



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de fotoprotetores
com ação em toda a região do espectro solar**

Carla Souza

**Ribeirão Preto
2016**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de fotoprotetores
com ação em toda a região do espectro solar**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientada: Carla Souza

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 16/09/2016. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

Ribeirão Preto
2016

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Souza, Carla

Desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de fotoprotetores com ação em toda a região do espectro solar. Ribeirão Preto, 2016.

147 f.; 30 cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientadora: Maia Campos, Patrícia Maria Berardo Gonçalves

1. Protetor solar 2. Radiação solar 3. Eficácia clínica 4. Fotoenvelhecimento cutâneo 5. Antioxidantes

FOLHA DE APROVAÇÃO

Carla Souza

Desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de fotoprotetores com ação em toda a região do espectro solar

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Patrícia Maria Berardo Gonçalves Maia Campos

Aprovada em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

RESUMO

SOUZA, C. **Desenvolvimento e avaliação da eficácia clínica de fotoprotetores com ação em toda a região do espectro solar.** 2016. 144f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2016.

O uso frequente de protetores solares é uma das medidas de fotoproteção mais eficazes para prevenção dos danos causados pela radiação solar. Por muitos anos, medidas de fotoproteção estavam relacionadas apenas aos danos causados apenas pela radiação UVB/UVA. No entanto, as radiações visível (VIS) e infravermelho (IV) também têm demonstrado ser prejudicial à saúde humana. Logo, o objetivo deste estudo foi desenvolver e avaliar a eficácia clínica de um protetor solar contendo filtros UV e os antioxidantes, *Spirulina* e dimetilmetoxi cromanol veiculado em Nanopartículas Lipídicas Sólidas (DMC-NLS), em toda a região do espectro solar. NLS, contendo ou não DMC, foram desenvolvidas à base de cera de abelha e/ou cera de carnaúba usando a técnica de microemulsão à quente e caracterizadas quanto ao tamanho de partícula (z), índice de polidispersividade (IPd), potencial zeta (PZ), pH e eficiência de encapsulação (EE%). Foram desenvolvidas formulações do tipo gel-creme (FVE-veículo), acrescidas de DMC-NLS (FVN), filtros UV (FFE) e filtros UV associados à *Spirulina* e DMC-NLS (FFAN), e avaliadas quanto à estabilidade física, comportamento reológico, penetração cutânea, potencial antioxidante, bem como a proteção contra a formação radicalar em pele de orelha de porco após exposição à radiação UVB/UVA, VIS e IV. Além do FPS *in vivo*, a proteção UVA *in vitro* (comprimento de onda crítico- λ_c e razão UVA/UVB) e FPS *in vitro* também foram avaliados. Por fim, foram realizados estudos de eficácia clínica para as formulações FFE e FFAN após aplicação na face de 44 voluntárias sadias por 84 dias, usando técnicas de biofísica e análise de imagem da pele para determinação do conteúdo aquoso de estrato córneo (CAEC), da perda transepidérmica de água (TEWL), da ecogenicidade e das propriedades mecânicas da pele, além da análise sensorial dessas formulações. DMC-NLS desenvolvida a partir de cera de abelha se apresentaram esféricas e com z ($120,5 \pm 20,4$ nm), IPd ($0,449 \pm 0,012$), PZ ($-10,4 \pm 0,5$ mV) pH ($3,95 \pm 0,02$) e EE% ($96,02 \pm 0,81\%$) adequados aos objetivos do estudo e permaneceram estáveis por 54 dias à 4°C. Todas as formulações permaneceram fisicamente estáveis após 60 dias, apresentaram comportamento não-newtoniano e pseudoplástico, com tixotropia, e potencial antioxidante igual a $32,0 \pm 1,0 \times 10^4$ radicais/mg e $77,0 \pm 4,0 \times 10^4$ radicais/mg, respectivamente, para FFE e FFAN. A formulação FFAN penetrou até a profundidade de $10,4 \pm 1,7$ μ m e $11,2 \pm 3,0$ μ m, após 1 e 6 horas de penetração, respectivamente, e nenhum filtro solar atingiu a solução receptora. A formação radicalar foi reduzida pelas formulações FFE e FFAN nas regiões UV e VIS; e uma proteção superior foi observada para a formulação FFAN, contendo antioxidantes, nas regiões UV, VIS e IV. O FPS para FFE e FFAN foi igual a 30, com boa proteção UVA e λ_c de 378 nm. Ambas as formulações melhoraram o CAEC, o TEWL, as propriedades mecânicas e a ecogenicidade da pele; no entanto, a formulação FFAN demonstrou melhores resultados comparado com FFE. Na análise sensorial, a maioria das voluntárias demonstraram intenção de compra do produto e relataram aumento da hidratação e elasticidade da pele, e pele mais macia. Portanto, podemos concluir que o uso frequente do protetor solar preveniu os danos causados em toda a região do espectro solar, e a incorporação da *Spirulina* e DMC-NLS, foi capaz de potencializar seu efeito protetor contra a radiação UV, VIS e IV.

Palavras-chave: protetor solar, radiação solar, eficácia clínica, fotoenvelhecimento cutâneo, antioxidantes.

1. Introdução

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas NBR10520 e NBR 14724:2011.

Fotoproteção pode ser definida como um conjunto de medidas profiláticas e terapêuticas, visando a proteção contra os efeitos negativos causados pela exposição à radiação solar (SCHALKA *et al.*, 2014). Esses efeitos negativos têm sido, por muito tempo, associados à proteção apenas contra os danos provocados pela radiação ultravioleta (UV), especificamente, UVA e UVB. No entanto, muitos estudos têm demonstrado que a radiação visível (VIS) e infravermelho (IV), especialmente aquela na região IVA, também podem promover danos significativos à pele (SCHROEDER *et al.*, 2008; CHO *et al.*, 2009; ZASTROW *et al.*, 2009; KRUTMAN *et al.*, 2012; RANDHAWA *et al.*, 2015). Os principais efeitos provocados após exposição à radiação solar são: câncer de pele, queimaduras solares e fotoenvelhecimento cutâneo; devido aos danos diretos causados ao DNA e à geração de espécies reativas ao oxigênio (ERO) (POLEFKA *et al.*, 2012; DUPONT *et al.*, 2013; AKHALAYA *et al.*, 2014; NATARAJAN *et al.*, 2014). Considerando isto, medidas de fotoproteção incluem o uso de roupas, chapéus e óculos específicos para proteção solar; não se expor ao sol entre 11-16 horas e o uso de fotoprotetores tópicos e orais, sendo que o uso correto de protetores solares constitui a forma mais eficaz para garantir uma adequada proteção solar (SCHALKA *et al.*, 2014).

De acordo com a legislação brasileira, protetores solares são produtos cosméticos, classificados como Grau 2, que oferecem proteção apenas contra os raios UVA e UVB. Sua eficácia deve ser determinada através de testes *in vivo* e *in vitro* do FPS e FP-UVA (BRASIL, 2012b). No entanto, atualmente, tem-se sugerido que uma fotoproteção eficiente não deve ser limitada à proteção apenas contra a radiação UV, mas também deve incluir proteção contra a radiação VIS e IV, em vista dos danos que podem causar (DUPONT *et al.*, 2013; AKHALAYA *et al.*, 2014; GREYER-BECK *et al.*, 2014). Apesar de todo o esforço neste sentido, ainda não existem métodos internacionalmente padronizadas para a avaliação do dano causado nestas regiões e, muito menos, para avaliar a proteção oferecida por um protetor solar contra estes danos. O que tem sido demonstrado é que a incorporação de antioxidantes (AO) à formulações fotoprotetoras pode fornecer maior proteção nas regiões do VIS e IV, devido à neutralização das ERO's produzidos pela radiação solar (HAYWOOD *et al.*, 2003; SCHROEDER *et al.*, 2008; DARVIN *et al.*, 2011; MEINKE *et al.*, 2013; SCHALKA *et al.*, 2014). Portanto, uma associação entre filtros solares e AO pode ser eficaz em potencializar o efeito fotoprotetor em todo o espectro da radiação solar.

No entanto, ao contrário dos filtros solares, que devem ficar retidos na superfície da pele para oferecer adequada proteção, os AO devem penetrar a epiderme viável e derme para neutralizar eficientemente as ERO's (CHEN *et al.*, 2012). Neste sentido, a encapsulação destas substâncias em Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS), além de aumentar sua estabilidade na formulação, pode aumentar a penetração cutânea do AO através da pele. Ainda, é relatado que NLS apresentam um efeito sinérgico com os filtros solares, podendo aumentar a proteção na região UV (WISSING & MULLER, 2001).

Neste contexto, foi proposto o desenvolvimento e a avaliação da eficácia clínica de um protetor solar contra os danos gerados em todo o espectro da radiação solar. O protetor solar estudado contém além de filtros UVA e UVB, uma combinação dos antioxidantes *Spirulina* e *dymetylmethoxy chromanol* (DMC). *Spirulina* é uma microalga verde obtida por processos biotecnológicos e que apresenta uma rica composição em pro-vitamina A, vitaminas B, proteínas e polissacarídeos, com ótimo potencial antioxidante, além de auxiliar na manutenção da eudermia da pele (LI *et al.*, 2007; SINGH *et al.*, 2005). O DMC é um antioxidante sintético análogo ao gama-tocoferol (Vitamina E), capaz de neutralizar ambas as espécies reativas ao oxigênio (ERO's) e ao nitrogênio (ERN's), o que representa uma grande vantagem comparada aos outros AO, que são capazes de reagir apenas contra um destes radicais (LIPOTEC, 2005).

Logo, neste trabalho será discutido como estes compostos juntos são capazes de proteger a pele contra os danos causados pelas radiações UVA/UVB, VIS e IV, além de se avaliar a vantagem desta associação na melhora das condições da pele. Para tanto, foram usadas técnicas avançadas como Microscopia Confocal Raman e espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (RPE), respectivamente, para fornecer informações sobre o perfil de penetração e formação radicalar *ex vivo* na pele após radiação solar; além das técnicas de biofísica e análise de imagem da pele, que permitem uma avaliação completa sobre os efeitos das formulações na pele humana em condições reais de uso. Para que, desta forma, fosse possível prever a proteção oferecida pela protetor solar desenvolvido em toda a região do espectro solar.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 A PELE E A RADIAÇÃO SOLAR

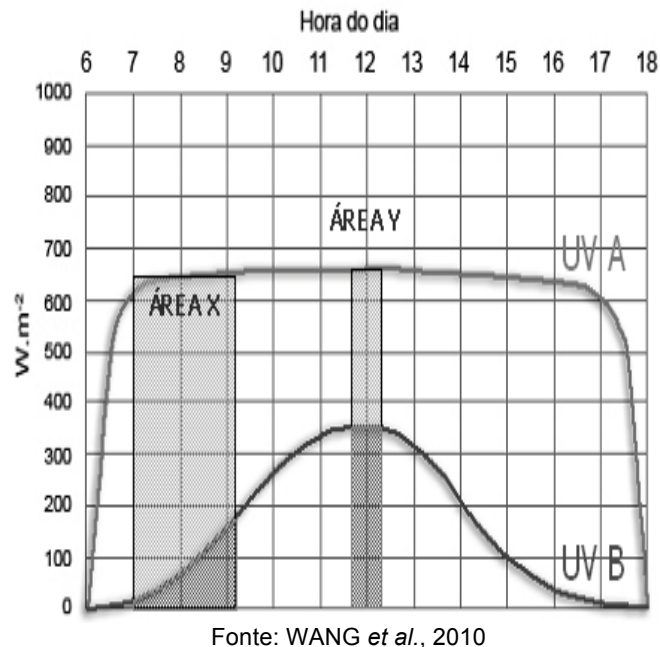
2.1.1 O espectro da radiação solar

A energia do sol é emitida na forma de ondas eletromagnéticas de distintos comprimentos de onda, que variam de 290 à 3000 nm e inclui a radiação ultravioleta (UV) (UVC: 200-280 nm, UVB: 280-320 nm e UVA: 320-400 nm); a radiação visível (VIS: 400-760 nm) e a radiação infravermelha (IV) (IVA: 760-1440 nm e IVB: 1440-3000 nm) (SCHALKA *et al.*, 2014; AKHALAYA *et al.*, 2014).

A radiação solar remove diferentes efeitos nocivos à pele humana. A radiação IV é sentida na forma de calor, a VIS através das cores detectadas pelo sistema óptico e a UV através de reações fotoquímicas (FLOR *et al.*, 2007). Da energia total da radiação solar que atinge a superfície da Terra ($\approx 100 \text{ mW/cm}^2$), 6,8% corresponde à radiação UV (0,5% UVB; 6,3% UVA), 38,9% à radiação VIS e 54,3% à radiação IV (KRUTMANN *et al.*, 2012; AKHALAYA *et al.*, 2014). A radiação UVC é completamente absorvida pela camada de ozônio e, portanto, não atinge a superfície da Terra, enquanto 90% da radiação UVB é absorvida pelo ozônio da estratosfera, e a radiação UVA passa para a atmosfera sem quase ser absorvida. Este último ainda pode ser dividido em UVA II, ou UVA curto, (320-340 nm) e UVA I, ou UVA longo, (340-400 nm). Conseqüentemente, a depleção da camada de ozônio têm levado a um substancial aumento da transmissão da radiação solar à superfície da Terra (LIU *et al.*, 2012; SCHALKA *et al.*, 2014).

A incidência da radiação solar na superfície da Terra depende de vários fatores, como latitude, altitude, estação do ano e hora do dia. A radiação é maior quanto mais próximo ao Equador, sendo que a cada grau de latitude em direção ao Equador acrescentam-se mais 3% de incidência da radiação solar. A cada 300 m acima do nível do mar, somam-se mais 4% na sua incidência. Além disso, a radiação solar apresenta maior intensidade no verão, sendo que a maior quantidade de energia solar alcança a Terra entre 11h e 16h. Especificamente com relação à radiação UVB, maior incidência ocorre entre 10h e 14 horas, ao passo que a radiação UVA apresenta incidência constante ao longo do dia, conforme ilustrado na Figura 1. Desta forma, a exposição solar entre estes horários deve ser evitada, pois corresponde aos maiores índices da radiação UV (WANG *et al.*, 2010; SCHALKA *et al.*, 2014).

