvendo tanto a radiação UVA como a radiação UVB (Walters & Roberts, 2008). No entanto, tem como desvantagem ser rapidamente oxidável, originando uma elevada incidência de dermatites de contacto (González et al., 2008; Reyes & Vitale, 2013).

A avobenzona, que absorve a radiação UVA, é bastante instável, perdendo rapidamente 50-60% da sua capacidade fotoprotetora após uma hora de exposição solar (Reyes & Vitale, 2013; Walters & Roberts, 2008). Desta forma, a oxibenzona e a avobenzona são comumente utilizadas em combinação com outros filtros solares,

como o octocrileno, com o objetivo de tornar as formulações mais estáveis (Rai et al., 2012; Walters & Roberts, 2008).

3.2.1. Benzofenonas

Embora a oxibenzona ou benzofenona-3 absorva mais eficazmente na gama UVB, a absorção estende-se até à faixa UVA II (Walters & Roberts, 2008). É utilizado principalmente como um absorvente de UVA, mas aumenta os valores de FPS em combinação com outros absorventes de UVB. A oxibenzona é fornecida como um material sólido e tem uma baixa solubilidade e coeficiente de extinção relativamente baixo. Sulisobenzona ou benzofenona-4 é solúvel em água, um pouco instável, e utilizada com menos frequência (Levy, 2005; Reyes & Vitale, 2013).

3.2.2. Antranilato de metilo

O Antranilato de metilo é um filtro de UVB fraco, com absorção principalmente na porção próxima UVA do espectro. É menos eficaz do que benzofenonas nessa faixa e por isso menos utilizado (Levy, 2005; Reyes & Vitale, 2013).

3.2.3. Metoxidibenzoilmetano butil

A Avobenzona ou Parsol 1789 é o único filtro UVA puro atual aprovado pelo FDA para utilização em filtros solares nos Estados Unidos (Walters & Roberts, 2008)

Tem sido usado na Europa por um período consideravelmente maior que os restantes. Este fornece forte absorção na gama UVA I que varia com a absorção de pico a 360 nm. Uma vez que apenas têm sido propostas para padrões de medição de protecção UVA nos Estados Unidos, uma concentração mínima de utilização foi fixada em 2%, com um máximo de 3% da subatância (Walters & Roberts, 2008; Levy, 2005; Reyes & Vitale, 2013).

A fotoestabilidade refere-se à capacidade de uma molécula permanecer intacta com irradiação, sendo potencialmente um problema com todos os filtros UV. Esta questão foi levantada especificamente com Avobenzona. Este efeito pode degradar outros filtros solares se conjuntamente numa formulação, incluindo o *p*-metoxicinamato de octilo (Esta é a interação estudada nesta dissertação). Octocrileno e alguns dos filtros

mais recentes, tornam a avobenzona mais estável (Walters & Roberts, 2008; Levy, 2005; Reyes & Vitale, 2013).

A avobenzona é um dos filtros mais utilizados e com características mais vantajosas, porém a atenção à formulação tem que ser redobrada (Reyes & Vitale, 2013).

3.3. Protetores físicos

Alguns dos protetores solares originais eram formulações opacas de reflexão ou dispersão da RUV em cosméticos de cor contendo uma variedade de pigmentos inorgânicos a funcionar bloqueando a radiação. O dióxido de titânio (TiO₂) e o óxido de Zinco (ZnO) são quimicamente inertes e protegem por meio do espectro completo de radiação, a pele da RUV (González et al., 2008; Rai et al., 2012; Reyes & Vitale, 2013).

Estes oferecem vantagens significativas, mas infelizmente tinham limitada aceitação cosmética. Ocorreu assim uma diminuição do seu uso generalizado até se desenvolverem formas micronizadas dos mesmos, e se tornaram disponíveis para utilização em algumas formulações. Ao diminuir o tamanho de partícula destes materiais a uma *microsize* ou grau ultrafino, a sua opacidade tornou-se menos visível na pele, e menos incomodativa na aplicação, tornando-se muito mais fácil a utilização pelo utilizador final (Rai et al., 2012; Wang et al., 2010).

O desenvolvimento da tecnologia pode levar a uma maior utilização de nanomateriais nos produtos cosméticos. A fim de garantir um elevado nível de protecção dos consumidores, a livre circulação de mercadorias e a segurança jurídica dos fabricantes, é necessário elaborar uma definição uniforme dos nanomateriais a nível internacional. A Comunidade deverá procurar chegar a acordo sobre uma definição nos fóruns internacionais relevantes. Caso tal acordo seja obtido, a definição de nanomateriais constante do presente regulamento deverá ser adaptada em conformidade. A Comissão deverá proceder a uma revisão periódica das disposições relativas aos nanomateriais tendo em conta o progresso científico (Regulamento (CE) N^o 1223/2009).

Actualmente, a informação sobre os riscos associados aos nanomateriais é inadequada. A fim de avaliar melhor a sua segurança, o CCSC deverá prestar orientação, em colaboração com os organismos competentes, sobre metodologias de ensaio que tenham em conta as características específicas dos nanomateriais (Regulamento (CE) N^o 1223/2009).

A micropigmentação inovou a gama de protetores solares opacos de cosméticos de cor pigmentada, absorvendo e não simplesmente reflectindo ou dispersando a RUV (Barata, 2002; Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

Assim, variando e misturando tamanhos diferentes de partículas e diferentes níveis de fotoproteção, estes fotoprotetores conseguem alcançar e proteger a pele em todo o espectro UV. Além da avobenzona, o TiO_2 e o ZnO conseguem oferecer a melhor proteção disponível na gama UVA II (Rai et al., 2012; Wang et al., 2010).

A fotoreação foi levantada como uma questão relativa a estes materiais. Ambos são semicondutores potencialmente absorventes da luz e geram espécies reativas de oxigénio (Barata, 2002; Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

Estes efeitos foram demonstrados *in vitro*. O revestimento destes materiais reduz a sua reactividade fotoquímica. A relevância *in vivo* destes efeitos ainda não foi demonstrada, e ambos os materiais têm uma longa história de uso seguro. Os protetores físicos também têm a vantagem significativa de reduzido potencial de irritação da pele (Barata, 2002; Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

3.3.1. Dióxido de titânio

O TiO_2 foi o primeiro micropigmento amplamente utilizado. As vantagens incluem um amplo espectro de proteção e incapacidade de causar dermatite de contato. O uso de rutilo (mineral de onde se extrai o TiO_2) em oposição a formas cristalinas de TiO_2 diminui a fotoatividade (Barata, 2002; Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

O tamanho das partículas e uniformidade da dispersão é crucial para atingir um alto FPS. O tamanho da partícula primária pode ser de 10 a 15 nm com o conjunto de partícula secundária a 100 nm. O tamanho das partículas tem de ser inferior a 200 nm, para conseguir a transparência (Levy, 2005).

Apesar dos avanços na tecnologia e compreensão destes materiais, o clareamento continua a ser um problema secundário a resíduos de pigmento. Adicionando pigmentos que simulam o pigmento da pele consegue-se parcialmente camuflar este efeito. O efeito líquido depende do tipo de produto que o usuário pretende criar. Uma aplicação menos pesada do produto, reduzindo efetivamente o FPS, tem que ser sempre monitorizada. Formulações de "híbridos" que utilizam uma combinação de absorventes químicos com partículas inorgânicas representam um dos compromissos mais promissores (Barata, 2002; Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

3.3.2. Óxido de zinco

O ZnO foi adicionado como um agente protetor solar ativo juntamente com a avobenzona. Reduzidos a um tamanho de partícula inferior a 200 nm a dispersão de luz é minimizada e as partículas parecem transparentes em filmes finos. Este tem um índice de refração de 1,9, em oposição a 2,6 para o TiO₂, e, por isso, tem uma cor não tão forte e esbranquiçada. O ZnO atenua a RUV de forma mais eficaz na gama UVA I com um pico a 360 nm. O TiO₂ microfino numa concentração igual oferece mais protecção na gama UVB. Partículas finas de ZnO não são ainda aprovadas como um ingrediente filtro solar na UE. É aprovado como um corante cosmético e como um constituinte cosmético geral (Levy, 2005; Barata, 2002).

4. Legislação e Mercado de Protetores Solares

Os protetores solares estão sujeitos a regulamentos específicos em quase todos os países do Mundo. Em particular, os filtros UV com aprovação para serem incorporados em protetores solares, têm as suas concentrações máximas listadas nos documentos regulatórios específicos emitidos pelas autoridades (Rai et al., 2012; Wang et al., 2010).

No entanto, a formulação dos regulamentos varia entre países. Temos o exemplo dos Estados Unidos em que os filtros UV são considerados como *over-the-counter* (OTC) e as monografias destes produtos como protetores solares são emitidas pela FDA. As condições de segurança, eficácia e rotulagem dos protetores solares estão também expressamente descritas (Levy, 2005).

Na Europa, os filtros UV são ingredientes cosméticos e são regulados pelas diretrizes da Comissão Europeia. No entanto, em todos os países, as diretrizes dos produtos solares estão a tomar uma posição superior, começando estes produtos a ser vistos como a resolução principal de um problema de saúde pública e a ser avaliados com maior atenção (Rai et al., 2012; Wang et al., 2010). A Comissão Europeia emitiu recentemente uma recomendação sobre a eficácia dos protetores solares que define algumas regras de utilização e produção destes produtos, precauções a tomar, incluindo as instruções de aplicação e o padrão mínimo de eficácia para garantir um elevado nível de protecção da saúde pública (Levy, 2005).

As mesmas preocupações são abordadas nas regras propostas para filtros solares, que foram recentemente emitidas pela FDA. Requisitos de segurança para o registo de filtros UV químicos são importantes e são baseados numa avaliação de risco/benefício. O dossier de segurança de um filtro UV é avaliado e aprovado pelas autoridades nacionais e internacionais de saúde, como o Comité Científico dos Produtos de Consumo na Europa e a FDA nos Estados Unidos (Rai et al., 2012; Wang et al., 2010).

Seguidamente especificaremos alguns dos exemplos com maior relevância:

4.1. Europa

Na Europa, os protetores solares são considerados cosméticos, sendo a sua função proteger a pele da queimadura solar (Barata, 2002). A terceira alteração da directiva da Comunidade Económica Europeia (CEE) fornece uma definição e faz uma

listagem dos filtros UV que os produtos cosméticos podem conter. A União Europeia (UE) permite a utilização de vários ingredientes que não estão disponíveis nos Estados Unidos (Rai et al., 2012; Wang et al., 2010).

A UE adicionou TiO_2 à lista aprovada. O óxido de zinco (ZnO), não está incluído na lista, mas pode ser usado como um ingrediente cosmético (Barata, 2002; Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

4.2. Estados Unidos

Os protetores solares nos Estados Unidos são regulados pela FDA como OTC. A monografia final sobre substâncias fotoprotetoras para uso Humano como OTC (Registo Federal) estabeleceu condições de eficácia, segurança e produção destes produtos. Em 2007 fez-se uma emenda deste registo federal aumentando o número de testes realizados em produtos de pré-venda e sugere também alterações na rotulagem.

As substâncias ativas nos produtos fotoprotetores estão descritas e listadas consoante o nome adotado nos Estados Unidos, existindo, neste momento, 16 substâncias aprovadas (Ver Anexo 2, p.v). Todos os filtros UV podem ser utilizados juntamente com outro filtro UV também permitido, menos a Avobenzona. Esta não pode ser utilizada em conjunto com PABA, Octildimetil PABA, Meridamato, e Dióxido de Titânio, por serem instáveis em conjunto (Levy, 2005).

As concentrações máximas e adequadas de cada filtro UV também são descritas, enquanto que as mínimas foram retiradas, sendo utilizadas as concentrações necessárias para que se comprove a eficácia e segurança do mesmo, atingindo o FPS necessário para cada produto (Shai et al., 2009).

Um fotoprotetor solar deve ter um mínimo de FPS igual ou superior ao número de substâncias ativas utilizadas na combinação e multiplicadas por 2 (Rai et al., 2012; Wang et al., 2010).

A alteração mais recente permite produtos com valores de FPS acima de 50 mas a declaração/rotulagem para protetores solares com valores de FPS acima de 50 é limitada a FPS 50+ (FDA, 2011).

O termo "UVB" deve ser incluído antes do termo "FPS" no rótulo principal produto. A rotulagem requer o perfil de filtros UV, não apenas como ingredientes activos, mas também com a sua concentração no produto (FDA, 2011).

4.3. Austrália / Nova Zelândia

Os protetores solares na Austrália estão regulamentados como produtos terapêuticos. A última edição do Australian Padrão 2604 foi publicado em 1993 como uma publicação conjunta da Austrália e Nova Zelândia (Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

Os protetores solares são classificados como primário ou secundário, e consoante a função principal do produto é designado para proteger da radiação UV em oposição a um produto com um efeito cosmético primário. Os produtos com FPS superior a 30, não têm permissão de rotulagem superior a 30, sendo FPS 30+ a designação máxima. Em geral, a nomenclatura aprovada pela legislação Australiana, é muito idêntica à da FDA (Levy, 2005).

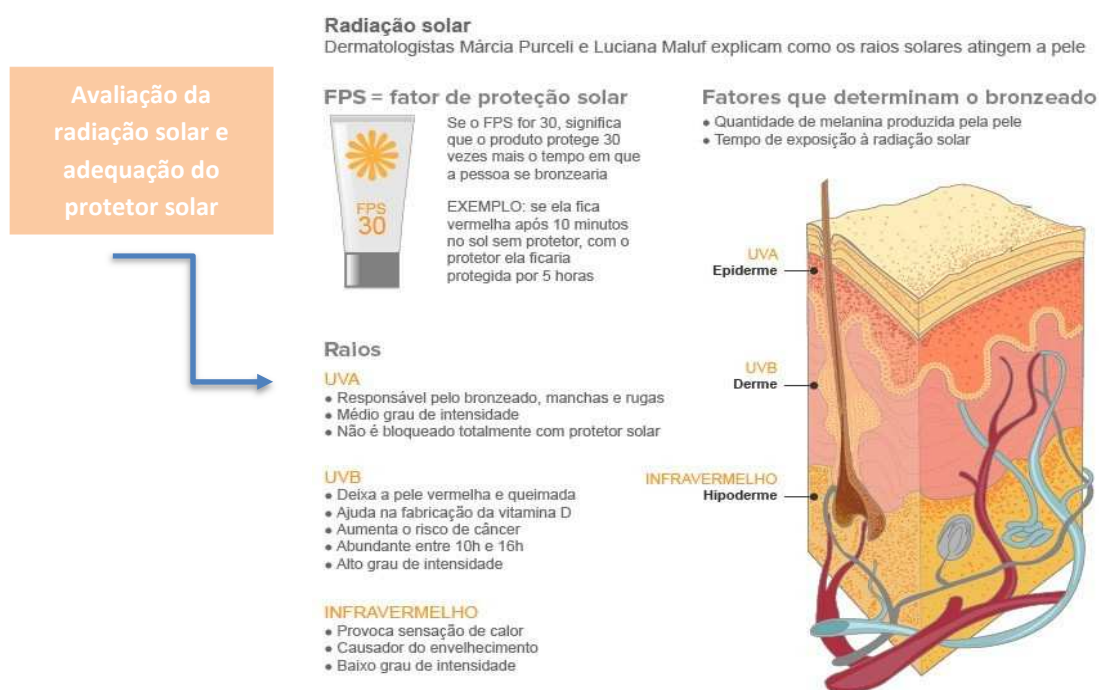


Figura 2: Modo de atuação dos diferentes raios solares na pele (Adaptado de: <http://g1.globo.com/bemestar/noticia/2013/01/filtro-solar-com-fator-alto-de-protecao-nao-evita-que-pele-fique-bronzeada.html>)

5. Eficácia dos Fotoprotetores

Muitos filtros UV foram desenvolvidos na última década com intuito de elevar a eficácia e segurança dos protetores solares. Contudo, por razões regulatórias, as listas de filtros aprovados para o desenvolvimento de fotoprotetores pode variar de acordo

com o país em questão. Nos Estados Unidos estão aprovados 16 filtros UV, na Austrália 29, na Comunidade Europeia 28 e no Brasil 33. Além disso, as concentrações dos filtros solares permitidas para serem incorporadas nas formulações também podem variar. Essas diferenças fazem com que os investigadores tenham que ter atenção especial na escolha dos filtros de acordo com mercado alvo (Forestier, 2008; Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2006).

