

---

---

## AVALIAÇÃO FOTOBIOLOGICA DE UMA MISTURA DE FILTROS SOLARES

### PHOTOBIOLOGIC VALUATION OF SUNSCREENS MIXTURE

Elisabete Pereira dos Santos<sup>1</sup>; Sheila Garcia<sup>2</sup>;  
Zaida Maria Faria de Freitas<sup>3</sup>; Anneliese Lopes Barth<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Profª. Adjunto - Departamento de Medicamentos da Faculdade de Farmácia da UFRJ.

<sup>2</sup> Profª. Adjunto - Departamento de Medicamentos da Faculdade de Farmácia da UFRJ.

<sup>3</sup> Farmacêutica - Departamento de Medicamentos da Faculdade de Farmácia da UFRJ.

<sup>4</sup> Mestranda em Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Farmácia da UFRJ.

#### RESUMO

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de uma emulsão anti-solar contendo uma mistura de três filtros solares orgânicos: *p*-metoxicinamato de octila a 7,0% + metil benzilideno cânfora a 3,0% + *p*-metoxicinamato de isoamila a 3,0%. O Fator de Proteção Solar (FPS) foi calculado *in vitro* por método espectrofotométrico. Foi feita a análise da fotoestabilidade da mistura por espectrometria e por cromatografia líquida de alta eficiência para determinar se os filtros sofrem fotodecomposição após serem irradiados com doses 10, 50 e 100 vezes superiores à dose normal para formação de eritema (DME). Foram realizados também testes de fototoxicidade e fotomutagenicidade para determinar se a interação química ocorrida entre os filtros após as irradiações não conferiu nenhuma propriedade tóxica ou mutagênica à mistura.

Palavras-chave: Filtros solares, fotoestabilidade, fototoxicidade, fotomutagenicidade, eficácia.

#### ABSTRACT

The objective of this work to evaluate the efficiency of the sunscreen lotion containing the three chemical sunscreens: octyl *p*-methoxycinnamate 7%, methylbenzylidene camphor 3% and isoamyl *p*-methoxycinnamate 3%. The Sun Protective Factor (SPF) was calculated using the *in vitro* spectrophotometric methods. The photostability of this combination was accessed using spectrophotometry in the UV region and high performance liquid chromatography. The combination of sunscreens was irradiated with doses 10, 50 and 100 higher than the minimal erythemogenic dose (MED). Phototoxicity and photomutagenicity tests were also performed to evaluate if interactions that occurred among the sunscreens after the irradiation gave any toxic or mutagenic character to the combination of sunscreens.

Key words: Sunscreens, efficiency, photostability, Phototoxicity and photomutagenicity

## 1 INTRODUÇÃO

A redução da camada de ozônio aumentou em mais de 2% a incidência do câncer de pele, responsável por aproximadamente 8500 mortes/ano, só nos Estados Unidos.<sup>1,2</sup> De acordo com ERDMAN & BERGOIL,<sup>3</sup> existem duas maneiras primárias de se reduzir o risco de câncer de pele: evitar a exposição ao sol entre 10:30 h e 15:00 h, horário em que a radiação é mais intensa, ou proteger a pele quando a exposição é inevitável, usando filtros solares. Os filtros solares se tornaram uma arma essencial no combate aos efeitos agudos e crônicos provocados pela radiação solar. A crescente exposição à luz solar tornou o uso de filtros solares obrigatório. A diminuição da camada de ozônio juntamente com o aumento de atividades ao ar livre reforçam a necessidade do uso de filtros solares com fator de proteção solar (FPS) cada vez mais altos. Entretanto, o aumento da concentração de filtros numa formulação pode acarretar problemas como irritação cutânea e/ou instabilidade da preparação.

---

---

## 2 OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi avaliar uma mistura de filtros solares, buscando verificar a segurança de uso e eficácia, através de avaliações de Fator de Proteção Solar (FPS) *in vitro*<sup>4,5</sup>, fotoestabilidade, fototoxicidade e fotomutagênicidade. A mistura avaliada, foi p-metoxicinamato de octila a 7% + Metilbenzilideno cânfora a 3% + p-metoxicinamato de isoamila a 3%, apresentando em emulsão FPS *in vitro* = 22.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 TESTE DE FOTOESTABILIDADE

Como já é descrito na literatura, o p-metoxicinamato de octila sofre fotodecomposição quando exposto a luz UV<sup>6</sup>. Neste trabalho buscamos avaliar os efeitos da associação de filtros solares sobre esta fotodecomposição. O teste de fotoestabilidade foi realizado, submetendo a mistura de filtros a dose de energia de: 2 KJ/m<sup>2</sup>, 10 KJ/m<sup>2</sup> e 20 KJ m<sup>2</sup>, ou seja doses 10, 50 e 100 vezes superior àquelas que uma pessoa poderia estar exposta num dia de verão ao meio dia. Os filtros foram analisados por espectrometria de UV para determinação dos FPS<sup>4,5</sup> e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação de alterações que possam ter ocorrido após as radiações (Tabela 1).

TABELA 1. FPS *in vitro* da mistura dos filtros em etanol antes e após a irradiação.

| Mistura dos Filtros em etanol   | FPS                 |                   |           |           |
|---|---------------------|-------------------|-----------|-----------|
|   | Antes da irradiação | Após a irradiação |           |           |
|   |                     | 20KJ              | 10KJ      | 20KJ      |
| Octil metoxicinamato 7 % +<br>Metilbenzilideno cânfora 3 % + Isoamil<br>p-metoxicinamato 3 %. | <b>22</b>           | 17,2±0,23         | 17,8±0,28 | 17,2±0,23 |

Com doses de energia menores, há uma ligeira diminuição ( $\cong 2$ ) nos valores de FPS da mistura de filtros, porém há uma queda mais acentuada ( $\cong 5$ ) no FPS da mistura de filtros após a irradiação com doses de energia elevadas (20 KJ).

A análise da mistura por cromatografia líquidas de alta eficiência após exposição a luz UV, demonstrou que ocorre algum tipo de interação química entre os filtros, que faz com que o pico do p-metoxicinamato de isoamila aumentasse após a irradiação, porém ocorrendo uma diminuição nos valores de FPS.

### 3.2 TESTE DE FOTOTOXICIDADE

Os testes de fototoxicidade foram realizados com a mistura de filtros utilizando-se o teste com cobaias albinas Dunkin-Hartley, teste este já validado e utilizado em outros trabalhos<sup>7,8</sup>. Foram utilizados grupos de 4 animais que tiveram o dorso depilado, dividido em 4 áreas, onde se aplicou em duas destas áreas 0,1ml da amostra, e nas outras duas, 0,1 ml de uma solução padrão de 8 metoxipsoraleno como padrão de fototoxicidade. Os

animais foram expostos a lâmpadas de luz negra de 15 Watts de potência e de comprimento de onda de 300-390 nm (UVA) por duas horas (Figura 1).



|     |    |
|-----|----|
| I   | II |
| III | IV |

Onde:  
 I: amostra irradiada  
 II: padrão irradiado  
 III: amostra não irradiada  
 IV: padrão não irradiado

FIGURA 1: Descrição da divisão do dorso do animal para aplicação das amostras e posterior irradiação.

Após 24 e 48 horas à exposição os animais foram observados e o grau de eritema formado foi classificado segundo a escala.

|                      |                   |
|----------------------|-------------------|
| 0 = nenhuma reação   | 1 = eritema fraco |
| 2 = eritema moderado | 3 = eritema forte |

Os valores dos índices de fototoxicidade da mistura dos filtros podem ser observados na tabela 2.

TABELA 2. Valores dos índices de fototoxicidade da mistura dos três filtros solares e do 8 metoxipsoraleno na epiderme de cobaias após a exposição à radiação UVA, por 2 horas.

| Indução                     | Incidência | Índice de Fototoxicidade |
|-----------------------------|------------|--------------------------|
| 8-metoxipsoraleno + UVA     | 4/4        | 1,625 ± 0,377            |
| 8-metoxipsoraleno           | 0/4        | 0                        |
| Mistura dos 3 filtros + UVA | 0/4        | 0                        |
| Mistura dos 3 filtros       | 0/4        | 0                        |

Como pode ser observado, a mistura de filtros não provocou nenhum tipo de reação fototóxica na epiderme das cobaias após a exposição por duas horas à radiação UVA.

### 3.3 TESTE DE MUTAGENICIDADE

Para avaliarmos se os filtros solares que compõem a mistura e se a mistura em si são mutagênicos, realizou-se o SOS Cromoteste.<sup>9</sup> O teste foi feito utilizando-se 2 cepas de *E.*

*coli*, PQ35 (uvr-), selvagem e PQ37 (uvrA), mais sensível. As cepas foram incubadas inicialmente com 100µl dos compostos testados. Em seguida realizou-se o teste com a CEPA PQ37 com 300µl dos compostos testados para melhor visualização dos resultados. Após um período suficiente para síntese de proteína, a atividade da β-galactosidase foi testada. Foi feito um controle positivo usando-se 4NQO, substância sabidamente mutagênica, e um controle negativo utilizando-se etanol absoluto. Foram testados separadamente os filtros p-metoxicinamato de octila, metil benzilideno cânfora e p-metoxicinamato de isoamila em etanol, a mistura dos 3 filtros em etanol e a mistura dos 3 filtros em emulsão (Tabela 3).

TABELA 3. Resultado da indução de mutagenicidade após irradiação com luz ultravioleta A dos filtros solares e da mistura destes filtros em cepas de *E. coli*.

| Resultado da indução de mutagenicidade após irradiação com luz ultravioleta A dos filtros solares e da mistura destes filtros em cepas de <i>E. coli</i> .<br>COMPOSTO | PQ35(uvr-) |       | PQ37(uvrA) |
|--|------------|-------|------------|
|  | 100µl      | 100µl | 300µl      |
| Controle positivo – 4NQO   | ( + )      | ( + ) | ( + )      |
| Controle negativo – Etanol   | ( - )      | ( - ) | ( - )      |
| p-metoxicinamato de octila/Etanol  | ( - )      | ( - ) | ( - )      |
| Metilbenzilideno cânfora/Etanol  | ( - )      | ( - ) | ( - )      |
| p-metoxicinamato de isoamila/Etanol  | ( - )      | ( - ) | ( - )      |
| Mistura dos 3 filtros/Etanol   | ( - )      | ( - ) | ( - )      |

#### 4 CONCLUSÃO

A mistura avaliada, foi p-metoxicinamato de octila a 7% + Metilbenzilideno cânfora a 3% + p-metoxicinamato de isoamila a 3%, tendo *in vitro* em emulsão FPS = 22. Os testes de fototoxicidade foram realizados com a mistura de filtros utilizando-se o teste com cobaias albinas Dunkin-Hartley. A mistura de filtros não provocou nenhum tipo de reação fototóxica na epiderme dos cobaias após a exposição por duas horas à radiação UVA. Realizou-se o SOS Cromoteste para verificar a mutagênicidade dos filtros. Os resultados do SOS cromoteste demonstraram que os filtros solares analisados não são mutagênicos nem quando testados isoladamente nem quando presentes na mistura proposta. A análise da mistura por cromatografia líquidas de alta eficiência após exposição a luz UV, demonstrou que ocorre algum tipo de interação química entre os filtros, que faz com que o pico do p-metoxicinamato de isoamila aumentasse após a irradiação, apesar da análise por espectrofotometria ter demonstrado que a proteção proporcionada pela mistura diminui (expressa em termos do seu FPS). A mistura de filtros proposta não possui nenhuma propriedade tóxica ou mutagênica que pudesse ser detectada pelos testes empregados neste trabalho.

#### 5 REFERÊNCIAS

1. FILGUEIRA, A. L. Envelhecimento cutâneo: Prevenção. An. Bras. Dermatol., Rio de Janeiro, v. 66, n. 5, p. 14S-16S,

---

---

1991.

2. TAYLER, J. S. DNA, *sunlight and skin cancer*. *Pure & Appl. Chem.*, v. 67, n. 1, p. 183- 190, 1995.
3. ERDMAN, K. L., BERGOIL, S. C. *Safe tan an oxymoron*. *Cancer Nursing*, v. 16, n. 2, p. 139-144, 1993.
4. SANTOS, E. P. , FREITAS, Z. M. F., SOUZA, K. R., GARCIA, S. *in vitro and in vivo determination of sun protection factor of sunscreen lotions with octylmethoxycinnamate*. *Int. J. Cosmet. Sci.*, v. 21, p. 1-5, 1999.
5. MANSUR, J. S. et al. Determinação do Fator de Proteção Solar por Espectrofotometria. *An. Bras. Dermatol.*, v. 61 n. 3, p. 121-124, 1986.
6. SCHWARTZENBACH, R., BERTSCHI, L. *Determination of photostability in diluted solutions*. In: *Between-Congress Conference, Montreaux, 1995*, p. 277-282 (Preprints IFSCC).
7. BUEHLER, E. V., NEWMANN, E. A., PARKER, R. D. *Use of the occlusive patch to evaluate the photosensitive properties of chemicals in guinea-pigs*. *Fd. Chem. Toxic.* v. 23, p. 689-694, 1989.
8. RAMOS, M. F. *Perspectivas da utilização dos Extratos de Própolis, Aloe spp. e Hamamelis virginiana*. Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia da UFRJ, 1995 (Tese de Mestrado em Ciências Farmacêuticas).
9. GUILLARDET, P. HOFNUNG, M. *The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures*. *Mutation Research*, v. 147, p. 65-78, 1985.