



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Avaliação da segurança e eficácia de formulações fotoprotetoras associadas a carreadores lipídicos nanoestruturados contendo quercetina (CLN-QT)**

**Camila Martins Kawakami**

**Ribeirão Preto**

**2019**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO**

**Avaliação da segurança e eficácia de formulações fotoprotetoras associadas a carreadores lipídicos nanoestruturados contendo quercetina (CLN-QT)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP para obtenção do Título de Doutora em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

**Orientado(a):** Camila Martins Kawakami

**Orientador(a):** Profa. Dra. Lorena Rigo Gaspar Cordeiro

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas em 12/12/2019. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

**Ribeirão Preto**

**2020**

## RESUMO

KAWAKAMI, C. M. **Avaliação da segurança e eficácia de formulações fotoprotetoras associadas a carreadores lipídicos nanoestruturados contendo quercetina (CLN-QT)**. 2019. 100f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Atualmente, sabe-se que a aplicação regular de filtros solares constitui umas das principais medidas na prevenção dos danos induzidos pela radiação ultravioleta (UV). No entanto, o uso de associações fotoinstáveis pode reduzir a eficácia fotoprotetora e levar à formação de intermediários reativos, os quais podem apresentar potencial em causar fotoirritação, fotoalergia e fotogenotoxicidade na pele. Além disso, tem-se observado uma tendência na adição de substâncias antioxidantes aos filtros solares convencionais, a fim de prevenir os danos oxidativos mediados pelas espécies reativas do oxigênio (EROs), sendo que a quercetina (QT) é uma opção interessante. No entanto, sua limitada absorção cutânea pode levar à falta de eficácia como agente fotoprotetor, o que leva a necessidade da utilização de sistemas de liberação, a fim de melhorar sua penetração na pele. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a segurança e eficácia de formulações fotoprotetoras associadas a carreadores lipídicos nanoestruturados contendo quercetina (CLN-QT) em cultura celular, em modelo de pele humana reconstituída e em humanos. Primeiramente, quatro formulações fotoprotetoras (F1, F2, F3 e F4), contendo diferentes associações dos filtros solares dietilamino hidroxibenzoil hexil benzoato (DHHB), metoxicinamato de etilexila (MTX), avobenzona (AVO) e bemotrizinol (BMTZ), foram submetidas aos estudos de fotoestabilidade, fotorreatividade, geração de EROs (por meio da sonda DCFH<sub>2</sub>-DA), fototoxicidade em cultura de fibroblastos 3T3 e fotogenotoxicidade, por meio do ensaio do cometa. Uma vez que a associação A2 (contendo DHHB e MTX) apresentou melhores resultados quanto à fotoestabilidade e fotorreatividade em relação às associações A1 (contendo MTX, AVO) e A3 (contendo MTX, AVO e 3% BMTZ) ela foi associada aos CLN-QT e estudos posteriores foram realizados. Além disso, a associação A2 não aumentou os níveis de EROs intracelular após irradiação UVA e também não foi considerada fototóxica. No presente estudo foi observado que a inclusão de ensaios biológicos complementares ao estudo de fotoestabilidade forneceu informações mais relevantes e completas em relação ao ensaio de fotodegradação realizado de forma isolada para a seleção da associação mais adequada. Além disso, houve correlação entre a produção de EROs intracelular e fotorreatividade, portanto, sugerimos a inclusão desse ensaio na estratégia de avaliação da fotoestabilidade. Os resultados do estudo de avaliação da segurança e eficácia dos CLN-QT associados aos filtros solares demonstraram que os mesmos não apresentaram citotoxicidade em queratinócitos humanos primários e não foram considerados fototóxicos no modelo de pele humana reconstituída. Além disso, os CLN-QT associados aos filtros solares, apesar de não terem alterado o FPS (fator de proteção solar) em humanos (proteção contra eritema), reduziram significativamente a geração de EROs intracelular induzidos pela irradiação UVA (cerca de 30%) em relação aos filtros solares isolados e desta forma, complementaram a eficácia dos fotoprotetores

**Palavras-chave:** Fotoestabilidade, fototoxicidade, filtros solares, antioxidantes, quercetina, carreadores lipídicos nanoestruturados, pele humana reconstituída

## ABSTRACT

KAWAKAMI, C. M. **Safety and efficacy assessment of photoprotective formulations containing quercetin in nanostructured lipid carriers (CLN-QT)**. 2019. 100f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Nowadays it is well known that the regular application of UV filters is one of the main strategies in the prevention of damage induced by ultraviolet radiation (UV). However, the use of photounstable combinations can reduce photoprotective efficacy and lead to the formation of reactive intermediates, which may have potential to cause photoirritation, photoallergy and photogenotoxicity on the skin. In addition, there has been a tendency to combine antioxidants to conventional UV filters in order to prevent oxidative damage mediated by reactive oxygen species (ROS) and quercetin (QT) is an interesting option. However, its limited cutaneous absorption can lead to a lack of photoprotective efficacy, which leads to necessity of the use of delivery systems in order to improve its penetration into the skin. Therefore, this study aimed to evaluate safety and efficacy of photoprotective formulations containing quercetin in nanostructured lipid carriers (CLN-QT) in cell culture, reconstructed skin model and humans. Firstly, four photoprotective formulations (F1, F2, F3 and F4), containing different combinations of diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate (DHHB), ethylhexyl methoxycinnamate (MTX), avobenzone (AVO) and bemotrizinol (BMTZ) were submitted to the studies of photostability, photoreactivity, ROS generation (using DCFH<sub>2</sub>-DA probe), phototoxicity in 3T3 fibroblast culture and photogenotoxicity by comet assay. The combination C2 (containing DHHB and MTX) presented better results regarding photostability and photoreactivity when compared to combinations C1 (containing MTX and AVO) and C3 (containing MTX, AVO and 3% BMTZ), so it was combined to CLN-QT and subsequent studies were performed. Moreover, combination C2 did not increase intracellular ROS levels after UVA irradiation and it was not considered phototoxic. In the present study, it was observed that the inclusion of complementary biological assays to the photostability study provided more relevant results when compared to the photostability as a stand-alone assay for the selection of the best combination. In addition, it was demonstrated a good correlation between intracellular ROS production and photoreactivity, so we suggest the inclusion of intracellular ROS production in the photostability evaluation strategy. The safety and efficacy results demonstrated that UV filters + CLN-QT did not present cytotoxicity in primary human keratinocytes and were not considered phototoxic in reconstructed skin model. The CLN-QT + UV filters did not alter SPF (sun protection factor) in humans (protection against erythema), however they reduced intracellular ROS generation after UVA irradiation (about 30%), when compared to UV filters alone and thus complemented the efficacy of photoprotective formulations.