5.1. Proteção e definição do Fator de Proteção Solar

O desenvolvimento de produtos contendo filtros orgânicos é um desafio ao investigador em função da instabilidade inerente a certos filtros. A maioria das substâncias empregadas como filtros UV apresenta fotorreatividade e pode conduzir à formação de fotoprodutos perdendo a função fotoprotetora. A preocupação com este tema pode ser notada pelo aumento de publicações a partir da década de 90 (Gonzalez et al., 2011).

A eficácia protectora de um filtro solar contra radiação UVB é expressa como o factor de protecção solar (FPS). Este é universalmente aceite e reconhecido nas questões regulatórias mais recentes. Como já explicado anteriormente, o FPS é um número que representa a razão entre o tempo necessário para uma determinada irradiação produzir eritema perceptível mínimo (MED) na pele protegida para o tempo necessário em pele não protegida (Levy, 2012; Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

Os métodos de medição do FPS estão agora bem estabelecidos. As orientações relativas ao procedimento experimental foram publicadas em muitos países diferentes e são bastante detalhadas. Estes podem agora ser considerados praticamente uniformes a nível mundial, alterando apenas algumas fases dos procedimentos experimentais (Levy, 2012; Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

O valor do FPS de um protector solar é considerado e testado para ser o mesmo dentro de limites aceitáveis, independentemente do país onde o produto é vendido. Quanto à protecção contra radiação UVA a situação é diferente em relação à avaliação da protecção contra radiação UVB, porque ao contrário da medição do FPS, não existe um método universalmente aceite para avaliar a protecção UVA (Gonzalez et al., 2011). No entanto, a maioria das recomendações ou exigências regulatórias recentes considera os seguintes métodos para a avaliação da protecção UVA de um protector solar (Gonzalez et al., 2011):

- Medição *in vivo* de protecção com o escurecimento persistente pigmento;
- Método *in vitro* medidas de absorvância;
- Determinação *in vitro* do comprimento de onda crítico;
- Determinação *in vitro* de um factor de protecção UVA (FPUVA).

Os requisitos diferem ligeiramente entre diferentes autoridades reguladoras.

Além disso, se os produtos reivindicam resistência à água, a protecção UVA deve ser testada depois de um período adequado de imersão em água. A UE recomendou a utilização de ensaios *in vivo* de escurecimento persistente de pigmento e a determinação *in vitro* do comprimento de onda crítico. Além disso, a UE declarou claramente que métodos *in vitro* de ensaio que produzam resultados equivalentes devem ser preferidos a métodos *in vivo* que levantam preocupações éticas (Levy, 2005; Barata, 2002)

Os métodos de ensaio referidos na recomendação europeia estão sujeitos a normalização do Comité Europeu de Normalização. Os métodos de determinação são publicados e estão disponíveis gratuitamente na Internet. A Colipa emitiu recentemente uma orientação detalhada sobre a determinação *in vitro* do FPUVA dos protectores solares, que agora pode ser utilizado em vez do método escurecimento persistente de pigmento *in vivo*, dando cumprimento às recomendações da Comissão da UE.

As normas FDA propostas e as directrizes Colipa abordadas sobre a questão da fotoestabilidade e incorporação de uma etapa de pré-irradiação para o método *in vitro* são regidas pelos mesmos testes mas com valores distintos (Levy, 2012; Stanojević et al., 2004; Svobodova et al., 2006).

No que respeita à dose de pré-irradiação, a FDA propõe uma dose de RUV correspondente ao FPS do produto mas reduzido por um factor de um terço para representar uma exposição razoável (FDA, 2011).

O método Colipa requer a determinação de um FPUVA numa amostra não irradiada e, em seguida, irradiar o produto com uma dose de radiação UVA de 1,2 J/cm², multiplicado pelo FPUVA. Assim sendo, o FPUVA determinado após irradiação é o utilizado para calcular o FPS para FPUVA de cada protetor solar (Levy, 2012).

O método australiano foi o primeiro método oficial para avaliar a protecção contra a radiação UVA de um protector solar. É um método *in vitro* que envolve a determinação de valores de transmissão entre 320 e 360 nm (UVA II). No entanto, como o método australiano não tem em conta o grande comprimento de onda UVA I, este não foi

considerado pela UE para a aprovação de proteção UVA de protetores solares (Gonzalez et al., 2011; Tanner, 2006).

5.2. Resistência à água e suor

O parâmetro resistência à água caracteriza a propriedade de um protetor solar para manter o grau de protecção sob condições adversas, tais como, imersão em água repetida ou transpiração. Devido ao uso de filtros solares ao ar livre em condições de imersão, onde a água abundante e transpiração normal podem ser encontrados, a resistência à água e suor é muito importante. Testes em seres humanos são considerados o método mais aceitável e eficaz para a reivindicação da resistência à água nem protetor solar. Várias orientações foram publicadas para estimar a resistência à água de um protetor solar (Gonzalez et al., 2011; Levy, 2005).

5.2.1. FDA Guideline

Um produto é reivindicado ser "resistente à água" se mantém a mesma descrição da categoria após 40 minutos de imersão em água (2x20 minutos - períodos de tempo separados por um período de descanso de 20 minutos sem toalha) (Levy, 2005). Pode ser reivindicado como "muito resistente à água", se este for o caso, após quatro períodos de imersão de 20 minutos cada (80 minutos) (Levy, 2005).

A alegação "impermeável" não é permitida. Os produtos com as reivindicações "resistente à água" ou "muito resistente" à água também podem reivindicar ser resistentes ao suor, porque a FDA concluiu que o teste de imersão é um ensaio mais severo do que um teste de sudorese. Propõe-se então que o tempo gasto em água (40 ou 80 minutos) seria adicionado no rótulo do produto para garantir a reaplicação frequente (Levy, 2005).

5.2.2. Australian Guideline / Nova Zelândia

O FPS do protetor solar é determinado após imersão em água durante pelo menos 40 minutos (2x20 minutos de períodos de tempo separados por um período de descanso de 5 minutos sem toalha). Se tiver um resultado positivo no teste anterior testa-se

novamente com a programação alternada de 20 minutos de imersão por 5 minutos de repouso (Lautenschlager, Wulf & Pittelkow, 2007; Levy, 2005).

O FPS medido após a imersão determina a classificação da categoria do protetor solar. Qualquer reclamação de resistência à água deve ser qualificada por uma declaração do tempo para o qual a resistência à água foi testado, até o máximo tempo reivindicado. Nenhuma declaração é feita sobre a resistência ao suor (Lautenschlager, Wulf & Pittelkow, 2007).

5.2.3. Colipa Guideline

A diretriz Colipa para testes de resistência à água foi publicada recentemente. Ao contrário da FDA e com o método da Austrália, o FPS é determinado sobre a pele seca como habitual, antes da imersão. As condições de rega são asseguradas por 2x20 minutos (40 minutos) de imersão separados por um período de secagem de 15 minutos, o que é muito semelhante aos requisitos da FDA. O FPS é então medido outra vez depois do período de imersão e é calculada a percentagem média de retenção de resistência à água (% resistência à água). A percentagem de resistência à água é a média das proporções individuais:

$$\frac{[\text{SPF (wet skin)} - 1]}{[\text{SPF (dry skin)} - 1]} \times 100$$

Um produto pode-se reivindicar como resistente à água, se o valor para o limite de confiança unilateral de 90% for maior ou igual a 50% e o intervalo de confiança de 95% em FPS (pele seca) estava dentro de 17% do FPS médio (Levy, 2005; Gilaberte & González, 2010; Gonzalez et al., 2011).

Finalmente, deve-se estar ciente de que uma diferença importante permanece relativamente à rotulagem dos produtos: um filtro solar resistente à água nos Estados Unidos ou na Austrália é rotulado com o FPS medido após exposição a água, enquanto na Europa o FPS indicado ainda é o FPS medido em pele seca (Levy, 2005).

5.3. Suplementos Alimentares

A proteção nutricional contra os danos na pele da luz solar é cada vez mais defendida para o público em geral. Várias razões estão na origem destas campanhas de *marketing*, além do fato do mercado dos suplementos nutricionais ser uma área de crescimento rápido com um potencial de desenvolvimento grande.

A fotoproteção oral tem sido nos últimos anos uma nova abordagem para complementar a proteção da pele contra os efeitos nocivos da radiação UV (Gilaberte & González, 2010; Gonzalez et al., 2011).

Resultados recentes foram publicados mostrando que a exposição à RUV anual média da pele eleva-se a 200 doses de eritema padrão na Europa e 250 nos Estados Unidos (Gonzalez et al., 2011).

Até 70% da exposição anual é medida durante o dia. Além disso, estudos recentes demonstraram que 25% a 30% da exposição à RUV ao longo da vida ocorre antes dos 18 anos de idade. Neste contexto, a proteção ao longo da vida sistémica de todo o corpo (e não apenas as áreas tratadas) através da administração oral de micronutrientes alvo faz sentido e é considerado por alguns especialistas como contribuição para a saúde pública em geral (Tanner, 2006; Barata, 2002).

No entanto, a proteção oferecida pelos complementos nutricionais é difícil de avaliar. Na maioria dos estudos publicados, foi medido utilizando uma determinação de MED padrão tal como é praticado para a medição do FPS (Gilaberte & González, 2010; Gonzalez et al., 2011; Noronha, 2014).

Os micronutrientes investigados são antioxidantes mais ou menos potentes e/ou eliminadores de radicais livres: vitaminas ou provitaminas com propriedades antioxidantes (carotenóides tais como b-caroteno, vitamina A, vitamina C e vitamina E), extratos vegetais enriquecidos ou contendo polifenóis como os antioxidantes mais potentes conhecidos (Leucotomos polycopodium, Pycnogenol, extrato de chá verde), omega-3, ácidos gordos e oligoelementos como selénio e zinco (Noronha, 2014).

A legislação atual em matéria de suplementos nutricionais está em evolução rápida e permanente, principalmente na Europa.

Tabela 1: Evolução cronológica dos principais métodos de determinação do FPS.

Ano	Instituição ou Autoridade Regulatória	Território
1978	Food and Drug Administration (FDA)	Estados Unidos da América
1983	Standards Association of Australia (SAA)	Austrália
1985	Deutches Institut für Normung (DIN)	Alemanha
1991	Commission Internationale De L'Eclairage (CIE)	Internacional
1992	Japanese Cosmetic Industry Association (JCIA)	Japão
1993	FDA – revisão	Estados Unidos da América
1994	European Cosmetic and Toiletries Association (COLIPA)	Europa
1998	Standards Australia / Standards Nova Zelândia (AS/NZS) - revisão	Austrália e Nova Zelândia
1999	FDA – revisão	Estados Unidos da América
2003	International Sun Protection Factor Method (COLIPA / JCIA / CTFA – SA)	Europa, Japão e África do Sul
2006	International Sun Protection Factor Method - revisão (COLIPA / JCIA / CTFA – AS / CTFA - USA)	Europa, Japão, África do Sul e EUA
2007/2008	FDA – revisão	Estados Unidos da América

Fonte adaptada: Brown²⁴

6. Formulação

6.1. Constituintes Normais de um Fotoprotetor

As características ideais de um fotoprotetor são descritas por diferentes pesquisadores, destacando-se:

- Promover amplo espectro de proteção contra danos agudos e crônicos induzidos pela radiação UV;
- Ser estável frente a variação de temperatura e radiação UV;
- Apresentar características organolépticas agradáveis ao usuário para encorajar a aplicação frequente;
- Ter boa relação custo-benefício;
- Possuir boa resistência à água.

(Manaia, 2013; Forestier, 2008).

Um protetor solar deve ser desenvolvido tendo em conta todos os fatores necessários para que a sua eficácia e adesão de utilização sejam máximas.

O primeiro passo é determinar o tipo de produto, FPS e eficácia UVA/UVB, estética, galénica e todos os parâmetros para que se possa definir o produto como protetor solar (Manaia, 2013).

Os filtros solares activos compreendem até 35% da formulação final, e estão entre as substâncias mais caras usadas nas formulações galénicas (Prista & Baía, 1992).

O tipo de veículo determina que tipo de substâncias ativas podem ser usadas na base de polaridade e a solubilidade, características dos filtros individuais. Os filtros solares ativos mais utilizados são óleos que afetam significativamente a cosmeceutica do produto (Gambichler, Laperre, & Hoffmann, 2006; Wang et al., 2010).

As partículas inorgânicas, tais como ZnO e TiO₂ tendem a fazer produtos mais pastosos e difíceis de utilizar pelos clientes, contudo são, ainda hoje, os mais utilizados e eficazes (Prista & Baía, 1992).

As emulsões são os veículos de eleição para idealmente incorporarem ingredientes ativos em ambas as fases aquosa e oleosa de modo a atingir uma maior eficácia. Os produtos finais têm que ser eficazes, atrativos ao consumidor, de fácil utilização, e máxima estabilidade possível (Wang et al., 2010)

Com o intuito de promover proteção de amplo espectro, na maioria dos protetores solares estão associados pelo menos dois filtros orgânicos (UVA e UVB). A combinação

da avobenzona (BMBM), filtro UVA, e do *p*-metoxicinamato de octila (MCO), filtro UVB, é conhecida e muito utilizada em formulações manipuladas e industrializadas, porém apresenta alterações na absorção espectral após exposição à radiação UV – é fotoinstável. A estratégia utilizada com maior frequência para reduzir a instabilidade da combinação é baseada na adição de agentes fotoestabilizadores. A adição de substâncias naturais em formulações fotoprotetoras vem sendo explorada (Prista & Baía, 1992; Wang et al., 2010).

O objetivo principal desta pesquisa foi avaliar o potencial da Cafeína como substância fotoestabilizadora destes filtros. Foram desenvolvidas formulações contendo os dois filtros associados ou não com Cafeína. As formulações foram avaliadas quanto à eficácia fotoprotetora *in vitro* aplicadas em placas de PMMA e analisadas por espectrofotometria de refletância com esfera de integração antes e após a exposição à radiação UV.

6.2. Reacções Adversas e Toxicidade

Analisou-se vários estudos sobre as substâncias utilizadas no nosso projecto e também algumas dos mesmos grupos moleculares.

A maioria das reacções foram apenas irritações cutâneas. Não surpreendentemente, 50% dos indivíduos que reagem têm pele atópica. Menos de 10% das reacções são alérgicas. A irritação subjectiva associada a ardor ou picadas, sem eritema objectivo de alguns filtros UV orgânicos é a queixa de sensibilidade mais frequente associada ao uso de protetor solar, sendo que a sensibilidade ocular é a mais recorrente (Prista & Baía, 1992).

Considerando a sua utilização generalizada, o número de reacções alérgicas documentadas não é elevada. Os ésteres de PABA e PABA são responsáveis por muitas das reacções de primeiros relatos, mas com uma diminuição da sua utilização, um aumento das reacções de benzofenonas começou também a ser significativa (Gambichler, Laperre, & Hoffmann, 2006; Wang et al., 2010).

A reacção da pele é provavelmente maior com benzofenonas do que outros filtros UV (Prista & Baía, 1992).

Fragrâncias, conservantes, e outros excipientes são responsáveis por um grande número de reacções alérgicas já comprovado não só nesta área da cosmética. Praticamente todos os ingredientes de um protetor solar para provocar alergias de

contacto necessitam de energia solar, podendo assim ser foto-alérgicos (Prista & Baía, 1992; Velasco, et al., 2011).

Apesar de ainda relativamente incomum, os filtros solares activos parecem ter-se tornado a principal causa de reações alérgicas de fotocontato.

Os indivíduos com condições eczematosas pré-existentes têm uma predisposição para a sensibilização significativa associada com a barreira cutânea prejudicada. A maioria dos indivíduos que desenvolvem dermatite de fotocontato com protetores solares são pacientes com fotodermatides (Prista & Baía, 1992).