Figura 1: Variação da incidência das radiações UVA e UVB ao longo do dia. Área X: horário de menor incidência da radiação UV; Área Y: horário de maior incidência da radiação UV.



No Brasil, a incidência da radiação solar é elevada ao longo de todo o ano. Levando em conta a posição geográfica, as regiões do Norte e Nordeste apresentam a maior dose cumulativa, o que significa que nestas regiões os níveis da radiação solar são elevados e variam muito pouco durante o ano. Por outro lado, nas regiões do Sul e Sudeste, o efeito das estações do ano são mais perceptíveis e a incidência da radiação solar apresenta maiores variações entre o inverno e o verão (CORREA & PIRES, 2013; SCHALKA *et al.*, 2014). Segundo recomendações da OMS (Organização Mundial da Saúde), a dose diária recomendada para a radiação UV que uma pessoa pode ser expor é de 108 J/m^2 . A radiação UV observada em São Paulo (SP), Ilhéus (BA) e Itajubá (MG), durante o inverno, entre 2005 e 2009, demonstrou que as médias diárias de radiação UV são similares nestas regiões, em torno de 3300 a 3800 J/m^2 , com menor variação na região Norte, comparada com a região Sul. No verão, esta dose foi ainda maior e alcançou valores de até 7000 J/m^2 (CORREA & PIRES, 2013). Isto significa que, mesmo no inverno, as pessoas estão expostas à uma dose da radiação muito maior que a recomendada pela OMS.

2.1.2 A pele humana e os efeitos da radiação solar

A pele humana desempenha uma importante função de proteção do organismo contra agentes externos, inclusive contra a radiação solar, sendo um órgão complexo, composto por três tecidos estruturais e funcionalmente distintos: epiderme, derme e hipoderme. A epiderme é a camada mais externa e é composta principalmente por queratinócitos, que passam por um processo vertical de diferenciação, formando o epitélio escamoso estratificado, composto pelas camadas basal, espinhosa, granulosa, lúcida e estrato córneo (EC). O último passo da diferenciação dos queratinócitos leva à formação do EC, a camada mais externa da pele e principal responsável pela proteção contra as agressões externas. Na epiderme, também se encontra os melanócitos, responsáveis pela síntese da melanina; células de *Langerhans*, que são as células imunes e as células de *Merkel*, receptoras do tato, ligadas às terminações nervosas (CHUONG *et al.*, 2002; STIEFEL & SCHWACK, 2015; MARIONNET *et al.*, 2015).

A derme é a região onde se encontra o tecido conjuntivo de suporte localizado entre a epiderme e o tecido subcutâneo subjacente. É um tecido fibroso e elástico responsável pela flexibilidade e resistência da pele; contém apêndices tais como as glândulas sudoríparas, os folículos pilosos e, também, os vasos sanguíneos e linfáticos. A derme é constituída por fibroblastos, responsáveis pela produção das proteínas da matriz extracelular (como colágeno, elastina e proteoglicanas estruturais), e pelas células do sistema imunológico, tais como mastócitos e macrófagos (CHUONG *et al.*, 2002; STIEFEL & SCHWACK, 2015; MARIONNET *et al.*, 2015).

Cada comprimento de onda da radiação solar tem uma frequência e um nível de energia associado, de forma que quanto menor o comprimento de onda, maior a energia da onda eletromagnética e, portanto, está mais propenso a gerar danos à pele e à saúde humana (NEVES, 2008). Além disso, a profundidade de penetração das ondas eletromagnéticas na pele é guiada pelo seu comprimento de onda, sendo que curtos comprimentos de onda, como a radiação UVB, alcançam apenas a epiderme, enquanto longos comprimentos de onda, como a radiação IV, conseguem alcançar até o tecido subcutâneo (BRULS *et al.*, 1984; STIEFEL & SCHWACK, 2015; SARGENT & TRAVERS, 2016). Consequentemente, as diferentes regiões do

espectro solar promovem efeitos distintos à pele, sendo que a radiação UVB, é a mais deletéria entre elas.

A radiação UV é responsável pela maioria das mudanças fotocutâneas provocadas na pele. Como a radiação UVC é completamente absorvida pela camada de ozônio, os efeitos biológicos da radiação UV são primariamente provocados pelos raios UVA e UVB. Os efeitos da radiação UV estão relacionadas ao ocasionamento do eritema (queimaduras solares), pigmentação da pele, fotoenvelhecimento, alterações do sistema imune e câncer de pele, sendo que a radiação UVB é completamente carcinogênica após exposição prolongada (POLEFKA *et al.*, 2012; KRUTMANN *et al.*, 2012; NATARAJAN *et al.*, 2014; SARGENT & TRAVERS, 2016). Sabe-se que a radiação UV é o agente cancerígeno ambiental mais onipresente, podendo ocasionar câncer de pele melanoma e não-melanoma (SARGENT & TRAVERS, 2016). Estes cânceres de pele têm atingido proporções epidêmicas e as taxas de morbidade e mortalidade associadas à exposição à radiação UV têm sido substanciais. Segundo dados fornecidos pelo Instituto Nacional de Câncer (INCA), esperam-se aproximadamente 175 mil novos casos de câncer não melanoma no Brasil em 2016. Quanto ao melanoma, sua letalidade é elevada, mas sua incidência é baixa, estimando aproximadamente 6 mil novos casos em 2016 (INCA, 2016).

A radiação UVB, apesar de não penetrar a pele tão profundamente quanto a UVA, possui maior energia e, portanto, promove mais danos à saúde humana. Os raios UVB atingem apenas a epiderme, causando danos diretos às células e ao DNA, o que promove uma série de mutações e carcinoma à nível basal à longo prazo. À curto prazo, a radiação UVB desencadeia reações agudas como o eritema (queimadura solar) e edema, devido a liberação de mediadores inflamatórios dos queratinócitos. Neste processo, dá-se uma reação inflamatória, com vermelhidão, dilatação dos vasos sanguíneos e aumento da temperatura. Esses danos estão geralmente associados ao aumento de citocinas pró-inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), síntese da fosfolipase citosólica A2 (cPLA2) e ciclo-oxigenase- 2 (COX-2) (FUCHS, 1998; HAYWOOD *et al.*, 2003; HERLING *et al.*, 2006; POLEFKA *et al.*, 2012; NATARAJAN *et al.*, 2014; STIEFEL & SCHWACK, 2015; SARGENT & TRAVERS, 2016).

Um importante efeito benéfico devido à exposição à radiação UVB é a síntese da vitamina D ativa. A radiação UVB lisa a provitamina D (7-deidrocolesterol) em

pré-vitamina D na pele (25 hidroxivitamin D) e, então, em vitamina D3 (colecalciferol), envolvida no metabolismo ósseo e no funcionamento do sistema imunológico (SAMBANDAN & RATNER, 2011; CRIADO *et al.*, 2012). Além disso, relatos na literatura têm demonstrado que a vitamina D estimula a síntese de insulina, apresenta efeitos positivos para a pressão sanguínea, previne doenças inflamatórias e diminui o risco de desenvolver câncer do colo do útero e artrite reumatoide (STIEFEL & SCHWACK, 2015). Além disso, exposição moderada ao sol também afeta o humor em algumas pessoas, influenciando em seu bem-estar (ZITTERMANN & GUMMERT, 2010).

Já a radiação UVA é mais abundante que a radiação UVB na superfície terrestre (95%) e frequentemente não causa eritema. Dependendo do tipo de pele e da intensidade da radiação recebida, o eritema causado é mínimo. A radiação UVA penetra mais profundamente na pele que a radiação UVB, atingindo a derme, onde estão localizados os vasos sanguíneos e as fibras de colágeno e elastina. Os efeitos nocivos dos raios UVA são indiretamente causados devido à formação de espécies reativas ao oxigênio (ERO's), que incluem o ânion superóxido, radical hidroxila, oxigênio singlete e peróxido de hidrogênio, que podem propagar a formação de radicais livres. Esses radicais livres, por sua vez, promovem danos aos componentes celulares, incluindo lipídeos de membranas, proteínas de matriz e DNA, além de promoverem alterações no conteúdo celular e enzimático e desorganização da matriz dérmica (POLEFKA *et al.*, 2012; NATARAJAN *et al.*, 2014; STIEFEL & SCHWACK, 2015; SARGENT & TRAVERS, 2016). As EROs desempenham um papel importante no metabolismo das proteínas da matriz extracelular, uma vez que induzem a síntese e a ativação das metaloproteinases de matriz (MMP), especificamente as MMP-1, 3 e 9, responsáveis pela degradação do colágeno intersticial e do tecido conjuntivo (NATARAJAN *et al.*, 2014). Conseqüentemente, a radiação UVA está mais relacionada ao fotoenvelhecimento cutâneo, por promover perda da elasticidade e firmeza da pele com o tempo, bem como dilatação dos vasos sanguíneos e aumento das células inflamatórias na derme, intensificando os sinais visíveis do envelhecimento (POLEFKA *et al.*, 2012; STIEFEL & SCHWACK, 2015). Relata-se que até 95% destes sinais são um resultado da exposição ao sol, que se manifestam como rugas profundas, padrões irregulares de pigmentação, textura irregular, flacidez e espessamento da derme e epiderme (AGBAI *et al.*, 2014; HAN *et al.*, 2014). Além disso, a radiação UVA é

capaz de gerar câncer de pele devido aos danos indiretos causados ao DNA, devido ao estresse oxidativo promovido pelas EROs. Além disso, alguns estudos têm relatado que os raios UVA apresentam efeito imunossupressor, o que predispõe o organismo ao surgimento de cânceres de pele (KRUTMANN *et al.*, 2012; SARGENT & TRAVERS, 2016).

Como resultado imediato da exposição à radiação UV, também podemos citar o bronzeamento, ou seja, o processo de pigmentação da pele devido ao aumento da melanina, que confere cor à pele. A radiação UVA é principalmente responsável pela pigmentação imediata e persistente da pele, devido à fotooxidação dos precursores da melanina, já presentes na epiderme. Esta reação ocorre após poucos minutos ou horas de exposição, mas são na maioria, reversíveis, de forma que o bronzeado produzido diminui em poucos dias. Já a radiação UVB resulta em uma pigmentação tardia, que ocorre na camada basal da epiderme devido a ativação da tirosinase. Desta forma os melanócitos são estimulados para formar melanina, que é transportada para os queratinócitos, particularmente para proteção do núcleo das células. Com o movimento vertical das células da epiderme, o pigmento também se move em direção ao EC, onde se tem a formação do bronzeado, que demora alguns dias e dura até algumas semanas (MAHMOUND *et al.*, 2008; BAREL *et al.*, 2009; SCHALKA *et al.*, 2014).

A radiação VIS, por sua vez, penetra até o tecido subcutâneo da pele e, de maneira similar à radiação UV, também tem sido responsável pela geração de eritema; no entanto, é necessário uma dose muito maior que a radiação UVB e os mecanismos envolvidos na formação do eritema pela radiação VIS ainda não foram completamente elucidados (MAHMOUND *et al.*, 2008). Ainda, produzem radicais livres, resultando no aumento de citocinas pró-inflamatórias e na expressão de MMPs, seguida por danos ao DNA, de forma similar os raios UVA (DUPONT *et al.*, 2013; AKHALAYA *et al.*, 2014). Além disso, tem sido demonstrado que a radiação VIS também participa nos processos de pigmentação da pele (tardio e imediato), que pode persistir por até 8 semanas, interferindo nos processos que desencadeiam alterações pigmentares, como melasma e hiperpigmentação pós-inflamatória; mas os mecanismos envolvidos nestes processos também não estão completamente elucidados (MAHMOUND *et al.*, 2008; RANDHAWA *et al.*, 2015).

A radiação IV, especialmente aquela na região IVA, também atinge até o tecido subcutâneo da pele e promove profundos efeitos biológicos na pele de forma geral

e, em especial, na camada dérmica (AKHALAYA *et al.*, 2014). Resumidamente, a radiação IVA gera ERO na mitocôndria celular, que por sua vez, desempenham um papel fundamental em iniciar um série de reações, como, por exemplo, expressão exacerbada do gene da MMP-1 e redução da expressão dos genes de colágeno (TGF- β 1), de forma similar à radiação UVA (CHO *et al.*, 2009; KRUTMANN *et al.*, 2012; DUPONT *et al.*, 2013; AKHALAYA *et al.*, 2014). Além disso, está envolvida em processos de angiogênese, levando a uma infiltração de células inflamatórias e causando dano oxidativo ao nível do DNA (SCHROEDER *et al.*, 2008; AKHALAYA *et al.*, 2014). É demonstrado que a radiação IVA interfere com as vias da apoptose, envolvidas na reparação dos danos no DNA, o que indica um potencial carcinogênico desta radiação. No entanto, são necessários mais estudos para suportar esta hipótese (SCHROEDER *et al.*, 2008; DUPONT *et al.*, 2013).

De forma geral, os danos gerados pela exposição à radiação solar são determinados pelo fototipo de pele de cada indivíduo, intensidade e frequência da exposição à radiação. O fototipo é um sistema de classificação clínica, desenvolvido por Thomas B. Fitzpatrick, baseado no relato da ocorrência de eritema e pigmentação da pele, conforme ilustrado na Tabela 1 (FITZPATRICK, 1988). O fototipo é classificado em números, que variam de I-VI, que refletem o grau de cor da pele e seu nível de sensibilidade ao dano gerado pela radiação UV. Esta classificação também tem se mostrado útil em indicar o risco de câncer de pele fotoinduzido (MARESCA *et al.*, 2015).

Tabela 1: Classificação dos fototipos de Fitzpatrick (FITZPATRICK, 1988).