**Keywords:** Photostability, phototoxicity, UV filters, antioxidants, quercetin, nanostructured lipid carriers, reconstructed skin model

# 1. INTRODUÇÃO

Atualmente, sabe-se que a exposição à radiação ultravioleta (UV) é responsável por causar diversos danos à pele, tais como eritema, fotoenvelhecimento, imunossupressão e câncer (JANSEN et al., 2013; YOUNG et al., 2017). No Brasil, segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA) estimou-se para o ano de 2018, 6.260 novos casos de câncer de pele melanoma e 165.580 novos casos de não melanoma, o que corresponde cerca de 30% de todos os tumores malignos registrados no país (INCA, 2018).

As radiações responsáveis por causar tais danos à pele correspondem às radiações UVB e UVA. A radiação UVB devido ao seu menor comprimento de onda (290-320 nm) é altamente energética e capaz de penetrar nas camadas mais superficiais da pele. Por outro lado, a radiação UVA apresenta um maior comprimento de onda (320-400 nm) e é capaz de penetrar nas camadas mais profundas da pele (DUPONT et al., 2013; NARAYANAN et al., 2010). Dessa forma, enquanto a radiação UVB é responsável por causar danos mais superficiais, tais como eritema, queimaduras solares e danos diretos no DNA, a radiação UVA atinge a derme e pode causar imunossupressão, fotoenvelhecimento e danos indiretos no DNA por meio da formação de EROs (VIOUX-CHAGNOLEAU, et al, 2006).

Nesse sentido, os filtros solares desempenham um papel fundamental na proteção contra os danos causados pela radiação UV. Uma formulação fotoprotetora ideal deve proporcionar uma proteção uniforme frente às radiações UVB e UVA, propriedades sensoriais agradáveis, uma vez que irão influenciar a adesão do consumidor ao produto e fotoestabilidade (SOHN, 2016; JANSEN et al., 2013).

A fotodegradação dos filtros solares pode resultar na perda da eficácia fotoprotetora, por meio da diminuição da capacidade de absorver a radiação UV e também levar à formação fotoprodutos reativos e EROs, os quais podem resultar em fotoirritação, fotoalergia e fotogenotoxicidade na pele. Portanto, existe uma crescente preocupação acerca da fotoestabilidade dos filtros solares (NASH; TANNER, 2014; KOCKLER, 2012; CHATELAIN; GABARD, 2001; KARLSSON et al., 2009). Ensaios biológicos devem ser considerados testes complementares ao estudo de fotoestabilidade, uma vez que podem demonstrar a relevância da fotodegradação e se representam riscos à saúde do consumidor (NASH; TANNER, 2014; BENEVENUTO et al., 2015).

Dentre os filtros solares orgânicos mais utilizados mundialmente, pode-se citar o metoxicinamato de etilexila (MTX), que confere alta proteção UVB, no entanto, está sujeito a sofrer fotoisomerização *cis-trans*, que por sua vez pode resultar na redução da absorção UVB (SHAATH, 2010). Já a avobenzona (AVO) está entre as poucas moléculas disponíveis capazes de absorver a radiação UVA. No entanto, ela pode sofrer reações de tautomerização e

fragmentação quando exposta à radiação UV, o que pode resultar na perda de sua eficácia fotoprotetora e formação de fotoprodutos tóxicos, tais como arilglioxals e benzílicos (SHAATH, 2016; KARLSSON et al., 2009).

Nesse contexto, novas abordagens têm sido utilizadas a fim de melhorar a fotoestabilidade dos filtros solares e também desenvolver novos compostos considerados mais fotoestáveis e capazes de substituir a avobenzona (SHAATH, 2010). No caso dos fotoestabilizadores, eles podem agir por diversos mecanismos tais como, competição pela absorção de fótons, transferência de energia dos estados excitados e por meio da atividade antioxidante (SHAATH, 2016).

O bemotrizinol é um filtro solar que confere ampla proteção frente à radiação UV (entre 290 a 390 nm) e também ajuda a promover a fotoestabilização de alguns filtros solares, como a avobenzona (SHAATH, 2010; BENEVENUTO et al., 2015). Já o dietilamino hidroxibenzoil hexil benzoato (DHHB) é um filtro solar que foi introduzido no mercado com o propósito de se tornar o sucessor da avobenzona, uma vez que possui alto desempenho na região UVA, no entanto apresenta elevada fotoestabilidade (LHIAUBET-VALLET et al., 2010; KOCKLER et al., 2012; PUGLIA et al., 2014).

Considerando que os filtros solares convencionais não são completamente eficientes em proteger a pele contra os danos da radiação UV e que muitos deles podem levar a geração de EROs após reações de fotodegradação, a adição de ingredientes naturais com propriedades antioxidantes é uma tendência crescente. Formulações fotoprotetoras constituídas de filtros solares e antioxidantes podem apresentar efeitos sinérgicos quando comparados ao uso desses componentes de forma isolada e, portanto, promover um aumento da eficácia fotoprotetora (KAWAKAMI; GASPARI, 2015; MATSUI, 2016).

Nesse sentido, o flavonóide quercetina (QT) representa uma alternativa interessante, uma vez que apresenta elevada atividade antioxidante, principalmente por meio de sua capacidade de sequestrar EROs, inibir a peroxidação lipídica, promover a quelação de íons metálicos e a modulação de antioxidantes endógenos (WANG et al., 2016; HATAHET et al., 2016; LESJAK et al., 2018). Além disso, estudos mostraram que a aplicação tópica da quercetina levou a diminuição dos danos oxidativos causados pela radiação UVB e também à redução de citocinas inflamatórias, tais como IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$  (CASAGRANDE et al., 2006; VICENTINI et al., 2011).

No entanto, considerando sua limitada absorção cutânea, é importante que sejam utilizados sistemas de liberação a fim de aumentar sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, garantir sua eficácia fotoprotetora (VICENTINI et al., 2008; HATAHET et al., 2018; PIVETTA

et al., 2019). Vicentini et al. (2008) demonstraram que a quercetina incorporada em microemulsão aumentou a penetração cutânea *in vitro* em cerca de 20 vezes e inibiu a depleção do antioxidante endógeno glutathiona (GSH). Outro estudo mostrou que carreadores lipídicos nanoestruturados contendo quercetina (CLN-QT) promoveram um aumento da retenção da quercetina na derme e epiderme e melhoraram a atividade antioxidante e anti-inflamatória dessa substância (CHEN-YU et al., 2012).