As reações com protetores físicos estão por agora controladas, e bem estudadas para que sejam seguros e eficazes no combate à radiação solar. No entanto, as preocupações com a penetração dérmica na utilização de nanopartículas como filtros solares foram levantadas recentemente, e o estudo da sua toxicidade está agora no início. Vários estudos que examinam a penetração dérmica de partículas pigmentares superior a 100 nm e microfino TiO₂ e ZnO indica que eles não penetram na pele e permanecem no estrato córneo (Gambichler, Laperre, & Hoffmann, 2006; Wang et al., 2010).

Com o objetivo de desenvolver um produto fotoprotetor efetivo que promova altos níveis de fotoproteção e resistência à água alguns cuidados devem ser observados na seleção das matérias-primas. Em especial, para a obtenção de fotoproteção elevada são citados (Prista & Baía, 1992):

- utilizar com cautela o etanol e matérias-primas não polares, como o óleo mineral, e ésteres ramificados, visto que, altas concentrações destas matérias-primas reduzem a fotoproteção ou deslocam o comprimento de onda máximo de absorção de fotoprotetores não polares para comprimentos de ondas mais curtos;
- escolher cuidadosamente o veículo, levando em consideração que as emulsões são responsáveis pela formação de filme mais uniforme e espesso sobre a pele e, quando necessário, adicionar formadores de filme como polímeros,
- selecionar uma combinação de filtros que promovam fotoproteção de amplo espectro.

6.3. Tipo de Emulsão

O tipo de emulsão escolhida foi a emulsão óleo/água (O/A). Os agentes emulsivos, com propriedade de diminuir a tensão interfacial entre o óleo e a água, têm um papel fundamental na estabilização de emulsões. Estes compostos não conseguem

diminuir a tensão interfacial a ponto de contrariar totalmente a energia livre de superfície provocada pelo aumento da área interfacial. Desta forma as emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis e, no desenvolvimento tecnológico, procura-se utilizar de meios que possam retardar pelo maior tempo possível a separação das fases (Baby et al., 2008; Velasco et al., 2008).

Presume-se que a estabilidade destas preparações depende do tipo de agente emulsionante utilizado e das características físicas da película interfacial formada. Esta película deve ser rígida e compacta (Prista & Baía, 1992), possuir certo grau de elasticidade superficial e não deve romper-se quando pressionada pelas gotículas, mas ao romper-se, deve ser capaz de formar-se rapidamente, impedindo a aproximação e consequente junção da fase dispersa (Baby et al., 2008; Velasco et al., 2008).

Por vezes, um único emulsionante é capaz de originar o tipo de emulsão desejada, no entanto, emulsões mais estáveis são preparadas quando se utilizam misturas de emulsionantes, sendo um para a formação de emulsões O/A e outro para a formação de emulsões A/O (Baby et al., 2008; Velasco et al., 2008).

Pensa-se que os agentes emulsivos hidrofílicos e lipofílicos alinham-se um ao lado do outro, conferindo maior rigidez e resistência ao filme emulsivo, através de pontes de hidrogénio. Esses agentes emulsionantes são capazes de formar entre si complexos interfaciais na superfície dos glóbulos dispersos. Esses complexos promovem a formação e a estabilização da emulsão porque diminuem a tensão interfacial mais acentuadamente do que quando se utiliza um só agente emulsionante, além de originarem uma película compacta, mas flexível, na interface. Se o filme interfacial for eletricamente carregado, forças repulsivas, em consequência da formação da dupla camada elétrica, contribuirão para estabilidade do sistema (Aulton, 2005; Baby et al., 2008; Velasco et al., 2008).

A estabilidade das emulsões O/A pode ser obtida pela otimização da mistura de emulsificantes hidrofílicos e lipofílicos. A similaridade estrutural dos agentes emulsificantes com a fase dispersa é essencial para a estabilidade da emulsão e a estabilidade pode ser favorecida pelo complexo formado entre o agente de viscosidade hidrofílico e tensoativo hidrofílico e pela interação do tensoativo hidrofílico com a fase oleosa. Por outro lado, as emulsões instáveis manifestam-se das seguintes formas (Silva, 2000):

- floculação: onde as gotículas se agregam em aglomerados frouxos, dentro da emulsão, conservando a sua identidade individual, mas cada aglomerado comporta-se fisicamente como uma unidade única;

- coalescência: caracterizada por uma larga distribuição de tamanho das gotículas, resultando na separação de fases de forma visível a olho nu;
- creaming onde a fase dispersa, conforme a sua densidade relativa à fase contínua, sobe até à superfície ou desce até o fundo da emulsão, formando uma camada de emulsão mais concentrada;
- amadurecimento de Ostwald: as partículas maiores crescem de tamanho devido à dissolução das partículas menores.
(Lieberman et al., 1988; 1989; Aulton, 2005)

À medida que as emulsões se tornam instáveis, as suas características físico-químicas variam. Assim, para verificar tais variações pode-se determinar o valor do pH, viscosidade, distribuição de tamanho de partícula, entre outros (Brasil, 2004).

Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a estabilidade física de emulsões óleo/água, que serão utilizados como veículos base, associados ou não a cafeína em diferentes proporções. Posteriormente, escolher-se-á qual a base mais adequada para o estudo do efeito da cafeína.

Optou-se por formular emulsões óleo em água por serem cosmeticamente mais aceitáveis no utilizador final e também por serem bases já testadas pelas USP com algumas das substâncias utilizadas, o que facilita a rapidez do estudo.

6.4. Cafeína

A cafeína é um composto químico de fórmula $C_8H_{10}N_4O_2$ — classificado como alcaloide do grupo das xantinas e designado quimicamente como 1,3,7-trimetilxantina.

É encontrado em certas plantas e usado para o consumo em bebidas, na forma de infusão, como estimulante (Conney et al., 2013; Lu et al., 2007).

A cafeína apresenta-se sob a forma de um pó branco ou pequenas agulhas, que derretem a $238\text{ }^{\circ}\text{C}$ e sublimam a $178\text{ }^{\circ}\text{C}$, em condições normais de temperatura e pressão. É extremamente solúvel em água quente, não tem cheiro e apresenta sabor amargo (Conney et al., 2013; Lu et al., 2007).

Entre o grupo das xantinas (que incluem a teofilina e a teobromina) a cafeína é a que mais atua sobre o sistema nervoso central. Actua ainda sobre o metabolismo basal e aumenta a produção de suco gástrico (Lu et al., 2007).

Doses terapêuticas de cafeína estimulam o coração aumentando a sua capacidade de trabalho, produzindo também dilatação dos vasos periféricos.

A cafeína tem a capacidade de absorver a RUV na gama UVB, apresentando propriedades fotoprotetoras (Conney, Lu, Lou, Kawasumi, & Nghiem, 2013; Gilaberte & González, 2010). A sua aplicação tópica revela propriedades anti-carcinogénicas, assim preventivas do eritema causado pela RUV (Gilaberte & González, 2010; González et al., 2008).

Os estudos demonstram que a utilização da cafeína e do benzoato sódico de cafeína como componentes dos protetores solares, é eficaz na inibição da formação de dímeros de timina no DNA induzidos pela radiação UVB, assim como na prevenção de lesões causadas pela mesma radiação, por exemplo, o eritema solar. Revelam ainda aumentar a apoptose nas células de DNA lesadas pela radiação UVB (Lu et al., 2007). O benzoato sódico de cafeína demonstrou ser mais eficaz que a cafeína, mas mais instável (Conney et al., 2013; Lu et al., 2007).

No entanto, são necessários mais estudos para determinar a eficácia e segurança da aplicação tópica destes dois compostos, em conjunto ou separados, ou incorporados em formulações de protetores solares (Lu et al., 2007).

O consumo de cafeína através do chá e do café tem demonstrado um efeito protetor contra o aparecimento de cancro de pele induzido pela radiação solar, em modelos animais e em humanos (Conney et al., 2013; Kerzendorfer & O'Driscoll, 2009).

O mecanismo pelo qual a cafeína apresenta um efeito fotoprotetor baseia-se na sua capacidade de induzir a apoptose nos queratinócitos lesados pela radiação UVB (Gilaberte & González, 2010; Kerzendorfer & O'Driscoll, 2009). O efeito da cafeína na estimulação da apoptose induzida pela radiação UVB ocorre por mecanismos dependentes do gene p53 e independentes deste gene (Conney et al., 2013).

Assim, a utilização de cafeína quer topicamente quer por via oral promove a apoptose das células irradiadas com raios UVB, o que significa que poderá contribuir para a prevenção da fotocarcinogénese (Conney et al., 2013; Gilaberte & González, 2010).

6.5. Avobenzona

Em contraste com a ampla disponibilidade de substâncias com ação de filtros UVB, os do tipo UVA efetivos são reduzidos e, entre eles, a Avobenzona (Nomenclatura INN), provavelmente, o representante mais empregado em formulações fotoprotetoras

(farmacêuticas e cosméticas). Possui absorção máxima entre 340 e 365 nm, dependendo do solvente utilizado (Paris, et al., 2009; Mturi & Martincigh, 2008).

A Avobenzona é uma molécula dicetona e, por este motivo, está em equilíbrio tautomérico na forma ceto-enol. A tendência deste equilíbrio pode ser afetada pela variação da temperatura, do solvente e da concentração. A forma “ceto” ocorre somente numa forma geométrica enquanto a “enol” ocorre em diferentes configurações (Paris, et al., 2009, Mturi & Martincigh, 2008).

Em formulações fotoprotetoras a Avobenzona existe predominantemente na forma enólica e é nessa configuração que a molécula absorve a radiação na região UVA, entre entre 340 e 365 nm. Em solução ou na forma de filme fino, preconiza a sua fototautomerização para forma cetónica, ocorrendo grande perda da absorção. A forma cetónica absorve na região UVC, entre 260 e 280 nm (Paris, et al., 2009; Mturi & Martincigh, 2008).

Em 1997, o FDA aprovou a comercialização de fotoprotetores contendo Avobenzona na concentração máxima de 3%, isoladamente, ou de 2 a 3% em combinações com outros filtros (FDA, 2011).

Reconhecendo que os produtos que contêm a Avobenzona sozinha nas concentrações previstas e/ou em combinações com os filtros da categoria dos cinamatos, benzofenonas, salicilatos e/ou o difenilacrilatos são considerados como seguros e eficazes. No entanto, no estudo realizado por Dondi e colaboradores (2006), sobre a interação entre diferentes filtros UVA/UVB utilizados em formulações comerciais de fotoprotetores, o MCO e a Avobenzona apresentaram reação fotoquímica irreversível em solventes apolares e em emulsões, como fotocicloadição com a produção de dímeros de cinamatos e fotoprodutos de ciclobutilcetonas que subseqüentemente são fragmentados (Dondi, Albini & Serpone, 2006).

6.6. *p*-Metoxicinamato Octilo

O MCO é um filtro solar amplamente utilizado em vários produtos fotoprotetores devido seu amplo coeficiente de extinção na região UVB em diversos solventes. Quando exposto à radiação UV, apresenta diminuição da fotoproteção, pois pode ocorrer isomerização. Poucas reações de fotosensibilização e/ou fotoalérgica foram registradas na literatura (Pattanaargson & Limphong, 2001; Maier et al., 2001). Também é conhecido como octinoxato, pela nomenclatura INN.

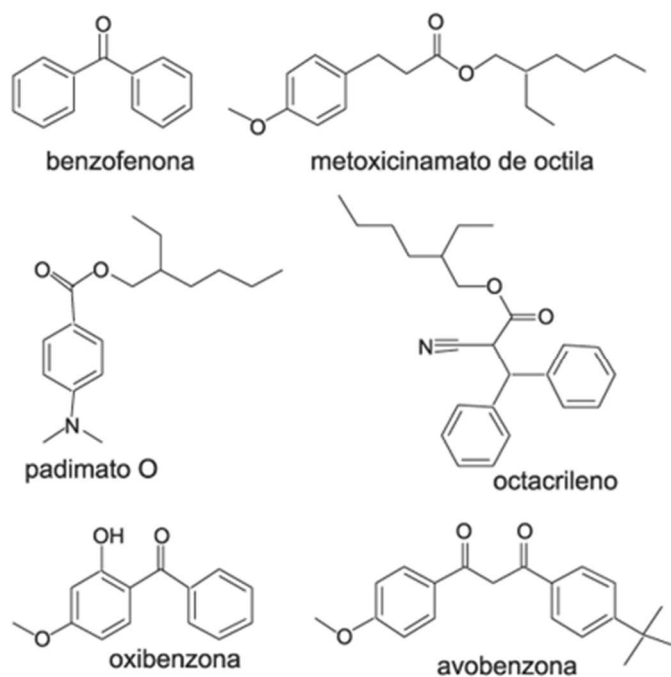


Figura 3: Compostos utilizados nas principais formulações de fotoprotetores comercializados (PMB IMS Health.MAT 2003/2007).

7. Objetivo

O presente projeto teve como objetivo principal avaliar a eficácia da Cafeína incorporada numa formulação fotoprotetora instável, e a sua capacidade de fotoestabilização de um protetor solar na presença de Avobenzona e *p*-metoxicinamato de octilo, após irradiação.

Os filtros solares em formulações de proteção solar devem ser quantificados para garantir a qualidade do produto e segurança do usuário, uma vez que as agências regulatórias estipulam limites máximos de concentração de uso em formulações de uso tópico e a efetividade e segurança dessas preparações é dependente das suas composições.

A utilização de princípios ativos em produtos fotoprotetores diferem, consideravelmente, em todo o mundo variando, também, o nível máximo permitido entre as agências reguladoras (ver Anexo 1 p.i).

8. Materiais e Métodos

As matérias-primas utilizadas no desenvolvimento das formulações apresentavam grau de pureza farmacêutico, e foram as seguintes:

- Avobenzona – Dibenzoilmetano butil metoxi (BMBM) (98,8%), DSM, São Paulo;
- *p*-Metoxicinamato de octilo (98,0%), Basf, São Paulo;
- Água deionizada, (Laboratório Farmacotécnica - USP);
- Álcool cetearílico (e) fosfato de dicetila (e) fosfato de álcool cetílico etoxilado (10 OE), (Crodafos™CES), Croda, São Paulo;
- Co-polímero do ácido sulfônico acriloldimetiltaurato e vinilpirrolidona neutralizado, (Aristoflex®@ AVC), Pharmaspecial, São Paulo;
- Octildimetil PABA (Padimato O), Pharmaspecial, São Paulo;
- Fenoxietanol (e) metilparabeno (e) etilparabeno (e) butilparabeno (Phenova®), Mapric, São Paulo;
- Propilenoglicol, Mapric, São Paulo;
- Triglicéridos de ácido cáprico (e) caprílico (Crodamol ® GTCC), Mapric, São Paulo;
- Trietanolamina, Mapric, São Paulo;
- Ácido cítrico, Mapric, São Paulo.

Para produção das formulações base serão utilizados três filtros solares como compostos ativos: *p*-Metoxinamato de octilo, Avobenzona, e Octildimetil PABA, que são normalmente fotoinstáveis quando em combinação. Utilizando concentrações variadas de cada filtro solar, serão preparadas emulsões do tipo O/A.

A cada formulação desenvolvida será ou não incorporada a Cafeína, em diferentes concentrações, avaliando qual o potencial fotoestabilizador sobre os filtros em estudo.

Posteriormente cada formulação foi avaliada por testes físicos analisando as características organolépticas como o aspecto, cor, e odor das formulações, e por testes químicos - análise de pH e viscosidade.

Utilizou-se a técnica de espectrofotometria de refletância difusa com esfera de integração (Labsphere UV-2000S® Transmittance Analyzer) para a determinação da eficácia fotoprotetora *in vitro* e estudo de fotoestabilidade dos filtros solares empedados em cada formulação. Duas aferições serão realizadas para cada amostra, uma

previamente e outra após a etapa de irradiação das amostras em câmara de fotoestabilidade (FDA, 2011; Baby, 2007).

A fotoestabilidade de cada formulação foi avaliada comparando-se as curvas de transmitância obtidas previamente e após a etapa de irradiação das amostras, enquanto a eficácia fotoprotetora será avaliada considerando-se apenas as curvas de transmitância obtidas após a etapa de irradiação (Baby, 2007; Pinto, 2004).