Fototipo	Característica	Sensibilidade ao sol
I-Branca clara	Sempre se queima, nunca bronzeia	Muito sensível
II-Branca	Queima com facilidade, raramente bronzeia	Muito sensível
III-Morena clara	Queima e bronzeia moderada e gradualmente	Sensível
IV-Morena moderada	Queima pouco, bronzeia com facilidade	Pouco sensível
V-Morena escura	Raramente se queima, sempre bronzeia	Pouquíssimo sensível
VI-Negra	Nunca queima, totalmente pigmentada	Insensível

2.1.3 Mecanismos fisiológicos de proteção contra a radiação solar

A pele humana tem desenvolvido diferentes mecanismos de proteção natural contra a radiação solar. No entanto, sua eficácia só é satisfatória dentro de certos limites de exposição, fazendo com que os efeitos prejudiciais da exposição solar sejam controlados e combatidos (LACOUR & BÉANI, 2007; STIEFEL & SCHWACK, 2015). Dentre esses mecanismos pode-se citar a síntese de melanina, o espessamento da camada córnea e da epiderme, a formação do ácido urocânico, os mecanismos de reparação do DNA e a ativação de antioxidantes endógenos.

O mecanismo de proteção mais importante é a pigmentação da pele devido à formação da melanina, que age como um agente dispersante e um filtro absorvente da radiação solar até a região do VIS, formando uma barreira física e impedindo que penetrem através da epiderme e causem dano. Desta forma, a radiação solar estimula a melanogênese, que é a síntese de melanina no interior dos melanócitos, à partir da tirosina, devido à ação da enzima tirosinase, conforme discutido anteriormente (BAREL *et al.*, 2009; SCHALKA *et al.*, 2014; NATARAJAN *et al.*, 2014; STIEFEL & SCHWACK, 2015).

Após exposição excessiva à radiação solar, a atividade enzimática da histidinase também aumenta. Como resultado, os queratinócitos do EC aumentam a síntese do ácido urocânico (AUC) à partir da histidina. O AUC absorve na região UVA I através de um processo de isomerização, sendo que o isômero cis-AUC é excretado através do suor. Por muito anos, o AUC foi usado como filtro solar em protetores solares. No entanto, a forma cis-AUC apresenta potente efeito imunossupressor no organismo, através da produção de radicais livres, levando a danos oxidativos ao nível do DNA. Consequentemente, o seu uso foi proibido nestes produtos e os reais efeitos do AUC ainda é causa de discussão (LACOUR & BÉANI, 2007; SCHALKA *et al.*, 2014; STIEFEL & SCHWACK, 2015).

Outro mecanismo de proteção é a hiperqueratose, estimulada principalmente pela radiação UVB. Sobre estas circunstâncias, as células da camada basal da epiderme são estimuladas e se proliferam, o que promove o espessamento do EC. Este mecanismo funciona como uma proteção natural da pele, uma vez que dificulta a penetração dos raios solares através do EC. Quando a exposição à radiação solar é cessada, o processo da hiperqueratose desaparece (LACOUR & BÉANI, 2007; STIEFEL & SCHWACK, 2015).

Ainda, existem mecanismos de defesa como as enzimas ABC exinuclease, DNA polimerase I e DNA ligase, que são capazes de identificar, cortar e substituir sequências defeituosas do DNA. Quando estes mecanismos não ocorrem com adequada eficiência, as células acumulam mutações que poderão conduzir ao aparecimento do câncer de pele. Para células muito danificadas, que sofreram queimaduras solares, um processo de apoptose é iniciado como um mecanismo de proteção. Há ainda o sistema *redox* endógeno, como a ubiquinona, a glutathione, o β -caroteno e o α -ácido lipóico, que têm um efeito antioxidante e reagem eficientemente contra os radicais livres antes que eles possam causar danos ao DNA e demais componentes celulares. No entanto, a quantidade dessas substâncias produzidas pelo organismo é rapidamente esgotada após excessiva exposição à radiação solar devido a formação de radicais livres (LACOUR & BÉANI, 2007; POUILLOT *et al.*, 2011; STIEFEL & SCHWACK, 2015).

2.2 FOTOPROTEÇÃO

Uma vez que todos esses mecanismos endógenos de proteção são limitados, torna-se evidente a necessidade de conferir uma fotoproteção adequada a cada tipo de pele sempre que há exposição ao sol. Uma fotoproteção adequada envolve medidas que devem ser adotadas para minimizar os efeitos prejudiciais do sol, e incluem intervenções junto a população promovendo o uso de roupas, chapéus e óculos específicos para proteção solar; e o uso correto de fotoprotetores (CORREA, 2012; SCHALKA *et al.*, 2014). Atualmente, o uso de protetores solares é a alternativa mais eficaz para prevenção dos danos causados pela radiação solar, inclusive contra o câncer de pele e, portanto, deve ser um produto tecnicamente bem formulado e, preferencialmente, deve oferecer proteção em todo o espectro da radiação solar (SCHALKA *et al.*, 2014; SARGENT & TRAVERS, 2016).

2.2.1 Protetores solares e regulamentação no Brasil

Protetores solares constituem a primeira linha de prevenção e proteção da pele contra os danos causados pelo sol. São formulados em diferentes formas

cosméticas, para uso corporal e facial, destinados a diminuir a incidência da radiação solar que atinge a pele e, conseqüentemente, os danos causados ao organismo. Para além dos efeitos nocivos induzidos pelo sol, o fotoenvelhecimento pode, igualmente, ser prevenido, bem como a ocorrência de padrões irregulares de pigmentação da pele (BAREL *et al.*, 2009; CORREA, 2012; HAN *et al.*, 2014).

De acordo com a RDC nº 30 de 1 de junho de 2012, um protetor solar é definido como sendo *“qualquer preparação cosmética destinada a entrar em contato com a pele e lábios, com a finalidade exclusiva ou principal de protegê-la contra a radiação solar UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação”* (BRASIL, 2012b). Segundo a RDC nº 7 de 10 de fevereiro de 2015, protetores solares são classificados como produtos cosméticos de Grau 2, ou seja, devem ser comprovados a segurança e eficácia do produto final junto à ANVISA, antes de sua comercialização (BRASIL, 2015).

Os protetores solares apresentam em sua composição, substâncias categorizadas como filtros solares. A Resolução RDC nº 69, de 23 de março de 2016 (BRASIL, 2016) aprova a lista de filtros ultravioletas permitidos para uso em produtos cosméticos, bem como sua concentração máxima de uso e define os filtros solares como *“substâncias que, quando adicionadas aos produtos para proteção solar, tem a finalidade de filtrar certos raios ultravioletas visando proteger a pele de certos efeitos danosos causados por estes raios”* (BRASIL, 2016). Portanto, é a partir dessa RDC que os formuladores devem observar os filtros solares que podem ser utilizados quali e quantitativamente em formulações fotoprotetoras. Os filtros solares constantes nessa lista são considerados seguros para uso na composição de um produto fotoprotetor.

Portanto, para que um protetor solar apresente proteção adequada, este deve ser um produto seguro e eficaz. De acordo com a RDC nº 30, a eficácia de um protetor solar deve ser avaliada pela determinação dos valores do Fator de Proteção Solar (FPS), Fator de Proteção UVA (FP-UVA) e comprimento de onda crítico (λ_c). Ainda segundo esta legislação, os protetores solares comercializados no Brasil devem possuir um FPS de, no mínimo, 6; FP-UVA igual à um terço (1/3) do valor do FPS e λ_c de, no mínimo, 370 nm (BRASIL, 2012b).

O valor do FPS é um índice numérico indicado no rótulo do produto, usado pelos consumidores como um indicador do grau de proteção oferecido pelo produto. É definido como uma razão numérica entre a Dose Eritematosa Mínima (DEM) da

pele protegida pelo protetor solar, aplicado na quantidade de 2 mg/cm², e a Dose Eritematosa Mínima da pele não protegida, conforme Eq. 1 (SCHALKA & REIS, 2011; BRASIL, 2012b):

$$FPS = \frac{DEM \text{ (pele protegida)}}{DEM \text{ (pele desprotegida)}} \quad (\text{Eq. 1})$$

De acordo com a RDC n° 30, DEM é definida como sendo a “dose mínima de radiação UVB requerida para produzir a primeira reação eritematosa perceptível com bordas claramente definidas, observadas entre 16 a 24 horas após a exposição à radiação ultravioleta, de acordo com a metodologia adotada”. Portanto, é importante destacar que o valor do FPS é uma medida de proteção apenas na região UVB. Segundo esta RDC, a determinação do FPS deve ser realizada por métodos *in vivo*, aplicando estritamente os guias atualizados disponibilizados pela FDA (*Food and Drug Administration*) e COLIPA (*European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association*) (BRASIL, 2012b).

Já o FP-UVA, como o próprio nome já diz, oferece uma medida da proteção na região UVA. A ANVISA recomenda que a determinação do FP-UVA seja realizada por métodos *in vivo* ou *in vitro* reconhecidos e devidamente validados, e devem seguir, respectivamente, o guia do *Japanese Cosmetic Industry Association* e o guia disponibilizado pela COLIPA. De acordo com o primeiro guia, o FP-UVA *in vivo* é determinado pela razão entre a dose mínima pigmentária em uma pele protegida por um protetor solar (DMPp) e a dose mínima pigmentária na mesma pele quando desprotegida (DMPnp), conforme Eq. 2, chamada de metodologia PPD (*Persistent Pigment Darkening*). A RDC n° 30 define Dose Mínima Pigmentária (DMP) como sendo a dose mínima de radiação UVA requerida para produzir um escurecimento pigmentário persistente da pele com bordas claramente definidas, observado entre 2 e 4 horas após a exposição à radiação UVA (BRASIL, 2012b).

$$FPUVA = \frac{DMPp}{DMPnp} \quad (\text{Eq. 2})$$

O método *in vitro* para determinação do FP-UVA foi desenvolvido na tentativa de se aproximar ao máximo às condições do teste *in vivo* pela metodologia PPD, de modo a tentar se obter um valor de FP-UVA consistente com o obtido *in vivo*. O

objetivo desta metodologia é determinar o FP-UVA *in vitro*, antes e após a irradiação, correlacionando com o valor do FPS obtido *in vivo*. O teste é feito em um substrato que mimetiza a rugosidade da pele (normalmente uma placa de polimetilmetaacrilato - PMMA), onde é aplicado o produto e irradiado com um simulador solar, e a transmitância da radiação através deste substrato é determinado espectrofotometricamente. Como resultado complementar tem-se a razão FPS/FPUVA, à partir do valor de FPS *in vivo*; a razão UVA/UVB e o comprimento de onda crítico (COLIPA, 2011).

O comprimento de onda crítico corresponde ao comprimento de onda no qual a área sob a curva, obtido à partir do espectro de absorção de um protetor solar entre 290 e 400 nm, é igual a 90% da área integrada (BRASIL, 2012b). A razão UVA/UVB corresponde à relação entre a área sob a curva na faixa UVA (320-400nm) e na faixa UVB (290-320nm) (DIFFEY, 1994). O nível de proteção oferecido pelo fotoprotetor na faixa UVA, determinado por meio da razão UVA/UVB, pode ser classificado através do *Boot's Star Rating System*, o qual estabelece uma classificação do nível de proteção UVA baseada em estrelas (Tabela 2) (BOOTS THE CHEMISTS, 2004).

Tabela 2: Classificação de acordo com o *Boot's Star Rating System* da proteção UVA (BOOTS THE CHEMISTS, 2004).

Razão UVA/UVB	Classificação <i>Boot's Star</i>	Proteção UVA
0 - 0,20	-	Ausente
0,21 - 0,40	*	Mínima
0,41 - 0,60	**	Moderada
0,61 - 0,80	***	Boa
0,81 - 0,90	****	Superior
> 0,91	*****	Ultra

Além dos métodos *in vivo* e *in vitro* utilizados na determinação do FPS e do FP-UVA, existem metodologias *in silico*, como o software BASF *Sunscreen Simulator*, o qual permite realizar uma estimativa do FPS, da proteção UVA e da relação UVA/UVB oferecida pelo fotoprotetor, de acordo com a combinação e a concentração dos filtros solares selecionados e com a quantidade aplicada (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 e 3,0 mg/cm²) (HERZOG & OSTERWALDER, 2011). Apesar de não serem aceitos para fins de registro do fotoprotetor, podem ser úteis como ferramenta de triagem durante o desenvolvimento de formulações fotoprotetoras e têm sido

utilizadas como ponto de partida para o desenvolvimento de protetores solares, pois permite ao formulador testar quali e quantitativamente diferentes combinações de filtros solares.

2.2.2 Controvérsias sobre FPS e uso do protetor solar

O primeiro relato acerca da avaliação da eficácia dos protetores solares foi feito por Friedrich Ellinger em 1934, em que o autor realizava a determinação da Dose Eritematosa Mínima na pele protegida e não protegida. Em 1978, a agência regulatória norte-americana (FDA) propôs a primeira normatização para a determinação do FPS, e que é utilizado até hoje como a principal forma de avaliar a eficácia de um protetor solar (FDA, 1978; SCHALKA & REIS, 2011).

Em 1993 a FDA publicou o valor de FPS máximo sugerido igual a 30, baseado na justificativa de que o ganho proporcional da absorbância de um determinado protetor solar é reduzido drasticamente quando o valor do FPS fica acima de 30, conforme demonstrado na Tabela 3 (FDA, 1993; SCHALKA & REIS, 2011). No entanto, este assunto é, ainda hoje, bastante controverso na literatura. Em 2009, OSTERWALDER & HERZOG (2009), demonstraram que o raciocínio matemático proposto anteriormente poderia ser realizado de forma inversa, ao se analisar o quanto de energia passa pelo protetor (transmitância) ao invés do quanto de energia que é absorvida pelo protetor (absorbância). Ao aplicar este raciocínio, percebe-se que a quantidade de energia que passa através do protetor solar de FPS 60 e que, portanto, atinge a pele, seria a metade daquela transmitida pelo protetor de FPS 30. Assim, a proteção oferecida pelo produto FPS 60 seria o dobro daquela oferecida pelo produto com FPS 30, conforme pode-se verificar na Tabela 3 (OSTERWALDER & HERZOG, 2009; SCHALKA & REIS, 2011).

Tabela 3: Relação entre absorvância e transmitância *versus* FPS. Adaptado de SCBALKKA & REIS (2011).

FPS	Absorbância (%)	Transmitância (%)
2	50,00	50,00
4	75,00	25,00
8	87,50	12,50
15	93,33	6,67
30	96,67	3,33
60	98,33	1,67

Baseado nestas discussões, em 2011 a FDA decidiu aumentar o FPS máximo para 50 (FDA, 2011), mas em maio de 2016, afirmaram não ter dados suficientes para demonstrar que protetores solares com FPS superior a 50 promovam proteção adicional comparado com os produtos com FPS igual a 50 (FDA, 2016).