Nosso grupo de pesquisa tem trazido contribuições na área de fotoproteção, uma vez que avaliamos a fotoestabilidade de filtros solares, bem como a influência da fotoestabilidade na eficácia de fotoprotetores e antioxidantes (KAWAKAMI; GASPAR, 2015; KAWAKAMI et al., 2017; FREITAS et al., 2015). No entanto, pela primeira vez, iremos demonstrar um estudo detalhado envolvendo o efeito da fotoestabilidade de filtros solares na fotorreatividade, produção de EROs intracelular e fotogenotoxicidade.

Os órgãos regulatórios preconizam a determinação do fator de proteção solar *in vivo* (FPS) e o fator de proteção UVA (FP-UVA) durante o processo de desenvolvimento de fotoprotetores (BRASIL, 2012a). No entanto, apesar de adequados, esses parâmetros são baseados na avaliação de sinais clínicos, tais como eritema e pigmentação cutânea. Desta forma, eles não levam em consideração as lesões causadas em níveis celulares por EROs e produtos de fotodegradação, os quais podem conduzir a sensibilização cutânea, dermatites de contato alérgica, fotoirritação e fotogenotoxicidade (SCHUCH et al., 2013; 2014; ONOUE et al., 2017).

No presente estudo, foram desenvolvidas formulações fotoprotetoras contendo diferentes associações de filtros solares e em seguida, as mesmas foram submetidas aos estudos de fotoestabilidade, fotorreatividade, fototoxicidade, avaliação de EROs intracelular e fotogenotoxicidade. Posteriormente, a formulação fotoprotetora considerada mais promissora foi adicionada de carreadores lipídicos nanoestruturados contendo quercetina (CLN-QT) e sua eficácia e segurança foi avaliada em cultura de células em monocamadas, pele humana reconstituída e em humanos.

Os resultados desse trabalho serão fonte de informação quanto à segurança e à eficácia das formulações fotoprotetoras e fornecerão, ainda, informações mais completas quando comparadas aos atuais estudos preconizados por agências regulatórias, os quais são apenas baseados na avaliação visual do eritema e da pigmentação cutânea.



## **7. CONCLUSÕES**

- A associação de filtros solares A2 apresentou melhores resultados quanto à fotoestabilidade e fotorreatividade em relação às associações A1 e A3. Além disso, não aumentou os níveis de EROs intracelular após irradiação UVA e também não foi considerada fototóxica. Portanto, foi associada aos CLN-QT e submetidos aos estudos posteriores.
- A inclusão de ensaios biológicos complementares ao estudo de fotoestabilidade forneceu informações mais relevantes quando comparado ao ensaio de fotodegradação realizado de forma isolada. Além disso, houve correlação entre a produção de EROs intracelular e a fotorreatividade, portanto, sugerimos a inclusão desse ensaio na estratégia de avaliação da fotoestabilidade/fototoxicidade.
- Os filtros solares, filtros solares + CLN-QT, CLN-QT, CLN-vazios e QT não foram considerados citotóxicos. Os filtros solares + CLN-QT e a QT proporcionaram redução na geração de EROs induzidos pela irradiação UVA em relação aos filtros solares isolados.
- A QT e CLN-QT apresentaram potencial fototóxico no ensaio 3T3 NRU PT, entretanto todas as substâncias em estudo foram consideradas não fototóxicas no modelo de pele reconstituída.
- Os resultados de liberação de IL-6 demonstraram que os tratamentos empregados não promoveram redução na produção de IL-6, em relação ao controle não tratado (+UV).
- O estudo de determinação do FPS *in vivo* demonstrou que as formulações (F1, F2, F3 e F4) não apresentaram diferenças em relação aos valores de FPS.
- Os CLN associados aos filtros solares, apesar de não alterarem o FPS em humanos, reduziram significativamente a geração de EROs intracelular induzidos pela irradiação UVA (cerca de 30%) em relação aos filtros solares isolados. Desta forma, a utilização dos filtros solares + CLN-QT é vantajosa, uma vez que podem proporcionar proteção contra os efeitos crônicos induzidos pela radiação UV.

## **8. REFERÊNCIAS**

AFAQ, F. Natural agents: cellular and molecular mechanisms of photoprotection. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 508, p.144-151, 2011.

ALVES, G.A.D.; SOUZA, R.O.; ROGEZ, H.; MASAKI, H.; FONSECA, M.J. Cecropia obtusa, an Amazonian ethanolic extract, exhibits photochemoprotective effect in vitro and balances the redox cellular state in response to UV radiation. **Industrial Crops and Products**, v. 94, p. 893-902, 2016.

AMAR, S. K.; GOYAL, S.; DUBEY, D.; SRIVASTAV, A. K.; CHOPRA, D.; SINGH, J.; SHANKAR, J.; CHATURVEDI, R. K.; RAY, R. S. Benzophenone 1 induced photogenotoxicity and apoptosis via release of cytochrome c and Smac/DIABLO at environmental UV radiation. **Toxicology Letters**, v. 239, p. 182-193, 2015.

ASAHINA, H.; HAN, Z.; KAWANISHI, M.; KATO, T.; AYAKI, H.; TODO, T.; YAGI, T.; TAKEBE, H.; IKENAGA, M.; KIMURA, S.H. Expression of a mammalian DNA photolyase confers light-dependent repair activity and reduces mutation of UV-irradiated shuttle vectors in xeroderma pigmentosum cells. **Mutation Research**, v. 435, p. 255-262, 1999.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.C.G.; DE PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, p. 113-123, 2006.

BENEVENUTO, C.G.; GUERRA, L.O.; GASPAR, L.R. Combination of retinyl palmitate and UV-filters: phototoxic risk assessment based on photostability and *in vitro* and *in vivo* phototoxicity assays. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 68, p. 127-136, 2015.

BESERT, G.; GOZENBACH, H.; CHRIST, R.; MARTIN, R.; DEFLANDRE, A.; MASCOTTO, R.E.; JOLLEY, J.D.R.; LOWELL, W.; PELZER, R.; STIEHM, T. Proposed protocol for determination of photostability. Part I: cosmetic UV filters. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 18, p. 167-177, 1996.

BONDA, C.; PAVLOVIC, A.; HANSON, K.; BARDEEN, C. Singlet Quenching Proves Faster is Better for Photostability. **Cosmetic and Toiletries**, v. 125, n. 2, p. 40-48, 2010.