8.1. Otimização da formulação

O desenvolvimento das formulações iniciou-se pela elaboração de 8 preparações em veículos emulsionados do tipo O/A, com a finalidade de obtenção de emulsões macroscopicamente estáveis, com consistência aparente variada e de características organolépticas (aspecto, cor e odor) aceitáveis, segundo critérios do formulador.

O objetivo da primeira etapa foi selecionar a base emulsionada mais adequada para a posterior incorporação dos compostos ativos. As formulações foram incorporadas de compostos ativos, com diferentes concentrações, dentro dos valores máximos e mínimos aceites (Colipa, FDA) (Anexo 3, p. vi) com o intuito de se realizar avaliação visual do comportamento das bases autoemulsionantes frente à incorporação dos cafeína e filtros solares.

Foram preparadas 100 g de cada formulação de Aristoflex® com diferentes % p/p de Cafeína e a técnica envolveu as etapas descritas a seguir:

FASE A – Preparação da Fase Aquosa:

1. O propilenoglicol a água (p/p%) e a Cafeína pesaram-se e juntaram-se nas quantidades indicadas na Tabela 2;
2. Aqueceu-se (no máximo até 60°C para evitar a degradação) até diluição da Cafeína (cafeína dilui quando se atinge cerca de 35°C);
3. Enquanto a solução anterior arreferece, fazer a pesagem do Aristoflex®;
4. Colocar a solução no agitador mecânico a 1000rpm;
5. Adicionar lentamente o Aristoflex® pesado e esperar 10 minutos para a sua hidratação.

FASE B – Preparação da Fase Oleosa:

1. Pesar os GTCC, MCO, Padimate O e a Avobenzona e juntar todos;
2. Aquecer a solução anterior sem ultrapassar os 60°C para diluição da Avobenzona.

FASE C – Juntar a Fase Oleosa à Fase Aquosa:

1. Juntar após arrefecimento e em agitação sob agitador mecânico a 1000Rpm a Fase Oleosa à Fase Aquosa;
2. Depois a velocidade foi aumentada gradualmente até 5000rpm e mantida por 2 min.
3. Adicionar o Conservante Phenova® durante a agitação.
4. Acertar pH da formulação entre $6,0\pm 0,5$ com trietanolamina e/ou solução de ácido cítrico 10%, quando necessário (Baby, 2007).
5. Acomodar as formulações em potes de plástico (Ansel et al, 2000).
6. Embalar e rotular.

(Baby, 2007; Pinto, 2004).

Foram preparadas 100 g de cada formulação de Crodafos™ com diferentes % p/p de Cafeína e a técnica envolveu as etapas descritas a seguir:

FASE A – Preparação da Fase Aquosa:

1. O propilenoglicol a água (p/p%) e a Cafeína pesaram-se e juntaram-se nas quantidades indicadas na Tabela 2;
2. Aqueceu-se (no máximo até 60°C para evitar a degradação) até diluição da Cafeína (cafeína dilui quando se atinge cerca de 35°C);

FASE B – Preparação da Fase Oleosa:

1. Pesar os GTCC, EHMC, Padimate O e a Avobenzona e juntar todos;
2. Aquecer a solução anterior sem ultrapassar os 60°C para diluição da Avobenzona;
3. Adicionar Crodafos™ e esperar até que juntamente com a e Avobenzona estejam totalmente diluídos.

FASE C – Juntar a Fase Oleosa à Fase Aquosa:

3. Juntar em agitação sob agitador mecânico a 1000Rpm a Fase Aquosa à Fase Oleosa – ambas a cerca 60°C;
4. Adicionar o Conservante Phenova® durante a agitação.
5. Acertar pH da formulação entre $6,0\pm 0,5$ com trietanolamina e/ou solução de ácido cítrico 10%, quando necessário (Baby, 2007).
6. Acomodar as formulações em potes de plástico (Ansel et al, 2000).

7. Embalar e rotular.

(Baby, 2007; Pinto, 2004).

Foram preparadas 100 g de cada formulação de Aristoflex® sem Cafeína e a técnica envolveu as etapas descritas a seguir:

FASE A – Preparação da Fase Aquosa:

1. O Propilenoglicol e a água (p/p%) pesaram-se e juntaram-se nas quantidades indicadas na Tabela 2;
2. Colocar a solução no agitador mecânico a 1000rpm;
3. Pesar o Aristoflex®;
4. Adicionar lentamente o Aristoflex® pesado e esperar 10 minutos para a sua hidratação.

FASE B – Preparação da Fase Oleosa:

3. Pesar os GTCC, EHMC, Padimate O e a Avobenzona e juntar todos;
4. Aquecer a solução anterior sem ultrapassar os 60°C para diluição da Avobenzona.

FASE C – Juntar a Fase Oleosa à Fase Aquosa:

7. Juntar após arrefecimento e em agitação sob agitador mecânico a 1000Rpm a Fase Oleosa à Fase Aquosa;
8. Depois a velocidade foi aumentada gradualmente até 5000rpm e mantida por 2 min.
9. Adicionar o Conservante Phenova® durante a agitação.
10. Acertar pH da formulação entre $6,0 \pm 0,5$ com trietanolamina e/ou solução de ácido cítrico 10%, quando necessário (Baby, 2007)
11. Acomodar as formulações em potes de plástico (Ansel et al, 2000).
12. Embalar e rotular.

(Baby, 2007; Pinto, 2004).

Foram preparadas 100 g de cada formulação de Crodafos™ sem Cafeína e a técnica envolveu as etapas descritas a seguir:

FASE A – Preparação da Fase Aquosa:

8. O propilenoglicol e a água (p/p%) pesaram-se e juntaram-se nas quantidades indicadas na Tabela 2;
9. Aqueceu-se até cerca de 60 °C.

FASE B – Preparação da Fase Oleosa:

4. Pesar os GTCC, EHMC, Padimate O e a Avobenzona e juntar todos;
5. Aquecer a solução anterior sem ultrapassar os 60°C para diluição da Avobenzona;
6. Adicionar Crodafos™ e esperar até que Crodafos™ e Avobenzona estejam totalmente diluídos.

FASE C – Juntar a Fase Oleosa à Fase Aquosa:

10. Juntar em agitação sob agitador mecânico a 1000Rpm a Fase Aquosa à Fase Oleosa – ambas a cerca 60°C;
11. Adicionar o Conservante Phenova® durante a agitação.
12. Acertar pH da formulação entre 6,0±0,5 com trietanolamina e/ou solução de ácido cítrico 10%, quando necessário (Baby, 2007).
13. Acomodar as formulações em potes de plástico (Ansel et al, 2000).
14. Embalar e rotular.

(Baby, 2007; Pinto, 2004).

Para além destas formulações, preparou-se também mais duas emulsões com Crodafos™ 6% e quantidades de cafeína de 2,5% e 5%, com finalidade de perceber qual a quantidade de cafeína adequada, no veículo mais promissor. A estas denominámos formulação 9 e formulação 10 respetivamente.

Tabela 2. Composição qualitativa e quantitativa (%p/p) das emulsões preparadas para avaliação.

Componentes	Formulações (Quantidades em % p/p)							
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Propilenoglicol	5	5	5	5	5	5	5	5
Água desionizada	q.b.p.	q.b.p.	q.b.p.	q.b.p.	q.b.p.	q.b.p.	q.b.p.	q.b.p.
Cafeína	0	0	0	0	1	1	2,5	5
GTCC	4	4	4	4	4	4	4	4
Avobenzona	3	3	3	3	3	3	3	3
EHMC	4	4	4	4	4	4	4	4
Padimato O	4	4	4	4	4	4	4	4
Aristoflex®	4	6	0	0	4	6	0	0
Crodafos™	0	0	4	6	0	0	4	6
Phenova	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75

Tabela 3. Nomeação das formulações e constituintes em estudo (Ver tabela 2, Pág.46).

Sem Cafeína	Formulação 1	4% Aristoflex®
	Formulação 2	6% Aristoflex®
	Formulação 3	4% Crodafos™
	Formulação 4	6% Crodafos™
	Formulação 5	4% Aristoflex®
Com Cafeína (1%)	Formulação 6	6% Aristoflex®
	Formulação 7	4% Crodafos™
	Formulação 8	6% Crodafos™
Cafeína 2,5%	Formulação 9	6% Crodafos™
Cafeína 5%	Formulação 10	6% Crodafos™

8.2. Avaliação da Base (Estabilidade)

As emulsões foram mantidas em repouso por 24 horas após o preparo, com a finalidade de se completar o processo de emulsificação adquirindo assim, a consistência que foi considerada na avaliação das formulações (Lanzet, 1993; Rieger, 2001).

Seguiu-se então a avaliação das mesmas com o objetivo de identificar possíveis processos de instabilidade como cremeação, sedimentação, floculação e separação de fases, e adicionalmente alterações das propriedades organoléticas (Baby, 2007; Agência Nacional De Vigilância Sanitária, 2006; Foster & Rybinski, 1998).

Após esse período, as formulações foram analisadas macroscopicamente, a fim de verificar quais apresentavam características organolépticas adequadas, segundo os critérios do formulador (Baby, 2007; Pinto, 2004). Foram avaliadas as características de aspecto, cor e odor (Agência Nacional De Vigilância Sanitária, 2006).

Os parâmetros avaliados foram as características:

- **aspecto** - integridade das amostras mantendo o aspecto inicial nas condições de armazenamento, exceto em temperaturas elevadas, *freezer* ou ciclos em que modificações foram aceitas;
- **cor e odor** - Normais durante o armazenamento à temperatura ambiente e leves modificações foram aceitas em temperaturas elevadas;
- **valor de pH** - não se admitiu variação superior a $\pm 10\%$, comparadas com o valor inicial em todas as condições de armazenamento;
- **viscosidade aparente** - admitiram-se modificações, desde que não comprometessem a aplicação cosmética das amostras (Agência Nacional De Vigilância Sanitária, 2006).

O pH foi determinado por potenciometria, pela imersão do eletrodo de vidro com diafragma de junção esmerilhada, adequado para emulsões, previamente calibrado. As análises foram efetuadas em triplicada a temperatura ambiente $20,0 \pm 2,0$ °C (Moraes, 2011, Agência Nacional De Vigilância Sanitária, 2008).

No final da etapa de desenvolvimento, que englobou a formulação das emulsões O/A descritas anteriormente e a avaliação das mesmas, foram selecionadas as bases emulsionadas mais competentes para atuar como veículo das combinações dos compostos ativos (entre as formulações F1-F10).

8.2.1. Caracterização funcional *in vitro* das preparações: Fator de Proteção Solar estimado

As formulações consideradas aprovadas nos testes anteriores foram caracterizadas quanto à eficácia fotoprotetora *in vitro*.

Determinou-se a eficácia *in vitro* das preparações no espectrofotómetro de refletância difusa com esfera de integração (Labsphere® UV2000-S) por meio da obtenção dos parâmetros a seguir: fator de proteção solar estimado (FPS), comprimento de onda crítico (λ_c), razão UVA/UVB e absorvância.

Neste método, a transmitância hemisférica total é medida em esfera de integração, que coleta a luz dispersada em todos os ângulos (Springsteen et al., 1999).

Utilizaram-se, como substrato sintético, placas comerciais de Polimetil Metacrilato (PMMA), Helioplate®. Alíquotas de 50,0 mg das amostras foram aplicadas uniformemente sobre o substrato, na forma de filme fino, em movimentos circulares sobre a superfície da placa (Anexo 3, p.vi). Os registros dos valores espectrofotométricos da transmitância foram realizados em intervalo de comprimento de onda entre 250 e 450 nm, na taxa de progressão de 1 nm. Leituras em duplicata foram empregadas com repetições de três leituras por réplica (Diffey, 2000; Springsteen et al., 1999; Velasco et al., 2008, Pinto 2004).

Os valores dos parâmetros da funcionalidade estimada das amostras foram calculados pelo programa do equipamento de espectrofotometria de refletância (Labsphere® UV-2000 Application Versão: 1.1.1.0).

Algumas formulações não foram incorporadas com composto ativo (Cafeína), enquanto outras os receberam nas suas concentrações máximas com o intuito de se realizar avaliação visual do comportamento das bases autoemulsionantes frente à incorporação de cafeína e filtros solares.

Os registros dos valores espectrofotométricos da transmitância foram realizados em intervalo de comprimento de onda entre 290 e 400nm, na taxa de progressão de 1,0nm. Foi considerada a média das leituras de três placas para cada amostra, sendo que foram realizadas nove leituras em pontos diferentes para cada placa, considerado como limite máximo do coeficiente de variação de 20% entre os pontos. Os parâmetros avaliados foram FPS *in vitro*, λ_c e razão UVA/UVB. (European Cosmetics Association, 2011; United States, 2011; Velasco et al., 2011; Diffey et al., 2000; Springsteen et al., 1999).

Conseguimos assim fazer avaliação da fotoestabilidade de cada uma das formulações. Apenas as formulações que apresentaram resultados de média de FPS > 20 e comprimento de onda crítico 370 nm no teste de avaliação da eficácia fotoprotetora *in vitro*, foram submetidas à avaliação da fotoestabilidade e a razão UVA/UVB não foi

considerada na escolha das formulações para a próxima etapa. Após avaliação inicial, as amostras selecionadas foram irradiadas com a dose de 192 kJ m⁻², irradiância 209,2 W m⁻², faixa de 300 e 800 nm, padronizada por radiómetro. A temperatura foi mantida a 37,0 ± 2,0° C. As análises foram efetuadas antes e após a exposição a irradiação das amostras.

A Irradiação foi realizada com o equipamento Sun Teste CPS+, e analisada por formulação a cada 15, 30, 45 e 60 minutos. Como não existem estudos da cafeína incorporada nestes compostos, nem *in vivo* nem *in vitro*, teve que se utilizar uma potencia baixa para se ter a certeza que não estragamos a formulação. Aos poucos foi-se aumentando a potência e fazendo triagem.

9. Resultados e Discussão

Os primeiros resultados obtidos são das medições feitas no Labsphere e encontram-se nas tabelas e quadros abaixo. Destes valores podemos perceber que apenas as formulações F4, F7 e F8 têm uma média fator de proteção solar superior a 20, antes da irradiação.

9.1. Comparação Final

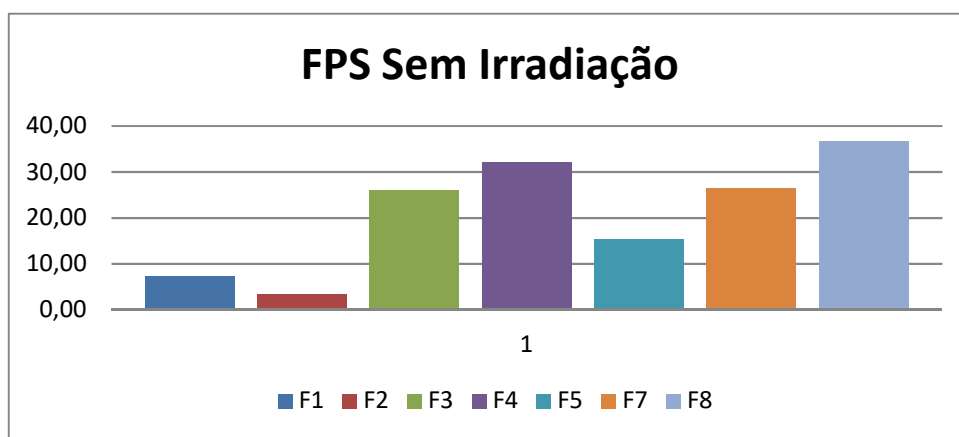


Figura 4. Comparação entre o FPS sem radiação de todas as formulações (F1: 4%Arís/SCaf; F2: 6%Arís/SCaf; F3: 4% Crod/sCaf; F4: 6%Crod/sCaf; F5: 4% Arís/1%Caf; F6: 6% Arís/1%Caf; F7: 4% Crod/1%Caf; F8: 6%Crod/1%Caf).