Além disso, é importante destacar o fato de que a maioria da população faz o uso inadequado dos protetores solares, principalmente com relação à quantidade do produto que deve ser aplicada na pele, a uniformidade e a frequência de aplicação. Para garantir que o protetor solar apresente o mesmo fator de proteção que o determinado no teste *in vivo* do FPS, esses produtos devem ser aplicados na quantidade de 2,0 mg/cm², e devem ser reaplicados a cada 2 horas. No entanto, estudos têm demonstrado que a população aplica, em média, apenas um quarto (1/4) desta dose e, neste caso, a proteção atingida pelos usuários é menor do que a apresentada no rótulo do produto (BAREL *et al.*, 2009; CORREA, 2012; SCHALKA *et al.*, 2014; SCHALKA & REIS, 2011).

Ainda, se discute na literatura a influência do uso de protetores solares sobre a síntese de Vitamina D. Vários estudos comprovam que o uso prolongado de protetores solares tem pouco ou nenhum efeito nos níveis de vitamina D no organismo humano. Não existe um consenso sobre a concentração sérica ideal de vitamina D, mas estudos têm sugerido que exposição solar entre 20-30 minutos por dia até às 10 horas da manhã, três vezes na semana, é suficiente para manter níveis normais desta vitamina no organismo (KULLAVANIJAYA & LIM, 2005; LIM, 2008; SCHALKA & REIS, 2011). Além disso, o efeito estrogênico dos filtros solares também é controverso e não está bem definido até este momento. Os estudos com modelos experimentais que comprovam esse efeito utilizaram quantidades muito

maiores dos filtros solares do que as utilizadas em seres humanos (KULLAVANIJAYA & LIM, 2005; HEXSEL *et al.*, 2008).

Portanto, apesar das questões em torno da segurança de uso dos protetores solares disponíveis no mercado, seu uso deve ser mantido, uma vez que sua eficácia na proteção contra os danos gerados pela radiação solar são inquestionáveis. De forma que, a não utilização destes produtos, apresenta riscos maiores à saúde dos consumidores, do que sua utilização diária, conforme recomendações da OMS.

Outro ponto que tem recebido bastante destaque é o fato de que os protetores solares são desenvolvidos para proteger contra a radiação UV apenas, mas a proteção contra a radiação VIS e IV é limitada e estudos recentes têm demonstrado a importância de proteção nestas regiões também. SCHALKA *et al.* (2012) demonstraram, por meio de estudos espectrofotométricos *in vitro*, que o valor do FPS não tem nenhuma relação direta com proteção contra a radiação VIS. Sabe-se que filtros inorgânicos, devido a sua habilidade de dispersão da radiação solar, podem ser uma opção para a proteção VIS, dependendo do tamanho de suas partículas. Ainda, a incorporação de pigmentos aos protetores solares, como é o caso dos produtos com cor, também possuem a habilidade de aumentar o efeito fotoprotetor desses produtos (SHAATH, 2005). Por outro lado, ainda não existe nenhum filtro orgânico capaz de oferecer proteção contra a radiação IV. O que tem sido demonstrado é que as substâncias antioxidantes podem ser capazes de combater os danos causados por essa radiação (BAREL *et al.*, 2009; WU *et al.*, 2011; CHEN *et al.*, 2012).

A eficácia de um fotoprotetor na região do VIS tem sido avaliada por métodos espectrofotométricos, mas até o presente momento, não existe um modelo consensualmente validado na literatura e este ainda é o objetivo de alguns pesquisadores desta área (SCHALKA *et al.*, 2012). Com relação à região IV, métodos capazes de quantificar a proteção de filtros solares nesta região do espectro solar também não estão muito bem estabelecidos; existe apenas uma proposta para quantificar a habilidade de proteção contra o aumento das metaloproteinases de matriz por meio de estudos em cultura de células (SCHIEKE *et al.*, 2003). E DARVIN *et al.* (2011) e MEINKE *et al.* (2013) têm avaliado a eficácia fotoprotetora nas regiões VIS e IV através da avaliação *in vivo* e *ex vivo* da formação de radicais livres na pele após irradiação nestas regiões do espectro solar, usando

espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica baseada em um “*spin trapping*”.

2.2.3 Formulação de protetores solares

No desenvolvimento de formulações fotoprotetoras normalmente são utilizadas combinações de dois ou mais filtros solares com o objetivo de obter elevado FPS e efetiva proteção na região UVA e UVB. Para prevenir queimaduras solares e proteger a pele contra os efeitos deletérios do sol, os protetores solares devem atender alguns critérios: devem ser fotoestáveis, não serem fototóxicos e fotoirritantes, e não devem penetrar na pele (BAREL *et al.*, 2009; CORREA, 2012). Os filtros solares utilizados nessas formulações são classificados em filtros orgânicos ou filtros inorgânicos; e em filtros UVA, UVB ou UVA/UVB, dependendo da região do espectro ultravioleta em que absorvem a radiação. A maioria dos filtros solares disponíveis no mercado são filtros UVB, seguidos pelos filtros UVA/UVB e por um reduzido número de filtros UVA (BAREL *et al.*, 2009; SHAATH, 2010; CORREA, 2012).

Os filtros inorgânicos atuam refletindo ou dispersando a radiação UV e VIS, atuando como uma barreira física contra a penetração da radiação solar através da pele. Dependendo do tamanho da partícula destes filtros, pode ocorrer também a absorção da radiação. Os principais agentes inorgânicos utilizados são o óxido de zinco (ZnO) e dióxido de titânio (TiO₂). O primeiro oferece proteção UVA/UVB, enquanto que o TiO₂ é um filtro apenas UVB. Esses filtros solares são recomendados para o preparo de protetores solares para o uso infantil e para pessoas com pele sensível, gestantes e também para obtenção de FPS mais elevado, uma vez que são mais seguros e fotoestáveis do que os filtros solares orgânicos (NEVES, 2008; SHAATH, 2010; CORREA, 2012).

Apesar de proporcionarem proteção efetiva contra a radiação UV, a opacidade que os óxidos metálicos conferem aos fotoprotetores representa uma desvantagem, pois contraria o apelo estético das formulações cosméticas ao dificultar sua espalhabilidade e deixar a pele com aspecto esbranquiçado. Uma alternativa para melhorar o sensorial de formulações contendo esses filtros solares é a utilização de partículas micronizadas e revestidas. Nessas versões o tamanho de partícula está

na faixa de 70 a 200 nm, reduzindo o efeito esbranquiçado deixado por esses filtros (SHAATH, 2010; CORREA, 2012).

Os filtros solares orgânicos são compostos aromáticos conjugados a um grupo carbonila e a um radical nas posições “orto” ou “para”. Frequentemente um grupo doador de elétrons é substituído nessas posições do anel aromático. Essas moléculas são capazes de absorver a radiação UV em um determinado comprimento de onda, passando para um estado excitado, de maior energia. Ao retornarem ao estado fundamental (de menor energia), emitem a energia absorvida para a atmosfera em um maior comprimento de onda (normalmente na região do VIS, IV ou UV alto), menos prejudicial à pele. Ao voltar para o estado fundamental, recuperam a capacidade de absorver a radiação UV repetidamente (fotoestabilidade) (BAREL *et al.*, 2009; SHAATH, 2010; CORREA, 2012).

Alguns filtros orgânicos, ao retornarem ao estado fundamental, sofrem uma alteração em sua estrutura química ou, até mesmo, geram um outro composto, perdendo sua eficácia fotoprotetora e aumentando o risco de gerar reações fototóxicas e fotoalérgicas. À este comportamento, chama-se fotoinstabilidade, o que representa uma das principais limitações associada aos filtros orgânicos convencionais (BAREL *et al.*, 2009; CORREA, 2012; STLEFEL & SCHWACK, 2015).

Os filtros solares orgânicos podem ser classificados, segundo a sua estrutura química em: ácido p-aminobenzóico e derivados, derivados do ácido cinâmico, salicilatos, benzofenonas, derivados da cânfora, derivados do dibenzoilmetano e antranilatos (CORREA, 2012). Atualmente, foram desenvolvidos filtros mais modernos, que oferecem proteção de largo espectro (UVA/UVB), além de uma elevada fotoestabilidade, cujo desenvolvimento é baseado no que se chama de “Regra dos 500 Da”, onde o elevado peso molecular promove uma reduzida penetração na pele. Conseqüentemente, tem-se um aumento na segurança e eficácia destas substâncias (STIEFEL & SCHWACK, 2015). Como exemplos, podemos citar o Tinosorb® (S e M), o Uvinul® (T150 e APlus) e o Mexoryl® (SX e XL). Desta forma, a indústria de cosméticos tem à disposição diversos filtros solares orgânicos, os quais representam a maior parte das moléculas utilizadas em protetores solares.

Cada filtro solar utilizado como ingrediente em uma formulação cosmética apresenta um pico de absorção máxima em determinado comprimento de onda: UVA, UVB ou ambas, quando se trata de um filtro de amplo espectro. Para que se

obtenha uma proteção eficaz, é necessário fazer uma combinação de diferentes tipos de filtros solares, que se complementam do ponto de vista de seu perfil de atividade espectrofotométrica (BAREL *et al.*, 2009; CORREA, 2012). Neste sentido é importante utilizar combinações de filtros solares que proporcionem proteção adequada na faixa UVA e UVB. Cada componente da associação deve ser considerado pelo seu perfil de atividade característico e a melhor combinação irá ocorrer quando forem escolhidos componentes que, em seu conjunto, produzam o espectro desejado para o produto final (KHURY & BORGES, 2013).

Além da escolha do filtros solares, os demais ingredientes de uma formulação fotoprotetora influenciam diretamente em sua eficácia final. A escolha do veículo utilizado no desenvolvimento de um protetor solar é importante para que a formulação final apresente boa aceitação por parte do consumidor e consiga um nível efetivo de FPS (CORREA, 2012; KHURY & BORGES, 2013). Os protetores solares podem ser formulados como cremes, óleos, loções, géis, sprays, entre outros. Dentre os diferentes veículos que podem ser utilizados, as emulsões óleo/água (O/A) têm sido as mais utilizadas nos últimos anos, pois possibilitam a incorporação de filtros lipó e hidrofílicos, que atuam sinergicamente, melhorando a eficácia do produto final. Além disso, emulsões O/A permitem uma melhor espalhabilidade sobre a pele e também evitam a característica gordurosa das emulsões A/O que não agradam o usuário (CORREA, 2012).

Ainda, existem as formulações do tipo gel-creme, que são emulsões do tipo O/A, com elevada porcentagem de fase aquosa e baixo conteúdo oleoso, essencialmente estabilizadas por coloides hidrofílicos. Desta forma, a incorporação desses agentes de consistência permitem a obtenção de formulações com menor conteúdo oleoso, melhor sensorial e, conseqüentemente, com maior aceitabilidade pelos consumidores. Aqui, é importante destacar o fato de que a aceitabilidade do consumidor pelo produto interfere fortemente na eficácia final do produto, que não é garantida apenas pelo valor do FPS, mas também pela quantidade e forma de aplicação do fotoprotetor (MILESI & GUTERRES, 2002; CORREA, 2012).

Considerando que os filtros solares podem ser incorporados em vários veículos, é fundamental que eles se dissolvam ou dispersem facilmente e de modo permanente nos veículos e nos seus componentes. Desta forma, permite-se a obtenção de preparações que formem um filme uniforme e homogêneo na superfície da pele, com aderência suficiente para resistirem à remoção pela água ou

transpiração (PRISTA *et al.*, 1992; MILESI & GUTERRES, 2002). Existem várias categorias de emolientes usados em protetores solares: ésteres, ceras, ácidos e álcoois graxos, óleos minerais, silicones, entre outros. Com relação aos ésteres, sabe-se que quanto maior a polaridade do emoliente, maior o poder de solubilização do filtro solar, além de aumentar a absorção do filtro na região do UV, melhorando o FPS. Ao contrário, emolientes menos polares, podem deslocar o comprimento de onda de absorbância máxima fora da faixa UV, além de possuírem pouco poder solubilizante (KHURY & BORGES, 2013). No entanto, os emolientes mais polares não são oclusivos, enquanto os emolientes não polares exercem função de barreira protetora e são capazes de reter a umidade da pele, evitando a perda transepidérmica de água. Já os silicones conferem um diferencial à formulação final, uma vez que potencializam o efeito de fotoproteção da pele por possuírem a capacidade de formarem filmes resistentes à água, além de apresentar extrema afinidade pela pele e baixíssima toxicidade, não serem gordurosos, não deixarem resíduos oleosos, fornecendo uma sensação sedosa e suave à pele, conferindo um toque seco ao produto final (MILESI & GUTERRES, 2002; CORREA, 2012; KHURY & BORGES, 2013). Neste sentido, a escolha adequado dos emolientes exerce um papel fundamental nas características finais de um protetor solar.

2.2.4 O papel dos antioxidantes

Os antioxidantes (AO) são substâncias que retardam, previnem ou reparam os danos oxidativos à uma molécula alvo gerados pelas ERO. De forma geral, protegem a pele dos radicais livres inibindo sua formação ou interrompendo sua propagação por meio de um ou mais mecanismos que ainda não são completamente entendidos, entre eles: 1) interceptação das espécies pró-oxidantes iniciais; 2) sequestro de metais pesados, prevenindo eventos de iniciação e propagação das reações que produzem radicais livres; 3) interceptação de radicais secundários os quais podem propagar reação em cadeia ou reduzir grupos oxidados; 4) reparo de macromoléculas e renovação celular (BAREL *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2012).

Estas EROs, tal como já referido, podem se neutralizados por um mecanismo fisiológico de defesa do próprio organismo, os AO endógenos. No entanto, quando

este sistema endógeno se torna insuficiente para neutralizar os radicais livres e equilibrar o sistema, a utilização de AO exógenos pode estabilizar as EROs, revertendo os efeitos causados pelas espécies oxidativas (GODIC *et al.*, 2014). Neste sentido, os AO são incorporados em produtos cosméticos, nomeadamente em protetores solares, com o objetivo de reduzir os danos oxidativos provocados pelas EROs induzidas pela radiação solar (BAREL *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2012). Os efeitos benéficos dessa associação têm sido demonstrados em vários estudos na literatura (MATSUI *et al.*, 2009; WANG *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2011; HAAG *et al.*, 2014; GREYER-BECK *et al.*, 2014). Estudo realizado por HAYWOOD *et al.* (2003) demonstrou que protetores solares com amplo espectro de ação reduz apenas 55,0% da formação de radicais livres. Portanto, a aplicação tópica de AO poderia promover um benefício adicional na proteção contra a radiação solar. MATSUI *et al.* (2009) e WU *et al.* (2011) obtiveram melhores resultados na proteção contra os danos causados pela radiação UV em voluntários sadios quando uma combinação de AO e filtros solares foi utilizada.

Existe na literatura uma vasta informação sobre o potencial antioxidante de um grande número de substâncias, como Vitaminas C e E, coenzima Q10, bem como AO naturais de origem biotecnológica ou vegetal (MAIA CAMPOS *et al.*, 2006; GASPAR *et al.* 2008; BAREL *et al.*, 2009). No entanto, poucos estudos têm demonstrado a eficácia destas substâncias quando incorporadas em formulações tópicas; além disso, o desenvolvimento de formulações que combine AO e filtros solares, que garantam a eficácia de ambos, ainda é um desafio (BAREL *et al.*, 2009; SCHALKA *et al.*, 2014). Normalmente, os AO são substâncias naturalmente instáveis e devem permanecer estáveis e biodisponíveis na formulação final. Ao mesmo tempo, devem penetrar o EC e permanecer em concentrações adequadas na epiderme viável e derme, pelo menos, pelo mesmo tempo que o protetor solar deve permanecer na superfície da pele para garantir uma proteção apropriada (BAREL *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2012; SCHALKA *et al.*, 2014).

Neste caso, a forma como estes produtos serão formulados irá influenciar na eficácia de todos os seus componentes e estudos clínicos devem ser realizados para garantir sua eficácia e determinar os efeitos da associação dos filtros solares e AO em condições reais de uso.

2.3 NANOTECNOLOGIA EM PRODUTOS COSMÉTICOS

Nanotecnologia é um termo genérico fundamentado na habilidade de caracterizar, manipular e organizar materiais em escala nanométrica. O tamanho de partícula é a propriedade que define um nanomaterial e a razão entre 10-100 nm é a mais usada para defini-lo. Mas esta definição é ainda bastante controversa na literatura. Acredita-se que a Nanotecnologia representa uma das tecnologias mais promissoras do século XXI e tem sido considerada uma nova revolução industrial (NOHYNEK *et al.*, 2007; MIHRANYAN *et al.*, 2012; BANGALE *et al.*, 2012).

No setor cosmético, as nanopartículas estão presentes em xampus, condicionadores, pastas de dentes, cremes antienvelhecimento, cremes anticelulite, despigmentantes de pele, hidratantes, pós-faciais, loções pós-barba, desodorantes, sabonetes, fotoprotetores, maquiagens de modo geral, perfumes e esmaltes. A empresa pioneira a introduzir um cosmético de base nanotecnológica, no âmbito internacional, foi a Lancôme, divisão de luxo da L'Oréal, em 1995, com o lançamento de um creme para o rosto constituído por nanocápsulas de vitamina E pura, para combater o envelhecimento da pele. No Brasil, a primeira empresa a desenvolver e colocar no mercado um nanocosmético foi o O Boticário, com um creme antienvelhecimento para a área dos olhos, fronte e contorno dos lábios, chamado Nano sérum. A formulação contém ativos como vitamina A, C e K e uma substância para despigmentação da pele.

No início dos anos 90, um novo nanocarreador, denominado Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS), foi desenvolvido e utilizado na área Cosmética, como uma alternativa aos nanocarreadores já existentes, como nanoemulsões, lipossomas e nanopartículas poliméricas. Por definição, possuem tamanho de partícula entre 40-1000 nm e são formadas por um lipídio ou uma mistura de lipídios sólidos à temperatura ambiente e corporal (BANGALE *et al.*, 2012). Podem ser preparados a partir de lipídios de origem natural, como por exemplo, as ceras naturais com diferentes graus de purificação ou ultra refinação, como a cera de abelha, cera de carnaúba, cera de cupuaçu, entre outras; ou de origem sintética, tais como polietilenoglicol, parafina, vaselina, Gelucires[®], monoestearato de glicerila, polivinilpirrolidona, ácido esteárico, entre outros (KHERADMANDNIA *et al.*, 2010; BANGALE *et al.*, 2012; KUMAR & RANDHAWA, 2013).

As NLS têm se destacado na área Cosmética devido às vantagens que podem oferecer. Diferentes substâncias ativas já foram nanoencapsuladas nestes sistemas como, por exemplo, a coenzima Q10 (TEERANACHAIDEEKUL *et al.*, 2007), quercetina (BOSE *et al.*, 2013), idebenona (MONTENEGRO *et al.*, 2012), retinol e seus derivados (JEON *et al.*, 2013; CASTRO *et al.*, 2009), entre outros. A incorporação de substâncias ativas nas NLS melhoram sua estabilidade dentro do produto e também são capazes de controlar a sua liberação. Devido ao tamanho nanométrico, promovem um contato íntimo com o estrato córneo, com propriedades oclusivas, devido à formação de um filme sobre a pele, reduzindo a perda transepidérmica de água e, portanto, melhorando a hidratação. Conseqüentemente, podem ser empregadas com o objetivo de permitir que os ativos cosméticos atinjam as camadas mais profundas da pele, uma vez que podem aumentar a sua penetração através da epiderme (MIHRANYAN *et al.*, 2012; PARDEIK *et al.*, 2009). Além disso, apresentam, também, um efeito sinérgico na proteção contra a radiação solar e são capazes de melhorar a proteção aos raios UV em combinação com filtros orgânicos devido à sua característica particulada. Um estudo realizado por WISSING & MULLER (2001), demonstrou que o uso de NLS contendo Vitamina E, reduziu a quantidade de filtro nas formulações, mantendo o mesmo nível de proteção UV, determinado por metodologia *in vitro*.

O maior questionamento sobre o uso destes sistemas na Cosmetologia é sobre o perfil de penetração na pele das NLS e, conseqüentemente, seu potencial em causar efeitos tóxicos ao organismo (MIHRANYAN *et al.*, 2012; LABOUTA & SCHNEIDER, 2013). É relatado que partículas com tamanho superior à 20 nm normalmente não penetram através da pele intacta; e que, apesar de partículas com tamanho superior poderem penetrar mais profundamente a pele através dos folículos pilosos, não há indicação científica de que elas penetrem até os tecidos viáveis da pele (BAROLI *et al.*, 2010; MIHRANYAN *et al.*, 2012; BANGALE *et al.*, 2012). No entanto, o perfil de penetração destas nanopartículas depende de suas propriedades físico-químicas, como composição química, tamanho, conformação e morfologia, carga superficial e área total, bem como das propriedades da formulação semissólida onde são incorporadas (veículo), o que influencia em sua atividade biológica e efeitos no organismo (LABOUTA & SCHNEIDER, 2013; ZORODDU *et al.*, 2014). Portanto, cada caso deve ser avaliado de forma isolada, a fim de garantir a segurança e eficácia do produto final.

Ao contrário da Europa, onde existe uma legislação que prevê que os nanomateriais sejam pré-registrados e que o seu uso em cosméticos implica na necessidade de se realizar testes adicionais de segurança, em relação a um produto cosmético convencional, no Brasil ainda não foi estabelecida nenhuma legislação específica. Encontra-se em trâmite no Congresso Nacional a votação para o Projeto de Lei (PL) nº 6741/2013, que trata da Política Nacional de Nanotecnologia; que baseia-se nos conceitos e princípios da legislação europeia e prevê a vigilância dos bens de consumo contendo nanotecnologia.

2.4 AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA CLÍNICA DE FORMULAÇÕES COSMÉTICAS

A aplicação de um produto cosmético pode promover efeitos negativos ou positivos sobre a pele. Desta maneira, é importante definir procedimentos e métodos experimentais que sejam capazes de determinar a extensão destas alterações. Os métodos utilizados dependem dos objetivos do estudo e, geralmente, empregam várias metodologias simultaneamente, visando a comprovação científica dos reais benefícios propostos por estas formulações (ELSNER *et al.*, 2011).

Neste contexto, as técnicas de biofísica e análise de imagem da pele têm sido amplamente empregadas, por permitirem a avaliação dos produtos em suas reais condições de uso. Desta forma, é possível avaliar as características biológicas, mecânicas e funcionais da pele através de medidas objetivas de determinadas variáveis, por métodos cientificamente comprovados e não-invasivos. Dentre estas variáveis, podemos citar as propriedades mecânicas da pele (viscoelasticidade), a espessura da derme e epiderme, a hidratação cutânea, a rugosidade, o padrão de pigmentação, o grau de oleosidade (ou sebo), a perda transepidermica de água, a avaliação do microrelevo cutâneo, entre outros (GONÇALVES & MAIA CAMPOS, 2009; ELSNER *et al.*, 2011; DRENO *et al.*, 2014).

A investigação é realizada em voluntários sadios e nas condições previsíveis de uso do produto. De maneira geral, os voluntários são selecionados de acordo com o seu tipo de pele, sexo, idade e hábitos específicos. Dependendo do tipo de produto avaliado e do efeito esperado, são selecionadas diferentes regiões corporais, desde a face, antebraços e, até mesmo, a região dos tornozelos. E a duração dos testes de eficácia pode variar desde um dia, caracterizando os estudos

de cinética de avaliação, com aplicação única do produto, até várias semanas, com várias aplicações em tempos determinados (RAWLINGS & HARDING, 2004; CHILCOTT & FARRAR, 2008).

A avaliação da eficácia de produtos cosméticos por tais métodos pode, ainda, ser complementada quando comparada com a análise dos efeitos dos produtos pelos próprios consumidores. Esta abordagem de avaliação permite correlacionar os benefícios percebidos com aqueles mensurados pelas técnicas de biofísica e imagem da pele, além de prever a aceitabilidade do produto final pelos consumidores (RAWLINGS & HARDING, 2004; GONÇALVES & MAIA CAMPOS, 2009; GIANETI *et al.*, 2012). Há uma grande variedade de estudos sobre a caracterização dos atributos sensoriais de produtos cosméticos. O método sensorial padrão utilizado para esta aplicação é a caracterização quantitativa descritiva, onde os voluntários são treinados para qualificar e quantificar os atributos sensoriais do produto. No entanto, apesar de ser amplamente aceita, esta metodologia apresenta a desvantagem de demandar tempo para a formação e treinamento das voluntárias (painel). Desta forma, uma alternativa é o método CATA (*Check-all-that-apply*), que poder ser realizado pelos consumidores, sem a necessidade de um painel treinado. Para tanto, os voluntários respondem à um questionário contendo atributos relacionados com a qualidade, intenção de compra e aceitabilidade do produto final. A desvantagem deste método, no entanto, está relacionado ao fato de que fornece frequência de citações de determinado atributo, ao invés de classificação ou intensidade do mesmo (PARENTE *et al.*, 2011; PENSÉ-LHÉRITIER, 2015).

No Brasil, o Conselho Nacional de Saúde regulamentou as pesquisas envolvendo seres humanos através da RDC nº 466 de 2012 e constituiu a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), responsável pelo registro dos Comitês de Ética em Pesquisa institucionais. Portanto, todos os projetos de pesquisa envolvendo seres humanos devem obedecer às recomendações dessa resolução. Assim, antes da avaliação de produtos cosméticos em humanos, todo e qualquer protocolo de estudo deve ser submetido à avaliação prévia por um Comitê de Ética (BRASIL, 2012a).

3. Conclusão

Com base nos resultados deste estudo podemos concluir que o uso frequente do protetor solar desenvolvido, com FPS 30 e boa proteção UVA, preveniu os danos causados pela exposição ao sol, no que diz respeito à formação radicalar no UV e VIS e, conseqüentemente, melhorou significativamente a função de barreira, a ecogenicidade e as propriedades mecânicas da pele após 84 dias de tratamento. No entanto, a incorporação dos antioxidantes, DMC-NLS e *Spirulina*, na formulação fotoprotetora desenvolvida, foi capaz de reduzir a formação de radicais livres nas regiões UV, VIS e IV do espectro solar, além de ter apresentado melhores resultados para os parâmetros TEWL, conteúdo aquoso do estrato córneo, relação de ecogenicidade, R2, R5 e R6 (relacionados com as propriedades mecânicas da pele). A avaliação sensorial das formulações apresentou boa correlação com as medidas objetivas utilizadas para avaliar o efeito das formulações na pele humana. Por fim, as formulações foram consideradas seguras, uma vez que os filtros solares permaneceram retidos no estrato córneo e não foi observado reação alérgica em nenhuma das voluntárias após 84 dias de tratamento.

É importante salientar que, ao contrário da radiação UVB e UVA, cujos índices de proteção (FPS e FP-UVA) já são bem estabelecidos, os métodos de avaliação da proteção nas regiões do VIS e IV, ainda não são regulamentados e, portanto, torna-se difícil prever qual o grau de proteção oferecido nesta região. Além disso, são necessários mais estudos para comprovar os efeitos das radiações VIS e IV à pele, bem como a real necessidade de fotoproteção nestas regiões. No entanto, as técnicas *in vitro* e *in vivo* empregadas neste estudo permitiram avaliar a eficácia e a segurança destas formulações nas regiões UV, VIS e IV, fornecendo resultados preliminares e complementares, que auxiliam na previsão da proteção oferecida por protetores solares em toda a região do espectro solar, bem como, os efeitos benéficos dos antioxidantes estudados.

4. Referências Bibliográficas

ADLHART, C.; BASCHONG, W. Surface distribution and depths profiling of particulate organic UV absorbers by Raman imaging and tape stripping. *Int. J. Cosmet. Sci.*, v.33, p.527–534, 2011.

AGBAI, O.N.; BUSTER, K.; SANCHEZ, M.; HERNANDEZ, C.; KUNDU, R.V.; CHIU, M.; ROBERTS, W.E.; DRAELOS, Z.D.; BHUSHAN, R.; TAYLOR, S.C.; LIM, H.W.. Skin cancer and photoprotection in people of color: a review and recommendations for physicians and the public. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.70, n.4, p.748-62, 2014.

AKHALAYA, M.Y.; MAKSIMOV, G.V.; RUBIN, A.B.; LADEMANN, J.; DARVIN, M.E. Molecular action mechanisms of solar infrared radiation and heat on human skin. *Ageing Res. Rev.*, v.16, p.1–11, 2014.

AKHTAR, N.; ZAMAN, S.U.; KHAN, B.A.; AMIR, M.N.; EBRAHIMZADEH, M.A. Calendula extract: effects on mechanical parameters of human skin. *Acta Polon. Pharm. - Drug Res.*, v.68, n.5, p.693-701, 2011.

ASCENCIO, S.M.; CHOE, C.; MEINKE, M.C.; MÜLLER, R.H.; MAKSIMOV, G.V.; WIGGER-ALBERTI, W.; LADEMANN, J.; DARVIN, M.E. Confocal Raman microscopy and multivariate statistical analysis for determination of different penetration abilities of caffeine and propylene glycol applied simultaneously in a mixture on porcine skin ex vivo. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v.104, p.51-58, 2016

ASHTIKAR M, MATTHAUS C, SCHMITT M, KRAFFT C, FAHR A , POPP J. Non-invasive depth profile imaging of the stratum corneum using confocal Raman microscopy: First insights into the method. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.50, p.601-8, 2013.

ATTAMA, A.A.; MULLER-GOYMANN, C.C.. Effect of beeswax modification on the lipid matrix and solid lipid nanoparticle crystallinity. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, v.315, p.189–195, 2008.

BANGALE, M.S.; MITKARE, S.S.; GATTANI, S.G.; SAKARKAR, D.M.. Recent nanotechnological aspects in cosmetics and dermatological preparations. *Int. J. Pharm. Pharmac. Sci.*, v.4, n. 2, 2012.

BAREL, A.O.; PAYE, M.; MAIBACH, H.I. (Ed.). Handbook of cosmetic science and technology. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, 2009. 869 p. ISBN 9781420069631.

BAROLET, D.; CHRISTIAENS, F.; HAMBLIN, M.R.. Infrared and skin: Friend or foe. *J. Photochem. Photobiol. B*, v.155, p.78-85, 2016.

BAROLI, B.. Penetration of nanoparticles and nanomaterials in the skin: Fiction or reality? *J. Pharmaceut. Sci.*, v.99, n.1, p.21–50, 2010.

BENDOVÁ, H.; AKRMAN, J.; KREJČÍ, A.; KUBÁČ, L.; JÍROVÁ, D.; KEJLOVÁ, K.; KOLÁROVÁ, H.; BRABEC, M.; MALÝ, M. In vitro approaches to evaluation of Sun Protection Factor. *Toxicol. in Vitro*, v.21, p.1268-1275, 2007.

BOOTS THE CHEMIST LTD. (England), The revised guidelines to the practical measurement of UVA: uvb ratios according to the Boots Star Rating System. Nottingham: The Boots CO PLC; 2004.

BOSE, S.; DUC, Y.; TAKHISTOVIC, P.; MICHNIAK-KOHN, B.. Formulation optimization and topical delivery of quercetin from solid lipid based nanosystems. *Int. J. Pharm.*, v. 441, p. 56-66, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. Brasília, v.1, 52p., 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 69, de 23 de março de 2016. Dispõe sobre o “Regulamento técnico Mercosul sobre lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes”. Diário Oficial da União, Brasília, 23 mar. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 7, de 10 de fevereiro de 2015. Dispõe sobre os requisitos técnicos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, 10 fev. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Fica aprovado as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial da União, Brasília, 01 dez. 2012a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 30, de 1 de junho de 2012. Fica aprovado o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos nos termos desta Resolução. Diário Oficial da União, Brasília, 04 jun. 2012b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia para Avaliação de Segurança e Eficácia de Produtos Cosméticos. Brasília, ed.2, 74p., 2012c.

BRULS, W.A.G.; SLAPER, H.; VAN DER LEUN, J.C.; BERRENS, L.. Transmission of human epidermis and stratum corneum as a function of thickness in the ultraviolet and visible wavelengths. *Photochem. Photobiol.*, v. 40. n. 4, p.485-494, 1984.

CAETANO, L.V.; SOARES J.L.; BAGATIN, E.; MIOT, H.A.. Reliable assessment of forearm photoageing by high-frequency ultrasound: a cross-sectional study. *Int. J. Cosmet. Sci.*, v.38, p.170-177, 2016.

CASPERS, P.J.; CASPERS, P.J.; LUCASSEN, G.W.; CARTER, E.A.; BRUINING, H.A.; PUPPELS, G.J. In vivo confocal Raman microspectroscopy of the skin: noninvasive determination of molecular concentration profiles. *J. Invest. Dermatol.*, v.116, p.434-42, 2001.

CASTRO, G. A.; COELHO, A. L.; OLIVEIRA, C. A.; MAHECHA, G. A.; OREFICE, R. L.; FERREIRA, L. A..Formation of ion pairing as an alternative to improve encapsulation and stability and to reduce skin irritation of retinoic acid loaded in solid lipid nanoparticles. *Int. J. Pharm.*, v. 381, p. 77–83, 2009.

CHEN, L.; HU, J.Y.; WANG, S.Q.. The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v. 67, p. 1013-1024, 2012.

CHILCOTT, R. P.; FARRAR, R. Biophysical measurements of human forearm skin in vivo: effects of site, gender, chirality and time. *Skin Res. Technol.*, v.6, n.2, p.64-69, 2008.

CHO, S.; SHIN, M.H.; KIM, Y.K.; SEO, J.E.; LEE, Y.M.; PARK, C.H.; CHUNG, J.H.. Effects of infrared radiation and heat on human skin aging in vivo. *J. Invest. Dermatol.*, v.14, p.15–19, 2009.

CHOE, C.; LADEMANN, J.; DARVIN, M.E.. Analysis of human and porcine skin in vivo/ex vivo for penetration of selected oils by Confocal Raman microscopy. **Skin Pharmacol. Physiol.**, v.28, p.318-30, 2015.

CHUONG, C. M.; NICKOLOFF, B. J.; ELIAS, P. M. et al.. What is the 'true' function of skin? **Exp. Dermatol.**, v. 11, p. 159–187, 2002.

CLARYS, P.; CLIJSEN, R.; TAEYMANS, J.; BAREL, A.O. Hydration measurements of the stratum corneum: comparison between the capacitance method (digital version of the Corneometer CM 825) and the impedance method (Skincon 200EX). **Skin Res. Tech.**, v.18, n.3, p.316-323, 2012.

COLIPA. Guidelines. In: In vitro UV Protection Method Task Force. In vitro method for the in vitro determination of UVA protection factor and critical wavelength values of sunscreen products, 2011.

COLIPA. Guidelines. In: International Sun Protection Factor (SPF) Test Method, 2006.

CORRÊA, M.A.. Cosmetologia: Ciência e Técnica. Colaboradores: Alberto Keidi Kurebayashi e Vera Lúcia Borges Isaac. 1 ed. São Paulo: Medfarma, 2012. 492 p. ISBN: 8589248097.

CORRÊA M.P., PIRES, L.C.. Doses of erythematous ultraviolet radiation observed in Brazil. **Int. J. Dermatol.**, 2013;52:966-73.

COUTEAU, C., DIARRA, H., COIFFARD, L. Effect of the product type, of the amount of applied sunscreen product and the level of protection in the UVB range on the level of protection achieved in the UVA range. **Int. J. Pharm.**, v.500, n.1-2, p.210-216, 2016.

CRIADO, P.R.; MELO, J.N.; OLIVEIRA, Z.N.P. Topical photoprotection in childhood and adolescence. **J. Pediatr.**, v. 88, n. 3, p. 203-210, 2012.

CRISAN, D.; ROMAN, I.; CRISAN, M.; SCHARFFETTER-KOCHANEK, K.; BADEA, R.. The role of vitamin C in pushing back the boundaries of skin aging: an ultrasonographic approach. Clinical, **Cosm. Invest. Dermatol.**, v.8, p. 463-470, 2015.

DAL'BELO, S. E.; GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G.. Moisturizing effect of cosmetic formulations containing Aloe vera extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques.. **Skin Res. Tech.**, v.12, n.2, p.241-246, 2006.

DARVIN, M.E.; FLUHR, J.W.; MEINKE, M.C.; ZASTROW, L.; STERRY, W; LADEMANN, J. Topical beta-carotene protects against infra-red-light-induced free radicals. **Exp. Dermatol.**, v.20, p.125–129, 2011.

DARVIN, M.E.; MEINKE, M.C.; STERRY, W.; LADEMANN, J.. Optical methods for noninvasive determination of carotenoids in human and animal skin. **J. Biomed. Opt.**, v.18, n.6, p.61230, 2013.

DELSIN, S.D.; FOSSA, M.M.; MERCÚRIO, D.G.; CAMPOS, P.M.B.G.M.. Clinical efficacy of dermocosmetic formulations containing Spirulina extract on young and mature skin: effects on the skin hydrolipidic barrier and structural properties. **Clin. Pharmacol. Biopharm.**, v. 04, p. 1, 2015.

DIAVÃO, S. N. C., GABRIEL, K. C. Estudo dos parâmetros físico-químicos na estabilidade de emulsões cosméticas. **Infarma**, v.21, no 11/12, 2009.

DIFFEY, B. L. A method for broad spectrum classification of sunscreens. *Int. J. Cosm. Sci.*, v.16, n.2, p. 47-52, 1994.

DIFFEY, B. L.; TANNER, P. R.; MATTS, P. J.; NASH, F. In vitro assessment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.43, n.6, p.1024-1035, 2000.

DOBREV, H. Use of cutometer to assess epidermal hydration. *Skin Res. Technol.*, v.6, p.239-244, 2000.

DRENO, B.; ARAVIISKAIA, E.; BERARDESCA, E.; BIEBER, T.; HAWK, J.; SANCHEZ-VIERA, M.; WOLKENSTEIN, P. The science of dermocosmetics and its role in dermatology. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, v.28, n.11, p.1409-1417, 2014.

DUPONT, E.; GOMEZ, J.; BILODEAU, D. Beyond UV radiation: A skin under challenge. *Int. J. Cosm. Sci.*, v.35, p. 224–232, 2013.

DURAND, L.; HABRAN, N.; HENSCHER, V.; AMIGHI, K. In vitro evaluation of the cutaneous penetration of sprayable sunscreen emulsions with high concentrations of UV filters. *Int. J. Cos. Sci.*, v.31, p.279–292, 2009.

ELKEEB, R., HUI, X., CHAN, H., TIAN, L., MAIBACH H. I. Properties in vitro : comparison of three evaporimeters. *Skin Res. Technol.*, v.16, p.9–15, 2010.

ELSNER, P.; FLUHR, J.W.; GEHRING, W.; KERSCHER, M.J.; KRUTMANN, J.; LADEMANN, J.; MAKRANTONAKI, E.; WILHELM, K-P.; ZOUBOULIS, C.C. Anti-aging data and support claims-consensus statement. *JDDG*, v.9, n.s3, p.S1-S32, 2011.

EZURE, T.; YAGI, E.; AMANO, S.; MATSUZAKI, K.. Dermal anchoring structures: convex matrix structures at the bottom of the dermal layer that contribute to themaintenance of facial skin morphology. *Skin Res. Technol.*, v.22, p.152–157, 2016.

FERRARI, M.; ROCHA-FILHO, P. A. Multiple emulsions containing amazon oil: açai oil (*Euterpe oleracea*). *Braz. J. Pharmacog.*, v. 21, n. 4, p.737-743, 2011.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Department of Health, Education and Welfare. USA: Sunscreen drug products for over-the-counter drugs: proposed safety, effective and labeling conditions. Federal register. 43/166, 38206-69, 1978.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), Department of Health and Human Services, FDA. USA: Sunscreen Drug Product for Over-The-Counter Human Use, Tentative Final Monograph. Federal Register. 58(90):27693-28194, 1993.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA): Department of Health and Human Services (June 17, 2011). "Revised Effectiveness Determination; Sunscreen Drug Products for Over-the-Counter Human Use" (PDF). Federal Register 76 (117): 35672–35678, 2011.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA): Department of Health and Human Services. FDA Sheds Light on Sunscreens (2016). Disponível em: <http://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm258416.htm>, acessado em 16 de Junho de 2016, às 13:21 horas.

FITZPATRICK, T.B.. The validity and practically of sun-reactive skin type I through VI. *Arch. Dermatol.*, v.124, p.869–871, 1988.

FLOR, J.; DAVOLOS, M. R.; CORREA, M. A. Protetores solares. **Quím. Nov.**, v. 30, n. 1, p. 153-158, 2007.

FREITAS, J.V.; PRAÇA, F.S.G. ; BENTLEY, M.V.L.B. ; GASPAR, L.R. . Trans-resveratrol and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters. **Int. J. Pharm.**, v.484, p.131-137, 2015.

FREITAS, L.A.P.; ZAMARIOLI, C.M.; MARTINS, R.M. Brazilian Patent Office. INPI – Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Processo de obtenção de nanopartículas lipídicas sólidas contendo curcuminóides, nanopartículas lipídicas sólidas contendo curcuminóides e uso das mesmas. Registered patent number: BR1020150090170, 22/04/2015, Brazil.

FUCHS, J.. Potentials and limitations of the natural antioxidants rrr-alpha-tocopherol, l-ascorbic acid and b-carotene in cutaneous photoprotection. **Free Rad. Biol. Med.**, v.25, n.7, p.848–873, 1998.

GASPAR, L. R.; CAMARGO JÚNIOR, F.B.; GIANETI, M.D.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Evaluation of dermatological effects of cosmetic formulations containing *Saccharomyces cerevisiae* extract and vitamins. **Food Chem. Toxicol.**, v.46, n.11, p.3493-3500, 2008.

GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Rheological behavior and the SPF of sunscreens. **Int. J. Pharma.**, v.250, n.1, p.35-44, 2003.

GIANETI, M.D.; GASPAR, L.R.; CAMARGO JÚNIOR, F.B.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G.M. Benefits of combinations of vitamin A, C and E derivatives in the stability of cosmetic formulations. **Molecules**, v.17, p.2219-2230, 2012.

GNIADACKA, M.; GNIADACKI, R.; SERUP, J.; SONDERGAARD, J. Ultrasound structure and digital image analysis of the subepidermal low echogenic band in aged human skin: Diurnal changes and interindividual variability. **J. Invest. Dermatol.**, v.102, p.362–365, 1994.

GODIC, A.; POLJŠAK, B.; ADAMIC, M.; DAHMANE, R.. The role of antioxidants in skin cancer prevention and treatment. **Oxi. Med. Cel. Long.**, v.2014. Article ID 860479, 6 pages, 2014.

GONÇALVES, G.M.S.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G.. Aplicação de métodos de biofísica no estudo da eficácia de produtos dermocosméticos. **Braz. J. Pharm. Sci.**, v.45, n.1, p. 1-10, 2009.

GREYER-BECK, S.; MARINI, A.; JAENICKE, T.; KRUTMANN, J.. Photoprotection of human skin beyond ultraviolet radiation. **Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.**, v.30, p.167–174, 2014.

HAAG, S.F. et al. Enhancement of skin radical scavenging activity and stratum corneum lipids after the application of a hyperforin-rich cream. **Eur. J. Pharma. Biopharma.**, v.86, p.227–233, 2014.

HADGRAFT, J. Modulation of the barrier function of the skin. **Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.**, v.14, supl.1, n.1, p.72-81, 2001.

HAN, A.; CHIEN, A.L.; KANG, S. Photoaging. **Dermatol. Clin.**, v.23, n.3, p.291-299, 2014.

HAYWOOD, R.; WARDMAN, P.; SANDERS, R.; LINGE, C.. Sunscreens Inadequately Protect Against Ultraviolet-A-Induced Free Radicals in Skin: Implications for Skin Aging and Melanoma? **J. Invest. Dermatol.**, vol.121(4), p.862-868, 2003.

HERRLING, T.; JUNG, K.; FUCHS, J.. Measurements of UV-generated free radicals/reactive oxygen species (ROS) in skin. **Spectrochimica Acta Part A**, v.63, p.840–845, 2006.

HERZOG, B.; OSTERWALDER, U.. In silico determination of topical sun protection. **Cosm. Sci. Technol.**, p.62-70, 2011.

HEXSEL, C.L.; BANGERT, S.D.; HEBERT, A.A.; LIM, H.W.. Current sunscreen issues: 2007 Food and Drug Administration sunscreen labelling recommendations and combination sunscreen/insect repellent products. **J. Am. Acad. Dermatol.**, v.59, p.316-323, 2008.

HOFFMANN, K. et al.. Assessment of actinic skin damage by 20-MHz sonography. **Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.**, v.10, p.97–101, 1994.

INCA. Estimativa 2016. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/> Acesso em: 30 de abril de 2016, às 21:45 horas.

HAQUE, T.; CROWTHER, J.M.; LANE, M.E.; MOORE, D.J. Chemical ultraviolet absorbers topically applied in a skin barrier mimetic formulation remain in the outer stratum corneum of porcine skin. **Int. J. Pharm. Biopharm.**, v.510, p.250-254, 2016.

HENG, K.Y.; KEI, T.Y.; SINGH, K.J.; HAIRUI, L.I.; AI-LING, P.O.H.; LIFENG, K. Handbook of Cosmeceutical Excipients and their Safeties. Elsevier Store, Cambridge, UK, 1st Edition, p.163. ISBN 978-1-908818-71-3, 2014.

JENNING, V.; SCHAFER-KORTING, M.; GOHLA, S.H.. Vitamin A loaded solid lipid nanoparticles for topical use: drug release properties. **J. Control. Release**, v.66, n.2, p.115-126, 2000.

JEON, H. S. et al.. A retinyl palmitate-loaded solid lipid nanoparticle system: Effect of surface modification with dicetyl phosphate on skin permeation in vitro and anti-wrinkle effect in vivo. **Int. J. Pharm.**, v. 452, p. 311- 320, 2013.

JO, D.H. et al.. Size, surface charge, and shape determine therapeutic effects of nanoparticles on brain and retinal diseases. **Nanomed. Nanotechnol.**, v.11, p.1603–1611, 2015.

KANG, K-C.; JEONG, N-H.; LEE, C-I.; PYO, H-B.. Preparation and characterization of SLNs (W/O/W type) contained lipoic acid PEG ester by variation lipid. **J. Ind. Eng. Chem.**, v.15, p.529–536, 2009.

KHERADMANDNIA, S.; VASHEGHANI-FARAHANI, E.; NOSRATI, M.; ATYABI, F.. Preparation and characterization of ketoprofen-loaded solid lipid nanoparticles made from beeswax and carnauba wax. **Nanomedicine: NBM**, v.6, p.753-759, 2010.

KHURANA, S.; BEDI, P.M.S.; JAIN, N.K.. Preparation and evaluation of solid nanoparticles based nanogel for dermal delivery of meloxicam. **Chem. Phys. Lipids**, v.175-176, p.65-72, 2013.

KHURY, E.; BORGES, E.. Protetores solares. **Rev. Bras. Med.**, p. 4-18, 2013.

KIM, J.Y.; SONG, J.Y.; LEE, E.J.; PARK, S.K.. Rheological properties and microstructures of Carbopol gel network system. **Colloid. Polym. Sci.**, v.281, p.614-623, 2003.

-
- KRUTMANN, J.; MORITA, A.; CHUNG, J.H.. Sun exposure: what molecular photodermatology tells us about its good and bad sides. *J. Invest. Dermatol.*, v.132, p.976–984, 2012.
- KULLAVANIJAYA, P.; LIM, H.W.. Photoprotection. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.52, p.937-58, 2005.
- KUMAR, S.; RANDHAWA, J. K.. High melting lipid based approach for drug delivery: solid lipid nanoparticles. *Matirial Sci. Eng. C*, v.33, p.1842-1852, 2013.
- LABOUTA, H.I.; SCHNEIDER, M. Interaction of inorganic nanoparticles with the skin barrier: current status and critical review. *Nanomedic. Nanotechnol. Bio. Med.*, v.9, n.1, p.39-54, 2013.
- LACATUSU, I. et al.. Design of soft lipid nanocarriers based on bioactive vegetable oils with multiple health benefits. *Chem. Eng. J.*, v.246, p.311-321, 2014.
- LACOUR J. P.; BÉANI J. C. Photoprotectino naturelle, photoprotection externe (topique et vestimentaires). *Ann. Dermatol. Venereol.*, v.134, n.5, p.418-434, 2007.
- LEE, C.H.; MOTURI, V.; LEE, Y.. Thixotropic property in pharmaceutical formulations. *J. Control. Release*, v.136, p.88–98, 2009.
- LI, H.; CHENG, K.;WONG,C.; FAN, K.; CHEN, F. JIANG, Y. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chem.*, v.102, p.771-776, 2007.
- LIEBEL, F., KAUR, S., RUVOLO, E., KOLLIAS, N., SOUTHALL, M.D. Irradiation of skin with visible light induces reactive oxygen species and matrix-degrading enzymes. *J. Invest. Dermatol.* 132:1901–1907, 2012.
- LIM, H.D.. Sun exposure and vitamin D level. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.58, p.516, 2008.
- LIPOTEC, S. A.. Lipochroman: skin cell damage prevention by RNS scavenging. Technical dossier, 2005.
- LIU, S.; GUO, C.; WU, D.; XU, P.. Protein indicators for HaCaT cell damage induced by UVB irradiation. *J. Photochem. Photobiol. B*, v.114, p.94–101, 2012.
- LIU, W.; HU, M.; LIU, W.; XUE, C.; XU., H.; YANG, X.. Investigation of the carbopol gel of solid lipid nanoparticles for the transdermal iontophoretic delivery of triamcinolone acetate. *Int. J. Pharm.*, v.364, p.135–141, 2008.
- LIU, W., WANG, X., LAI, W., YAN, T., WU, Y., WAN, M., YI, J., MATSUI, M.S. Sunburn protection as a function of sunscreen application thickness differs between high and low SPFs. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, v.28, n.3, p.120–126, 2012.
- LOPES, L.B.; VANDEWALL, H.; LI, H.T.; VENUGOPAL, V.; LI, H.K.; NAYDIN, S.; HOSMER, J.; LEVENDUSKY, M. et al. Topical delivery of lycopene using microemulsions: enhanced skin penetration and tissue antioxidant activity. *J. Pharm. Sci.*, v. 99, n. 3, 2010.
- LUEBBERDING, S.; KRUEGER, N.; KERSCHER, M.. Mechanical properties of human skin in vivo: a comparative evaluation in 300 men and women. *Skin Res. Tech.*, v.20, n.2, p.127-135, 2014.

MACHADO, M.; HADGRAFT, J.; LANE, M.E. Assessment of the variation of skin barrier function with anatomic site, age, gender and ethnicity. *Int. J. Cosm. Sci.*, v.32, p.397-409, 2010.

MAHMOUD, B.H.; HEXSEL, C.L.; HAMZAVI, I.H.; LIM, H.W.. Effects of visible light on the skin. *Photochem. Photobiol.*, v.84, p.450-62, 2008.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; CAMARGO, JR.F.B.; CORAUCE, D. Spirulina containing cosmetic composition and cosmetic treatment method. European Patent Office Netherlands patent EP 12768486.8-1458, 2014.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G.; GIANETI, M.D.; KANASHIRO, A.; LUCISANO-VALIN, Y.M.; GASPAR, L.R.. In vitro antioxidant and in vivo photoprotective effects of an association of bioflavonoids with liposoluble vitamins. *Photochem. Photobiol.*, v.82, n.3, p.683-688, 2006.

MALVERN ZETASIZER NANO-ZS. User Instructions. NBTC User Instructions. 2009.

MARESCA, V.; FLORI, E.; PICARDO, M.. Skin phototype: a new perspective. *Pigment. Cell. Melanoma Res.*, v.28; p.378-389, 2015.

MARIONNET, C.; TRICAUD, C.; BERNERD, F.. Exposure to Non-Extreme Solar UV Daylight: Spectral Characterization, Effects on Skin and Photoprotection. *Int. J. Mol. Sci.*, v.16, p.68-90, 2015.

MATSUI, M. S.; HSIA, A.; MILLER, J.D.; HANNEMAN, K.; SCULL, H.; COOPER, K.D.; BARON, E. Non-sunscreen photoprotection: antioxidants add value to a sunscreen. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, v. 14, p. 56-59, 2009.

MAZZULLA, S.; CARINO, A.; MIANO, A.; MIGNINI, F.; BARTOLOMEI, G.; MARTINO, G.. Analysis of human skin tissue by a skin-meter: A preliminary study. *Open J. Mol. Int. Physiol.*, v.2, p.107-111, 2012.

MEHNERT, W.; MADER, K.. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Adv. Drug Dev. Rev.*, 47, 165-196, 2001.

MEINKE, M.C.; HAAG, S.F.; SCHANZER, S.; GROTH, N.; GERSONDE, I.; LADEMANN, J.. Radical protection by sunscreens in the infrared spectral range. *Photochem. Photobiol.*, v.87, p.452-6, 2011.

MEINKE, M.C.; SYRING, F.; SCHANZER, S.; HAAG, S.F.; GRAF, R.; LOCH, M.; GERSONDE, I.; GROTH, N.; PFLUCKER, F.; LADEMANN, J.. Radical protection by differently composed creams in the UV/VIS and IR spectral ranges. *Photochem. Photobiol.*, v.89, p.1079-1084, 2013.

MERCÚRIO, D.G.; JDID, R.; MORIZOT, F.; MASSON, P.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G.. Morphological, structural and biophysical properties of French and Brazilian photoaged skin, *Br. J. Dermatol.*, v. 174(3), p.553-61, 2016.

MERCÚRIO, D.G.; WAGEMAKER, T.A.; ALVES, V.M.; BENEVENUTO, C.G.; GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M. In vivo photoprotective effects of cosmetic formulations containing UV filters, vitamins, Ginkgo biloba and red algae extracts. *J. Photochem. Photobiol. B.*, v.153, p.121-126, 2015.

MIHRANYAN, A.; FERRAZ, N.; STROMME, M.. Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics. *Prog. Mater. Sci.*, v. 57, p. 875-910, 2012.

MILESI, S. S.; GUTERRES, S. S.. Fatores determinantes da eficácia de fotoprotetores. **Cad. Farm.**, v. 18, n.2, p.81-87, 2002.

MIN, P.; BENEDETTO, G.; LAZZERI, D.. Alteration of skin mechanical properties in patients undergoing botulinum toxin type a injections of forehead rhytides. **Aesth. Plast. Surg.**, v.40, p.410-420, 2016.

MONTENEGRO, L.; SINICO, C.; CASTANGIA, I.; CARBONE, C.; PUGLISI, G.. Idebenone-loaded solid lipid nanoparticles for drug delivery to the skin: *in vitro* evaluation. **Int. J. Pharm.**, v. 434, p. 169-174, 2012.

MULLER, R.H.; RADTKE, M.; WISSING, S.A.. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 54 (Suppl. 1), p. 131–155, 2002.

NAKAGAWA, N., MATSUMOTO, M., SAKAI, S. In vivo measurement of the water content in the dermis by confocal Raman spectroscopy. **Skin Res. Technol.**, v.1, p.137–141, 2010.

NASH, J. F. Human safety and efficacy of ultraviolet filters and sunscreen products. **Dermatol. Clin.**, v. 24, n. 1, p. 35-51, 2006.

NATARAJAN, V.T.; GANJU, P.; RAMKUMAR, A.; GROVER, R.; GOKHALE, R.S.. Multifaceted pathways protect human skin from UV radiation. **Nat. Chem. Biol.**, v.10, p. 542-551, 2014.

NESSEEM, D. Formulation of sunscreens with enhancement sun protection factor response based on solid lipid nanoparticles. **Int. J. Pharm.**, v.33, p.70–79, 2011.

NEVES, K. Proteção solar. Edição Temática, n. 7, Ano 3, p. 10-35, 2008.

NYEBORG, M.; PISSAVINI, M.; LEMASSON, Y.; DOUCET, O.. Validation of HPLC method for the simultaneous and quantitative determination of 12 UV-filters in cosmetics. **Int. J. Cosm. Sci.**, v. 32, p.47-53, 2010.

NOHYNEK, G.J.; LADEMANN, J.; RIBAUD, C.; ROBERTS, M.S.. Goon the Skin? Nanotechnology, Cosmetic and Sunscreen Safety. **Crit. Rev. Toxicol.**, v.37, p.251–277, 2007.

OSTERWALDER, U.; HERZOG, B. SPF: World Wide Confusion. **Brit. J. Dermatol.**, v.161, n.3, p.13-24, 2009.

PARDEIKE, J.; HOMMOSS, A.; MÜLLER, R.H. Lipid nanoparticles (SLN, NLC) in cosmetic and pharmaceutical dermal products. **Int. J. Pharm.**, v. 366, p. 170–184, 2009.

PARDEIKE, J.; MÜLLER, R.H. Coenzyme Q10 loaded NLCs: preparation, occlusion properties and penetration enhancement. **Pharm. Technol. Eur.**, v.19, p.46–49, 2007.

PARENTE, M. E.; MANZONI, A. V.; ARES, G. External preference mapping of commercial antiaging creams based on consumers' responses to a check-all-apply questions. **J. Sens. Stud.**, v. 26, p. 158-166, 2011.

PATHAK, M. A.; FITZPATRICK, T. B.; GREITER, F.; KRAUS, E. W.. Preventive treatment of sunburn, dermatoheliosis and skin cancer with sun-protective agents. In: FITZPATRICK, T.B.; EILSEN, A. Z.; WOLFF, K.; FREEDBERG, I. M.; AUSTEN K.F.. **Dermatol. Gen. Med.**,

v. 4, p.1689-1717, 1993.

PENSÉ-LHÉRITIER, A.M.. Recent developments in the sensorial assessment of cosmetic products: a review. *Int. J. Cosm. Sci.*, v.37, n.5, p.465-473, 2015.

PIAZENA H , KELLEHER DK. Effects of infrared-A irradiation on skin: discrepancies in published data highlight the need for an exact consideration of physical and photobiological laws and appropriate experimental settings. *Photochem. Photobiol.*, v.86, p.687-705, 2010.

PIÉRARD, G.E. EEMCO Guidance to the in vivo assessment of tensile functional properties of the skin. Part 1: Relevance to the structures and ageing of the skin and subcutaneous tissues. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, v.12, p.352-362, 1999.

POLEFKA, T.G.; MEYER, T.A.; AGIN, P.P.; BIANCHINI, R.J. Effects of solar radiation on the skin. *J. Cosm. Dermatol.*, v. 11, p. 134–143, 2012.

POUILLOT,A.; POLLA, L.; TECCHINI, P.; NEEQUAYE, A.; POLLA, A.; POLLA, B.. Natural antioxidants and their effects on the skin. In Nava Dayan & Lambros Kromidas (Ed.), *Formulating, Packaging and marketing of Natural Cosmetics products (First Edit.)*. John Wiley & Sons, Inc., 2011.

PRISTA, L.N., BAHIA, M.F.; VILAR, E. *Dermofarmácia e Cosmética*. (A. N. Farmácias, Ed.). Porto, Gráfica Maiadouro, 1992.

PUGLIA, C.; DAMIANI, E.; OFFERTA, A.; RIZZA, L.; TIRENDI, G.G.; TARICO, M.S.; CURRERI, S.; BONINA, F.; PERROTTA, R.. Evaluation of nanostructured lipid carriers (NLC) and nanoemulsions as carriers for UV-filters Characterization, in vitro penetration and photostability studies. *Eur. J. Pharm. Sci.*, v.51, p.211-217, 2014.

RANDHAWA, M.; SEO, I.; LIEBEL, F.; SOUTHALL, M.D.; KOLLIAS, N.; RUVOLO, E. Visible light induces melanogenesis in human skin through a photoadaptive response. *PLoS ONE*, v.10, n.6, p.1-14, 2015.

RAZA, K.; SINGH, B.; SINGAL, P.; WADHWA, S.; KATARE, O.P. Systematically optimized biocompatible isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles (SLNs) for topical treatment of acne. *Colloid. Surf. B Biointerf.*, v.105, p.67-74, 2013.

RAWLINGS, A.V.; HARDING, C.R. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol. Ther.*, v.17, suppl.1, p.43-48, 2004.

RODRIGUES L. EEMCO Guidance to the in vivo Assessment of Tensile Functional Properties of the Skin Part 2: Instrumentation and Test Modes. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, v.14, p.52-67, 2001.

ROUSSELA, L.; GILBERTA, E.; SALMONA, D.; SERREA, C.; GABARDB, B.; HAFTEKA, M.; MAIBACHC, H.I.; PIROTA, F.. Measurement, analyseis and prediction of topical UV filter biovaibility. *Int. J. Pharm.*, v. 478, n.2, p.804-810, 2015.

SALVADOR, A.; CHISVERT, A.. An environmentally friendly (“green”) reversed-phase liquid chromatography method for UV filters determination in cosmetics. *Anal. Chim. Acta*, v.537, p.15-24, 2005.

SAMBANDAN, D.R.; RATNER, D. Sunscreens: An overview and update. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v.64, n.4, p.748-58, 2011.

SARGENT, E.V.; TRAVERS, J.B.. Examining the differences in current regulatory processes for sunscreens and proposed safety assessment paradigm. *Reg. Toxicol. Pharmacol.*, (2016), doi: 10.1016/j.yrtph.2016.03.008.

SCHALKA, S.; REIS, V.M.S.. Fator de proteção solar: significado e controvérsias. *An. Bras. Dermatol.*, v.86, n.3, p.507-15, 2011.

SCHALKA, S.; ADDOR, F.A.S.; AGELUNE, C.M.; PEREIRA, V.M.C.. Sunscreen protection against visible light: a new proposal for Evaluation. *Surg. Cosmet. Dermatol.*, v.3, p.45-52, 2012.

SCHALKA, S.; STEINER, D.; RAVELLI, F.N. et al. Brazilian Consensus on Photoprotection. *An. Bras. Dermatol.*, v. 89, n. 6, s. 1, p.S6-75, 2014.

SCHIEKE, S.M.; SCHROEDER, P.; KRUTMANN, J.. Cutaneous effects of infrared radiation: from clinical observations to molecular response mechanisms. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.*, v.19, p.228-34, 2003.

SCHIEKE, S.M.; STEGE, H.; KÜRTEEN, V.; GREETHER-BECK, S.; SIES, H.; KRUTMANN, J.. Infrared-A radiation-induced matrix metalloproteinase 1 expression is mediated through extracellular signal-regulated kinase 1/2 activation in human dermal fibroblasts. *J. Invest. Dermatol.*, v.119, p.1323-9, 2002.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER SAFETY (SCCS). SCCS 1358/10. Basic criteria for the in vitro assessment of dermal absorption of cosmetic ingredients. Adopted by the SCCS, 22 june, 2010. Disponível em: <http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_s_002.pdf>. Acesso em: 21 abr. 2016.

SCHROEDER, P.; LADEMANN, J.; DARVIN, M.E.; STEGE, H.; MARKS, C.; BRUHNKE, S.; KRUTMANN, J. Infrared radiation-induced matrix metalloproteinase in human skin: implications for protection. *J. Invest. Dermatol.*, v.128, p.2491–2497, 2008.

SHAATH, N. A. Ultraviolet filters. *Photochem. Photobiol. Sci.*, v.9, p.464-469, 2010.

SHAATH, N.. Sunscreens: regulation and comercial development. 3rd ed. Boca Raton: T&F informa; p. 325. 2005.

SILVA, A.C.; AMARAL, M.H.; GONZÁLEZ-MIRA, E.; SANTOS, D.; FERREIRA, D.. Solid lipid nanoparticles (SLN) - based hydrogels as potential carriersfor oral transmucosal delivery of Risperidone: Preparation and characterization studies. *Colloid. Surf. B: Biointerf.*, 93, 241–248, 2012.

SINGH, S.; KATE, N. B.; BANERJEE, U. C. Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview. *Crit. Rev. Biotechnol.*, v. 15, p. 73–95, 2005.

SMYRNIOTAKIS, C.G.; ARCHONTAKI, H.A.. Development and validation of a non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of four chemical UV filters in sun care formulations. *J. Chromatog. A*, v.1031, p.319–324, 2004.

SOBANSKA, A.W., PYZOWSKI, J. Quantification of Sunscreen Ethylhexyl Triazone in Topical Skin-Care Products by Normal-Phase TLC/Densitometry. *Scientific World Journal*. 2012; 2012: 807516.

-
- SOTOODIAN, B.; MAIBACH, H.I.. Noninvasive test methods for epidermal barrier function. *Clin. Dermatol.*, v. 30, p. 301-310, 2012.
- SOUTO, E.B.; MULLER, R.H.; GOHLA, S. A novel approach based on lipid nanoparticles (SLN) for topical delivery of α -lipoic acid. *J. Microencap.*, v.22, n.6, p.581-92, 2005.
- SOUTO, E.B.; WISSING, S.A.; BARBOSA, C.M.; MÜLLER, R.H. Development of a controlled release formulation based on SLN and NLC for topical clotrimazole delivery. *Int. J. Pharm.*, v.278, n.1, p.71–77, 2004.
- SOUTO, E.B.; SEVERINO, P.; SANTANA, M.H.A.; PINHO, S.C. Nanopartículas de lipídios sólidos: métodos clássicos de produção laboratorial. *Quím. Nov.*, v. XY, p.1-8, 2011.
- STEFFE, J. F. Rheological methods in food process engineering. 2nd ed. Freeman Press: Michigan, 1996. 418 p.
- STIEFEL, C.; SCHWACK, W.. Photoprotection in changing times – UV filter efficacy and safety, sensitization processes and regulatory aspects. *Int. J. Cosm. Sci.*, v.37, p.2-30, 2015.
- TAVEIRA, S. F. Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) como carreadores de fármacos para o tratamento tópico do câncer de pele, 2009. 142f. Tese (doutorado em Ciências), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.
- TEERANACHAIDEEKUL, V.; SOUTO, E.B.; JUNYAPRASERT, V.B.; MÜLLER, R.H.. Cetylpalmitate-based NLC for topical delivery of coenzyme Q10 - development, physicochemical characterization and in vitro release studies. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, v. 67, p. 141–148, 2007.
- TONELI, J.T.C.L.; MURR, F.E.X.; PARK, K.J.. Estudo da reologia de polissacarídeos utilizados na indústria de alimentos. *Rev. Bras. Prod. Agro.*, v.7, n.2, p.181-204, 2005.
- TOUITOU, E.; GODIN, B.. Skin nonpenetrating sunscreens for cosmetic and pharmaceutical formulations. *Clinics Dermatol.*, v.26, p.375–379, 2008.
- UNHOLZER, A.; KORTING, H.C. High-frequency ultrasound in the evaluation of pharmacological effects on the skin. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, v.15, p.71–84, 2002.
- VAGHASIYA, H.; KUMAR, A.; SAWANT, K.. Development of solid lipid nanoparticles based controlled release system for topical delivery of terbinafine hydrochloride. *Eur. J. Pharma. Sci.*, v.49, p.311-322, 3013.
- VERVARESOU, A.. Percutaneous absorption of organic sunscreens. *J. Cosm. Dermatol.*, v.5, p.53-57, 2006.
- ZAMARIOLI, C.M.; MARTINS, R.M.; CARVALHO, E.C.; FREITAS, L.A. Nanoparticles containing curcuminoids (*Curcuma longa*): development of topical delivery formulation. *Rev. Bras. Farmacog.*, v.25, p.53-60, 2015.
- ZHANG, J.; SMITH, E.. Percutaneous Permeation of Betamethasone 17-Valerate Incorporated in Lipid Nanoparticles. *J. Pharm. Sci.*, v.100, n.3, p.896-903, 2011.
- ZHU, Y.J.; CHOE, C.S.; AHLBERG, S. et al. Penetration of silver nanoparticles into porcine skin ex vivo using fluorescence lifetime imaging microscopy, Raman microscopy, and

surface-enhanced Raman scattering microscopy. *J. Biomed. Opt.*, v.20, n.5, p.051006, 2015.

ZASTROW, L.; GROTH, N.; KLEIN, F.; KOCKOTT, D.; LADEMANN, J.; FERRERO, L. UV, visible and infrared light: which wavelengths produce oxidative stress in human skin? *Hautarzt*, v.60, p.310–317, 2009.

ZITTERMANN, A.; GUMMERT, J.F.. Sun, vitamin D, and cardiovascular disease. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, v.101, p.124–129, 2010.

ZORODDU, M.A.; MEDICI, S.; LEDDA, A.; NURCHI, V.M.; LACHOWICZ, J.I.; PEANA, M. Toxicity of nanoparticles. *Curr. Med. Chem.*, v.21, n.33, p.3837-53, 2014.

WANG, S.Q.; BALAGULA, Y.; OSTERWALDER, U.. Photoprotection: a review of the current and future technologies. *Dermatol. Ther.*, v.23, n.1, p.31-47, 2010.

WIECHERS, J.W.; BARLOW, T.. Skin moisturization and elasticity originate from at least two different mechanisms. *Int. J. Cosm. Sci.*, v.21, p.425-435, 1999.

WISSING, S.A.; MÜLLER, R.H.. A novel sunscreen system based on tocopherol acetate incorporated into solid lipid nanoparticles. *Int. J. Cos. Sci.*, v.23, n.4, p.233-243, 2001.

WU, Y.; MATSUI, M.S.; CHEN, J.Z.; JIN, X.; SHU, C.M.; JIN, G.Y.; DONG, G.H.; WANG, Y.K.; GAO, X.H.; CHEN, H.D.; LI, Y.H. Antioxidants add protection to a broad-spectrum sunscreen. *Clin. Exp. Dermatol.*, v. 36, p.178-187, 2011.