BRASIL. Atos do Poder Legislativo. Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Estabelece procedimentos para o uso científico de animais. Diário Oficial da União, Brasília, 9 out. de 2008.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Resolução normativa nº 18, 24 de setembro de 2014. Reconhece métodos alternativos ao uso de animais em atividades de pesquisa no Brasil. Diário Oficial da União, Brasília, 25 set. de 2014.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Resolução normativa nº 31, 18 de agosto de 2016. Reconhece métodos alternativos ao uso de animais em atividades de pesquisa no Brasil. Diário Oficial da União, Brasília, 19 ago. de 2016b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 69, de 23 de março de 2016. Fica aprovado o Regulamento técnico Mercosul sobre lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. Diário Oficial da União, Brasília, 24 de março de 2016a.

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, 4 de jun. 2012a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia de estabilidade de produtos cosméticos. Brasília, DF: ANVISA, 2004 (Séries Qualidade em Cosméticos, v.1), 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos. Brasília, DF: ANVISA, 2012 (Séries Qualidade em Cosméticos, v.1), 2012b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do “Guia para validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos” anexo. Diário Oficial da União, Brasília, 2 jun. 2003.

BRENDLER-SCHWAAB, S.; CZICH, A.; EPE, B.; GOCKE, E; KAINA, B.; MULLER, L.; POLLET, D.; UTECH, D. Photochemical genotoxicity: principles and test methods Report of a GUM task force. **Mutation Research**, v. 566, p. 65-91, 2004.

CADDEO, C.; GABRIELE, M.; FERNÁNDEZ-BUSQUETS, X.; VALENTI, D.; FADDA, A.M; PUCCI, L.; MANCONI, M. Antioxidant activity of quercetin in Eudragit-coated liposomes for intestinal delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 565, p. 64-69, 2019.

CASAGRANDE, R.; GEORGETTI, S.R.; VERRI JR, W.A.; DORTA, D.J.; SANTOS, A.C.; FONSECA, M.J.F. Protective effect of topical formulations containing quercetin against UVB-induced oxidative stress in hairless mice. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 84, p. 21-27, 2006.

CERIDONO, M.; TELLNER, P.; BAUER, D.; BARROSO, J.; ALÉPÉE, N.; CORVI, R.; DE SMEDT, A.; FELLOWS, M.D.; GIBBS, N.K.; HEISLER, E.; JACOBS, A.; JIROVA, D.; JONES, D.; KANDÁROVÁ, H.; KASPER, P.; AKUNDA, J.K.; KRUL, C.; LEARN, D.; LIEBSCH, M.; LYNCH, A.M.; MUSTER, W.; NAKAMURA, K.; NASH, J.F.; PFANNENBECKER, U.; PHILLIPS, G.; ROBLES, C; ROGIERS, V.; VAN DE WATER, F.; LIMINGA, U.W.; VOHR, H.W.; WATTRELOS, O.; WOODS, J.; ZUANG, V.; KREYSA, J.; WILCOX, P. The 3T3 neutral red uptake phototoxicity test: practical experience and implications for phototoxicity testing- the report of an ECVAM-EFPIA workshop. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 63, n. 3, p. 480-488, 2012.

CHATELAIN, E.; GABARD, B. Photostabilization of butyl methoxydibenzoylmethane (Avobenzone) and ethylhexyl methoxycinnamate by bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine (Tinosorb S), a new UV broadband filter. **Photochemistry and Photobiology**, v. 74, n. 3, p. 401-406, 2001.

CHAUDHURI, R.K.; OLLENGO, M.A.; SINGH, P.; MARTINCIGH. 3-(3,4,5-Trimethoxybenzylidene)-2,4-pentanedione: Design of a novel photostabilizer with in vivo SPF boosting properties and its use in developing broad-spectrum sunscreen formulations. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 39, p. 25-35, 2017

CHEN, L.B.A.; HU, J.Y.; WANG, S.T. The role of antioxidant in photoprotection: a critical review. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 67, p. 1013-1024, 2012.

CHEN-YU, G.; CHUN-FE, Y.; QI-LU, LI.; QI, T.; YAN-WEI, X.; WEI-NA, L.; GUANG-XI, Z. Development of a Quercetin-loaded nanostructured lipid carrier formulation for topical delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 430, p. 292-298, 2012.

CHÉTELAT et al. Photomutagenesis test development: I. 8-Methoxypsoralen, chlorpromazine and sunscreen compounds in bacterial and yeast assays. **Mutation Research**, v. 292, p. 241-250, 1993.

CHOI, E.J.; CHEE, K.M.; LEE, B.H. Anti- and prooxidant effects of chronic quercetin administration in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 482, p. 281-285, 2003.

CORVI, R.; MADIA, F. In vitro genotoxicity testing- Can the performance be enhanced? **Food and Chemical Toxicology**, v. 106, p. 600-608, 2017.

DAMIANI, E.; BASCHONG, W.; GRECI, L. UV-filter combination under UV-A exposure: Concomitant quantification of over-all spectral stability and molecular integrity. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 87, p. 95-104, 2007.

DUPONT, E.; GOMEZ, J.; BILODEAU, D. Beyond UV radiation: a skin under challenge. **International Journal of Cosmetic Science**, v. 35, p. 224-232, 2013.

European Commission. Scientific Committee on Consumer Products. Opinion on Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate, 2018.

European Commission. Scientific Committee on Consumer Products. Opinion on the Evaluation of Potentially Estrogenic Effects of UV-filters adopted by the SCCNFP during the 17th Plenary meeting of 12 June 2001, 2001.

FAHLMAN, B.M.; KROL, E.S. UVA and UVB radiation-induced oxidation products of quercetin. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 97, p. 123-131, 2009. Federal Register. Sunscreen Drug Products for Over-the-Counter Human Use, v.84, n.38/ February 26, 2019.

FOURTANIER, A.; BERNERD, F.; BOUILLON, C.; MARROT, L.; MOYAL, D.; SEITÉ, S. Protection of skin biological targets by different types of sunscreens. **Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine**, v. 22, n. 1, p. 22-32, 2006.

FREITAS, J.V.; JUNQUEIRA, H.C.; MARTINS, W.K.; BAPTISTA, M.S.; GASPAR, L.R. Antioxidant role on the protection of melanocytes against visible light-induced photodamage. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 131, p. 399-407, 2019.

FREITAS, J.V.; LOPES, N.P.; GASPAR, L.R. Photostability evaluation of five UV-filters, trans-resveratrol and beta-carotene in sunscreens. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 78, p. 79-89, 2015.