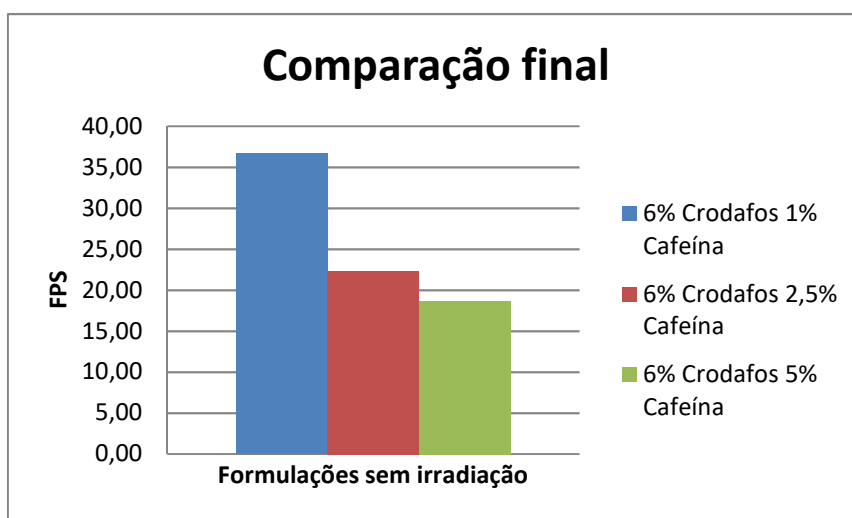


Figura 5. Comparação entre o FPS sem radiação das Formulações F8: 6%Crod/1%Caf, F9:6%Crod/2,5%Caf e F10: 6%Crod/5%Caf.

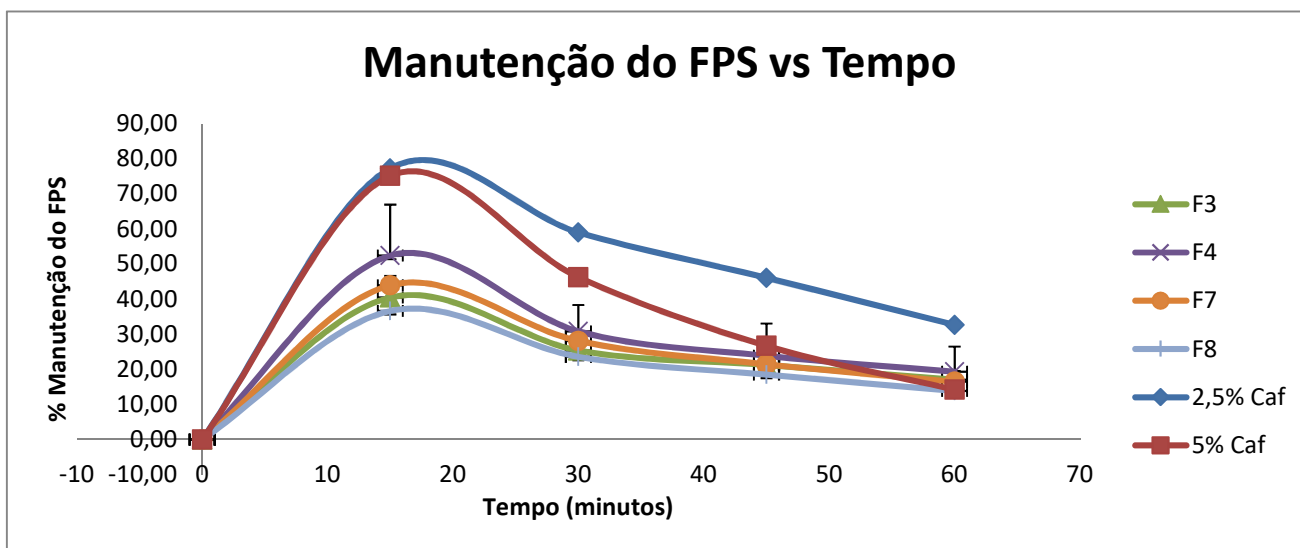


Figura 6. Desmonstração da manutenção do FPS durante o tempo de exposição à radiação (F3: 4% Crod/sCaf; F4: 6%Crod/sCaf; F7: 4% Crod/1%Caf; F8: 6%Crod/1%Caf).

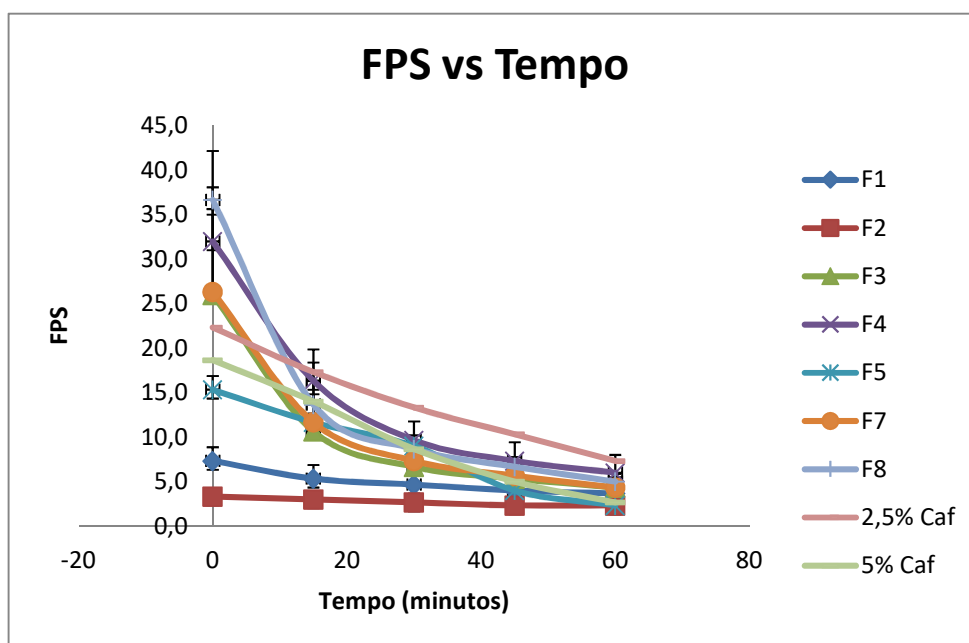


Figura 7. Avaliação do FPS ao longo do tempo de exposição à radiação (F1: 4%Aris/SCaf; F2: 6%Aris/SCaf; F3: 4% Crod/sCaf; F4: 6%Crod/sCaf; F5: 4% Aris/1%Caf; F6: 6% Aris/1%Caf; F7: 4% Crod/1%Caf; F8: 6%Crod/1%Caf).

Neste estudo, concluiu-se de início que a Cafeína não é estável juntamente com Aristoflex® (nem a 4% nem a 6%), mas apenas com Crodafos™, visto que todos os valores ainda sem irradiação das formulações testadas têm FPS muito inferiores ao suposto (Mínimo >20). Mesmo assim, a solução de Crodafos 4% não tem capacidade fotoprotetora suficiente para ser estável e eficaz. Elegeu-se assim as formulações de Crodafos™ 6% como o melhor veículo para utilização da cafeína.

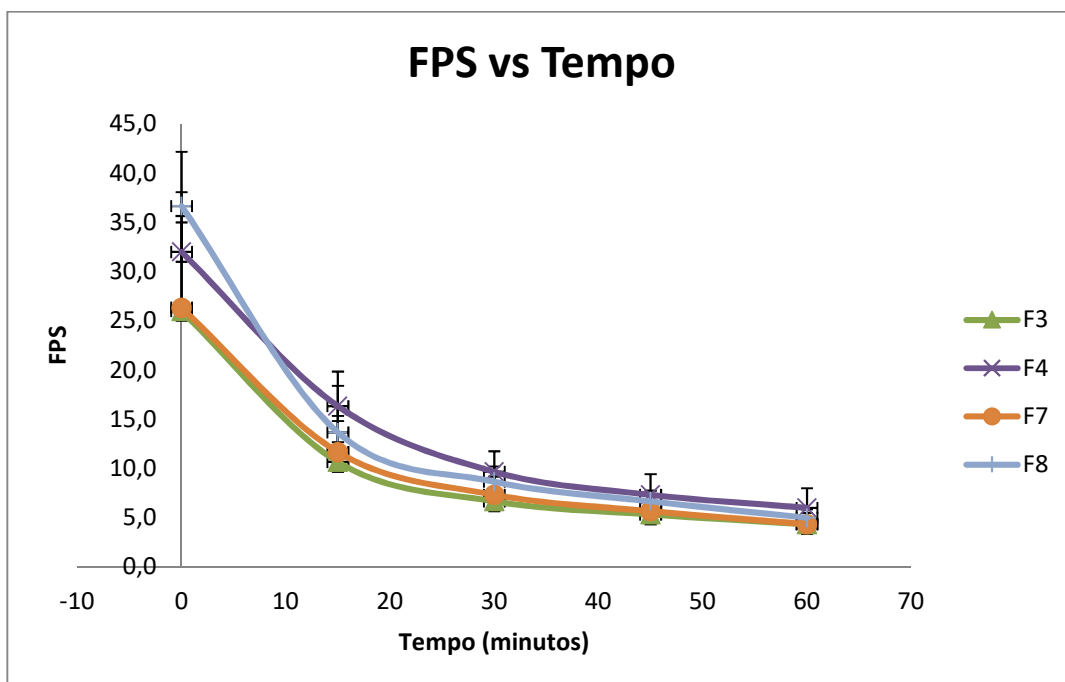


Figura 8. Comparação entre Formulações Crodafos 4% e 6% (**F3:** 4% Crod/sCaf; **F4:** 6% Crod/sCaf; **F7:** 4% Crod/1% Caf; **F8:** 6% Crod/1% Caf).

De qualquer das formas testou-se todos os resultados, com e sem irradiação, de todas as formulações após serem todas elegíveis nos testes de pH, viscosidade, caracteres organoléticos e *stress* químico.

Avaliou-se inicialmente o FPS de todas as formulações sem qualquer tipo de radiação, e com radiação após 15, 30, 45 e 60 minutos. Para que fossem aceitáveis definiu-se um valor mínimo de média de FPS >20. Todas as formulações que continham Aristoflex® em vez de Crodafos™ apresentaram valores inferiores e demonstraram instabilidade. A formulação que continha 4% de Crodafos™ esteve muito perto de atingir valores positivos mas não seria suficiente para obter o FPS pretendido.

Ao perceber que o Crodafos™ tinha resultados positivos versus o Aristoflex®, estudou-se a quantidade de cafeína, mantendo a quantidade de Crodafos™ (6%). Para além de 1% de Cafeína foram testados 2,5% e 5% (% p/p).

Posteriormente avaliou-se a manutenção do FPS com o tempo de radiação, e a linha de tendência dos dois valores. Percebe-se de imediato pelos gráficos apresentados anteriormente, que as formulações com Aristoflex® têm uma capacidade superior de manutenção do FPS, visto que também iniciam com um valor muito reduzido. Apesar disto, os valores da manutenção de FPS das formulações com Crodafos™ 6%, conseguem ser, ao fim de 60 minutos de radiação, superiores aos valores das formulações com Aristoflex® sem radiação.

Após percebermos que o Crodafos™ 6% é o veículo de eleição, surge a necessidade de comparação do veículo sem a cafeína e com a cafeína (F4 e F8).

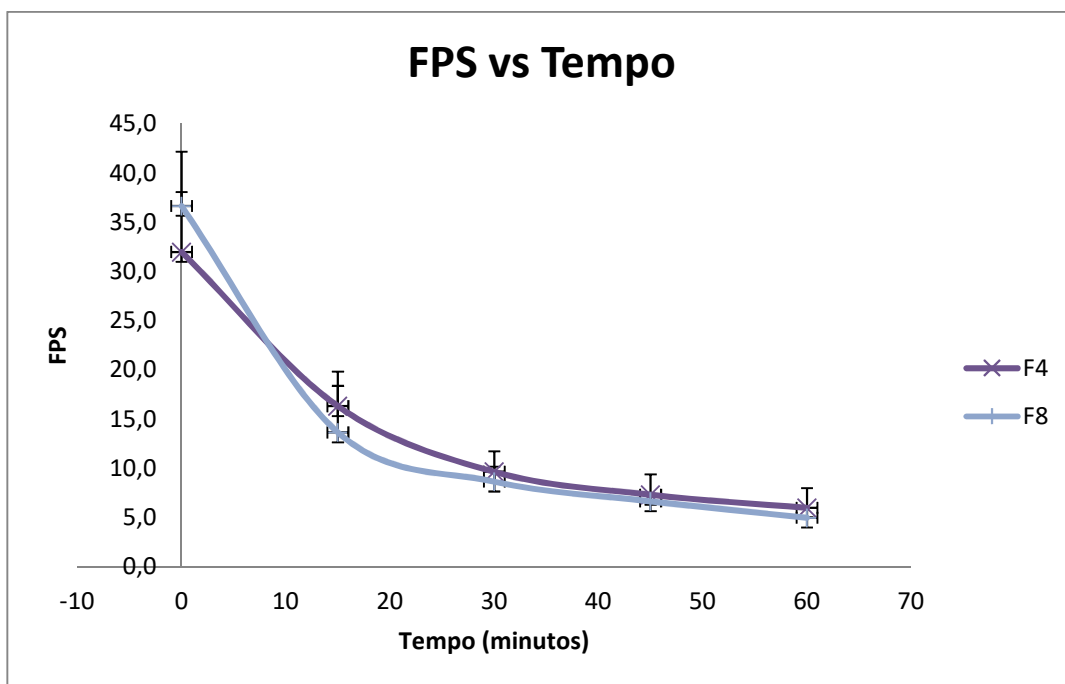


Figura 9. Comparação dos resultados entre F4 e F8 (F4: 6%CrodsCaf; F8: 6%Crods/1%Caf).

Analisando o gráfico conseguimos perceber que no melhor veículo, formulação com Crodafos™ 6%, a incorporação da cafeína consegue atingir valores de FPS superiores no início da exposição, mantendo-se no final muito equivalente à formulação sem cafeína.

Por outro lado, ao analisarmos os dados das formulações com 6% de Crodafos™ mas com 2,5% de Cafeína e 5% de Cafeína, conseguimos perceber que o aumento da % p/p da cafeína destabiliza a solução diminuindo o FPS não só inicial mas ao longo da exposição à radiação.

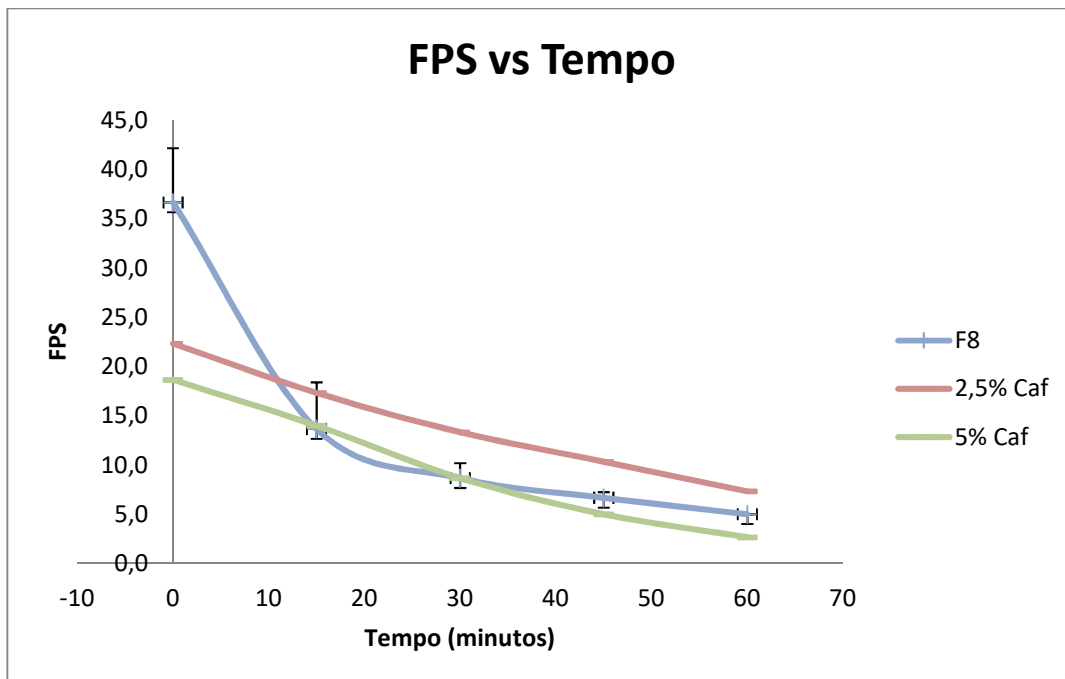


Figura 10. Comparação entre as formulações F8, F9, e F10.

Conclui-se então que a formulação mais indicada para utilizar como base na produção de um protetor solar com os constituintes estudados, teria % (p/p) de 1% Cafeína e 6% Crodafos™.

Soluções concentradas de Avobenzona (2 e 4%p/p) em solventes não voláteis como o óleo mineral, o alquiltartarato, os triglicéridos de ácido cáprico e caprílico, o isoestearato de estearila e o alquilacetato e avaliadas em placas de PMMA por espectrofotometria com esfera de integração, apresentam diminuição da fotoproteção in vitro de até 80% (Huong et al.,2008; Mturi & Martincigh, 2008; Chaudhuri et al. 2006).

10. Perspetivas Futuras e Conclusão

Concluindo qual a melhor opção para produção de uma formulação como fotoprotetor solar, e percebendo a concentração mais eficaz da Cafeína, começou-se a desenvolver o estudo intensivo e comprovação do efeito da mesma.

Ainda no meu projeto de Iniciação Científica, iniciou-se os estudos necessários para comprovar o efeito da Cafeína como fotoestabilizador destas formulações, que penso serem fundamentais para o desenvolvimento deste projeto.

Escolhidas as bases mais adequadas, sentiu-se a necessidade de se estudar as reações moleculares e o efeito das mesmas aquando da radiação e da excitação causada pela radiação solar. Para tal iniciou-se a análise quantitativa de alterações moleculares causadas pela radiação UV utilizando a técnica de ¹H RMN, e a análise qualitativa da supressão do estado energético do singleto por fluorescência em cromatografia de camada delgada.

A continuação deste estudo, e a realização destas análises é fundamental para a descoberta de mais uma possível funcionalidade da cafeína na saúde Humana, principalmente incorporada em cosméticos.

A Universidade de São Paulo continuou assim a desenvolver este projeto, que poderá em breve trazer novos desenvolvimentos ao mundo da fotoproteção solar.

Os protetores solares, a forma de proteção da pele mais comumente usada pela população, têm sofrido desenvolvimentos significativos com objetivo de aumentar e melhorar a sua segurança e eficácia.

Ao longo dos anos tem-se verificado uma evolução na pesquisa e estudos relacionados com a fotoproteção, considerada um elemento profilático e terapêutico essencial à saúde pública(González et al., 2008).

O desenvolvimento, a avaliação da eficácia fotoprotetora in vitro e avaliação da fotoestabilidade das formulações fotoprotetoras com ou sem incorporação da cafeína, possibilitou verificar que a presença da mesma colaborou na manutenção da fotoproteção diante da exposição à radiação UV, in vitro.

Os resultados obtidos neste estudo indicaram que a adição da cafeína em formulações fotoprotetoras representa um caminho simples e efetivo para elevar a fotoestabilidade da combinação dos filtros Avobenzona e MCO. A adição da cafeína em formulações fotoprotetoras representa uma estratégia promissora, pois aliada a ação fotoestabilizadora, verificada nesse estudo, possui propriedades de proteção direta

contra a radiação solar que podem maximizar a eficácia de formulações fotoprotetoras de amplo espectro com aumento da segurança de utilização das mesmas.

A radiação UV tem sido cada vez mais associada a um conjunto de efeitos negativos na saúde humana, provocando o excesso desta danos ao nível dos olhos e da pele, induzindo o envelhecimento cutâneo e o melanoma (Wang et al., 2010).

Pela necessidade da caracterização física, físico-química e funcional (in vitro), as formulações apresentaram consistência aparente fluida, valor de pH levemente ácido, biocompatível com o da pele, sem cheiro associado, e sem alterações organolépticas associadas ao longo do tempo (Pinto, 2004).

As intensas pesquisas nesta área revelam que novas substâncias, principalmente com atividade antioxidante, previnem e apaziguam os efeitos malignos causados pela radiação UV.

O estudo da radiação IV também já é uma imposição na investigação na área dos protetores solares, para realmente se apurar quais os efeitos desta na pele humana. Comprovou-se em alguns estudos que é importante proteger a pele contra esta radiação, pelo que os estudos devem continuar a procurar substâncias que atuem contra esta radiação, e talvez formular um protetor solar contra todas as radiações em conjunto.

Os estudos na área da proteção solar fazem parte de um plano mundial para uma melhoria na saúde pública, devendo persistir na pesquisa e desenvolvimento de novas estratégias e formulações fundamentais para garantir a proteção adequada da pele e prevenir o aparecimento dos efeitos indesejáveis causados pela radiação solar.

Referências bibliográficas

- Abu-Yousif, A., Smith, K., Getsios, S., Green, K. J., Dross, R. T. Van, & Pelling, J. C. (2008). Enhancement of UVB-induced apoptosis by apigenin in human keratinocytes and organotypic keratinocyte cultures. *Cancer Res*, 68(8):3057-65.
- Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília, 2004. v.1, p. 45. (Séries Temáticas: Qualidade, 1).
- Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos: uma abordagem sobre os ensaios físicos e químicos. 2.ed. Brasília: Anvisa, 2008. 120p. (Séries Temáticas: Qualidade, 1).
- Ahmed, A.H.; Soyer, H.P.; Sunders, N.; Boukamp, P.; Roberts, M.S. (2008). Non-melanoma skin cancers. *Drug Discov Today*, 5(1), E55-E62.
- Akrman, J.; Kubác, L.; Bendová, H.; Jirová, D.; Keijová, K. Quartz, (2009). plates for determining sun protection in vitro and testing photostability of commercial sunscreens. *Int J CosmetSci*, 31, 119-129.
- Allemann, I., & Baumann, L. (2008). Antioxidants used in skin care formulations. *Skin Therapy Let*, 13(7):5-9.
- Amini, S., Viera, M., Valins, W., & Berman, B. (2010). Nonsurgical innovations in the treatment of nonmelanoma skin cancer, *J Clin Aesthet Dermatol*, 3(6), 20-34.
- Arad, S., Konnikov, N., Goukassian, D. A., & Gilchrest, B. A. (2006). T-oligos augment UV-induced protective responses in human skin. *FASEB*, 20(11), 1895–7.
- Arad, S., Zattra, E., Hebert, J., Epstein, E. H., Goukassian, D. A., & Gilchrest, B. A. (2008). Topical thymidine dinucleotide treatment reduces development of ultraviolet-induced basal cell carcinoma in Ptch-1+/- mice. *Am J Pathol.*, 172(5), 1248–55.
- Aulton, M.E. (2005) Delineamento de formas farmacêuticas. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 107, 361.
- Baby, A.R. (2005). Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de formulações cosméticas anticelulíticas contendo o extrato vegetal comercial de *Trichilia catigua* Adr. Juss (e) *Ptychopetalum olacoides* Bentham, padronizado em flavonóides totais. 159p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- Baby, A.R.; balogh, T.S.; pedriali, C.A.; kaneko, T.M.; velasco M.V.R, (2009). UVA I-protection effectiveness of bioactive compound and organic UV filters: an in vitro assessment. *Química Nova*, v.32, n.5, p.1321-1323.
- Baliga, M. S., Wang, H., Zhuo, P., Schwartz, J. L., & Diamond, A. M. (2007). Selenium and GPx-1 overexpression protect mammalian cells against UV-induced DNA damage. *Biological trace element research*, 115(3), 227–42.
- Balogh, T. S., Velasco, M. V. R., Pedriali, C. A., Kaneko, T. M., & Baby, A. R. (2011). Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 86(4), 732–742.
- Barata, E. (2002). *Cosméticos: arte e ciência*. (LIDEL, Ed.) (pp. 96–108).

- Barel, A., Paye, M., & Maibach, H. (2009). Handbook of Cosmetic Science and Technology. (Informa healthcare, Ed.) (Third Edit., pp. 311–329).
- Barel, A.O.; Paye, M.; Maibach, H.I. Handbook of cosmetic science and technology. New York: Marcel Dekker, 2001. p.458-459, p.645-652.
- Barresi, C., Stremnitzer, C., Mlitz, V., Kezic, S., Kammeyer, A., Ghannadan, M., Eckhart, L. (2011). Increased sensitivity of histidinemic mice to UVB radiation suggests a crucial role of endogenous urocanic acid in photoprotection. *J Invest Dermatol.*, 131(1), 188–94.
- Béani, J. C. (2001). Enhancement of endogenous antioxidant defenses: a promising strategy for prevention of skin cancers. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 185(8), p.1507–25; discussion 1526–7.
- Beissert, S., & Loser, K. (2008). Molecular and Cellular Mechanisms of Photocarcinogenesis. *Photochemistry and photobiology*, 84(1), 29–34.
- Berardesca, E., Bertona, M., Altabas, K., Altabas, V., & Emanuele, E. (2012). Reduced ultraviolet-induced DNA damage and apoptosis in human skin with topical application of a photolyase-containing DNA repair enzyme cream: clues to skin cancer prevention. *Molecular medicine reports*, 5(2), 570–4.
- Bissett, D. L., & McBride, J. F. (1996). Synergistic topical photoprotection by a combination of the iron chelator 2-furildioxime and sunscreen. *J Am Acad Dermatol*, 35(4), 546–9.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília, 2004, v.1, 45p.
- Brenner, M., & Hearing, V. J. (2008). The Protective Role of Melanin Against UV Damage in Human Skin. *Photochemistry and photobiology*, 84(3), 539–49.
- Camp, W. L., Turnham, J. W., Athar, M., & Elmets, C. A. (2011). New agents for prevention of ultraviolet-induced nonmelanoma skin cancer. *Seminars in cutaneous medicine and surgery*, 30(1), 6–13.
- Cassidy, P. B., Fain, H. D., Cassidy, J. P., Tran, S. M., Moos, P. J., Boucher, K. M., Leachman, S. A. (2013). Selenium for the prevention of cutaneous melanoma. *Nutrients*, 5(3), 725–49.
- Chang, N.-B.; Feng, R.; Gao, Z.; Gao, W. (2010). Skin cancer incidence is highly associated with ultraviolet-B radiation history. *Int J Hyg Environ Health*, v.213, 359-368.
- Chaudhuri, R.K.; Lascu, Z.; Puccetti, G.; Deshpande, A.A; Paknikar, S.K. (2006). Design of a photostabilizer having built-in antioxidant functionality and its utility in obtaining broad-spectrum sunscreen formulations. *Photochemistry and Photobiology*, 82(3), 823–828.
- Chen, G.; He, G. (2003). Separation of water and oil from water-in-oil emulsion by freeze/thaw method. *Separation and Purification Technology*, 32, 83-89.
- Chorilli, M., Udo, M., Cavallini, M., & Leornadi, G. (2006). Desenvolvimento e estudos preliminares de estabilidade de formulações fotoprotetoras contendo Granlux GAI-45 TS®. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 237–246.
- Chrétien, M.N.; Migahed, L.; Scaiano, J.C. (2006). Protecting the protectors: reducing the biological toxicity of UV sunscreens by zeolite encapsulation. *Photochemistry and Photobiology*, v.82, 1606-1611.

- Collaris, E.J.H.; Frank, J. (2008). Photoallergic contact dermatitis caused by ultraviolet filters in different sunscreens. *Int J Dermatol*, 47(1), 35-37.
- Conney, A. H., Lu, Y.-P., Lou, Y.-R., Kawasumi, M., & Nghiem, P. (2013). Mechanisms of Caffeine-Induced Inhibition of UVB Carcinogenesis. *Frontiers in oncology*, 3, p.144.
- Cosmetics Europe (2011). In vitro method for the determination of the UVA protection factor and “critical wavelength” values of sunscreen products, p.28.
- Cosmetics Europe. International Sun Protection Factor (SPF) test method, 2006, p.44.
- Costin, G.-E., & Hearing, V. J. (2007). Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *FASEB J*, 21(4), 976–94.
- D’Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., & Scott, T. (2013). UV Radiation and the Skin. *Int J Mol Sci*, 14(6): 12222–12248.
- Diffey, B.L.; Tanner, P.R.; Matts, P.J.; Nash, J.F. In vitro assessment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products. *J Am Acad Dermatol*, 43(6),1024-1035, 2000.
- Dondi, D.; Albin, A.; Serpone, N. (2006). Interactions between different solar UVB/UVA filters contained in commercial sunscreens and consequent loss of UV protection. *Photochem Photobiol Sci*, 5(9).835- 843.
- Dupont, E., Gomez, J., & Bilodeau, D. (2013). Beyond UV radiation: A skin under challenge. *Int J Cosmet Sci*, 35(3), 224-32.
- Eberlein-König, B., Placzek, M., & Przybilla, B. (1998). Protective effect against sunburn of combined systemic ascorbic acid (vitamin C) and d-alpha-tocopherol (vitamin E). *J Am Acad Dermatol*, 38(1), 45–8.
- Effects of infrared radiation and heat on human skin aging in vivo. *J Investig Dermatol Symp Proc. Symposium proceedings / the Society for Investigative Dermatology, Inc. [and] European Society for Dermatological Research*, 14(1), 15–9.
- European Pharmacopoeia. 6.ed. Strasbourg (2007): Council of Europe.
- Fabrikant, J., Toulouei, K., & Brown, S. M. (2013). A review and update on melanocyte stimulating hormone therapy: afamelanotide. *J Drugs Dermatol*, 12(7), 775–9.
- Fischer, S. M., Lo, H. H., Gordon, G. B., Seibert, K., Kelloff, G., Lubet, R. A., & Conti, C. J. (1999). Chemopreventive activity of celecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor, and indomethacin against ultraviolet light-induced skin carcinogenesis. *Molecular carcinogenesis*, 25(4), 231–40.
- Food and Drug Administration (FDA). Department of Health and Human Services. 21 CFR parts 201 and 310. Labeling and effectiveness testing; sunscreen drug products for over-the-counter human use; Final Rule. Silver Spring, 2011, 76(117), 46.
- Food and Drug Administration. (2011). Sunscreen Drug Products for Over-the-Counter Human Use.
- Forestier, S. (2008). Rationale for sunscreen development. *J Am Acad Dermatol*, 58(5), 133-138.

- Foster, T.; Rybinski, W.V. Applications of emulsions. In: BINKS, B.P., ed., (1998). Modern aspects of emulsion science. Cambridge: Royal Society of Chemistry. Cap.12, 395-406.
- Gambichler, T., Laperre, J., & Hoffmann, K. (2006). The European standard for sun- protective clothing: EN 13758. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 20(2), 125–30.
- Gilaberte, Y., & González, S. (2010). Update on photoprotection. *Actas dermo-sifiligráficas*, 101(8), 659–72.
- Gilchrest, B. A., Park, H. Y., Eller, M. S., & Yaar, M. (1996). Mechanisms of ultraviolet light-induced pigmentation. *Photochem Photobiol*, 63(1), 1–10.
- Gonzalez, S, Gilaberte, Y., Philips, N., & Juarranz, A. (2011). Current Trends in Photoprotection- A New Generation of Oral Photoprotectors. *The Open Dermatology Journal*, 2011, 5, 6-14.
- González, S., Fernández-Lorente, M., & Gilaberte, Y. (2008). The latest on skin photoprotection. *Clinics in Dermatology. Clin Dermatol*, 26(6):614-26.
- Handbook of Cosmetic Science and Technology Second Edition. Levy S. (2005), 23 UV Filters; Bernard Gabard 30 Sun Protection and Sunscreens.
- Hojerová, J.; Medovčíková, A.; Mikula, M. (2011). Photoprotective efficacy and photostability of fifteen sunscreen products having the same label SPF subjected to natural sunlight. *Int J Pharm.* v.408, 27-38.
- Huong, S. P.; Rocher, E.; Fourneron, J.; Charles, L.; Monnier, V. Bun, H. Andrieu, V. (2008). Photoreactivity of the sunscreen butylmethoxydibenzoylmethane (DBM) under various experimental conditions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, v.196, n.1, p.106-112.
- Idson, B. (1998). Stability testing of emulsions. *Drug Cosmet. Ind.*, New York, v.143, n.6, p.35–38, 74.
- J. A. (2009). Prolonged treatment of fair-skinned mice with topical forskolin causes persistent tanning and UV protection. *Pigment cell & melanoma research*, 22(2), p.219–29.
- Juez, J., & Gimier, L. (1995). *Ciencia cosmética: bases fisiológicas y criterios prácticos*, 191–199, 205–210.
- Kar, H. K. (2002). Efficacy of beta-carotene topical application in melasma: an open clinical trial. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 68(6), 320–2.
- Kerzendorfer, C., & O’Driscoll, M. (2009). UVB and caffeine: inhibiting the DNA damage response to protect against the adverse effects of UVB. *J Invest Dermatol*, 129(7), 1611–3.
- Kitazawa, M., Iwasaki, K., & Sakamoto, K. (2006). Iron chelators may help prevent photoaging. *J Cosmet Dermatol*, 5(3), 210–7.
- Krinsky, N. I., & Johnson, E. J. (2005). Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Mol Aspects Med*, 26(6), 459–516.
- Kullavanijaya, P.; Lim, H.W. (2005) Photoprotection. *J Am Acad Dermatol*, 52(6), 937-958.