GALBIATI, V.; MATÍNEZ, V.; BIANCHI, S.; MITJANS, M.; CORSINI, E. Establishment of an in vitro photoallergy test using NCTC2544 cells and IL-18 production. **Toxicology in Vitro**, v. 27, p. 103-110, 2013.

GARCÊS, A.; AMARAL, M.H.; SOUSA LOBO, J.M.; SILVA, A.C. Formulations based on solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) for cutaneous use: A review. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 112, p. 159-167, 2018.

GARINIS, G.A.; JANS, J.; VAN DER HORST, G.T. Photolyasis: capturing the light to battle skin cancer. **Future Oncology**, v. 2, p. 191-199, 2006.

GASPAR, L. R.; THARMANN, J.; MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; LISBSCH, M. Skin phototoxicity os cosmetic formulations containing photounstable and photostable UV-filters and vitamin A palmitate. **Toxicology in Vitro**, v. 27, p. 418-425, 2013.

GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Evaluation of the photostability of different UV filters associations in a sunscreen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 307, n. 2, p. 123-128, 2006.

GASPAR, L.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Photostability and efficacy studies of topical formulations containing UV-filters combination and vitamins A, C and E. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 343, n. 1-2, p. 181-189, 2007.

GASPAR, Lorena Rigo; KAWAKAMI, Camila Martins; BENEVENUTO, Carolina Gomes. In: Overview on the current status of available test methods and additional promising methods for assessing UV-induced effect, Alternatives for dermal toxicity testing, Switzerland, Springer, 2018, 463-476.

GILABERTE, Y.; GONZÁLEZ, S. Update on Photoprotection. **Actas Dermosifiliográficas**, v. 101, p. 659–672, 2010.

GOCKE, E.; MULLER, L.; GUZZIE, P.J; BRENDLER-SCHAAB, S.; BULERA, S.; CHIGNEL, C.F.; HENDERSON, L.M.; JACOBS, A.; MURLI, H.; SNYDER, R.D.; TANAKA, N. Considerations on Photochemical Genotoxicity: Report of the International Workshop on Genotoxicity Test Procedures Working Group. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 35, p. 173-184, 2000.

GRUBER, F.P.; HARTUNG, T. Alternatives to Animal Experimentation in Basic Research. **ALTEX**, v. 1-31, 2004.

HATAHET, T.; MORILLE, M.; HOMMOSS, A.; DEVOISSELE, J.M.; MULLER, R.H.; BÉGU, S. Quercetin topical application, from conventional dosage forms to nanodosage forms. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 108, p. 41-53, 2016.

HATAHET, T.; MORILLE, M.; HOMMOSS, A.; DEVOISSELE, J.M.; MULLER, R.H.; BÉGU, S. Liposomes, lipid nanocapsules and smart Crystals®: A comparative study for an

effective quercetin delivery to the skin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 542, p. 176-185, 2018.

HATAHET, T.; MORILLE, M.; SHAMSEDDIN, A.; AUBERT-POUESSEL, A.; DEVOISSELLE, J.M.; BÉGU, S. Dermal quercetin lipid nanocapsules: Influence of the formulation on antioxidant activity and cellular protection against hydrogen peroxide. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 518, p. 167-176, 2017.

HERZOG, B.; WEHRLE, M.; QUASS, K. Photostability of UV Absorber Systems in Sunscreens. **Photochemistry and Photobiology**, v. 85, p. 869-878, 2009.

HIBLER, Brian; DUSZA, Stephen; WANG, Steven. In: Photoprotection and Skin Cancer Prevention, Principles and Practice of Photoprotection, Switzerland, Springer, 2016, p. 23-38.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). Estimativa 2018. Incidência de Câncer no Brasil, Rio de Janeiro, 2018.

ISO 24444 *Sun Protection Test Methods – in vivo Determination of Sun Protection Factor (SPF)*, 2010.

JACVAM. Reactive oxygen species (ROS) assay to examine photoreactivity of chemicals. ROS Assay Protocol, ROS assay Validation Management Team, Japanese Center for the Validation of Alternative Methods, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan, 2013. [http://www.jacvam.jp/files/news/ROS\\_protocol\\_v3.1\\_130920\\_clean.pdf](http://www.jacvam.jp/files/news/ROS_protocol_v3.1_130920_clean.pdf) (acessado em 20.01.2015).

JANSEN, R.; OSTERWALDER, U.; WANG, S.Q.; BURNETT, M.; LIM, H.W. Photoprotection. Part II. Sunscreen: Development, efficacy, and controversies. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 69, p. 1-14, 2013.

JEAN, C.; BOGDANOWICZ, P.; HAURE, M.J.; CASTEX-RIZZI, FOURNIE, J.J. UVA activated synthesis of metalloproteinases 1, 3 and 9 is prevented by a broad spectrum sunscreen. **Photodermatology Photoimmunology Photomedicine**, v. 27, p. 318-324, 2011.

JONES, P.A.; KING, A.V.; EARL, L.K.; LAWRENCE, R.S. An assessment of the phototoxic hazard of a personal product ingredient using in vitro assays. **Toxicology in Vitro**, v. 17, p. 471-480, 2003.

KALYANARAMAN, B.; DARLEY-USMAR, V.; DAVIES, K.J.A.; DENNERY, P.A.; FORMAN H.J.; GRISHAM, M.B.; MANN, G.E.; MOORE, K.; ROBERTS, J.; ISCHIROPOULOS, H. Measuring reactive oxygen and nitrogen species with fluorescent probes: challenges and limitations. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, 2012.

KANDAROVÁ, Helena; LIEBSCH, Manfred, 2018. The EpiDerm™ Phototoxicity Test (EpiDerm™ H3D-PT), Alternatives for dermal toxicity testing, Switzerland, Springer, 2018, 483-506.

KARLSSON, I.; HILLERSTROM, L.; STENFELDT, A.L.; MARTENSSON, J.; BORJE, A. Photodegradation of dibenzoylmethanes: potential cause of photocontact allergy to sunscreens. **Chemical Research in Toxicology**, v. 22, n. 11, p. 1881-1892, 2009.



KARUPPAGOUNDER, V.; ARUMUGAM, S.; THANDAVARAYAN, R.A.; SREEDHAR, R.; GIRIDHARAN, V.V.; WATANABE, K. Molecular targets of quercetin with anti-inflammatory properties in atopic dermatitis. **Drug Discovery Today**, v. 21, p. 631-639, 2016.

KAWAKAMI, C.M.; GASPAR, L.R. Mangiferin and naringenin affect the photostability and phototoxicity of sunscreens containing avobenzone. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 151, p. 239-247, 2015.

KAWAKAMI, C.M.; MÁXIMO, L.N.C.; FONTANEZI, B.B.; SILVA, R.S.; GASPAR, L.R. Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate (DHHB) as additive to the UV filter avobenzone in cosmetic sunscreen formulations - Evaluation of the photochemical behavior and photostabilizing effect. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, p. 299-309, 2017.

KEJLOVÁ, K.; JÍROVÁ, D.; BENDO VÁ, H.; KANDÁROVÁ, H.; WEIDENHOFFER, Z.; KOLÁROVÁ, H.; LIEBSCH, M. Phototoxicity of bergamot oil assessed by *in vitro* techniques in combination with human patch tests. **Toxicology in Vitro**, v. 21, n. 7, p. 1298-1303, 2007.

KIKUCHI, A.; HATA, Y.; KUMASAKA, R.; NANBU, Y.; YAGI, M. Photoexcited Singlet and Triplet States of a UV Absorber Ethylhexyl Methoxycrylene. **Photochemistry and Photobiology**, v. 89, p. 523-528, 2013.

KIRKLAND, D.; PFUHLER, S.; TWEATS, D.; AARDERMA, M.; CORVI, R.; DARROUDI, F.; ELHAJOUJI, A.; GLATT, H.; HASTWELL, P.; HAYASHI, M.; KASPER, P.; KIRCHNER, S.; LYNCH, A.; MARZIN, D.; MAURICI, D.; MEUNIER, J.R.; MULLER, L.; NOHYNEK, G.; PARRY, J.; PARRY, E.; THYBAUD, V.; TICE, R.; BENTHEM, J.V.; VANPARYS, P.; WHITE, P. How to reduce false positive results when undertaking *in vitro* genotoxicity testing and thus avoid animal tests: Report of an ECVAM Workshop. **Mutation Research**, v. 628, p. 31-55, 2007.

KIRKLAND, D.J., HENDERSON, L., MARZIN, D., MULLER, L., PARRY, J.M., SPEIT, G., TWEATS, D.J., WILLIAMS, G.M., 2005b. Testing strategies in mutagenicity and genetic toxicology: an appraisal of the guidelines of the European Scientific Committee for Cosmetics and Non-Food Products for the evaluation of hair dyes. **Mutation Research**, v. 588, p. 88-105, 2005.

KIRSCH-VOLDERS, M.; DECORDER, I.; ELHAJOUJI, A.; PLAS, G.; AARDERMA, M.; FENECH, M. *In vitro* genotoxicity testing using the micronucleus assay in cell lines, human lymphocytes and 3D human skin models. **Mutagenesis**, v. 26, p. 177-184, 2011.

KOCKLER, J.; OELGEMOLLER, M.; ROBERTSON, S.; GLASS, B.D. Photostability of sunscreens. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 13, p. 91-110, 2012.

KOJIMA, Hajime; HOSOI, Kazuhiro; ONOUE, Satomi. Reactive Oxygen Species Assay for Evaluating Phototoxicity Potential, Alternatives for dermal toxicity testing, Switzerland, Springer, 2018, 477-482.

LAVKER, R.M.; VERES, D.; IRWIN, C.J.; KAIDBEY, K.H. Quantitative assessment of cumulative damage from repetitive exposure to suberythemogenic doses of UVA in human skin. **Photochemistry and Photobiology**, v. 62, p. 348-352, 1995.

LEE, C.G. The animal welfare act as a fifty problems and possibilities in animal testing regulation. *Nebraska law review*, Forthcoming, 2016.

LEE, K.S.; PARK, S.N. Cytoprotective effects and mechanisms of quercetin, quercitrin and avicularin isolated from *Lespedeza cuneata* G. Don against ROS-induced cellular damage. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 71, p. 160-166, 2019.

LESJAK, M.; BEARA, I.; SIMIN, N.; PINTAC, D.; MAJKIC, T.; BEKVALAC, K.; ORCIC, D.; MIMICA-DUKIC, N. Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives. **Journal of Functional Foods**, v. 40, p. 68-75, 2018.

LHIAUBET-VALLET, V.; MARIN, M.; JIMENEZ, O.; GORCHS, O.; TRULLAS, C.; MIRANDA, M.A. Filter-filter interactions. Photostabilization, triplet quenching and reactivity with singlet oxygen. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 9, p. 552-558, 2010.

LIEBSCH, M.; SPIELMANN, H. INVITTOX Protocol No. 78: 3T3 NRU Phototoxicity Assay. European Commission DG-JRC, ECVAM, SIS Database, 1998. Last update October 2002. <<http://ecvamsis.jrc.it/invittox/static/index.html>>.

LIEBSCH, M.; SPIELMANN, H.; PAPE, W.; KRUL, C.; DEGUERCY, A.; ESKES, C. UV-induced effects. **Alternative to Laboratory Animals**, v. 33, p. 131-146, 2005.

LIU, D.; HU, H.; LIN, Z.; CHEN, D.; ZHU, Y.; HOU, S.; SHI. Quercetin deformable liposome: Preparation and efficacy against ultraviolet B induced skin damages in vitro and in vivo. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 127, p. 8-17, 2013.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact in human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, n. 8, p. 118-126, 2010.

LUSHCHAK, V.I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions**, v. 224, p. 164-175, 2014.

LYNCH, A.M; GUZZIE, P.J.; BAUER, D.; GOCKE, E.; ITOH, S.; JABOBS, A.; KRUL, C.A.M; SCHEPKY, A.; TANAKA, N.; KASPER, P. Considerations on photochemical genotoxicity. II: Report of the 2009 International Workshop on Genotoxicity Testing Working Group. **Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 723, p. 91-100, 2011.

MARCATO, P.D. Preparação, caracterização e aplicações em fármacos e cosméticos de nanopartículas lipídicas sólidas. **Revista eletrônica de farmácia**, v. 6, p. 1-7, 2009.

MARROT, L.; BELAÏDI, J.P.; LEJEUNE, F.; MEUNIER, J.R.; ASSELINEAU, D.; BERNERD, F. Photostability of sunscreen products influences the efficiency of protection with regard to UV-induced genotoxic or photoageing-related endpoints. **British Journal of Dermatology**, v. 151, n. 6, p. 1234-1244, 2004.

MARROT, L.; MEUNIER, J.R. Skin DNA photodamage and its biological consequences. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 58, p. 139-148, 2008.

MATSUI, Mary. The Role of Topical Antioxidants in Photoprotection, Principles and Practice of Photoprotection, Switzerland, Springer, 2016, p. 361-375.

MITCHELL, J.R.; HOEIJMAKERS, J.H.; NIEDERNHOFER, L.J. Divide and conquer: nucleotide excision repair battles cancer and ageing. **Current Opinion Cell Biology**, v. 15, p. 232-240, 2003.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 16, p. 55-63, 1983.

MTURI, G.J.; MARTINCIGH, B.S. Photostability of the sunscreens agent 4-tert-butyl-4-methoxydibenzoylmethane (avobenzone) in solvents of different polarity and proticity. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 200, p. 410-420, 2008.

NAGULA, R.L.; WAIRKAR, S. Recent advances in topical delivery of flavonoids: A review. **Journal of Controlled Release**, v. 296, p. 190-201, 2019.

NARAYANAN, D.L.; SALADI, R.N.; JOSHUA, L.; FOX, J.L. Ultraviolet radiation and skin cancer. **International Journal of Dermatology**, v. 49, p. 978-986, 2010.

NASERI, N.; VALIZADEH, H.; ZAKERI-MILANI, P. Solid Lipid Nanoparticles and Nanostructured Lipid Carriers: Structure, Preparation and Application. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 5, p. 305-313, 2015.

NASH, J.F.; TANNER, P.R. Relevance of UV filter/sunscreen product photostability to human safety. **Photodermatology Photoimmunology Photomedicine**, v. 30, p. 88-95, 2014.

NICHOLS, J.A.; KATIYAR, S.K. Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, anti-oxidant and DNA repair mechanisms. **Archives of Dermatological Research**, v. 302, n. 2, p. 1-19, 2010.

OECD, 2004. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Test n° 432: In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test (Original Guideline, adopted 13th April 2004) <<http://www.oecd.org/>>.

OECD, 2019. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Test n° 495: Reactive Oxygen Species (ROS) Assay for Photoreactivity <<http://www.oecd.org/>>.

ONOUÉ, S.; HOSOI, K.; WAKURI, S.; IWASE, Y.; YAMAMOTO, T.; MATSUOKA, N.; NAKAMURA, K.; TODA, T.; TAKAGI, H.; OSAKI, N.; MATSUMOTO, Y.; KAWAKAMI, S.; SETO, Y.; KATO, M.; YAMADA, S.; OHNO, Y.; KOJIMA, H. Establishment and intra-/inter-laboratory validation of a standard protocol of reactive oxygen species assay for chemical photosafety evaluation. **Journal of Applied Toxicology**, v. 33, p. 1241-1250, 2013.

ONOUÉ, S.; SETO, Y.; SATO, H.; NISHIDA, H.; HIROTA, M.; ASHIKAGA, T.; API, A.M.; BASKETTER, D.; TOKURA, Y. Chemical photoallergy: photobiochemical mechanisms, classification, and risk assessments. **Journal of Dermatological Science**, v. 85, p. 4-11, 2017.

OSTERWALDER, U.; SOHN, M.; HERZOG, B. Global state of sunscreens. **Photodermatology Photoimmunology Photomedicine**, v. 30, p. 62-80, 2014.

PALUMBO, F.; GARCIA-LAINEZ, G.; LIMONES-HERRERO, D.; COLOMA, M.D.; ESCOBAR, J.; JIMÉNEZ, M.C.; MIRANDA, M.; ANDREU, I. Enhanced photo(geno)toxicity of demethylated chlorpromazine metabolites. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 313, p. 131-137, 2016.

PENNACCHI, P.C., ALMEIDA, M.E.S., GOMES, A.L.A., FAIÃO-FLORES, F., CREPALDI, M.C.A., SANTOS, M.F., BARROS, S.B.M., MARIA-ENGLER, S.S. Glycated reconstructed human skin as a platform to study the pathogenesis of skin aging. **Tissue Engineering: Part A**, v. 21, p. 2417-2425, 2015.

PFUHLER, S.; KIRST, A.; AARDERMA, M.; BANDUHN, N.; GOEBEL, C.; ARAKI, D.; COSTABEL-FARKAS, M.; DUFOUR, E.; HARVEY, J.; HEWITT, N.; HIBATALLAH, J.; CARMICHAEL, P.; MACFARLANE, M.; REISINGER, K.; ROWLAND, J.; SCHELLAUF, F.; SCHEPKY, A.; SCHEEL, J. A tiered approach to the use of alternatives to animal testing for the safety assessment of cosmetics: Genotoxicity. A COLIPA analysis. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 57, p. 315-324, 2010.

PINNELL, S.R.; DURHAM, M.D. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 48, p. 1-19, 2003.

PIVETTA, T.P.; SILVA, L.B.; KAWAKAMI, C.M.; ARAÚJO, M.M.; DEL LAMA, M.P.F.M.; NAAL, R.M.Z.G.; MARIA-ENGLER, S.S.; GASPAR, L.R.; MARCATO, P.D. Topical formulation of quercetin encapsulated in natural lipid nanocarriers: Evaluation of biological properties and phototoxic effect. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 53, 101148, 2019.

PLAUTZ, J.R.; SALMINEM, W.F. Safety of Tinosorb S, a new organic sunscreen for broad spectrum UV protection. **Toxicologist**, v. 78 (1-S):159, 2004.

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

REISINGER, K.; BLATS, V.; BRINKMANN, J.; DOWNS, T.R.; FISCHER, A.; HENKLER, F.; HOFFMANN, S.; KRUL, C.; LIEBSCH, M.; LUCH, A.; PIROW, R.; REUS, A.A.; SCHULZ, M.; PFUHLER, S. Validation of the 3D Skin Comet assay using full thickness skin models: Transferability and reproducibility. **Mutation Research Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 827, p. 27-41, 2018.

ROGERIO, A.P.; DORA, C.L.; ANDRADE, E.L.; CHAVES, J.S.; SILVA, L.F.C.; LEMOS-SENNA, E.; CALIXTO, J.B. Anti-inflammatory effect of quercetin-loaded microemulsion in the airways allergic inflammatory model in mice. **Pharmacological Research**, v. 61, p. 288-297, 2010.

ROMANHOLE, R.C.; ATAIDE, J.A.; CEFALI, L.C.; MORIEL, P.; MAZZOLA, P.G. Photostability study of commercial sunscreens submitted to artificial UV irradiation and/or fluorescent radiation. **Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology**, v. 162, p. 45-49, 2016.

SAMBANDAN, D.R.; RATNER, D. Sunscreens: An overview and update. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 64, n. 4, p. 748-758, 2011.

SARGENT, E.V.; TRAVERS, J.B. Examining the differences in current regulatory processes for sunscreens and proposed safety assessment paradigm. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 79, p. 125-141, 2016.

SAW, C.L.L.; GUO, Y.; YANG, A.Y.; PAREDES-GONZALEZ, X.; RAMIREZ, C.; PUNG, D.; KONG, A.N.T. The berry constituents quercetin, kaempferol, and pterostilbene synergistically attenuate reactive oxygen species: Involvement of the Nrf2-ARE signaling pathway. **Food and Chemical Toxicology**, v. 72, p. 303-311, 2014.

SCHUCH, A.P.; GARCIA, C.C.M.; MAKITA, K.; MENCK, C.F.M. DNA damage as a biological sensor for environmental sunlight. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 12, p. 1259-1272, 2013.

SCHUCH, A.P.; MORAES, M.C.S.; YAGURA, T.; MENCK, C.F.M. Highly sensitive biological assay for determining the photoprotective efficacy of sunscreen. **Environmental Science and Technology**, v. 48, p. 11584-11590, 2014.

SCHUCH, A.P.; MORENO, N.C.; SCHUCH, N.J.; MENCK, C.F.M.; GARCIA, C.C.M. Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 107, p. 110-124, 2017.

SHAATH, N.A. Ultraviolet filters. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 9, p. 464-469, 2010

SHAATH, Nadim. In: *The Chemistry of Ultraviolet Filters, Principles and Practice of Photoprotection*, Switzerland, Springer, 2016, p. 143-157.

SINGH, N.P.; MCCOY, M.Y.; TICE, R.R.; SCHENEIDER, E.L. A Simple Technique for Quantitation of Low Levels of DNA Damage in Individual Cells. **Experimental Cell Research**, v. 175, p. 184-191, 1988.

SKLAR, L.R.; ALMUTAWA, F.; LIM, H.W.; HAMZAVI, I. Effects of ultraviolet radiation, visible light, and infrared radiation on erythema and pigmentation: a review. **Photochemical and Photobiological Sciences**, v. 12, p. 54-64, 2013.

SOBANSKA, A.N.; BRZEZINSKA, E. Simultaneous NP TLC analysis of the sunscreens diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate and octyl methoxycinnamate. **Journal of Planar Chromatography**, v. 24, n. 3, p. 227-231, 2011.

SOHN, Myriam. In: *UV Booster and Photoprotection, Principles and Practice of Photoprotection*, Switzerland, Springer, 2016, p. 227-245.

SPIELMANN H.; MULLER, L.; AVERBECH, D.; BALLS, M.; BRENDLER-SCHWAAB, S.; CASTELL, J. V.; CURREN, R.; DE SILVA, O.; GIBBS, N. K.; LIEBSCH, M.; LOVELL, W. W.; MERCK, H. F.; NASH, J. F.; NEUMANN, N. J.; PAPE, W. J. W.; ULRICH, P.; VOHR, H. W. The Second ECVAM Workshop on Phototoxicity Testing. **Alternative to Laboratorial Animals**, v. 28, p. 777-814, 2000.

STRUWE, M.; CSATO, M.; SINGER, T.; GOCKE, E. Comprehensive assessment of the photomutagenicity, photogenotoxicity and photo(cyto)toxicity of azulene. **Mutation Research**, v. 723, p. 129-133, 2011.

STRUWE, M.; GREULICH, K.O.; STER, W.; PLAPPERT-HELBIG, U. The photo comet assay—A fast screening assay for the determination of photogenotoxicity *in vitro*. **Mutation Research**, v.632, p.44-57, 2007.

SVOBODOVÁ, A.R.; RYSAVA, A.; PSOTOVÁ, M.; KOSINA, P.; ZALESK, B.; ULRICHOVÁ, J.; VOSTALOVÁ, J. The Phototoxic Potential of the Flavonoids, Taxifolin and Quercetin. **Photochemistry and Photobiology**, v. 93, p. 1240–1247, 2017.

TEDESCO A.C.; MARTÍNEZ, L.; GONZÁLEZ, S. Photochemistry and photobiology of actinic erythema: defensive and reparative cutaneous. **Brazilian Journal of Biomedical Research**, v. 30, p. 561-575, 1997.

TICE, R.R.; AGURELL, E.; ANDERSON, D.; BURLINSON, B.; HARTMANN, A.; KOBAYASHI, H.; MIYAMAE, Y.; ROJAS, E.; RYU, J.C.; SASAKI, Y.F. Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 35, p. 206-221, 2000.

VICENTINI, F.T.M.C.; HE, T.; SHAO, Y.; FONSECA, M.J.; VERRY JR, W.A.; FISHER, G.J.; XU, Y. Quercetin inhibits UV irradiation-induced inflammatory cytokine production in primary human keratinocytes by suppressing NF-kB pathway. **Journal of Dermatological Sciences**, v. 61, p. 162-168, 2011.

VICENTINI, F.T.M.C.; SIMI, T.R.M.; DEL CIAMPO, J.O.; WOLGA, N.O.; PITOL, D.L.; IYOMASA, M.M.; BENTLEY, M.V.L.B.; FONSECA, M.J.V. Quercetin in w/o microemulsion: In vitro and in vivo skin penetration and efficacy against UVB-induced skin damages evaluated in vivo. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 948–957, 2008.

VINARDELL, M.P. The use of non-animal alternatives in the safety evaluations of cosmetics ingredients by the Scientific Committee on consumer safety (SCCS). **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 71, p. 198-204, 2015.

VIOUX-CHAGNOLEAU, C.; LEJEUNE, F.; SOK, J. Reconstructed human skin: from photodamage to sunscreen photoprotection and anti-aging molecules. **Journal of Dermatological Sciences**, v. 2, S1-S12, 2006.

WANG, W.; SUN, C.; MAO, L.; MA, P.; LIU, F.; YANG, J.; GAO, Y. The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 56, p. 21-38, 2016.

WEBER, S. Light-driven enzymatic catalysis of DNA repair: a review of a recent biophysical studies on photolyase. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1707, p. 1-23, 2005.

YEAGER, D.G.; LIM, H.W. What's New in Photoprotection. **Dermatologic Clinics**, v. 37, p. 149-157, 2019.

YOUNG, A.R.; CLAVEAU, J.; ROSSE, A.B. Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 76, n.3, p. 100-109, 2016.