- Lanzet, M. Lotions. In: De Navarre, M.G. The chemistry and manufacture of cosmetics. 2.ed. Orlando: Continental Press, 1993. v.3, cap.24, 379-417.
- Latha, M. S., Martis, J., Shobha, V., Sham Shinde, R., Bangera, S., Krishnankutty, B., Naveen Kumar, B. R. (2013). Sunscreening agents: a review. *J Clin Aesthet Dermatol*, 6(1), 16–26.
- Lautenschlager, S.; Wulf, H. C.; Pittelkow, M.R. (2007). Photoprotection. *The Lancet*, v.370, n.9586, p.528-537.
- Levy, S. (2012). Sunscreens and photoprotection. *Arch Dermat*, 131(12), 1463-1464.
- Lin, J. Y., & Fisher, D. E. (2007). Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature*, 445(7130), 843–50.
- Lin, J.-Y., Selim, M. A., Shea, C. R., Grichnik, J. M., Omar, M. M., Monteiro-Riviere, N. A., & Pinnell, S. R. (2003). UV photoprotection by combination topical antioxidants vitamin C and vitamin E. *J Am Acad Dermatol*, 48(6), 866–74.
- Lu, Y.-P., Lou, Y.-R., Xie, J.-G., Peng, Q.-Y., Zhou, S., Lin, Y., Conney, A. H. (2007). Caffeine and caffeine sodium benzoate have a sunscreen effect, enhance UVB- induced apoptosis, and inhibit UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice. *Carcinogenesis*, 28(1), 199–206.
- Maier, H.; Schauburger, G.; Brunnhofer, K.; Honigsmann, H. (2001). Change of ultraviolet absorbance of sunscreens by exposure to solarsimulated radiation. *Journal of Investigative Dermatology*, 117(2), 256-262.
- Manaia, E. B.; kaminski, R. C. K.; Corrêa, M. A.; Chiavacci, L. A. (2013). Inorganic UV filters., *J. Pharm Sci* 9(2), 201-209.
- Mansur, J.S.; Breder, M.N.R.; Mansur, M.C.A.; Azulay R. (1986). Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 61(4), 121-124.
- Maverakis, E.; Miyamura, Y.; Bowen, M.P.; Correa, G.; Ono, Y.; Goodarzi, H. (2010). Light including ultraviolet. *J Autoimmun*, 34(3), J247-J257.
- Meeran, S. M., Akhtar, S., & Katiyar, S. K. (2009). Inhibition of UVB-induced skin tumor development by drinking green tea polyphenols is mediated through DNA repair and subsequent inhibition of inflammation. *J Invest Dermatol*, 129(5), 1258–70.
- Mitsui, T. (1998). *New Cosmetic Science*. (Elsevier, Ed.) (pp. 32–38).
- Miyamura, Y., Coelho, S. G., Wolber, R., Miller, S. A., Wakamatsu, K., Zmudzka, B. Z., Hearing, V. J. (2007). Regulation of human skin pigmentation and responses to ultraviolet radiation. *Pigment cell research / sponsored by the European Society for Pigment Cell Research and the International Pigment Cell Society*, 20(1), 2–13.
- Moraes, C.A.P. Síntese e avaliação da segurança *in vitro* da rutina e do succinato de rutina visando sua incorporação em formulações fotoprotetoras eficazes associados a filtros químicos e físico. São Paulo, 2011, 210p. Tese de doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.
- Mturi, G. J.; Martincigh, B.S. (2008). Photostability of the sunscreening agent 4-tert-butyl-4-methoxydibenzoylmethane (avobenzone) in solvents of different polarity and proticity. *J Photochem Photobiol*, 200(2-3), 410-420.

- Narayanan, D.L.; Saladi, R.N.; Fox, J.L. Ultraviolet radiation and skin cancer. *Int J Dermatol*, 49(9), 978-986, 2010.
- Nichols, J. A., & Katiyar, S. K. (2010). Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Arch Dermatol Res*, 302(2), 71–83.
- Noronha M. (2014). Tendências mais recentes na fotoproteção.
- Palm, M.D.; O`Donoghue, M.N. (2007). Update on photoprotection. *Dermat Ther*, v.20, 360-376.
- Paris, C.; Lhiaubet-Vallet, V., Jiménez, O.; Trullas, C.; Miranda, M. Á. (2009). A blocked diketo form of avobenzone: photostability, photosensitizing properties and triplet quenching by a triazine-derived UVB-filter. *Photochem Photobiol*, 85(1), 178-184.
- Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. (2009). Regulamento (CE). No 1223/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho de 30 de Novembro de 2009 relativo aos produtos cosméticos. *Jornal Oficial da União Europeia*.
- Passeron, T., Namiki, T., Passeron, H. J., Le Pape, E., & Hearing, V. J. (2009). Forskolin protects keratinocytes from UVB-induced apoptosis and increases DNA repair independent of its effects on melanogenesis. *J Invest Dermatol*, 129(1), 162–6.
- Pathak, M.A. Photoprotection against harmful effects of solar UVB and UVA radiation: an update. In: Lowe, N.J.; Shaath, M.A.; Pathak, M.A. *Sunscreens: development, evaluation, and regulatory aspects*. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 1997. 59-79. (Cosmetic science and technology series, v.15).
- Pattanaargson, S.; Limphong, P. (2001). Stability of octyl methoxycinnamate and identification of its photo-degradation product. *Int J Cosmet Sci*, 23(3), 153-160.
- Pouillot, A., Polla, L., Tacchini, P., Neequaye, A., Polla, A., & Polla, B. (2011). Natural antioxidants and their effects on the skin. In Nava Dayan and Lambros Kromidas (Ed.), *Formulating, Packaging and Marketing of Natural Cosmetic Products (First Edit.)*. John Wiley & Sons, Inc.
- Prista, L., & Baía, M. (1992). *Dermofarmácia e cosmética*. (ANF, Ed.) (Vol. I, pp. 239– 253). Porto.
- Rai, R., Shanmuga, S. C., & Srinivas, C. (2012). Update on photoprotection. *Indian J Dermatol*, 57(5), 335–42.
- Reyes, E., & Vitale, M. (2013). Avances en fotoprotección. Mecanismos moleculares implicados. *Piel*, 28(4), 235-247.
- Rhodes, L. E., Shahbakhti, H., Azurdia, R. M., Moison, R. M. W., Steenwinkel, M., Homburg, M. I., ... Vink, A. (2003). Effect of eicosapentaenoic acid, an omega-3 polyunsaturated fatty acid, on UVR-related cancer risk in humans. An assessment of early genotoxic markers. *Carcinogenesis*, 24(5), 919–925.
- Ribeiro, A.M.; Khury, E.; Gottardi, D. (1996) Validação de testes de estabilidade para produtos cosméticos. In: Congresso Nacional de Cosmetologia, 10, São Paulo, 1996. *Anais. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia*, 349-375.

- Rieger, M.M. Emulsões. In: Lachman, L.; Lieberman, H.A.; Kanig, J.L. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v.2, cap.17, 855-905.
- Rockel, N., Esser, C., Grether-Beck, S., Warskulat, U., Flögel, U., Schwarz, A., ... Krutmann, J. (2007). The osmolyte taurine protects against ultraviolet B radiation- induced immunosuppression. *J Immunol (Baltimore, Md.: 1950)*, 179(6), 3604–12.
- Saija, A., Tomaino, A., Trombetta, D., De Pasquale, A., Uccella, N., Barbuzzi, T., Bonina, F. (2000). In vitro and in vivo evaluation of caffeic and ferulic acids as topical photoprotective agents. *Int J Pharm*, 199(1), 39–47.
- Santoro, M.I.R.M.; Oliveira, D.A.G.C.E.; Kedor-Hackmann, E.M.R.; Singh, A.K (2005). The effect of packaging on the stability of sunscreen emulsions. *Int J Pharm*, 297(1/2), 197-203.
- Scalia, S.; Mezzena, M.; Bianchi, A. (2010). Comparative evaluation of different substrates for the in vitro determination of sunscreen photostability: spectrophotometric and HPLC analyses. *Int J Cosmet Sci*, v.32, 55-64.
- Schroeder, P., Calles, C., & Krutmann, J. (2009). Prevention of infrared-A radiation mediated detrimental effects in human skin. *Skin Therapy Letter. Skin Therapy Let*, 14(5), 4-5.
- Scott, T. L., Christian, P. A., Kesler, M. V, Donohue, K. M., Shelton, B., Wakamatsu, K., D'Orazio, J. (2012). Pigment-independent cAMP-mediated epidermal thickening protects against cutaneous UV injury by keratinocyte proliferation. *Exp Dermatol*, 21(10), 771–7.
- Shaath, N.A. Evolution of modern sunscreen chemicals. In: Lowe, N.J.; Shaath, M.A.; Pathak, M.A. (1997). *Sunscreens: development, evaluation, and regulatory aspects. Cosmetic science and technology series 2.ed.* New York: Marcel Dekker. 3-33.
- Shai, A., Maibach, H., & Baran, R. (2009). *Handbook of Cosmetic Skin Care.* (Informa Healthcare, Ed.) (Second Edi.). United Kingdom.
- Silva, F.C.F. Padronização de métodos analíticos para a determinação de filtros solares em emulsões. São Paulo, 2000. 121p. Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.
- Smijs, T., & Pavel, S. (2011). Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. *Nanotechnology, Science and Applications. Nanotechnol Sci Appl*, 4, 95–112.
- Song, X., Mosby, N., Yang, J., Xu, A., Abdel-Malek, Z., & Kadarko, A. L. (2009). Alpha- MSH activates immediate defense responses to UV-induced oxidative stress in human melanocytes *Pigment Cell Melanoma Res*, 22(6), 809–18.
- Springsteen, A; Yurek, R.; Frazier, M. Carr, K.F. (1999). In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance. *Analytica Chimica Acta*, 380, 155-164.
- Spry, M. L., Vanover, J. C., Scott, T., Abona-Ama, O., Wakamatsu, K., Ito, S., & D'Orazio, J. A. (2009). Prolonged treatment of fair-skinned mice with topical forskolin causes persistent tanning and UV protection. *Pigment Cell Melanoma Res*, 22(2), 219–29.

- Stahl, W., & Sies, H. (2005). Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim Biophys Acta*, 1740(2), 101-7.
- Stahl, W., & Sies, H. (2007). Carotenoids and flavonoids contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. *Mol biotechnology*, 37(1), 26–30.
- Stahl, W., & Sies, H. (2012b). Photoprotection by dietary carotenoids: concept, mechanisms, evidence and future development. *Mol Nutr Food Res*, 56(2), 287–95.
- Stanojević, M., Stanojević, Z., Jovanović, D., & Stojiljković, M. (2004). Ultraviolet radiation and melanogenesis. *Arch Oncol*, 12(4), 203-205.
- Steenvoorden, D. P., & van Henegouwen, G. M. (1997). The use of endogenous antioxidants to improve photoprotection. *J Photochem Photobiol B*, 41(1-2), 1–10.
- Svobodova, A., Walterova, D., & Vostalova, J. (2006). Ultraviolet light induced alteration to the skin. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacký Olomouc Czech Repub*, 150(1), 25–38.
- Tanner (2006). P.R. Sunscreen product formulation. *Dermatol Clin*, 24, 53-62.
- The Commission of the European Communities. (2006). Commission Recommendation of 22 September 2006 on the efficacy of sunscreen products and the claims made relating thereto, 39–43.
- The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association, Colipa (2007). Method for the in vitro determination of UVA protection provided by sunscreen products, ref 2007^a.
- The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association, Colipa (October 1994): Colipa Sun Protection Factor Test Method, ref 94/289.
- United States Pharmacopeia. USP32/NF27. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2009. 2, xvi-xviii.
- United States Pharmacopeia: USP34; The National Formulary: NF29. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2011. 2, xvi-xviii.
- Velasco, M.V.R.; Balogh, T.S.; Pedriali, C.A.; Sarruf, F.D.; Pinto, C.A.S.O.; Kaneko, T.M.; Baby, A.R. (2008^a) Associação da rutina com p- metoxicinamato de octila e benzofenona-3: avaliação in vitro da eficácia fotoprotetora por espectrofotometria de refletância. *Latin Am J Pharm*, 27(1), 23-27.
- Velasco, M.V.R.; Balogh, T.S.; Pedriali, C.A.; Sarruf, F.D.; Pinto, C.A.S.O.; Kaneko, T.M.; Baby, A.R. (2011). New analytical methods for photoprotection effectiveness testing (in vitro) – a review. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 32(1), 27-34.
- Velasco, M.V.R.; Sarruf, F.D.; Salgado-Santos, I.M.N.; Haroutiounian Filho, C.A.; Kaneko, T.M.; Baby, A.R. (2008). Broad spectrum bioactive sunscreens. *Int J Pharm*, 363(1/2), 50-57.
- Walters, K., & Roberts, M. (2008). Dermatologic, cosmeceutic, and cosmetic development: Therapeutic and novel approaches. (Informa healthcare, Ed.) (pp. 373–382, 419–432). New York.
- Wang, S. Q., Balagula, Y., & Osterwalder, U. (2010). Photoprotection: a review of the current and future technologies. *Dermatol Ther*, 23(1), 31–47.

- Weeks, B. S., Hanna, M. S., & Cooperstein, D. (2012). Dietary selenium and selenoprotein function. *Med Sci Monit*, 18(8), 127–132.
- Widyarini, S. (2006). Protective effect of the isoflavone equol against DNA damage induced by ultraviolet radiation to hairless mouse skin. *J Vet Sci*, 7(3), 217.
- Yusuf, N., Irby, C., Katiyar, S. K., & Elmets, C. A. (2007). Photoprotective effects of green tea polyphenols. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 23(1), 48– 56.

Anexos

Anexo 1. Relação de filtros solares aprovados no Brasil, Estados Unidos, Comunidade Européia e Austrália (Lautenschlager, Wulf & Pittelkow, 2007; Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2006).

INCI*	IUPAC*	INN*	Substância*	Localização Concentração máxima %			
				CE*	EUA†	AUS‡	BRA•
FILTRO UVB							
Derivados de PABA							
PABA	4-aminobenzoic acid		acido 4-aminobenzoico	5,0	15,0	15,0	15,0
ETHYLHEXYL DIMETHYL PABA	2-ethylhexyl 4-(dimethylamino) benzoate	padimate-O	4-dimetil-aminobenzoato de 2- etilhexila	8,0	8,0	8,0	8,0
PEG-25 PABA			n-etoxi-e-4-aminobenzoato de etila	10,0		10,0	10,0
ETHYLHEXYL TRIAZONE	benzoic acid, 4,4',4''-(1,3,5-triazine-2,4,6- trilyltriimino)tris-,tris(2-ethylhexyl) ester; octyl triazone		2, 4, 6-trianilin-(p-carbo-2'- etil-hexil-1'-oxi)-1, 3, 5- triazina	5,0		5,0	5,0
Cinamatos							
ETHYLHEXYL METHOXYCINNAMATE	2-ethylhexyl 4-methoxycinnamate	octinoxate	4-metoxicinamato de 2--etilhexila	10,0	7,5	10,0	10,0
CINOXATE	2-propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-ethoxyethyl ester	cinoxate	4-metoxicinamato de 2-etoxietila		3,0	6,0	3,0
ISOAMYL P-METHOXYCINNAMATE	isopentyl p-methoxycinnamate	amiloxate	Metoxicinamato de isopentila	10,0		10,0	10,0
Salicilatos							
ETHYLHEXYL SALICYLATE	2-ethylhexyl salicylate	octisalate	salicilato de 2-etilhexila	5,0	5,0	5,0	5,0
HOMOSALATE	benzoic acid, 2-hydroxy-, 3,3,5- trimethylcyclohexyl ester	homosalate	salicilato de homomentila	10,0	15,0	15,0	15,0
TEA-SALICYLATE	salicylic acid, compound with 2,2',2''- nitrilotriethanol (1:1)	trolamine salicylate	salicilato de trietanolamina		12,0	12,0	12,0

Legenda: **INCI** = International Nomenclature of Cosmetic Ingredients; **IUPAC** = International Union of Pure and Applied Chemistry; **INN** = International Non-proprietary Name; **CE** = Comunidade Européia; **EUA** = Estados Unidos da América; **AUS** = Austrália; **BRA** = Brasil; *Lista de filtros UV permitidos no Conselho Diretivo do Comitê Europeu; † Lista de filtros UV listados no FDA; ‡ Lista de filtros UV listados pelo Guia Regulatório para medicamentos da Austrália, TGA; • Lista de filtros UV permitidos conforme Resolução RDC n.48 da ANVISA, 2006.

Anexo 1. Relação de filtros solares aprovados no Brasil, Estados Unidos, Comunidade Européia e Austrália (Lautenschlager, wulf & pittelkow, 2007; agência nacional de vigilância sanitária, 2006). (cont.)

INCI*	IUPAC*	INN*	Substância*	Localização Concentração máxima %			
				CE*	EUA†	AUS‡	BRA●
FILTRO UVB							
Canforas							
BENZYLIDENE CAMPHOR SULFONIC ACID	alpha-(2-Oxoborn-3-ylidene) toluene-4 sulphonic acid		3-benzilideno cânfora	6,0			6,0
POLYACRYLAMIDOMETHYL BENZYLIDENE CAMPHOR			polimero de n-[(2 e 4) [(2-oxoborn-3-ilideno)metil]benzil]acrilamida	6,0			6,0
CAMPHOR BENZALKONIUM METHOSULFATE	methyl N,N,N-trimethyl-4-[(4,7,7-trimethyl-3-oxobicyclo[2.2.1]hept-2-ylidene) methyl]anilinium sulphate;		sulfato de metila de N, N, N-trimetil-e-(2, oxoborn-3-ilidenometil) anilínio	6,0		6,0	6,0
4-METHYLBENZYLIDENE CAMPHOR	1,7,7-trimethyl-3-[(4-methylphenyl)methylene]bicyclo[2.2.1]heptan-2-one	enzacamene	3-(4'- metilbenzilideno)-d-l-cânfora	4,0		4,0	4,0
3-BENZYLIDENE CAMPHOR	1,7,7-trimethyl-3-(phenylmethylene) bicyclo[2.2.1]heptan-2-one		3-benzilideno cânfora	2,0			2,0
Outros							
OCTOCRYLENE	2-propenoic acid, 2-cyano-3,3-diphenyl-, 2-ethylhexyl ester	octocrilene	2-ciano-3,3'-difenilacrilato de 2etilhexila	10,0	10,0	10,0	10,0
PHENYLBENZYMIDAZOLE SULFONIC ACID	2-Phenyl-1H-benzimidazole-5-sulphonic acid	ensulizole	ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfônico	8,0	4,0	4,0	8,0

Legenda: INCI = International Nomenclature of Cosmetic Ingredients; IUPAC = International Union of Pure and Applied Chemistry; INN = International Non-proprietary Name; CE = Comunidade Européia; EUA = Estados Unidos da América; AUS = Austrália; BRA = Brasil; *Lista de filtros UV permitidos no Conselho Diretivo do Comitê Europeu; † Lista de filtros UV listados no FDA; ‡ Lista de filtros UV listados pelo Guia Regulatório para medicamentos da Austrália, TGA; ● Lista de filtros UV permitidos conforme Resolução RDC n.48 da ANVISA, 2006.

Anexo 1. Relação de filtros solares aprovados no Brasil, Estados Unidos, Comunidade Européia e Austrália (Lautenschlager, Wulf & Pittelkow, 2007; Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2006).(cont.)

INCI*	IUPAC*	INN*	Substância*	Localização			
				Concentração máxima %			
FILTRO UVA							
Benzofenonas				CE*	EUA†	AUS‡	BRA●
BENZOPHENONE-3	2-hydroxy-4-methoxybenzophenone	oxybenzone	2-hidroxi-4-metoxibenzofenona	10,0			
BENZOPHENONE-4	5-benzoyl-4-hydroxy-2-methoxybenzenesulfonic acid	sulisobenzone	ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona-5	5,0	10,0	10,0	10,0
BENZOPHENONE-5	benzenesulfonic acid, 5-benzoyl-4-hydroxy-2-methoxy-, monosodium salt	sulisobenzone sodium		5,0			5,0
BENZOPHENONE-8	2,2'-dihydroxy-4-methoxybenzophenone; dioxybenzone	dioxybenzone	2, 2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona		3,0	3,0	3,0
Outros							
MENTHYL ANTHRANILATE	menthyl anthranilate	meradimate	antranilato de mentila		5,0	5,0	5,0
BUTYL METHOXYDIBENZOYLMETHANE	1-[4-(1,1-Dimethylethyl)phenyl]-3-(4-methoxyphenyl)propane-1,3-dione	avobenzone	1-(4-terc-butilfenil)-3-(4-metoxifenil) propano-1, 3-diona	5,0	3,0	5,0	5,0
METHYLENE BIS-BENZOTRIAZOLYL TETRAMETHYLBUTYLPHENOL	2,2'-methylene-bis-(6-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl phenol)	bisoctrizole	2,2'-metileno-bis-6-(2H-benzotriazol-2-il)-4-(tetrametil-butil)-1,1,3,3-fenol metileno bis-benzotriazolil tetraetil butil fenol	10,0		10,0	10,0
DROMETRIZOLE TRISILOXANE	phenol,2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-methyl-6-(2-methyl-3-(1,3,3,3-tetramethyl-1-(trimethylsilyl)oxy)-disiloxanyl)propyl		2-(2H-benzotriazol-2-il)-4-metil-6-(2-metil-3-(1,3,3,3-tetrametil-1-(trimetilsilil)oxi)-disiloxanil)propil}fenol	15,0		15,0	15,0

Legenda: **INCI** = International Nomenclature of Cosmetic Ingredients; **IUPAC** = International Union of Pure and Applied Chemistry; **INN** = International Non-proprietary Name; **CE** = Comunidade Européia; **EUA** = Estados Unidos da América; **AUS** = Austrália; **BRA** = Brasil; *Lista de filtros UV permitidos no Conselho Diretivo do Comitê Europeu; † Lista de filtros UV listados no FDA; ‡ Lista de filtros UV listados pelo Guia Regulatório para medicamentos da Austrália, TGA; ● Lista de filtros UV permitidos conforme Resolução RDC n.48 da ANVISA, 2

Anexo 1. Relação de filtros solares aprovados no Brasil, Estados Unidos, Comunidade Européia e Austrália (Lautenschlager, Wulf & Pittelkow, 2007; Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2006).(cont.)

INCI*	IUPAC*	INN*	Substância*	Localização Concentração máxima %			
				CE*	EUA†	AUS‡	BRA●
FILTRO UVA							
Outros				CE*	EUA†	AUS‡	BRA●
DISODIUM PHENYL DIBENZIMIDAZOLE TETRASULFONATE	1H-benzimidazole-4,6-disulfonic Acid, 2,2'-(1,4-phenylene) bis-, disodium salt;	bisdisulizole disodium	sal monosódico do ácido 2,2'-bis-(1,4- fenileno)- 1H-benzimidazol-4,6-dissulfônico	10,0		10,0	10,0
TEREPHTHALYLIDENE DICAMPHOR SULFONIC ACID	3,3'-(1,4-phenylenedimethylene) bis [7,7-dimethyl-2-oxo-bicyclo[2.2.1] heptane-1-methanesulfonic acid]	ecamsule	3, 3'-(1, 4-fenilenodimetileno)bis (ácido 7, 7-dimetil-2-oxo-biciclo-(2.2.1)1- heptilmetanosulfônico e seus sais	10,0	10,0	10,0	10,0
DIETHYLHEXYL BUTAMIDO TRIAZONE	benzoic acid, 4,4'-[[6-[[4-[[[(1,1- dimethylethyl)amino] carbonyl]phenyl]amino]-1,3,5- triazine-2,4-diyl]diimino]bis -bis(2- ethylhexyl) ester	iscotrizinol	ácido benzóico,4,4'-[[6-[[4-[[[(1,1-dimetil etil)amino]carbonil]fenil]amino]-1,3,5-triazina- 2,4-diil]diimino]bis-,bis(2-etilhexil)	10,0			10,0
POLYSILICONE-15			dimeticodietilbenzalmalonato	10,0		10,0	10,0
BIS-ETHYLHEXYLOXYPHENOL METHOXYPHENYL TRIAZINE	2,2'-[6-(4-methoxyphenyl)-1,3,5- triazine-2,4-diyl]bis[5-[(2- ethylhexyl)oxy]-phenol]	bemotrizinol	(1,3,5)-triazina-2,4-bis{[4-(2-etil-hexiloxi)-2- hidróxi]-fenil}-6-(4-metoxifenil)	10,0		10,0	
DIETHYLAMINO HYDROXYBENZOYL HEXYL BENZOATE	benzoic acid, 2-[4-(diethylamino)-2- hydroxybenzoyl]-hexylester		ester hélico do ácido 2-[4-(diethylamino)-2- hidroxibenzoil]-,benzóico	10,0			10,0
FILTROS INORGÂNICOS							
TITANIUM DIOXIDE	titanium dioxide	titanium dioxide	dióxido de titânio	25,0	25,0	25,0	25,0
ZINC OXIDE	zinc oxide	Zinc oxide	óxido de zinco		25,0	SEM LIMITE	25,0

Legenda: **INCI** = International Nomenclature of Cosmetic Ingredients; **IUPAC** = International Union of Pure and Applied Chemistry; **INN** = International Non-proprietary Name; **CE** = Comunidade Européia; **EUA** = Estados Unidos da América; **AUS** = Austrália; **BRA** = Brasil; *Lista de filtros UV permitidos no Conselho Diretivo do Comitê Europeu; † Lista de filtros UV listados no FDA; ‡ Lista de filtros UV listados pelo Guia Regulatório para medicamentos da Austrália, TGA; ● Lista de filtros UV permitidos conforme Resolução RDC n.48 da ANVISA, 2006.

Anexo 2. Filtros Solares aprovados pelo FDA e espectro de proteção (FDA, 2011).

Ingrediente ativo aprovado pela FDA americana	Concentração máxima permitida (%)	Faixa de proteção (nm)	Proteção fornecida (UVA/UVB)
Orgânicos (proteção primária à UVB):			
PABA	15	260-313	UVB
Padimato O	8	290-315	UVB
Octinoxato (octil metoxicinamato)	7,5	290-315	UVB
Cinoxato	3	280-310	UVB
Octisalato (octil salicilato)	5	210-328	UVB
Homosalato	15	260-310	UVB
Trolamina salicilato	15	290-315	UVB
Octilocrileno	10	287-323	UVB
Ensilizole (fenilbenzimidazole ácido sulfônico)	4	290-340	UVB
Orgânicos (proteção primária à UVA):			
Avobenzona	3	310-400	UVA ₁ /UVA ₂
Meradimato	5	200-380	UVA ₂
Sulisobenzona	10	250-380	UVB, UVA ₂
Oxibenzona	6	270-350	UVB, UVA ₂
Dioxibenzona	3	206-380	UVB, UVA ₂
Ecamsule (tereftalideno dicanfor ácido sulfônico - Mesoryl SX®)	10	295-390	UVA ₁ /UVA ₂
Inorgânicos:			
Dióxido de titânio	25	290-350	UVB, UVA ₂
Óxido de zinco	25	290-400	UVB, UVA ₁

Adaptado de: Sambandan & Ratner³⁰.

FDA = Food and Drug Administration; UVA = ultravioleta A; UVB = ultravioleta B.

Anexo 3. Características básicas de procedimentos dos métodos European Cosmetics Association e United States para a determinação da eficácia fotoprotetora *in vitro* (United States, 2011; European Cosmetics Association, 2011).

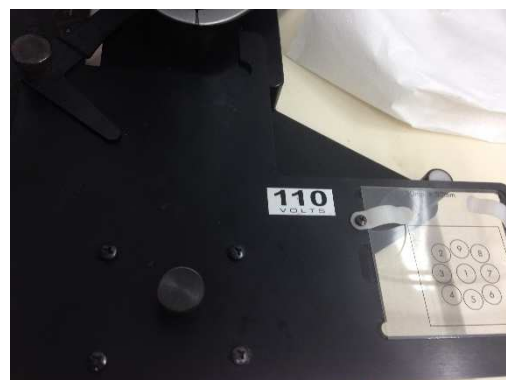
PROCEDIMENTO	MÉTODO	
	COLIPA 2011	FDA 2011
Material da placa	PMMA	
Razão de aplicação da amostra	1,3 mg/cm ²	0,75 mg/cm ²
Limite de rejeição do coeficiente de variação entre as leituras dos pontos de uma mesma placa	50% para UVAPF <i>in vitro</i>	Não definido
Limite de rejeição do coeficiente de variação entre as placas de uma mesma amostra	20% para UVAPF <i>in vitro</i>	Não definido
Distribuição da amostra na placa	Duas fases: espalhamento rápido sem pressão (até 30 seg) e espalhamento com pressão (20 e 30 seg).	Duas fases: espalhamento suave (até 30 seg) e espalhamento com maior pressão (30 seg).
Tempo de secagem	15 min	Não definido
Número de determinações	5 pontos, 3 placas	
Área de aplicação mínima	16,0 cm ²	Não definido
Caracterização	UVAPF <i>in vitro</i> ; FPS <i>in vitro</i> , razão FPS <i>in vivo</i> /UVAPF <i>in vitro</i> , λ_c	λ_c

Legenda – **UVAPF *in vitro***: Fator de Proteção UVA, determinado *in vitro*; **FPS *in vitro***: Fator de Proteção Solar, determinado *in vitro*; **FPS *in vivo***: Fator de Proteção Solar, determinado *in vivo*; λ_c : comprimento de onda crítico, **PMMA**: polimetil metacrilato.

Anexo 4: Fotografias pessoais retiradas durante o projeto de iniciação científica, na USP.
(2015)



Parâmetros dos testes realizados em Sun Teste CPS+.



Sun Teste CPS+ - Zona da colocação das placas PMMA



LabSphere UV-2000S@ Transmittance Analyzer



Sun Teste CPS+



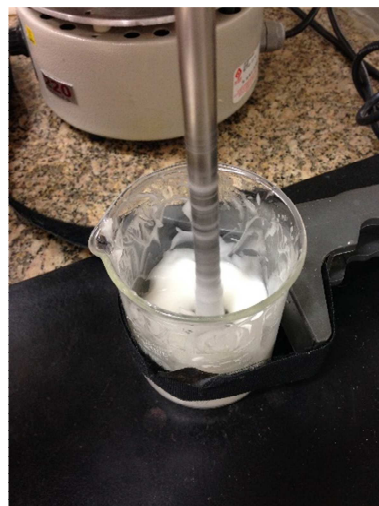
Bancada de preparação dos excipientes.



Agitador mecânico.



Labsphere UV-2000S® Transmittance Analyzer



Emulsão O/A praticamente terminada. .



Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas.