



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

LARISSA CARNIEL

**DESENVOLVIMENTO DE PROTETOR SOLAR NATURAL, VEGANO  
E SUSTENTÁVEL POR MEIO DE QUALITY BY DESIGN**

FLORIANÓPOLIS

2023

Larissa Carniel

**DESENVOLVIMENTO DE PROTETOR SOLAR NATURAL, VEGANO E  
SUSTENTÁVEL POR MEIO DE QUALITY BY DESIGN**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do título de Mestre em Farmácia.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Bianca Ramos Pezzini, Dr<sup>ª</sup>.

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup>. Giovana Carolina Bazzo, Dr<sup>ª</sup>

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra

Carniel, Larissa

Desenvolvimento de protetor solar natural, vegano e sustentável por meio de Quality by Design / Larissa Carniel ; orientadora, Bianca Ramos Pezzini, coorientador, Giovana Carolina Bazzo, 2023.

89 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Protetor solar. 3. Quality by Design. 4. Cosmético natural. 5. Emulsão. I. Pezzini, Bianca Ramos . II. Bazzo, Giovana Carolina . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmácia. IV. Título.

Larissa Carniel

**Desenvolvimento de protetor solar natural, vegano e sustentável por meio de Quality by Design**

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Elenara Maria Teixeira Lemos Senna, Dra.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Irene Clemes Kulkamp Guerreiro, Dra.  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Luis Felipe Costa Silva, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Farmácia.

---

Profa. Thaís Cristine Marques Sincero, Dra.  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia

---

Profa. Bianca Ramos Pezzini, Dra.  
Orientadora

Florianópolis, 15 de dezembro de 2023.

Este trabalho é dedicado ao meu pai (*in memoriam*) e ao meu  
companheiro por todo amor e amparo em todos momentos.

## AGRADECIMENTOS

À minha família, minha mãe Marilei e meu irmão Piero por todo apoio durante minha trajetória de vida.

Ao meu companheiro Gandhi, por todo amparo, amor e atenção.

À minha orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Bianca Ramos Pezzini, por toda atenção e ensinamentos, pelos sábios conselhos e por acreditar no meu potencial e no meu trabalho.

À minha coorientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Giovana Bazzo pelo apoio e auxílio nas análises de viscosidade.

À Marina pela prestatividade, atenção e suporte ao meu trabalho. Pela ajuda com o DoE e reologia, sempre muito solícita e querida.

À Clarissa por toda a atenção e prestatividade e por auxiliar nas análises de DPPH.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia: Douglas, Izi, Júlia, Rafa e Sandra.

Aos professores da Pós-Graduação em Farmácia, em especial do Laboratório de Farmacotécnica e Cosmetologia: Angela, Thiago, Luis, Elenara e Débora por todo apoio e ensinamentos nesse período.

À Elis e a Maísa do Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia – LAMEB, pelo auxílio nas análises microscópicas.

Ao Laboratório Interdisciplinar para o Desenvolvimento de Nanoestruturas-LINDEN pela utilização do LUMISIZER, ao professor Dachamir Hotza, especialmente à Emanuelle, pela prestatividade e ajuda com as análises da centrífuga analítica.

Ao Laboratório de Controle de Qualidade pelo uso do viscosímetro e do purificador de água.

À Universidade Federal de Santa Catarina e ao Programa de Pós-graduação em Farmácia.

À CAPES, pelo apoio financeiro e concessão da bolsa.

## RESUMO

O câncer de pele não melanoma é o mais frequente no Brasil e a sua principal causa é a exposição excessiva à radiação ultravioleta (RUV). O uso de protetores solares é eficaz para proteger a pele. Nesse sentido, os filtros solares químicos (orgânicos) são comumente usados em formulações fotoprotetoras devido à sua alta capacidade de filtrar a RUV, contudo apresentam preocupações relacionadas a reações fotoirritantes ou fotossensibilizantes. Em contrapartida, os filtros solares físicos (inorgânicos ou minerais) - óxido de zinco (ZnO) e dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) - destacam-se pelo baixo potencial alergênico e amplo espectro de proteção contra a RUV. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um protetor solar natural, fisicamente estável e de elevada qualidade através da aplicação da abordagem *Quality by Design* (QbD). Primeiramente, foi desenvolvido o veículo emulsionado seguido do desenvolvimento do protetor solar. Um planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> foi empregado para avaliar os efeitos das concentrações de polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol (PSGSSA), brassica glycerides (BG) e goma xantana (XG) na viscosidade aparente e no índice de instabilidade (I<sub>index</sub>) do veículo emulsionado. Posteriormente, outro planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> foi utilizado para avaliar os efeitos da concentração de ZnO, TiO<sub>2</sub> e ácido fítico (PA) no I<sub>index</sub> da formulação do protetor solar. Ambos os domínios experimentais foram construídos variando-se três fatores em dois níveis (-1,0 e +1,0) e, em ambos, foram incluídos três pontos centrais (0,0) para estimar o erro intrínseco. Outros ingredientes da formulação foram óleo e extrato natural, agente antioxidante, modificador reológico e sensorial, formador de filme, umectantes, conservantes e emolientes. Todos os termos hierárquicos e interações foram avaliados por análise de variância e os modelos matemáticos foram determinados por regressão linear. Uma falta de ajuste não significativa foi considerada apropriada para modelar a previsão. Também foram determinados valores de R<sup>2</sup>, R<sup>2</sup> ajustado e precisão adequada. O I<sub>index</sub> do veículo emulsionado foi influenciado pelas concentrações de PSGSSA e BG, enquanto sua viscosidade aparente foi influenciada pelas concentrações de PSGSSA e XG e pelas interações entre PSGSSA, BG e XG. O I<sub>index</sub> do protetor solar foi influenciado principalmente pelas concentrações de ZnO e PA. Os modelos matemáticos desenvolvidos foram robustos e foram utilizados para prever composições ótimas das formulações de veículo emulsionado e protetor solar dentro dos domínios experimentais, que foram: 8% de PSGSSA, 3% de BG e 0,3% de XG; e 6,3% de ZnO, 2% de TiO<sub>2</sub> e 1% de PA, respectivamente. As formulações otimizadas atenderam plenamente aos Perfis Alvos de Qualidade de Produto, demonstrando a eficácia da abordagem QbD no desenvolvimento de um protetor solar natural, vegano, sustentável, fisicamente estável e de alta qualidade.

Palavras-chave: *Quality by Design*, cosmético natural, emulsão, estabilidade, protetor solar.

## ABSTRACT

Non-melanoma skin cancer is the most common in Brazil and its main cause is excessive exposure to ultraviolet radiation (UVR). The use of sunscreens is effective in protecting the skin. In this regard, chemical (organic) sunscreens are commonly employed in photoprotective formulations due to their high capacity to filter UVR, however they raise concerns regarding photoirritating or photosensitizing reactions. In contrast, physical sunscreens (inorganic or mineral) - zinc oxide (ZnO) and titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) - stand out for their low allergenic potential and broad spectrum of protection against UVR. In this context, the objective of this work was to develop a natural, physically stable and high quality sunscreen through the application of the Quality by Design (QbD) approach. Firstly, an emulsified vehicle was developed, followed by the formulation of the sunscreen. A 2<sup>3</sup> full factorial design was employed to assess the effects of the concentrations of polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol (PSGSSA), brassica glycerides (BG), and xanthan gum (XG) on the apparent viscosity and instability index ( $I_{\text{index}}$ ) of the emulsified vehicle. Subsequently, another 2<sup>3</sup> full factorial design was used to evaluate the effects of the concentration of zinc oxide (ZnO), titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>), and phytic acid (PA) on the  $I_{\text{index}}$  of the natural sunscreen formulation. Both the experimental domains were constructed by varying three factors in two levels (-1.0 and +1.0), and three central points (0.0) were included in both to estimate the intrinsic error. Other formulation ingredients were natural oil and extract, antioxidant agent, rheological and sensory modifier, film former, humectants, preventatives, and emollients. All hierarchical terms and interactions were evaluated by analysis of variance and mathematical models were determined by linear regression. A non-significant lack-of-fit was considered appropriate to model prediction. Values of R<sup>2</sup>, adjusted R<sup>2</sup>, and adequate precision were also determined. The  $I_{\text{index}}$  of the emulsified vehicle was influenced by the concentrations of PSGSSA and BG, while its apparent viscosity was influenced by PSGSSA and XG concentrations, and by interactions among PSGSSA, BG, and XG. The  $I_{\text{index}}$  of the sunscreen formulation was influenced mainly by ZnO and PA concentrations. The mathematical models developed were robust and were used to predict optimal emulsified vehicle and sunscreen formulation compositions within the experimental domains, which were: 8% of PSGSSA, 3% of BG, and 0,3% of XG; and 6.3% of ZnO, 2% of TiO<sub>2</sub> and 1% of PA, respectively. The optimized formulations fully met the Quality Target Product Profiles, demonstrating the effectiveness of the QbD approach in developing a physically stable, high-quality natural sunscreen.

Keywords: Quality by Design, natural cosmetic, emulsion, stability, sunscreen.

## LISTA DE FIGURAS

Figure 1. Ishikawa diagram illustrating variables that may impact the physical stability of the final sunscreen formulation. ....	58
Figure 2. Surface and interaction plots showing the influence of the concentrations of PSGSSA, BG and XG over the instability index (A) and the apparent viscosity (B) of the emulsified vehicle.....	61
Figure 3. Surface and interaction plots showing the influence of the concentrations of ZnO, TiO <sub>2</sub> and PA over the instability index of the emulsified vehicle. ....	64
Figure 4. Viscosity profile (A), flow curve (B), frequency sweep plot (C), and creep and recovery plot (D) of optimized emulsified vehicle and sunscreen formulation. ....	67

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Fototipos de pele de acordo com a escala de Fitzpatrick. ....	26
---	----

## LISTA DE TABELAS

Table 1. QTPP of the emulsified vehicle.....	47
Table 2. QTPP of the sunscreen formulation. ....	47
Table 3. CMAs for the emulsified vehicle and the sunscreen formulation. ....	48
Table 4. Design of experiments for emulsified vehicle optimization.....	50
Table 5. Design of experiments for sunscreen formulation optimization. ....	50
Table 6. Antioxidant activity of formulation ingredients. ....	57
Table 7. ANOVA summary of the emulsified vehicle experimental matrix for instability index and apparent viscosity. ....	60
Table 8. Optimal conditions to the emulsified vehicle. ....	62
Table 9. ANOVA summary of the sunscreen formulation experimental matrix for instability index. ....	63
Table 10. Optimal conditions to sunscreen formulation.....	65

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AHA Ácido Alfa-hidroxi

ANOVA Analysis of Variance

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

A/O Água em Óleo

BG Brassica glicérides

CAGR Taxa de Crescimento Anual Composta

CBC Carcinoma Basocelular

CCEs Carcinoma de Células Escamosas

CEC Carcinoma Espinocelular

CMAs Atributos Críticos de Materiais ou Critical Material Attributes

CPNM Câncer de Pele Não Melanoma

CPPs Parâmetros Críticos de Processo ou Critical Process Parameters

CQAs Atributos Críticos de Qualidade ou Critical Quality Attributes

DME Dose Mínima Eritematosa

DMP Dose Mínima Pigmentária

DoE Delineamento Experimental ou Design of experiments

EROs Espécies Reativas de Oxigênio

ERNs Espécies Reativas de Nitrogênio

FDA Food and Drug Administration

FPS Fator de Proteção Solar

FPUVA Fator de Proteção UVA

ICH International Conference on Harmonization

I<sub>index</sub> Índice de Instabilidade

IR Infravermelho

IRA Infravermelho Curto

IUP Índice de Ultravioleta da Pele

MED Minimal Erythema Dose

MMP-1 Metaloproteinase da Matriz-1

NPs Nanopartículas

O/A Óleo em Água

O/W Oil-in-water

PA Phytic acid

PMMA Polymethyl methacrylate

PPD Escurecimento Persistente do Pigmento

PSGSSA Polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol

QbD Quality-by-Design

QTPP Perfil de Qualidade Alvo do Produto ou Quality Target Product Profiles

RUV Radiação Ultravioleta

SBD Sociedade Brasileira de Dermatologia

SPF Sun Protection Factor

TiO<sub>2</sub> Dióxido de titânio ou Titanium dioxide

UV Ultravioleta

UVA-PF UVA protection factor

UVA Ultravioleta A

UVB Ultravioleta B

XG Xanthan gum

W/O Water-in-oil

ZnO Óxido de zinco ou Zinc oxide

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	OBJETIVOS.....	17
1.1.1	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>17</b>
1.1.2	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>18</b>
2.1	RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (RUV) .....	18
2.2	CÂNCER DE PELE.....	19
2.2.1	<b>Melanoma.....</b>	<b>20</b>
2.2.2	<b>Câncer de pele não melanoma (CPNM).....</b>	<b>21</b>
2.3	FOTOPROTEÇÃO .....	22
2.4	FILTROS SOLARES QUÍMICOS OU ORGÂNICOS .....	27
2.5	FILTROS SOLARES FÍSICOS OU INORGÂNICOS.....	28
2.6	DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES FOTOPROTETORAS .....	30
2.6.1	<b>Aspectos gerais do desenvolvimento de protetores solares.....</b>	<b>30</b>
2.6.2	<b>Alguns ingredientes promissores para uso em protetores solares .....</b>	<b>32</b>
2.6.2.1	Argilas .....	32
2.6.2.2	Chá verde.....	35
2.6.2.3	Seaberry.....	37
2.6.2.4	Ácido fítico.....	38
2.6.3	<b>Abordagem QbD no desenvolvimento de protetores solares emulsionados .....</b>	<b>40</b>
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO 1 – ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>73</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>77</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>78</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A luz solar possui diversos efeitos benéficos para o organismo humano, tais como a ativação da síntese de vitamina D e o estímulo da produção de  $\beta$ -endorfina, contribuindo para o bem-estar geral. Contudo, a exposição excessiva ao sol pode acarretar alterações na pele causadas pela radiação solar, como queimaduras, hiperpigmentação, envelhecimento precoce, fotossensibilização e até mesmo o desenvolvimento de câncer de pele, especialmente quando não são adotadas medidas de proteção efetivas, como o uso de protetor solar e o emprego de roupas e acessórios adequados (JESUS *et al.*, 2022).

De todas as neoplasias malignas diagnosticadas no mundo, o câncer de pele não melanoma é a quinta mais frequente, com 1,2 milhão de novos casos (6,2%) estimados para o ano de 2020. Para os cânceres de pele melanoma, foram estimados, em 2020, 325 mil casos novos (1,7%) (FERLAY *et al.*, 2021; SUNG *et al.*, 2021). No Brasil, o câncer de pele não melanoma apresenta a mais alta incidência entre os tipos de câncer, estimando-se 220.490 novos casos (10%) para cada ano no período de 2023 a 2025. Em relação ao câncer de pele melanoma, estima-se que ocorram 8.980 novos casos (0,4%) (INCA, 2022).

Há ampla evidência dos benefícios que os protetores solares proporcionam na redução e até prevenção das alterações cutâneas causadas pela radiação ultravioleta (RUV) (YOUNG; CLAVEAU; ROSSI, 2017). Nesse sentido, os filtros solares químicos (orgânicos) são comumente usados em formulações fotoprotetoras devido à sua alta capacidade de filtrar os raios ultravioleta (UV), contudo apresentam preocupações relacionadas a reações fotoirritantes ou fotossensibilizantes (SINGH; KUMAR, 2018). Os filtros solares físicos (inorgânicos ou minerais), no entanto, destacam-se pelo baixo potencial alergênico e amplo espectro de proteção contra UVA e UVB (NERY *et al.*, 2020; JAIN; JAIN, 2010). Dentre eles, o óxido de zinco e o dióxido de titânio são os únicos aceitos para uso pela *Food and Drug Administration* - FDA (FDA, 2021) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2016).

Nesse cenário, o mercado global de protetores solares minerais, contendo apenas filtros solares físicos, deverá registrar um aumento de mais de 5% ao ano entre 2020 e 2030, e um faturamento de cerca de US \$ 1,8 bilhões até 2030 (FMI, 2020). A aplicação de extratos e óleos vegetais com ação fotoprotetora em produtos cosméticos, como protetores solares, também é uma tendência que vem crescendo, pelo aumento na demanda por produtos naturais,

sustentáveis e menos agressivos à pele (ARRUDA *et al.*, 2021). O mercado mundial de cosméticos naturais para o cuidado da pele, avaliado em US\$ 6,7 bilhões em 2021, tem previsão de expansão anual de 6,6% até 2030 (GVR, 2022a).

O desenvolvimento de protetores solares eficientes, alinhados às tendências atuais e aos padrões do mercado internacional constitui um desafio real no campo da Tecnologia Cosmética. Mesmo havendo diretrizes gerais na literatura científica e técnica, as estratégias de formulação exigem testes aprofundados e ajustes para essa categoria de produtos. Entre os desafios enfrentados estão o atendimento aos parâmetros necessários de fotoproteção; a melhoria de atributos cosméticos e sensoriais; e a manutenção da estabilidade ao longo de todo o prazo de validade, assegurando simultaneamente eficácia, segurança e qualidade aos consumidores (GEOFFREY; MWANGI; MARU, 2019; LIONETTI; RIGANO, 2017).

Na prática do desenvolvimento farmacêutico e cosmético, as formulações ainda são frequentemente projetadas com base em abordagens de tentativa e erro, que podem ser ineficazes e demoradas. Por outro lado, a abordagem de *Quality-by-Design* (QbD) integra e molda a qualidade do produto em todos os estágios de desenvolvimento até a fabricação, reconhecendo que boa parte dos problemas de qualidade tem origem no *design* inicial. Ou seja, a QbD reconhece que um produto mal projetado está destinado a apresentar problemas de qualidade, independentemente da realização de testes e análises de controle de qualidade; e sendo assim, estabelece que a qualidade do produto deve ser intrínseca. Nesse sentido, a QbD emprega uma abordagem sistemática para o desenvolvimento de formulações, realizada com objetivos claros e completa compreensão do produto e do processo de produção, apoiando-se em princípios científicos e no gerenciamento eficaz de riscos à qualidade do produto (FUKUDA *et al.*, 2018).

Considerando o contexto apresentado, esta dissertação objetivou desenvolver um protetor solar natural, vegano, sustentável, fisicamente estável e de elevada qualidade, utilizando a abordagem QbD. Além do benefício acadêmico e científico, os resultados deste trabalho possuem implicações práticas. A formulação desenvolvida poderá resultar em um novo produto no mercado, atendendo às demandas dos consumidores por produtos cosméticos naturais, eficazes, seguros e ambientalmente amigáveis.

## 1.1 OBJETIVOS

A seguir são descritos o objetivo geral e os objetivos específicos do presente trabalho.

### 1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver um protetor solar natural, vegano, sustentável, fisicamente estável e de elevada qualidade, aplicando a abordagem *Quality by Design* (QbD).

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver um veículo emulsionado fisicamente estável por meio de QbD, envolvendo as etapas de delineamento experimental (DoE) e estudo de otimização;
- Desenvolver um protetor solar natural, fisicamente estável, mediante a incorporação de filtros UV físicos no veículo emulsionado otimizado, também envolvendo as etapas de DoE e otimização, no contexto da QbD;
- Caracterizar o veículo emulsificado otimizado quanto ao pH, índice de instabilidade ( $I_{index}$ ), viscosidade aparente, comportamento reológico e atividade antioxidante;
- Caracterizar o protetor solar otimizado quanto ao pH, índice de instabilidade ( $I_{index}$ ), comportamento reológico e eficácia fotoprotetora.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A seguir, é apresentada uma revisão bibliográfica sobre os temas relacionados à pesquisa em questão.

### 2.1 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (RUV)

A luz do Sol é composta por um espectro contínuo de radiação eletromagnética dividida em três regiões principais de comprimentos de onda: ultravioleta (UV), variando de 200 a 400 nm; luz visível, de 400 a 700 nm; e infravermelho (IR), de 200 nm a 1 mm. A radiação UV é dividida em três sub-regiões, incluindo os raios UVA (UVA I, de 320 a 340 nm, e UVA II, de 340 a 400 nm), UVB (280 a 320 nm) e UVC (200 a 280 nm). O UVC não atinge a superfície terrestre, pois é bloqueado pela camada de ozônio, enquanto as radiações UVA e UVB atingem a superfície da Terra em quantidades suficientes para ter consequências biológicas importantes para a pele e os olhos (MATSUMURA; ANANTHASWAMY, 2004; BANASZAK; LESSER, 2009).

A relação do ser humano com o Sol é ambivalente, ou seja, os benefícios desfrutados da exposição solar são inseparáveis de seus efeitos nocivos (BANASZAK; LESSER, 2009). Como benefícios, a exposição à luz solar possui importância vital na síntese de vitamina D<sub>3</sub>, que é produzida quando o precursor do colesterol 7-desidrocolesterol é exposto à radiação UVB. Essa reação não enzimática produz pré-vitamina D<sub>3</sub> que se isomeriza rapidamente em vitamina D<sub>3</sub> (HANEL; CARLBERG, 2020). Outros benefícios incluem a fototerapia com luz UV (fonte artificial) para a dermatite atópica e psoríase (KEMÉNY; VARGA; NOVAK, 2019). Com relação aos efeitos nocivos da luz UV, os principais efeitos agudos compreendem inflamação na pele por queimadura solar (eritema), bronzeamento e imunossupressão local ou sistêmica. A exposição crônica ao UV leva ao fotoenvelhecimento, imunossupressão e, em última instância, fotocarcinogênese. Essa última envolve o acúmulo de alterações genéticas, bem como a modulação do sistema imunológico, e pode levar ao desenvolvimento de câncer de pele (MATSUMURA; ANANTHASWAMY, 2004).

A radiação UVA está presente em maior quantidade na radiação solar que atinge a Terra, mas é menos energética que a UVB. É capaz de causar malefícios ao corpo humano, uma vez que esses raios penetram mais profundamente na pele, causando dano oxidativo, que contribui para o envelhecimento prematuro da pele e a formação de rugas, e também

indiretamente aumenta o risco de câncer através da formação de bases de DNA oxidadas. Os raios UVB são parcialmente filtrados pela camada de ozônio. A radiação UVB é biologicamente ativa e penetra nas camadas superficiais da pele, até a camada basal da epiderme, onde gera espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (EROs e ERNs), gerando inflamação e queimaduras solares, bem como o envelhecimento cutâneo precoce (DUPONT; GOMEZ; BILODEAU, 2013).

A pele possui um mecanismo defensivo contra a exposição aguda e crônica à RUV, a via de bronzeamento (*tanning pathway*), que promove a síntese de melanina e a pigmentação cutânea. A melanina possui efeitos de proteção contra a RUV, espalhando ou absorvendo a radiação e evitando a sua penetração através da epiderme. Acredita-se que a melanina absorva entre 50% a 75% da RUV em contato com a pele e transforme a energia em calor por meio de conversão interna. Dos dois tipos de melanina, a eumelanina tem substancialmente mais propriedades fotoprotetoras do que a feomelanina. Além disso, a eumelanina funciona como um eliminador de radicais livres com atividade do tipo superóxido dismutase, que reduz as EROs, enquanto a feomelanina pode gerar EROs por vias dependentes e independentes de UV. Essa atividade antioxidante da eumelanina pode representar uma de suas funções protetoras mais importantes (NGUYEN; FISHER, 2019).

Porém, a exposição cumulativa à RUV é considerada um fator de risco predominante para todas as malignidades cutâneas comuns e o principal fator de risco ambiental do câncer de pele, seja por exposição à luz solar direta ou de câmaras de bronzeamento artificial. Dessa forma, minimizar o comportamento de bronzear-se é fortemente recomendado como uma abordagem de prevenção (NGUYEN; FISHER, 2019).

## 2.2 CÂNCER DE PELE

O câncer de pele, incluindo o melanoma e os cânceres de pele não melanoma (CPNMs), é o quinto câncer mais comum, com mais de 1,5 milhão de casos em 2020 e taxas de incidência que continuam a aumentar (IARC, 2022; AN *et al.*, 2021). Os CPNMs são representados principalmente pelo carcinoma basocelular (CBC), ou carcinoma de células basais, e o carcinoma espinocelular (CEC), também chamado de carcinoma de células escamosas (CIVES *et al.*, 2020).

A exposição à RUV é um fator ambiental importante para o desenvolvimento de melanoma e CPNM. De acordo com a literatura, quase 90% de todos os melanomas, 85% dos CEC e 82% dos CBC foram atribuídos ao excesso de exposição à RUV (AN *et al.*, 2021). Além disso, o risco de câncer de pele é fortemente influenciado pela pigmentação cutânea (D'ORAZIO, 2013).

### 2.2.1 Melanoma

O melanoma é formado por disfunção de nevos displásicos ou de um único melanócito. Os melanócitos, localizados na base da epiderme, são responsáveis pela produção da melanina encontrada nos cabelos, olhos e pele. A vascularização do tumor ocorre naturalmente, por difusão passiva, onde as células tumorais obtêm todos os nutrientes necessários para crescer. Com o crescimento das células tumorais, ocorre a angiogênese, que é a formação de novos vasos sanguíneos, fornecendo nutrientes suficientes às células cancerígenas e aumentando a massa do tumor, uma vez que essas áreas se tornam ricamente vascularizadas (NAVES *et al.*, 2017).

O melanoma é o tipo de câncer de pele mais grave e letal e vem apresentando alta frequência nas últimas três décadas (SONG *et al.*, 2020). Em 2020, cerca de 325.000 novos casos de melanoma foram diagnosticados em todo o mundo e cerca de 57.000 pessoas morreram em decorrência da doença. A previsão é que, de 2020 a 2040, o número de novos casos de melanoma aumentará em mais de 50%, para mais de 500.000 por ano, e o número de mortes resultantes elevará em mais de dois terços, para quase 100.000 por ano. Embora muitos casos sejam evitáveis, o melanoma cutâneo representa aproximadamente 1 em cada 5 cânceres de pele (IARC, 2022).

A ocorrência de melanoma é previsivelmente maior em locais com grande número de indivíduos de pele clara vivendo em climas quentes e ensolarados. A maioria dos melanomas surge de manchas pré-existentes, portanto, ter muitos nevos é outro importante fator de risco para a doença. Se detectados precocemente, muitos melanomas podem ser tratados apenas por excisão cirúrgica. No entanto, os melanomas são rápidos para invadir e metastatizar e a sobrevida a longo prazo é ruim para a doença avançada. Mesmo com progressos recentes na terapia, o melanoma é difícil de tratar, uma vez que tenha se alastrado além de seu local original. Não está claro por que a incidência de melanoma aumentou tão drasticamente nas últimas décadas, mas é provável que seja de causa multifatorial, com contribuições do aumento da

exposição à UV, fatores de risco hereditários e ambientais, além de melhor vigilância e detecção precoce (D'ORAZIO, 2013).

### **2.2.2 Câncer de pele não melanoma (CPNM)**

O CPNM apresenta maior prevalência em indivíduos caucasianos (CIVES *et al.*, 2020). O CBC e o CEC, CPNM mais comuns, ambos derivados de queratinócitos epidérmicos, são causados por uma série de fatores ambientais e genéticos, embora a exposição à luz UV seja o maior fator predisponente (D'ORAZIO, 2013; LOSQUADRO, 2017). Tanto o CBC quanto o CEC apresentam bom prognóstico, principalmente quando detectados em seus estágios iniciais (APALLA *et al.*, 2017).

Os CPNM superam em muito os melanomas em incidência, mas felizmente a maioria é muito mais fácil de tratar, tem um prognóstico de longo prazo muito melhor e menor letalidade do que o melanoma. Devido à tendência de permanecerem confinados ao local primário da doença, tem manejo muito mais simples. A maioria se desenvolve nas áreas da pele mais expostas à RUV, como rosto e braços, e geralmente são tratadas apenas com medidas de controle local, como ressecção e cirurgia (D'ORAZIO, 2013).

O CBC é o câncer de pele mais comum que, em até 80% dos pacientes, se desenvolve na região da cabeça e pescoço, muitas vezes na ausência de lesões pré-cancerosas. O CBC raramente metastatiza, mas frequentemente mostra invasão local e destruição tecidual, resultando em alta morbidade (CIVES *et al.*, 2020). Os CBCs surgem da camada basal da epiderme e estruturas anexiais. Além da exposição à RUV, pele e olhos claros, cabelos ruivos, ascendência do norte da Europa, idade avançada, sardas desde a infância e histórico pessoal de queimaduras solares frequentes levam ao alto risco de CBC. Exposição prolongada ao arsênico devido à ingestão contínua de água, alimentos e medicamentos contaminados; radiação ionizante para o tratamento de doenças de pele ou câncer infantil; imunossupressão devido à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana; e uma história de tratamento com agentes imunossupressores são fatores de risco adicionais para CBC (TANESE, 2019).

O CEC é o segundo tipo de câncer de pele mais comum, que se desenvolve com mais frequência em indivíduos caucasianos expostos à RUV, tabagismo, infecções crônicas e imunossupressores ou com predisposição genética. A mortalidade está correlacionada com à

capacidade das células malignas se espalharem para locais distantes, além de outros fatores, por exemplo, idade avançada, sexo masculino, local do tumor, infecção por HIV ou leucemia linfática crônica. Inclui muitos subtipos, com diferentes características, desde um comportamento indolente com crescimento lento até tumores agressivos e invasivos. A apresentação clínica é heterogênea em relação ao local, tamanho, espessura e pigmentação. A maioria dos CECs metastáticos se origina na cabeça e pescoço, bem como na pele exposta ao sol (CIVES *et al.*, 2020).

Considerando o contexto apresentado, são importantes as medidas preventivas do câncer de pele, que incluem evitar a luz solar intensa e direta, principalmente nos meses de verão e entre as 11:00 e as 15:00; usar óculos de sol com proteção UV, vestir roupas largas com mangas compridas e chapéu de abas largas; e usar protetor solar com fator de proteção solar (FPS) de no mínimo 15, reaplicando-o regularmente conforme as atividades exigirem, no mínimo a cada 2 horas (IARC, 2022). De fato, o uso de protetor solar é um importante complemento a outros tipos de proteção contra a RUV, sendo um componente-chave das campanhas de saúde pública para a prevenção do câncer de pele (SILVA *et al.*, 2018).

### 2.3 FOTOPROTEÇÃO

Protetor solar pode ser definido como “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 UVB e UVA, absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação” (BRASIL, 2012). Os protetores solares estão disponíveis em diversas formas cosméticas, como emulsões água em óleo (A/O), emulsões óleo em água (O/A), loções hidroalcoólicas, óleos, géis oleosos, bastões e aerossóis, entre outras (BALOGH *et al.*, 2011). A legislação norte-americana classifica os protetores solares como medicamentos de venda livre (ADDOR *et al.*, 2022), enquanto a legislação brasileira os classifica como produtos cosméticos (BRASIL, 2012; BRASIL, 2022).

Os ingredientes ativos presentes em protetores solares são os filtros solares, também chamados de filtros UV, que podem ser divididos em inorgânicos (físicos ou minerais) ou orgânicos (químicos). Os filtros solares inorgânicos são capazes de refletir ou dispersar a radiação UV e/ou a luz visível incidente, enquanto os orgânicos são moléculas capazes de absorver a radiação UV (ADDOR *et al.*, 2022).

Os filtros solares inorgânicos são veiculados em pastas, emulsões, sprays e pomadas. Os protetores solares minerais, contendo apenas filtros solares inorgânicos, são mais difíceis de formular devido à sua natureza particulada. Anteriormente, eles eram formulados como cremes pegajosos, oleosos e desagradáveis de usar. A nanomização permitiu a obtenção de formulações, em diferentes formas cosméticas, que formam uma camada translúcida na pele, conferindo proteção e mantendo boas características estéticas do produto. Como exceção, formulações nanomizadas de filtros solares inorgânicos em spray não são aprovadas para registro devido a questões de segurança, pois as nanopartículas podem ser inaladas e, portanto, causar toxicidade sistêmica (GEOFFREY; MWANGI; MARU, 2019).

Os filtros solares orgânicos são formulados como loções e pomadas leves, que na sua aplicação, formam uma película fina na superfície da pele. Outras formulações incluem óleos, géis, emulsões, mousses, aerossóis, bastões e pós. É importante destacar que a penetração dos ingredientes orgânicos na pele deve ser minimizada, visando evitar toxicidade sistêmica (GEOFFREY; MWANGI; MARU, 2019).

A Academia Americana de Dermatologia recomenda a utilização regular de protetor solar com FPS 30 ou superior em todos os tipos de pele, aplicado abundantemente e com reaplicação a cada 2 ou 3 horas (SANDER *et al.*, 2020). A Sociedade Brasileira de Dermatologia (SBD) também recomenda produtos com FPS 30, ou superior, para uso diário e na exposição mais longa ao sol (praia, piscina, pesca, etc.). O produto deve proteger contra os raios UVA e contra os raios UVB. Deve-se aplicar o produto 30 minutos antes da exposição solar, para que a pele o absorva; distribuí-lo uniformemente em todas as partes de corpo, incluindo mãos, orelhas, nuca e pés e reaplicar a cada 2 horas. Porém, esse tempo deve ser reduzido se houver transpiração excessiva ou mergulho na água (SBD, 2023a).

Por outro lado, estudos relatam que, na vida real, as pessoas normalmente aplicam muito menos protetor solar do que a dose ( $2 \text{ mg/cm}^2$ ) usada nos estudos de determinação do fator de proteção solar - FPS, variando entre 0,5 e  $1,5 \text{ mg/cm}^2$ . Segundo os autores, a maioria dos usuários da vida real provavelmente atinge um valor médio entre 20% e 50% do FPS rotulado. Nesse sentido, tem-se discutido que não haveria necessidade de valores de FPS acima de 15, se os protetores solares fossem adequadamente aplicados na pele (YOUNG; CLAVEAU; ROSSI, 2017).

Um estudo realizado por Chiou (2020) utilizou modelagem farmacodinâmica para estimar o índice de UV da pele (IUP), como parâmetro para avaliar a eficácia de protetores solares. Os protetores solares resultando em  $IUP < 3$  foram considerados eficazes contra danos como queimadura solar e melanoma. Simulações também foram realizadas quando aplicados apenas 50% e 25% da quantidade rotulada. Com base nos resultados, o autor concluiu que protetores solares com  $FPS > 4$  são eficazes quando aplicados uniformemente a  $2 \text{ mg/cm}^2$  e propõe que, em quantidade adequada, protetores solares com FPS 8 e FPS 2 a 6 possam ser adequados para o uso rotineiro por populações sensíveis e não sensíveis ao sol, respectivamente, nos EUA.

Um estudo realizado por Lergenmuller *et al.* (2021) investigou, através de modelos estruturais marginais e método padrão de comparação, se o uso de protetores solares com  $FPS \geq 15$  versus  $FPS < 15$  reduz o risco de CCEs em mulheres norueguesas. Os autores não encontraram nenhuma indicação de que protetores solares com  $FPS \geq 15$  reduziram o risco de CCEs mais do que protetores solares com  $FPS < 15$ , nessa população, sugerindo que não há diferença em seus efeitos a longo prazo ou a diferença é diluída pela aplicação incorreta.

A determinação da eficácia de formulações fotoprotetoras é realizada através da avaliação do FPS, do fator de proteção UVA (FPUVA), do comprimento de onda crítico (nm) e da razão UVA/UVB, envolvendo métodos *in vitro* e *in vivo*. No Brasil, são aceitas duas metodologias para determinação do FPS: ISO 24.444:2019 (também utilizada na Europa, Canadá, Austrália e Japão) e FDA 1999, 2011 (utilizada nos EUA), ambas realizadas *in vivo*, e com avaliação da reação eritematosa a RUV, na região dorsal, após aplicação de quantidade padronizada de protetor solar (ADDOR *et al.*, 2022).

Para fins de registro do produto no Brasil, o FPS deve ser no mínimo de 6 e é determinado por teste *in vivo* (com ou sem avaliação da resistência à água); o FPUVA deve ser de, no mínimo, 1/3 do FPS declarado e pode ser avaliado por método *in vivo* ou *in vitro*; e o comprimento de onda crítico deve ser no mínimo de 370 nm, com determinação *in vitro* (BRASIL, 2012).

O FPS é o valor obtido pela razão entre a dose mínima eritematosa em uma pele protegida por um protetor solar (DMEp) e a dose mínima eritematosa na mesma pele quando desprotegida (DMEnp) (Equação 1). A DME é a quantidade mínima de RUV requerida para produzir a primeira reação eritematosa evidente e com bordas claramente definidas, observada entre 16 e 24 horas após a exposição à RUV, de acordo com a metodologia adotada (BRASIL, 2012).

$$FPS = \frac{DME_p}{DME_{np}} \quad (\text{Equação 1})$$

A resposta eritematosa está diretamente relacionada ao tipo de pele do indivíduo e é dependente da quantidade de RUV, que pode variar com o local e o momento da exposição solar e com a quantidade de protetor solar aplicado sobre a pele (ADDOR *et al.*, 2022). Em condições de laboratório, para a determinação do FPS de um produto, o teste é realizado em indivíduos pertencentes ao fototipo I, II ou III de acordo com a classificação de Fitzpatrick, que são os tipos de pele mais propensos a queimaduras solares (COLIPA, 2006; LIONETTI; RIGANO, 2017).

A “Escala de Fitzpatrick” é uma escala semiquantitativa composta por seis fototipos que descrevem a cor da pele, sensibilidade ao sol, nível de melanina, resposta inflamatória aos raios UV e risco de câncer. Quanto mais clara a pele, mais facilmente os raios UV causam inflamação (queimaduras solares). A DME, portanto, é maior em pessoas de pele escura, uma vez que mais radiação UV é necessária para “queimar” a pele rica em eumelanina. Em contraste, pessoas de pele clara, com presença predominante de feomelanina, exibem DMEs baixas. Assim, o fototipo de Fitzpatrick pode ser correlacionado tanto com a DME quanto com o risco de melanoma e outros tipos de câncer de pele (D'ORAZIO, 2013) (Quadro 1).

Quadro 1. Fototipos de pele de acordo com a escala de Fitzpatrick.

<b>Fototipo de pele</b>	<b>Cor da pele</b>	<b>Ocorrência de queimadura solar</b>	<b>Capacidade de se bronzear</b>	<b>Sensibilidade ao Sol</b>
I	Branca	Sempre queima	Nunca	Muito sensível
II	Branca	Sempre queima	Muito pouco	Sensível
III	Morena clara	Queima moderadamente	Moderada	Normal
IV	Morena moderada	Queima pouco	Sempre	Normal
V	Morena escura	Queima raramente	Sempre	Pouco sensível
VI	Negra	Queima raramente	Totalmente pigmentada	Minimamente insensível ao sol

Fonte: Adaptado de SBD (2023b).

O Fator de Proteção UVA (FPUVA) é o valor obtido 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) (Equação 2). A DMP é 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, 2012).

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

O FPUVA é determinado de forma semelhante ao FPS em voluntários humanos, com as seguintes diferenças: os voluntários terão um fototipo capaz de desenvolver uma pigmentação imediata (fototipos III e IV), uma fonte de UVA será usada em vez de um simulador de radiação solar completa, e o escurecimento persistente do pigmento (PPD) será o ponto final em vez do eritema. Quanto maior o valor de FPUVA, melhor a proteção UVA. O

FPUVA também pode ser determinado usando um método *in vitro*, que foi desenvolvido para equivaler ao resultado do método *in vivo*. Outra abordagem é a medição da amplitude de absorção UV, também chamada de método do comprimento de onda crítico (MOYAL, 2012). O comprimento de onda crítico é o comprimento de onda para o qual a área sob a curva integrada de densidade ótica que começa em 290 nm é igual a 90% da área integrada entre 290 e 400 nm (BRASIL, 2012). Usualmente, o método PPD *in vivo* ou o FPUVA *in vitro* é usado em combinação com o método de comprimento de onda crítico ( $\geq 370$  nm) para determinar o nível de proteção UVA do produto (MOYAL, 2010).

A proteção que os cosméticos fotoprotetores fornecem contra queimaduras solares não é absoluta nem permanente. Um dos muitos fatores que podem influenciar o nível de proteção conferido por esses produtos é o contato com a água. Para tornar os produtos solares mais eficazes, os fabricantes desenvolveram formulações que são mais substantivas à pele durante a imersão em água. Esses produtos são rotulados como resistentes à água, muito resistentes à água ou à prova d'água (COSMETICS EUROPE, 2005). Para comprovar a resistência à água, mais de 50% do FPS do produto devem ser mantidos após duas imersões de 20 minutos em água, enquanto os produtos muito resistentes à água devem manter no mínimo 50% do FPS após quatro imersões de 20 minutos em água (ADDOR *et al.*, 2022; BRASIL, 2012).

## 2.4 FILTROS SOLARES QUÍMICOS OU ORGÂNICOS

Os filtros solares orgânicos são moléculas capazes de absorver a radiação UV e transformá-la em radiação inofensiva ao ser humano, de comprimento de onda maior que o incidente, seja na faixa do visível ou do infravermelho (calor) (ADDOR *et al.*, 2022). Podem ser hidro ou lipossolúveis e são, essencialmente, compostos aromáticos conjugados com grupos carboxílicos que possuem um grupo doador de elétrons, como uma amina ou metoxila, na posição orto ou para (MAIER; KORTING, 2005; FLOR; DAVOLOS; CORRÊA, 2007).

Os filtros solares químicos são muito utilizados, no entanto, ainda há informações controversas e insuficiente sobre a segurança desses compostos (YAMADA; MOHAMMED; PROW, 2020). Eles podem desencadear dermatite de contato fotoalérgica (BRYDEN *et al.*, 2006; COLLARIS; FRANK, 2008; VICTOR; COHEN; SOTER, 2010). Além disso, estudos relatam que a oxibenzona e a avobenzona podem causar toxicidade quando administrados à

epiderme viável (YAMADA; MOHAMMED; PROW, 2020). Outros relatos mostram que o ethylhexyl methoxycinnamate apresenta atividade estrogênica e antiprogesterônica; afeta a produção de hormônios tireoidianos e a viabilidade das células nervosas; e é tóxico para células de mamíferos (LORIGO; MARIANA; CAIRRAO, 2018). De acordo com Klopčič e Dolenc (2017), o butyl methoxydibenzoylmethane exibe atividade antiandrogênica, antiglicocorticóide e antitireoidiana.

Sendo assim, mais estudos precisam ser realizados para esclarecer os reais riscos da utilização de filtros solares químicos para a saúde e o meio ambiente. De qualquer modo, apesar da existência de possíveis efeitos nocivos, os benefícios proporcionados por esses filtros solares são maiores que os riscos. Conforme afirmam Howard, Birnie e Sarkany (2021, p. 1944, tradução nossa): “...os claros benefícios do uso de protetores solares, associado à carga global de câncer de pele, devem ser considerados em qualquer comentário que examine os riscos potenciais ou teóricos dos ingredientes de protetores solares. Os protetores solares sem dúvida protegem contra um dos carcinógenos humanos mais potentes e estabelecidos de todos - a radiação ultravioleta”.

## 2.5 FILTROS SOLARES FÍSICOS OU INORGÂNICOS

Os filtros solares físicos agem refletindo e espalhando a luz UV, protegendo assim a pele (GEOFFREY; MWANGI; MARU, 2019). O dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) e o óxido de zinco ( $\text{ZnO}$ ) são os dois filtros inorgânicos aprovados pela FDA e pela ANVISA em virtude de seus efeitos protetores em uma ampla faixa espectral (MANCEBO; HU; WANG, 2014). Ambos exibem características de segurança semelhantes; o  $\text{ZnO}$  é mais eficiente em relação a proteção frente à RUVA (GONZÁLEZ; FERNÁNDEZ-LORENTE; GILABERTE-CALZADA, 2008; LAUTENSCHLAGER; WULF; PITTELKOW, 2007; BARON; KIRKLAND; DOMINGO, 2008). Embora o óxido de ferro, o talco, a calamina e o kaolin sejam mencionados por alguns autores como filtros solares, eles não são aprovados por agências reguladoras como tal (PALM; O'DONOGHUE, 2007; GONZÁLEZ; FERNÁNDEZ-LORENTE; GILABERTE-CALZADA, 2008; LAUTENSCHLAGER; WULF; PITTELKOW, 2007; FDA, 2021; BRASIL, 2016).

Uma vez que os filtros solares inorgânicos, em relação aos orgânicos, apresentam baixo potencial de sensibilização alérgica e de irritação à pele, bem como alta fotoestabilidade, eles são mais apropriados para pessoas com pele sensível. Por outro lado, as suas propriedades refletivas podem causar brilho excessivo, aspecto esbranquiçado (GEOFFREY; MWANGI;

MARU, 2019) e efeito de opacidade na pele (LOWE, 2006), limitando o seu uso devido à baixa aceitação cosmética. A eficiência dos filtros solares inorgânicos está relacionada ao tamanho e à dispersão de suas partículas. Além disso, geralmente, esses compostos estão contidos em formulações fotoprotetoras em associação a filtros solares químicos (GEOFFREY; MWANGI; MARU, 2019).

Uma forma de evitar o tom branco deixado pelos filtros UV físicos na pele é usar sistemas nanoparticulados. No entanto, devido ao seu reduzido tamanho, surgem preocupações a respeito de sua segurança, diante da possibilidade de que as nanopartículas (NPs) possam penetrar no estrato córneo e atingir a circulação sistêmica (ABOU-DAHECH *et al.*, 2022). Nesse sentido, Filipe *et al.* (2009) estudaram a possível penetração de NPs de TiO<sub>2</sub> e ZnO dispersas em 3 formulações fotoprotetoras, em voluntários com pele normal e alterada (pacientes com psoríase). As biópsias realizadas mostraram quantidades detectáveis de NPs de TiO<sub>2</sub> e ZnO apenas na superfície da pele e nas regiões superiores do estrato córneo, com deposição preferencial nas aberturas dos folículos pilosebáceos, havendo ausência de penetração na epiderme viável ou níveis muito baixos de detecção, para as duas condições de pele estudadas.

Sadrieh *et al.* (2010) estudaram a penetração dérmica de três tipos de TiO<sub>2</sub> (submicrométrico não revestido, nanodimensionado não revestido e nanodimensionado revestido com copolímero) em mini porcos. Os autores demonstraram que não houve penetração significativa de NPs-TiO<sub>2</sub> através da epiderme normal intacta, sugerindo que a aplicação tópica de protetores solares contendo NPs-TiO<sub>2</sub> não oferece risco à derme e a outros órgãos.

Leite-Silva *et al.* (2013) avaliaram a influência do revestimento e da formulação na penetração de NPs-ZnO nas diferentes camadas da pele de voluntários. Os autores demonstraram, por método que associa tomografia e microscopia, que as NPs-ZnO revestidas e não revestidas, aplicadas topicamente, permaneceram nas camadas superficiais do estrato córneo e nos sulcos da pele. Houve alguma penetração na epiderme viável, principalmente na borda sulco-celular, porém não houve alteração do estado redox dessas células. Os autores constataram maior capacidade de penetrar nos estratos da pele para NPs-ZnO revestidas, veiculadas em emulsão água-em-óleo. A partir dos resultados, eles concluíram que as NPs-ZnO podem não causar citotoxicidade, como sugerido por estudos *in vitro*.

Leite-Silva *et al.* (2016) avaliaram a penetração e toxicidade de NPs-ZnO revestidas e não revestidas, aplicadas topicamente por voluntários em condições usuais. Observaram que todas as NPs-ZnO estudadas ficaram retidas no estrato córneo ou nos sulcos da pele, não havendo nenhuma penetração significativa na epiderme viável e nenhuma toxicidade celular. Concluíram que as NPs-ZnO aplicadas topicamente, em condições normais de uso, não apresentam potencial significativo de efeitos adversos.

Mohammed, *et al.* (2019) estudaram a segurança da aplicação repetida de NPs-ZnO em humanos, avaliando a penetração cutânea das NPs intactas e de íons zinco, bem como a toxicidade cutânea local. As NPs-ZnO se acumularam na superfície e nos sulcos da pele, mas não penetraram ou causaram toxicidade celular na epiderme viável. As concentrações de íons zinco na epiderme viável da pele humana extirpada foram ligeiramente elevadas, o que foi associado à liberação e penetração desses íons na pele, mas isso não pareceu causar toxicidade local. Em conclusão, a aplicação repetida de NPs-ZnO na pele, como no caso de protetores solares, parece ser segura.

A pele de voluntários é o modelo mais adequado para avaliar a aplicação de filtros solares, seguido do modelo de pele suína. Modelos com camundongos estão distantes da pele humana, em termos de espessura dos estratos da pele, mas são facilmente acessíveis. Os modelos *in vitro* mais relevantes utilizam HaCaT e queratinócitos humanos isolados. Os modelos *in vitro* são baratos, disponíveis e podem ser utilizados na maioria dos laboratórios. O maior desafio no uso de modelos *in vitro* para testar filtros solares é projetar experimentos e interpretar dados de forma que sejam relevantes para extrapolação a seres humanos (YAMADA; MOHAMMED; PROW, 2020).

## 2.6 DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÕES FOTOPROTETORAS

### 2.6.1 Aspectos gerais do desenvolvimento de protetores solares

Um protetor solar ideal deve apresentar certos atributos químicos, físicos, funcionais, de segurança e de eficácia, que devem ser respeitados no processo de desenvolvimento da formulação. Entre as propriedades químicas desejáveis estão a compatibilidade entre os ingredientes da composição e a fotoestabilidade. As características físicas incluem: pequeno tamanho de partícula dos filtros UV físicos; solubilidade adequada dos filtros UV químicos; baixa viscosidade da formulação visando promover boa espalhabilidade e a formação de um

filme contínuo sobre a pele; apelo estético; ausência de odor; capacidade de impermeabilização para conferir resistência à água; e boa adesividade na pele, evitando a transferência para as roupas. Quanto os atributos funcionais e de eficácia, o produto deve oferecer proteção contra à RUV em uma ampla faixa de comprimento de onda. Além disso, em termos de segurança, deve minimizar a sensibilização, irritação e outras reações indesejadas na pele; e não deve apresentar absorção sistêmica. Por fim, os produtos também devem estar livres de contaminantes e prontamente disponíveis, a um custo acessível (GEOFFREY; MWANGI; MARU, 2019).

O processo de desenvolvimento de formulações fotoprotetoras envolve quatro etapas: 1) definição do perfil do produto, incluindo o público alvo (indivíduos de pele sensível, crianças, desportistas, etc.), área de aplicação (rosto, corpo ou ambos), FPS e FPUVA almejados, resistência à água, forma cosmética e tipo de embalagem; 2) seleção dos ingredientes ativos (filtros solares químicos, físicos ou combinação); 3) seleção dos ingredientes adjuvantes (veículo); e 4) otimização da formulação e do processo. A eficácia, a segurança e a conveniência para o usuário devem guiar o desenvolvimento da formulação. Qualquer substância com risco de irritação da pele, bem como alérgenos em potencial devem ser evitados (ADDOR *et al.*, 2022; GEOFFREY; MWANGI; MARU, 2019; LIONETTI; RIGANO, 2017).

Uma composição de filtros solares de amplo espectro deve ser combinada com benefícios adicionais de cuidado da pele, por exemplo, o uso de agentes antioxidantes para prevenir a pigmentação da pele e a degradação da matriz extracelular, bem como reduzir o estresse oxidativo induzido pela exposição à poluição; a adição de agentes antienvhecimento para minimizar o surgimento de sinais de envelhecimento da pele, como rugas e manchas escuras; e o uso de pigmentos como óxido de ferro para prevenir o melasma (KRUTMANN *et al.*, 2021).

Em um estudo randomizado, duplo-cego, controlado por veículo, realizado por Grether-Beck *et al.* (2014), foi verificado que a adição de antioxidantes a protetores solares contendo filtros UV é eficaz na proteção contra eventos moleculares induzidos por infravermelho curto (IRA), indicativos de envelhecimento da pele. A eficácia de um protetor solar FPS 30 versus o mesmo protetor solar suplementado com ativos antioxidantes (extrato de semente de uva, vitamina E, ubiquinona e vitamina C) foi avaliada na proteção da pele humana contra a regulação positiva da metaloproteinase da matriz-1 (MMP-1) induzida pela radiação

IRA. O protetor solar suplementado com antioxidantes protegeu a pele contra o IRA, sugerindo que pode contribuir na prevenção do fotoenvelhecimento, enquanto apenas o protetor solar não teve o mesmo efeito.

## **2.6.2 Alguns ingredientes promissores para uso em protetores solares**

### **2.6.2.1 Argilas**

As argilas e os argilominerais são amplamente utilizados como ingredientes ativos ou excipientes no desenvolvimento de produtos, pelas indústrias farmacêutica e cosmética, devido à versatilidade de suas propriedades químicas, físicas e físico-químicas (MORAES *et al.*, 2017). A definição de argila não é unânime, mas em geral, e de uma perspectiva mineralógica, os argilominerais são aceitos como constituintes fundamentais das argilas. Toda a argila necessita apresentar argilominerais em sua composição, porém, a quantidade mínima não é padronizada (GOMES *et al.*, 2021). Há também controvérsias na literatura sobre “argilominerais” e “argilas”. O primeiro é um termo mineralógico referente a um grupo de minerais, os filossilicatos, constituídos por aluminossilicatos hidratados, contendo quantidades consideráveis de Mg, K, Ca, Na e Fe e íons menos comuns, como Ti, Mn ou Li. O termo “argila” é empregado para designar um material inorgânico natural, de granulometria fina, que apresenta comportamento plástico quando adicionada uma determinada quantidade de água, e endurecimento na secagem (CABRAL JUNIOR *et al.*, 2008; LÓPES-GALINDO; VISERAS; CEREZO, 2007).

É possível encontrar argilas de diversas cores na natureza: vermelha, verde, amarela, roxa, azul, branca, dependendo da presença de Fe e de seu estado químico. Por exemplo, se há o  $Fe^{2+}$ , a argila apresenta cor verde; se há o  $Fe^{3+}$ , a argila é vermelha; e a argila é branca quando não contém ferro (GUBITOSA *et al.*, 2019). Cada argilomineral exibe funções cosméticas ou terapêuticas específicas, como a cicatrização de feridas, clareamento da pele, embelezamento, absorção de sebo, antissepsia, hidratação, vascularização e eliminação de toxinas. Além disso, a consciência ambiental tem refletido no aumento do interesse pelo uso de argilas, pois os argilominerais podem ser facilmente encontrados e não causam danos ao meio ambiente após o descarte (MORAES *et al.*, 2017).

O uso de argilas como ingredientes funcionais em cosméticos deve-se às propriedades de seus argilominerais, como grande área superficial específica, elevada capacidade de

adsorção e absorção, alta capacidade térmica e de troca iônica, boas características reológicas, opacidade, alta refletância, inércia química e toxicidade baixa ou nula (GUBITOSA *et al.*, 2019; MORAES *et al.*, 2017). Além disso, os minerais da argila têm carga elétrica globalmente negativa, o que impacta em suas propriedades físico-químicas. Dependendo do pH, essa carga elétrica pode ser modificada pelo efeito de revestimentos de superfície. Tais modificações têm consequências nas propriedades da argila, como troca iônica, plasticidade e reologia (GOMES *et al.*, 2021).

Argilas com alta capacidade de sorção (contendo caulinita, esmectita e talco) podem ser usadas em emulsões, cremes e pós para conferir opacidade, remoção de brilho e cobertura de imperfeições da pele. Elas aderem à pele e formam uma película protetora capaz de absorver o excesso de sebo. Em virtude da atividade absorvente, são recomendadas para processos inflamatórios, como dermatite seborreica, psoríase, eczemas ou acne (GUBITOSA *et al.*, 2019; MORAES *et al.*, 2017). Além disso, a capacidade de adsorção de toxinas, bactérias e vírus é outra propriedade interessante na presença de afecções cutâneas (GOMES *et al.*, 2021).

Argilas e argilominerais são também candidatos potenciais como agentes naturais de fotoproteção. Segundo a literatura, eles podem ser utilizados em formulações de protetores solares e atuar por mecanismos de absorção ou reflexão da RUV (GUBITOSA *et al.*, 2019; MORAES *et al.*, 2017).

Hoang-Minh *et al.* (2010) tentaram, através de espectrofotometria no UV-VIS, estabelecer o potencial de proteção UV de algumas argilas: caulins, bentonitas, argila dominada por séries de camadas mistas, argilas dominadas por mica e argilas tratadas com ditionito. Segundo os autores, as argilas puderam absorver UV por si mesmas, uma vez que cada amostra de creme contendo argila (20%) exibiu um valor diferente de transmitância. Eles concluíram também que o teor de  $Fe_2O_3$  na argila, bem como o seu comportamento de expansão, influenciaram a capacidade do material de bloquear o UV. Houve correlação linear negativa com o teor total de  $Fe_2O_3$  para as argilas não expansíveis e relação exponencial para as expansíveis.

Outro trabalho estudou o FPS *in vitro* de uma argila branca e outra vermelha usadas como agentes fotoprotetores por mulheres indígenas na África do Sul. A argila branca exibiu FPS *in vitro* de 3,6, razão UVA/UVB de 0,9 e comprimento de onda crítico de 388 nm. A argila vermelha obteve FPS *in vitro* de 4, razão UVA/UVB de 1 e comprimento de onda crítico de

389 nm. Segundo os autores, embora não tenham apresentado elevado FPS *in vitro*, ambas as argilas foram classificadas como fotoprotetores de amplo espectro, pois seus comprimentos de onda críticos foram maiores que 370 nm. Eles também afirmaram que, por apresentar maior proporção de partículas com tamanhos menores, a argila vermelha teve maior capacidade de dispersão e absorção de luz (DLOVA *et al.*, 2013).

Xing e Garland (2012) reivindicaram formulações fotoprotetoras contendo argila oceânica natural em quantidades sinergicamente efetivas, promovendo o aumento do FPS e FPUVA quando combinadas com filtros solares. Por exemplo, uma formulação com 13% de ZnO e 5% de argila oceânica natural (Mesh 80) obteve FPS *in vivo* de 47,3; FPS *in vitro* de 56,0; e FPUVA de 24,6, indicando um aumento de 66% no FPS e 27% no FPUVA em relação à formulação sem argila oceânica natural. Os inventores apontaram, como explicação para esse resultado, a melhora da dispersão das partículas promovida pela argila empregada, resultando em melhor distribuição dos ativos do protetor solar na pele.

Thiesen *et al.* (2019) testaram as propriedades fotoprotetoras *in vitro* de uma emulsão O/A com 3% de caulim e 5% de extrato glicólico de folha de *Litchi chinensis*, por meio da avaliação da viabilidade celular de fibroblastos (células L929) expostos à radiação UVB. A formulação contendo apenas o extrato de *L. chinensis* apresentou fotoproteção de 32,9%, a que continha somente caulim exibiu fotoproteção de 28,7%, enquanto que a formulação contendo o extrato e a argila exerceu fotoproteção de 39,3%. Assim, os autores concluíram que a associação da caulinita com o extrato estudado resultou em um efeito *booster* de fotoproteção.

Zonta *et al.* (2019) reivindicaram composições fotoprotetoras caracterizadas por conterem quantidades sinergicamente efetivas de pelo menos uma argila, pelo menos um óleo e/ou extrato vegetal com atividade fotoprotetora e/ou antioxidante, e pelo menos um filtro solar inorgânico, bem como formulações na forma de emulsão, dispersão, pasta, pó ou bastão incluindo as referidas composições fotoprotetoras. Os resultados apresentados no pedido de patente demonstraram que as respostas de eficácia das formulações (FPS, FPUVA, comprimento de onda crítica e razão UVA/UVB) foram influenciadas pelos constituintes da composição fotoprotetora e pelas interações que ocorreram entre eles. Nos exemplos apresentados no pedido de patente, as formulações fotoprotetoras continham a associação entre ZnO, TiO<sub>2</sub>, caulim e óleo de açaí.

### 2.6.2.2 Chá verde

Formulações fotoprotetoras associados a produtos naturais, em especial os com reconhecida ação antioxidante, têm cada vez mais ganhado espaço no mercado cosmético, devido à sua eficácia potencializada por meio da interação entre a substância de origem natural e os filtros UV, além de outros benefícios gerados para a pele (DONG *et al.*, 2019; YAROVAYA *et al.*, 2020). Nesse sentido, a *Camellia sinensis*, conhecida como chá verde, é um dos antioxidantes naturais mais populares (PRASANTH *et al.*, 2019) e desempenha um papel importante no mercado de cosméticos (KOCH *et al.*, 2019).

A *Camellia sinensis* (L.) Kuntze é um arbusto ou árvore de pequeno porte de origem asiática pertencente à família Theaceae (LORENZI; MATOS, 2002) e dá origem a uma das bebidas mais populares do mundo, produzida a partir de suas folhas e brotos. Com base nos processos de obtenção, fabricação e, conseqüentemente, na disponibilidade de compostos bioativos, as bebidas são divididas em chá branco, chá verde, chá oolong e chá preto. O chá branco é composto por folhas jovens não fermentadas. O chá verde é obtido através da exposição das folhas ao vapor d'água e a altas temperaturas, um processo que inativa as enzimas oxidantes de polifenóis e aumenta a quantidade de cafeína. O chá oolong é parcialmente fermentado durante o processamento. O chá preto é produzido por fermentação/oxidação das folhas e apresenta alto teor de cafeína e taninos, bem como de polifenóis mais complexos, como tearubiginas e teaflavinas, que lhe conferem a cor vermelho acastanhado (CAVINATO *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2022).

A composição fitoquímica da *C. sinensis* consiste em polifenóis (~90%), aminoácidos (~7%), teanina, proantocianidinas e cafeína (~3%). Entre os polifenóis, as catequinas e os flavonóis (miricetina, cairferol, quercetina, ácido clorogênico, ácido cumarilquínico e teogalina) são os principais constituintes. Catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina, epicatequina galato, galocatequina galato e epigalocatequina galato (EGCG) são as principais catequinas presentes no chá verde. A EGCG é a catequina mais abundante, representando 50-80% do total e é a principal contribuinte para os vários benefícios do chá verde à saúde. A cafeína também está presente, juntamente com vestígios de outras metilxantinas, como teobromina e teofilina (PRASANTH *et al.*, 2019).

As catequinas da *C. sinensis* são descritas como agentes antioxidantes potentes com base em estudos *in vitro* (ALMAJANO *et al.*, 2008; YANG; LAMBERT; SANG, 2009) e *in vivo* (SUNG *et al.*, 2000; ARENT *et al.*, 2010; VINSON; TEUFEL; WU, 2004; FREI; HIGDON, 2003). O efeito das catequinas sobre os radicais livres é multidirecional e inclui: extinção direta de EROs e ERNs; quelação de oligoelementos que estão envolvidos na geração de radicais livres (por exemplo, cobre ou ferro); aumento da produção de enzimas antioxidantes endógenas (superóxido dismutase e glutatona); inibição de enzimas envolvidas na geração de EROs (glutatona S-transferase, monooxigenase microssomal, succinoxidase mitocondrial ou NADH oxidase); proteção e regeneração de compostos antioxidantes (vitamina C ou E) (HEINRICH *et al.*, 2011; ARENT *et al.*, 2010; VINSON; TEUFEL; WU, 2004).

Os polifenóis da *C. sinensis* contribuem na atividade de eliminação de EROs e ERNs, o que o torna um potencial candidato na terapia antifotoenvelhecimento (PRASANTH *et al.*, 2019). Lee, Kim e Kim (2014) relataram que um extrato aquoso de chá verde melhorou a pele de camundongos afetados pelo fotoenvelhecimento, por meio do aumento do nível de fibras de colágeno e elastina e da redução da expressão de enzimas que degradam o colágeno, mostrando potencial efeito anti-rugas. Hong *et al.* (2013) testaram um extrato de *C. sinensis* aplicado nos “pés de galinha” (rugas formadas no canto externo dos olhos) de 42 mulheres coreanas, duas vezes ao dia, durante oito dias consecutivos. Foi observado que o extrato exibiu atividade de eliminação de radicais livres e efeito antirugas.

Segundo a literatura, extratos de *C. sinensis* e seus ingredientes, quando utilizados topicamente ou por via oral, podem proteger a pele dos efeitos nocivos da RUV. Como resultado, tais ingredientes podem ser incorporados à formulações de protetores solares (RATNASOORIYA *et al.*, 2014). Um estudo realizado por Ratnasooriya *et al.* (2014) investigou o potencial de proteção solar de três variedades de chá preto ortodoxo do Sri Lanka, por meio da avaliação do FPS espectrofotométrico obtido pelo método de Mansur. Segundo os autores, as três variedades apresentaram elevada atividade fotoprotetora *in vitro* e, portanto, apresentam potencial para a incorporação em protetores solares. Em outro estudo, Mnich *et al.* (2009), aplicaram um extrato de *C. sinensis* e um placebo na pele de voluntários antes da exposição à RUV. Os autores informaram que o pré-tratamento com o extrato resultou em redução significativa no número de células com queimadura solar, observada na análise de biópsia, e do nível de eritema. Em um trabalho realizado por Elmets *et al.* (2001), diferentes concentrações de um extrato de *C. sinensis* foram aplicadas na pele de voluntários antes da exposição UV. Na segunda parte do estudo, a pele dos voluntários foi tratada com os polifenóis

isolados da *C. sinensis*. O extrato completo demonstrou ser mais eficaz na proteção contra eritema, queimaduras solares e danos ao DNA, sugerindo que a atividade combinada dos polifenóis do chá verde é superior em relação aos constituintes individuais. Camouse *et al.* (2009) realizaram um estudo duplo-cego randomizado, em que a aplicação tópica de dois extrato *C. sinensis* (chá verde e chá branco) foi realizada em voluntários antes e depois da exposição à RUV. Após 72 h da exposição à RUV, houve redução maior das células epidérmicas de Langerhans nas amostras de pele obtidas para o controle (veículo), enquanto que as amostras de pele tratadas com os extratos de *C. sinensis* apresentaram uma menor redução dessas células, demonstrando proteção exercida pelos extratos no sistema imunológico da pele. Os autores ressaltaram que o efeito protetor observado não resultou da absorção direta do UV pelos constituintes dos chás, uma vez que ambos apresentaram FPS de 1.

#### 2.6.2.3 Seaberry

*Hippophae rhamnoides* L., também conhecido como Sea buckthorn, Sea berries ou Seaberry, pertence à família Elaeagnaceae e é um arbusto florido nativo da Eurásia, principalmente da Índia, Suíça, França, Hungria, Suécia, Finlândia, Nepal, Rússia, China, Mongólia, Afeganistão, Paquistão, Cazaquistão, Butão, Grã-Bretanha, Alemanha e Noruega. A planta apresenta grande variedade de metabólitos secundários por exemplo, quercetina, kaempferol, ácido clorogênico, catequinas, miricetina, luteína, caroteno, zeaxantina, licopeno, tocoferol, taninos, ácido ursólico, ácido linolênico (ômega-3), ácido linoleico (ômega-6), ácido palmitoleico (ômega-7), ácido oleico (ômega-9), ácido palmítico e fitoesteróis, entre outros (PUNDIR *et al.*, 2021).

A ampla gama de ingredientes ativos presentes nos frutos, folhas e sementes da *H. rhamnoides* tem sido efetivamente explorada nas indústrias cosmética e farmacêutica. A planta apresenta propriedades regenerativas, atuando como protetor da pele frente ao ressecamento, RUV, sinais de envelhecimento e certas doenças. Suas substâncias ativas, como os polifenóis, possuem propriedades antioxidante, antimicrobiana, antiviral, antifúngica e antiinflamatória (RAFALSKA, ABRAMOWICZ, KRAUZE, 2017). Também são apontados benefícios na regulação da oleosidade da pele; em casos de psoríase e dermatite atópica; na cicatrização de feridas; além de aumentar a circulação sanguínea e melhorar a imunidade. O óleo obtido a partir

de partes da planta, como a baga e as sementes, é frequentemente empregado em cosméticos para o cuidado de qualquer tipo de pele, especialmente de pele seca, escamosa ou envelhecida, devido a sua composição equilibrada de ácidos graxos e vitaminas. Além disso, a presença de ácidos graxos insaturados, como o ácido  $\gamma$ -linolênico e o ácido palmitoléico, são responsáveis pelas propriedades reparadoras e regeneradoras da pele. O ácido palmitoléico é o principal componente capaz de tratar doenças de pele como a dermatite atópica (PUNDIR *et al.*, 2021).

Por outro lado, o extrato seco das bagas de *H. rhamnoides*, incorporado em uma emulsão O/A (5%), demonstrou eficácia no clareamento da pele e em melasmas presentes na face de pacientes. Os autores justificaram esses resultados em função da presença de catequinas, ácido gálico, flavonóides, quercetina, ácidos orgânicos (ácido linoleico, ácido oleico), responsáveis pela redução da melanina da pele (efeito anti-melasma) por um mecanismo de inibição da tirosinase (KHAN *et al.*, 2013).

Os carotenóides ( $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -caroteno) presentes no óleo de *H. rhamnoides* são compostos muito valiosos para a indústria cosmética, sendo associados à capacidade de absorver a RUV, podendo convertê-la em vitamina A (retinol), bem como à atividade antirradicais livres (RAFALSKA, ABRAMOWICZ, KRAUZE, 2017). Um estudo realizado por Gegotek *et al.* (2018) apontou que o óleo da semente de *H. rhamnoides* foi capaz de prevenir distúrbios induzidos por UV no equilíbrio redox (estimulando o sistema antioxidante), bem como no metabolismo lipídico em fibroblastos e queratinócitos da pele, o que o torna um composto natural promissor na fotoproteção da pele.

#### 2.6.2.4 Ácido fítico

O ácido fítico, também denominado de ácido mio-inositol hexafosfórico, é um composto de ocorrência natural em plantas, especialmente em grãos, cereais e leguminosas, servindo como uma forma de armazenamento de fósforo. Nas sementes de leguminosas, o ácido fítico contém aproximadamente 70% do conteúdo de fosfato, sendo estruturalmente integrado com proteínas e/ou minerais na forma de complexos. O ácido fítico está presente em altas concentrações no farelo de arroz (2,6–8,7%), farelo de trigo (2–7%), milho (0,7–2%), gérmen de milho (6,39%), gérmen de trigo (1–4%), entre outros (SCHLEMMER *et al.*, 2009; SILVA, SILVA, 1999).

As aplicações do ácido fítico em cosméticos são como agente quelante biodegradável (VARVARESOU *et al.*, 2009; BAREL; PAYE; MAIBACH, 2014) e composto antioxidante,

podendo também ser empregado como um ingrediente ativo de formulações para o tratamento de manchas na pele (BABBUSH, BABBUSH, KHACHEMOUNE, 2021).

Em função de sua ação quelante, Varvaresou *et al.* (2009) relataram a aplicação do ácido fítico em cosméticos auto-preservantes, uma vez que os agentes quelantes bloqueiam o ferro necessário para o metabolismo e crescimento microbiano. Além disso, os quelantes aumentam a permeabilidade das membranas celulares de bactérias gram-negativas, tornando-as mais sensíveis aos agentes antimicrobianos.

O ácido fítico, ao contrário de outros antioxidantes, é estável e não consumido pela reação com espécies de oxigênio ativado. Possui alta afinidade com o ferro, permitindo inibir várias reações oxidativas, bloquear a formação de radicais hidroxila e diminuir a peroxidação lipídica (BABBUSH, BABBUSH, KHACHEMOUNE, 2021).

O uso do ácido fítico como clareador de manchas na pele ocorre por ser um ácido alfa-hidroxila (AHA), que atua induzindo leve esfoliação ou efeito fraco de peeling na superfície cutânea (HOUSHMAND, 2021) e também pela sua ação antitirozinase (DEPREZ, 2003). O peeling químico consiste de aplicação tópica de um agente químico capaz de produzir lesão controlada, levando à regeneração da pele, o que pode resultar em melhora da textura, pigmentação mais homogênea e redução de rugas (AL-MOKADEM *et al.*, 2013). Uma desvantagem dos peelings tradicionais de AHAs é a necessidade de adequada neutralização. Se o peeling for neutralizado muito rapidamente, não produzirá os efeitos desejados; se a neutralização for postergada, poderão haver efeitos colaterais indesejados. Nesse sentido, o peeling de ácido fítico é uma alternativa segura e eficaz no tratamento do melasma, apresentando como vantagem, não necessitar neutralização (SARKAR; BANSAL; GARG, 2012).

Vários trabalhos descrevem o uso bem-sucedido de peelings de ácido fítico associado a outros compostos, no tratamento de melasmas e/ou da acne. Khemis *et al.* (2011) avaliaram uma combinação de 10% de ácido l-ascórbico e 2% de ácido fítico. Al-Mokadem *et al.* (2013) investigaram o produto Easy Phytic Peel, uma combinação de 17% de ácido láctico, 14% de ácido glicólico, 5% de ácido mandélico e 1,2% de ácido fítico. Faghihi *et al.* (2017) estudaram a combinação de ácido azeláico 20%, resorcinol 10% e ácido fítico 6%. Houshmand (2021) avaliou uma composição contendo ácido glicólico 10%, ácido fítico 2% e complexo calmante (jojoba e semente de girassol) 1%.

Por fim, Manosroi *et al.* (2012) correlacionaram o ácido fítico à atividade antienvelhecimento. Os autores relataram a melhora na hidratação, pigmentação, espessura, rugosidade e elasticidade da pele de voluntários, após 28 dias de tratamento com formulações (gel e creme) contendo niossomas de ácido fítico, ácido ferúlico e  $\gamma$ -orizanol (bioativos do farelo de arroz).

### 2.6.3 Abordagem QbD no desenvolvimento de protetores solares emulsionados

Emulsões são dispersões coloidais de um líquido em outro líquido imiscível, estabilizadas usando tensoativos e/ou partículas sólidas. As emulsões são de grande importância devido à sua ampla aplicação em indústrias como farmacêutica, cosmética, alimentícia e agrícola. Na indústria cosmética, representam um dos sistemas mais comumente utilizados por serem altamente versáteis (SEMENZATO *et al.*, 2018).

De acordo com a natureza da fase dispersa, é possível adquirir emulsões óleo em água (O/A) ou água em óleo (A/O) (SIMÕES *et al.*, 2018). As emulsões O/A consistem em uma fase oleosa dispersa por toda a fase aquosa como gotículas contendo os emulsificantes. Os emulsificantes são essenciais para o início da formação, estabilidade e propriedades físico-químicas desejáveis das emulsões. A composição de uma emulsão tem grande influência em suas propriedades físicas, que por sua vez influenciam o comportamento do produto. Sabe-se que a textura da emulsão é significativa para a preferência dos consumidores quanto à aplicação. Comparadas à emulsão A/O, emulsões O/A, como leites, espumas ou cremes, proporcionam sensação de oleosidade reduzida quando aplicadas na pele (AZMI *et al.*, 2022).

As emulsões são sistemas termodinamicamente instáveis devido à alta tensão interfacial entre as duas fases imiscíveis e à elevada energia livre. Uma emulsão estável pode ser alcançada quando a concentração de tensoativos e as condições de emulsificação (tempo de mistura, velocidade) são otimizadas. Emulsionantes são adicionados para estabilizar a interface óleo-água. Os tensoativos são a escolha usual para esse propósito e são usados tanto para emulsões de A/O quanto de O/A, principalmente para emulsionar, solubilizar, dispersar o óleo ou a fase aquosa, aumentar a estabilidade e melhorar a adsorção (ajudar a penetração da emulsão na pele e no cabelo). O papel de um tensoativo é reduzir a tensão interfacial entre as fases, minimizando assim a energia livre do sistema e subsequentemente estabilizando a interface para resistir à coalescência (SEMENZATO *et al.*, 2018).

As emulsões são veículos promissores para a administração de substâncias ativas na pele, apesar de serem desafiadoras devido à instabilidade termodinâmica e formulação complexa. No âmbito da pesquisa e desenvolvimento, a aplicação de uma abordagem sistemática é essencial para manter elevados padrões de qualidade, prevenir rejeições durante a fabricação e obter a aprovação regulatória de sistemas emulsionados (SIMÕES *et al.*, 2018).

A indústria farmacêutica, visando garantir qualidade, conformidade regulamentar e eficiência econômica, emprega tecnologias e processos complexos que demandam equilíbrio entre avanços científicos e operacionais. No entanto, a falta de compreensão racional das variáveis críticas e estratégias de controle representa um desafio para assegurar a qualidade dos produtos. Nesse contexto, a FDA destaca a Quality-by-Design (QbD) como uma iniciativa essencial para o século XXI, introduzindo uma nova dimensão ao desenvolvimento e fabricação farmacêutica. A implementação da QbD envolve a definição do perfil de qualidade alvo do produto (QTPP) e atributos críticos de qualidade (CQAs), avaliação de riscos, identificação de atributos críticos de materiais (CMAs) e parâmetros críticos de processo (CPPs), design de experimentos (DoEs), estabelecimento de estratégias de controle, bem com a busca contínua por melhorias e inovações ao longo do ciclo de vida do produto (ICH, 2023; SIMÕES *et al.*, 2018).

O desenvolvimento farmacêutico sob a abordagem QbD, conforme a diretriz ICH Q8, visa criar um produto e seu processo de fabricação alinhados ao desempenho de qualidade desejado. Durante o desenvolvimento, a identificação, compreensão e controle de variáveis críticas, com a definição de faixas operacionais ideais, possibilitam a produção de um produto com o perfil de qualidade exigido. As informações de estudos de desenvolvimento e experiência de fabricação aprimoram a compreensão científica, fundamental para abordagens regulatórias mais flexíveis, cujo grau depende do conhecimento científico apresentado no dossiê de registro. Ao adotar o QbD em uma formulação complexa como uma emulsão, é possível desenvolver eficientemente um produto com formulação otimizada e processo de fabricação robusto. Isso representa uma oportunidade para as empresas farmacêuticas melhorarem a eficiência, reduzirem custos de produção, variabilidade do produto e defeitos, obtendo aprovações regulatórias mais flexíveis e garantindo a produção de produtos farmacêuticos de alta qualidade com liberação em tempo real (ICH, 2009; SIMÕES *et al.*, 2018).

Buzzo *et al.* (2021) aplicaram o conceito de QbD para obter protetores solares emulsionados estáveis e eficazes. Utilizando a ferramenta estatística de planejamento de experimentos, identificaram a influência do tipo de emulsificante e das concentrações do agente emoliente na obtenção de formulações com características organolépticas e físico-químicas adequadas. A abordagem QbD foi essencial para selecionar a melhor emulsão protetora solar com adequados parâmetros físico-químicos, como pH e viscosidade. A emulsão mais promissora não apresentou alterações de pH, tamanho de gotas, condutividade e fator de proteção solar ao longo do tempo, demonstrando estabilidade durante o armazenamento. Também apresentou comportamento pseudoplástico, o que é atrativo para o desempenho de um protetor solar após a aplicação na pele, por permitir a formação de um filme. Portanto, a abordagem QbD permitiu o desenvolvimento de emulsões O/A fotoprotetoras estáveis e eficazes.

### 3 CAPÍTULO 1 – ARTIGO CIENTÍFICO

#### Applying the Quality by Design Approach to Improve Physical Stability in Natural Sunscreen Development

Larissa Carniel<sup>1</sup>, Marina Gomes<sup>1</sup>, Giovana Carolina Bazzo<sup>1</sup>, Joana Marto<sup>2</sup>, Helena Margarida Ribeiro<sup>2</sup>, Bianca Ramos Pezzini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 88040-900, Brazil

<sup>2</sup> Research Institute for Medicine (iMed.Ulisboa), Faculty of Pharmacy, University of Lisbon, Lisbon, 1649-003, Portugal

#### Abstract

Emulsions are thermodynamically unstable systems formed by droplets of a liquid dispersed in another immiscible liquid. They are widely used in the cosmetic industry, since multiple ingredients with different physicochemical properties can be combined in the same formulation. Frequently, these products are designed based on trial-and-error approaches, which can be ineffective and time-consuming. On the other hand, a Quality by Design (QbD) approach was used in this study to develop an emulsified vehicle followed by a natural sunscreen. The first 2<sup>3</sup> full factorial design was employed to assess the effects of the concentrations of polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol (PSGSSA), brassica glycerides (BG), and xanthan gum (XG) on the apparent viscosity and instability index ( $I_{\text{index}}$ ) of the emulsified vehicle. Subsequently, another 2<sup>3</sup> full factorial design was used to evaluate the effects of the concentration of zinc oxide (ZnO), titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>), and phytic acid (PA) on the  $I_{\text{index}}$  of the natural sunscreen formulation. Both the experimental domains were constructed by varying three factors in two levels (-1.0 and +1.0), and three central points (0.0) were included in both to estimate the intrinsic error. Other formulation ingredients were natural oil and extract, antioxidant agent, rheological and sensory modifier, film former, humectants, preventatives, and emollients. All hierarchical terms and interactions were evaluated by analysis of variance and mathematical models were determined by linear regression. A non-significant lack-of-fit was considered appropriate to model prediction. Values of  $R^2$ , adjusted  $R^2$ , and adequate precision were also determined. The  $I_{\text{index}}$  of the emulsified vehicle was influenced by the concentrations of PSGSSA and BG, while its apparent viscosity was influenced by PSGSSA and XG concentrations, and by interactions among PSGSSA, BG, and XG. The  $I_{\text{index}}$  of the sunscreen formulation was influenced mainly by ZnO and PA concentrations. The mathematical models developed were robust and were used to predict optimal emulsified vehicle and sunscreen formulation compositions within the experimental domains, which were: 8% of PSGSSA, 3% of BG, and 0,3% of XG; and 6.3% of ZnO, 2% of TiO<sub>2</sub> and 1% of PA, respectively. The optimized formulations fully met the Quality Target Product Profiles, demonstrating the effectiveness of the QbD approach in developing a physically stable, high-quality natural sunscreen.

Keywords: Quality by Design, natural cosmetic, emulsion, stability, sunscreen.

## 1. Introduction

The skin is routinely exposed to multiple environmental aggressors, including solar radiation, whose biological impacts can lead to sunburn, irregular pigmentation, skin aging, and the development of cancer. As part of the photoprotection strategy, sunscreens constitute a vital component aimed at mitigating the damage caused by solar radiation. To achieve effective results, patients must adhere to the application of the product, while the product itself must adhere to technical specifications to ensure optimal protection (ADDOR *et al.*, 2022).

UV filters, which are the active ingredients in sunscreens, exist in two main categories: inorganic (physical or mineral) and organic (chemical). Organic filters, including butyl methoxydibenzoylmethane, oxybenzone, ethylhexyl methoxycinnamate, ethylhexyl salicylate, octocrylene, and homosalate, often incorporate a chromophore - an aromatic molecule linked to carbonyl groups - enabling sunlight absorption and conversion to thermal energy. In contrast, inorganic filters like zinc oxide and titanium dioxide function through light reflection and scattering. Organic filters can generate photostable formulations, with wide UVA and UVB protection, and enhanced aesthetics compared to their inorganic counterparts. Yet, they may induce skin irritation and allergies. Recent investigations demonstrated the systemic absorption of all aforementioned organic UV filters following a single use. Additionally, evidence suggests estrogenic and antithyroid effects of these filters. Inorganic UV filters are more stable, lasting longer, but they pose aesthetic problems since they leave a white residue on the skin, which has been minimized using micronized formulations. Nevertheless, they are more difficult to formulate. Both organic and inorganic filters pose environmental risks, accumulating in coastal waters and causing endocrine disruption in marine life, altered fish hormonal profiles, sea urchin developmental anomalies, and coral bleaching. These challenges prompted exploration into photoprotective natural or renewable-sourced alternatives, such as UV-absorbing phytochemicals (polyphenols, anthocyanidins, vitamins, carotenoids, etc.), addressing ecological and health concerns (MARTINS; MARTO, 2023).

The development of an appropriate vehicle for sunscreens is also of utmost importance, as viscosity and emulsifying agents influence the stability, sensory properties and surface tension of sunscreens, modulating the distribution of UV filters and the formation of a uniform film of the product on the skin. Currently, sunscreens are available in the most varied forms, adapted to the climate and habits of each country, such as fluid, cream, gel and aerogel, lotion, mousse, spray, serums, dry-touch texture, among others, and the type of vehicle and application conditions affect film thickness, which ultimately influences the effectiveness of the SPF.

Additionally, although protection effectiveness is a requirement, clinical practice demonstrates that textures with a more pleasant touch and spreadability have greater cosmetic acceptability and increase patient compliance with the use of sunscreens (ADDOR *et al.*, 2022).

Emulsions are thermodynamically unstable systems that consist of two immiscible fluids, typically oil and water. In this system, one fluid is dispersed as droplets within the other, creating a continuous phase and a dispersed phase. Emulsions can take different forms, such as oil-in-water (O/W), water-in-oil (W/O), as well as W/O/W or O/W/O. They can also vary in size, with macro-emulsions having droplet sizes larger than 1  $\mu\text{m}$ , while mini-emulsions (or nano-emulsions) have droplet sizes ranging between 100 and 1000 nm. Emulsified products are widely used in various industries and applications, including cosmetics, due to their ability to combine a diverse range of hydrophilic and hydrophobic ingredients. As a result, there is significant interest in understanding the relationship between formulation variables, process variables, and the properties of emulsions to facilitate the rational and successful design of value-added products (CALVO *et al.*, 2020).

Ensuring the physical stability of these complex microstructures is a key challenge due to their thermodynamic instability and tendency to undergo phase separation during storage. Therefore, predicting the physical stability of emulsion-based semisolids and gaining a better understanding of formulation and process parameters that can impact their destabilization are of great importance to obtain high-quality products (BADRUDDOZA *et al.*, 2023).

The introduction of Quality-by-Design (QbD) concepts highlights the importance of integrating and shaping pharmaceutical product quality during manufacturing. It is now widely acknowledged that a significant portion of quality issues originates from the initial product design. In other words, regardless of the extent of tests and analyses conducted for quality verification, a poorly designed product is destined to exhibit compromised safety and efficacy. Therefore, QbD acknowledges that enhancing product quality goes beyond increasing analytical assessments; rather, quality should be intrinsic. In fact, QbD embodies a systematic approach to pharmaceutical development, starting with clear objectives and a thorough understanding of the product and its production process. This includes robust process control, grounded in scientific principles and effective quality risk management. By adopting QbD, valuable knowledge and scientific insights significantly support product development (FUKUDA *et al.*, 2018).

The aim of this study was to apply the Quality by Design (QbD) approach in developing a physically stable, high-quality natural sunscreen. First, an emulsified vehicle was developed, followed by UV filters incorporation for obtaining a natural sunscreen. Experimental design and optimization studies centered on formulation variables, assessing both the resulting apparent viscosity and instability index ( $I_{\text{index}}$ ) for the emulsified vehicle, as well as the  $I_{\text{index}}$  for the sunscreen formulation. Additionally, the antioxidant activity and photoprotective efficacy were assessed for the optimized emulsified vehicle and sunscreen formulation, respectively. Insights on process variables were also gained, which will be the focus in a further study. In summary, this work addressed the growing demand for high-quality and high-performance green and natural products by consumers.

## 2 Material and Methods

### 2.1 Material

Keltrol® CG-Lax T (xanthan gum), SustOleo™ BG (brassica glycerides), and PolyAquil™ 2W (polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol) were supplied, respectively, by IMCD, Inolex, and Razzini & Partners. Cosphaderm® PA Econat (phytic acid, aqua) and Cosphaderm® T-70 NON GMO ECO (tocopherol, *Helianthus annuus* seed oil) were provided by Colormix. Omegaia (*Hippophae rhamnoides* seed oil, *Hippophae rhamnoides* fruit oil) and Fitoglicerinado de Chá-verde (*Camellia sinensis* leaf extract) were supplied, respectively, by PIC and Heide. Zinc oxide (77%) and titanium dioxide (45%) dispersions were provided by Cosmotec. All the suppliers operate in Brazil. Other formulation ingredients were of cosmetic grade. Purified water was obtained by an ultrapure water system with 0.22 µm membrane filter (Milli-Q®, Millipak®, Millipore, USA). The reagent and solvents used were: DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich®, USA), hexane 95%, and ethanol 95% of analytical grade.

### 2.2 Methods

#### 2.2.1 Identification of formulation's QTPP and CQAs

The Quality by Design approach was adopted in this study according to ICH guideline Q8 (R2) (ICH, 2009). The quality target product profiles (QTPPs) for the emulsified vehicle and the sunscreen formulation were defined based on scientific, regulatory, and practical considerations, as shown in Tables 1 and 2.

Table 1. QTPP of the emulsified vehicle.

QTPP Element	Target	Reference
Route of administration	Topical	-
Dosage form	Oil-in-water emulsion	WEIG <i>et al.</i> 2020; WANG; VIRMANI; LIM, 2015
pH	Between 5.0 and 6.0	NAMJOSHI <i>et al.</i> , 2020
Apparent viscosity	Between 400,000 and 500,000 cP	-
Rheological properties	Non-Newtonian and shear-thinning fluid	-
Physical stability	Without separation of phases Instability index $\leq 0.05$	MODI; SHARMA; CAMPBELL, 2020; HERNANDEZ <i>et al.</i> , 2020
In vitro studies	Antioxidant activity (%NFR $\geq 50$ )	KRUTMANN <i>et al.</i> , 2021

Table 2. QTPP of the sunscreen formulation.

QTPP Element	Target	Reference
Route of administration	Topical in the body	-
Dosage form	Suspension in emulsified vehicle	-
Sustainability	Meet COSMOS Natural criteria	COSMOS, 2023a; COSMOS, 2023b
pH	Between 5.0 and 6.0	NAMJOSHI <i>et al.</i> , 2020
Rheological properties	Pseudoplastic behavior	COSTA; CAMPOS, 2023
Physical stability	Without separation of phases Instability index $\leq 0.1$	MODI; SHARMA; CAMPBELL, 2020; HERNANDEZ <i>et al.</i> , 2020
In vitro studies	UVA-PF = $\geq \frac{1}{3}$ of SPF Critical wavelength $\geq 370$	EUROPEAN, 2006; COSMETICS EUROPE, 2009
In vivo studies	SPF = between 6 and 8 Water resistance = informative	COLIPA, 2005; COSMETICS EUROPE, 2023; EUROPEAN, 2006

### 2.2.2 Identification of CMAs and selection of formulation ingredients

The formulation ingredients were selected taking into account the critical material attributes (CMAs) identified in Table 3.

Table 3. CMAs for the emulsified vehicle and the sunscreen formulation.

Ingredient	CMA	Target	Reference
All	Sustainability	Allowed in COSMOS Natural cosmetics	COSMOS, 2023a; COSMOS, 2023b
Surfactant	emulsifier o/w	o/w emulsion	DAHL <i>et al.</i> , 2018
Natural oil and extract	Antioxidant activity	-	KRUTMANN <i>et al.</i> , 2021
Inorganic UV filters	Particle size	Non-nano	EU, 2009

#### 2.2.2.1 Antioxidant activity of formulation ingredients

The antioxidant activity was assessed by the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical neutralization test, according to Damasceno *et al.* (2018) with modifications. A 50 mg aliquot of the ingredient was added into a 10.0 mL volumetric flask, making up to mark using hexane:ethanol 95% (15:85 v/v). The mixture (5 mg/mL) was sonicated for 40 min and then transferred to a test tube. The tube was centrifuged for 20 min at 1,000 rpm. Then, 1.0 mL of the supernatant was added to another test tube to react with 5.0 mL of a DPPH solution (60 µM in ethanol 95%) for 30 min in the dark. Next, the test solution absorbance was measured at 517 nm in a spectrophotometer (Perkin Elmer®, Lambda™ 25, USA). The results were expressed as free radical neutralization percentage (% NFR), according to the Equation 1, where “control absorbance” is the absorbance of the DPPH solution and “sample absorbance” is the absorbance of the test solution. The test was performed in triplicate.

$$\% NFR = \frac{\text{control absorbance} - \text{sample absorbance}}{\text{control absorbance}} \quad (\text{Equation 1})$$

#### 2.2.3 Risk analysis of CQAs

A comprehensive analysis of all potential formulation and process variables that could impact the physical stability of the final sunscreen formulation was conducted, taking into account literature information and previous works. Subsequently, an Ishikawa diagram (Figure 1) was developed to systematize these potential risks, and the formulation-related quality attributes that were most likely to result in product failure, i.e. critical quality attributes (CQAs),

were identified. Based on this, the dependent variables, their respective levels, and the responses were chosen for the experimental design (Table 4) aiming at optimizing the emulsified vehicle. Then, another experimental design (Table 5) was employed, seeking to investigate the effects of incorporating inorganic UV filters and phytic acid on the formulation's physical stability and to optimize the sunscreen formulation.

#### **2.2.4 Design of experiments (DoE) and optimization studies**

The first  $2^3$  full factorial design was employed to assess the effects of the concentration of polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol (PSGSSA), brassica glycerides (BG), and xanthan gum (XG) on the apparent viscosity and instability index ( $I_{\text{index}}$ ) (responses, i.e., CQAs) of formulations E1 to E11 (Table 4). Subsequently, another  $2^3$  full factorial design was used to evaluate the effects of the concentration of zinc oxide (ZnO), titanium dioxide ( $\text{TiO}_2$ ), and phytic acid (PA) on the  $I_{\text{index}}$  of formulations S1 to S11 (Table 5). Both the experimental domains were constructed by varying three factors in two levels (-1.0 and +1.0), and three central points (0.0) were included in both to estimate the intrinsic error.

All hierarchical terms and interactions were evaluated by analysis of variance (ANOVA), where  $p \leq 0.05$  indicated statistically significant terms. Mathematical models were determined by linear regression; a non-significant lack-of-fit ( $p > 0.05$ ) was considered appropriate to model prediction; and values of  $R^2$ , adjusted  $R^2$ , and adequate precision (signal to noise ratio) were determined. A ratio  $> 4$  indicated that the mathematical model could be used to navigate the design space. Experimental design and data analysis were performed using Design-Expert® v.13.0.5.0 (Stat-Ease, USA).

Table 4. Design of experiments for emulsified vehicle optimization.

Formulation	Design Matrix			Experimental Matrix for Formula Optimization		
	PSGSSA	BG	XG	PSGSSA (%)	BG (%)	XG (%)
E1	-1	-1	-1	4.00	1.50	0.30
E2	+1	-1	-1	8.00	1.50	0.30
E3	-1	+1	-1	4.00	3.00	0.30
E4	+1	+1	-1	8.00	3.00	0.30
E5	-1	-1	+1	4.00	1.50	0.60
E6	+1	-1	+1	8.00	1.50	0.60
E7	-1	+1	+1	4.00	3.00	0.60
E8	+1	+1	+1	8.00	3.00	0.60
E9	0	0	0	6.00	2.25	0.45
E10	0	0	0	6.00	2.25	0.45
E11	0	0	0	6.00	2.25	0.45

PSGSSA: polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol; BG: brassica glycerides; XG: xanthan gum.

Table 5. Design of experiments for sunscreen formulation optimization.

Formulation	Design Matrix			Experimental Matrix for Formula Optimization		
	ZnO	TiO <sub>2</sub>	PA	ZnO (%)	TiO <sub>2</sub> (%)	PA (%)
S1	-1	-1	-1	0.0	0.0	0.0
S2	+1	-1	-1	12.0	0.0	0.0
S3	-1	+1	-1	0.0	4.0	0.0
S4	+1	+1	-1	12.0	4.0	0.0
S5	-1	-1	+1	0.0	0.0	1.0
S6	+1	-1	+1	12.0	0.0	1.0
S7	-1	+1	+1	0.0	4.0	1.0
S8	+1	+1	+1	12.0	4.0	1.0
S9	0	0	0	6.0	2.0	0.5
S10	0	0	0	6.0	2.0	0.5
S11	0	0	0	6.0	2.0	0.5

ZnO: zinc oxide; TiO<sub>2</sub>: titanium dioxide; PA: phytic acid.

The optimum formulation parameters were determined by the desirability function for both experimental designs (Tables 4 and 5), and experiments were performed to confirm the robustness of the predicted model under optimal conditions. The simultaneous objective function is a geometric mean of all transformed responses and is calculated according to Equation 2, where  $D$  is the desirability function,  $d_i$  is the desirability ranges for each response, and  $n$  is the number of responses in the measurement (ANTONY, 2014). The optimization study was carried out using Design-Expert® (Stat-Ease, USA).

$$D = (d_1 \times d_2 \times \dots \times d_n)^{1/n} = \left( \prod_{i=1}^n d_i \right)^{1/n} \quad (\text{Equation 2})$$

### 2.2.5 Preparation of formulations

Formulations E1 to E11 (Table 4) were prepared by mechanical oil-in-water (o/w) emulsification technique. Briefly, oily and aqueous phases were separately heated at  $75.0 \pm 5.0$  °C. Oily phase was then added to aqueous phase under stirring at 9,000 rpm for 5 min (Ultra-Turrax® T25 digital, Ika®, Germany). After cooling (35-40 °C), xanthan gum (dispersed in a natural humectant) and the natural extract were incorporated in the mixture under manual agitation. Formulations S1 to S11 were prepared by incorporating pre-defined concentrations of zinc oxide and/or titanium dioxide and/or phytic acid (Table 5) into the optimized emulsified vehicle approximately 24 hours after its preparation. The formulations were packed in glass tubes and stored at room temperature.

### 2.2.6 Determination of the responses of DoEs

#### 2.2.6.1 Apparent viscosity

The apparent viscosity was determined using a rotary viscometer (Brookfield, LV DV-II+ Pro, USA) with the formulation placed in the sample carrier, which was attached to a thermostatic bath set at 25 °C (Tecnal, TE-2005, Brazil). A spindle SC4-34 at 0.10 rpm was used and a shear rate of  $0.03 \text{ s}^{-1}$  was applied. Next, the corresponding apparent viscosity (cP) was recorded using Rheocalc V3.2 software.

#### 2.2.6.2 Instability index

The formulations were analyzed in an analytic centrifuge (LUM GmbH, LUMiSizer®, Germany) at 3,455 rpm and 45 °C for 2.5 hours, with 300 profiles measured in intervals of 30 s to assess the  $I_{\text{index}}$ .

### 2.2.7 Characterization of the optimized emulsified vehicle and sunscreen formulation

### **2.2.7.1 Apparent viscosity**

The analysis was performed for the emulsified vehicle according to the method presented in section 2.2.6.1.

### **2.2.7.2 Instability index**

The analysis was performed according to the method presented in section 2.2.6.2.

### **2.2.7.3 Rheological analysis**

The rheological analysis was performed with a controlled stress Kinexus Lab+ Rheometer (Malvern Instruments, UK) at 25 °C. Rotational viscosity was determined using a CP40 mm cone geometry, with cone angle of 4°. Dynamic or shear viscosity measurements were carried out by rotational shear experiments, between 0.1 and 100 s<sup>-1</sup>. Flow curves were generated by ramping the shear rate from 0 to 100 s<sup>-1</sup> (ascent curve) and then from 100 to 0 s<sup>-1</sup> (descent curve) for 120 s each curve. Oscillation sweep tests were performed at a frequency of 1 Hz, with a shear stress range from 0.01 to 10 Pa, while the frequency sweep test was performed over a frequency range from 0.1 to 100 Hz, at a shear stress of 0.1 Pa. The creep and recovery tests were carried out with 50 s<sup>-1</sup> of shear rate, allowing 30 s for creep, and another 0.1 s<sup>-1</sup> of shear rate during 600 s of relaxation.

### **2.2.7.4 pH**

The pH analyses were performed in triplicate using a digital pHmeter (MS Tecnopon, mPA210, Brazil) at room temperature.

### **2.2.7.5 Antioxidant activity**

The analysis was performed for the emulsified vehicle according to the method presented in section 2.2.2.1.

### **2.2.7.6 *In vivo* SPF and sunscreen water resistance**

The *in vivo* assessment of the sun protection factor (SPF) and water resistance for the optimized sunscreen formulation was carried out following the ISO 24444 (2019) and Colipa (2005) methods (ISO 24444:2019; COLIPA, 2005). Prior to commencement, approval was obtained from the Research Ethics Committee under Certificate of Submission for Ethical Review number 72997923.4.0000.5599 (Brazil). All volunteers provided informed consent by

signing a consent form. Solar simulator model Multiport 601 (Solar Light, USA) fitted with a xenon arc lamp was used as the source of UV radiation. Radiometer PMA 2100 (Solar Light, USA) was used for the measurement and automatic delivery of radiation doses. Each sample was tested in a group of eleven healthy human volunteers (age 20–58, gender male and female, Fitzpatrick’s skin type I–III, ITA° 35-53°). The infrascapular dorsal region of the participants was divided into six 30 cm<sup>2</sup> subregions: two of them for receiving 2 mg/cm<sup>2</sup> of the optimized sunscreen formulation; two for receiving 2 mg/cm<sup>2</sup> of the control formulation; and two for receiving no formulation. Initially, three of these subregions were submitted to application of optimized sunscreen formulation, control and none application. Between 15–30 min after the application, the regions were irradiated with an artificial light source (solar simulator). Six doses of UV radiation were applied, which varied by 15% from each other. Then, another set of applications (sunscreen, control and none) was carried out in the predefined subregions. After 15-30 min, the participant entered a heated bathtub (29 ± 2 °C) with agitation, staying for 40 minutes. This involved two 20±2 min immersions with 15±2 min breaks, totaling 40 min in water. After each immersion, the participant air-dried without using a towel until fully dry. After completing the immersions, the new subregions with the investigational product, control, and the unprotected skin area were also irradiated. Within a period of 16 to 24 hours after irradiation, the formed erythemas were evaluated by trained technician. The product's SPF for each participant (SPFi) without (SPF<sub>is</sub>) and after water immersion (SPF<sub>iw</sub>) was calculated according to Equation 3, where MED<sub>pi</sub> is the Minimal Erythema Dose (MED) of the skin protected by the product, and MED<sub>ui</sub> is the MED of the unprotected skin. The individual percentage water resistance retention (%WRR<sub>i</sub>) was calculated for each individual subject according to Equation 4.

$$SPS_i = \frac{MED_{pi}}{MED_{ui}} \quad (\text{Equation 3})$$

$$\%WRR_i = \left( \frac{SPF_{iw} - 1}{SPF_{is} - 1} \right) * 100 \quad (\text{Equation 4})$$

### 2.2.7.7 *In vitro* UVA-PF

The UVA protection factor (UVA-PF) of the optimized sunscreen formulation was assessed in accordance with the protocol outlined in ISO 24443:2012 (ISO 24443:2012). Briefly, the formulation was uniformly applied at 1.3 mg/cm<sup>2</sup> on six textured polymethyl methacrylate (PMMA) plates, each measuring 5x5 cm (Helioplates HD6, Helioscreen, Belgium). Next, the plates were placed in a dark, temperature-controlled drying chamber at 25.2-25.7 °C for at least 30 min. The absorbance spectra of test plates were then analyzed at 1 nm intervals in the range of 290-400 nm, taking the spectra of the blank (PMMA plates coated with 15 mg of glycerin) as reference. Five spectra were obtained at five different points on each plate, with a reading area of 0.79 cm<sup>2</sup> at each point (Labsphere UV-2000S, USA). From the average absorbance spectrum of each test plate, the initial *in vitro* Sun Protection Factor (SPF *in vitro*) was calculated using Equation 5. Next, the adjustment coefficient C was determined (Equation 6), which is used to match the value of SPF *in vitro* with the SPF obtained *in vivo*, and should fall within 0.8-1.6. The initial UVA-PF (UVA-PF<sub>0</sub>) of the formulation was calculated using the Equation 7. The PMMA test plates were then exposed to a controlled radiation dose in the ranges of UVA, UVB and visible (Suntest CPS+ UV irradiator, Atlas, China), in order to submit the formulation to conditions close to those of actual use. After exposure to UV-Vis radiation, five absorbance spectra were obtained once again from five different points on each test plate, using a glycerin-coated plate as the blank, and the average absorbance spectra of each plate was determined. Finally, the UVA-PF was determined according to Equation 8.

$$SPF_{in\ vitro} = \frac{\int_{\lambda=400}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)} \times d\lambda} \quad (\text{Equation 5})$$

Where:

$E(\lambda)$  is the erythema action spectrum;

$I(\lambda)$  is the spectral irradiance received from the UV source (SSR for SPF testing);

$A_0(\lambda)$  is the mean monochromatic absorbance of the test product layer before UV exposure;

$d\lambda$  is the wavelength step (1 nm).

$$SPF_{in\ vitro,adj} = SPF_{in\ vitro} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)C} \times d\lambda} \quad (\text{Equation 6})$$

Where:

$E(\lambda)$ ,  $I(\lambda)$ ,  $A_0(\lambda)$  and  $d\lambda$  are as defined in Equation 5.

$$UVAPF_0 = \frac{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)C} \times d\lambda} \quad (\text{Equation 7})$$

Where:

$P(\lambda)$  is the PPD (Persistent Pigment Darkening) action spectrum;

$I(\lambda)$  is the spectral irradiance received from the UVA source (UVA 320 nm to 400 nm for PPD testing);

$A_0(\lambda)$  is the mean monochromatic absorbance of the test product layer before UV exposure;

$C$  is the coefficient of adjustment, previously determined in Equation 6;

$d\lambda$  is the wavelength step (1 nm).

$$UVAPF = \frac{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_e(\lambda)C} \times d\lambda} \quad (\text{Equation 8})$$

Where:

$P(\lambda)$ ,  $I(\lambda)$ ,  $C$  and  $d\lambda$  are as defined in Equation 7.

$A_e(\lambda)$  is the mean monochromatic absorbance of the test product layer after UV exposure.

### 2.2.7.8 Critical wavelength

The Critical wavelength ( $\lambda_c$ ) of the optimized sunscreen formulation was assessed in accordance with the protocol outlined in COLIPA (2011). Critical wavelength ( $\lambda_c$ ), i.e. the upper limit of the spectral range covering 90% of the area under the extinction curve of the whole UV range between 290 and 400 nm, was calculated according to Equation 9.

$$\frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=\lambda_c} A\lambda}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} A\lambda} = 0,9 \quad (\text{Equation 9})$$

Were:  $\lambda_c$ : Critical wavelength;  $A\lambda$ : mean monochromatic absorbance of the test product after UV exposure.

### 3. Results and discussion

#### 3.1 Identification of QTPPs, CQAs, CMAs, and selection of formulation ingredients

The ideal quality, safety, and efficacy characteristics, i.e. the QTPPs and CQAs for both the emulsified vehicle and the final sunscreen formulation are displayed in Tables 1 and 2. The decision to select an O/W emulsion as the vehicle was based on consumer perception, as the sensory properties of these emulsions are frequently preferred over W/O ones (CALVO *et al.*, 2020; DAHL *et al.* 2018). The choice for obtaining a natural sunscreen was based on the consumer's demand for sustainable cosmetics (MARTINS; MARTO, 2023). The pH range of the formulations was defined to be compatible with the skin physiological pH. Apparent viscosity, rheological profile and physical stability specifications were defined taking into account formulation's quality, sensory, and performance aspects. Finally, antioxidant activity, SPF, water resistance, UVA-PF, and critical wavelength limits were established to attain satisfactory efficacy for the final sunscreen formulation. All these points are further discussed.

Input material with physical, chemical, or biological properties or characteristics within appropriate specifications should be selected to achieve the desired quality of the output material (NAMJOSHI *et al.*, 2020). Therefore, CMAs were defined in Table 3 to achieve the QTPPs in Tables 1 and 2. Once it was established that the final sunscreen should be a natural cosmetic, all the ingredients were selected to be allowed for this type of product according to the COSMOS standard, including the requirement of particles larger than 100 nm for zinc oxide and titanium dioxide (COSMOS, 2023a; COSMOS, 2023b).

The non-ionic, HLB-independent, self-emulsifier O/W composed of polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, and stearyl alcohol (PSGSSA) was selected taking into account that the emulsified vehicle should be an O/W emulsion (DAHL *et al.* 2018). Additionally, brassica glycerides (BG, co-emulsifier) and xanthan gum (XG, gelling agent) were respectively selected as lipophilic and water-soluble thickening agents, contributing to sensory perception, preventing phase separation, and improving the stability of the emulsion (CALVO *et al.* 2020).

*Hippophae rhamnoides* oil (AKHTER *et al.*, 2023; RAFALSKA, ABRAMOWICZ, KRAUZE, 2017), *Camellia sinensis* extract (KOCH *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2022), *Helianthus annuus* oil (BASHIR *et al.*, 2015), and tocopherol (AHMAD; AHSAN, 2020; BASHIR *et al.*, 2015) were chosen to meet the antioxidant activity attribute. Natural antioxidants like vitamin E (tocopherol) and polyphenols from plants can prevent lipid oxidation in cosmetics and also act as anti-aging active substances due to their reactive oxygen species (ROS) scavenging properties. Furthermore, the addition of natural UV absorbers such as polyphenols and vitamins to sunscreen formulations enhances their sun protection although they are not UV filters per se (MARTINS; MARTO, 2023). The results of %NFR in Table 6 confirm the antioxidant activity reported in the literature for these ingredients (AHMAD; AHSAN, 2020; AKHTER *et al.*, 2023; BASHIR *et al.*, 2015; KOCH *et al.*, 2019; RAFALSKA, ABRAMOWICZ, KRAUZE, 2017; ZHAO *et al.*, 2022), thus demonstrating that their selection was appropriate for formulation development in this study.

Table 6. Antioxidant activity of formulation ingredients.

<b>Ingredient</b>	<b>%NFR<sup>a</sup></b>
Tocopherol, <i>Helianthus annuus</i> seed oil	84.24 ± 0.23
<i>Camellia sinensis</i> leaf extract	66.40 ± 1.30
<i>Hippophae rhamnoides</i> seed oil, <i>Hippophae rhamnoides</i> fruit oil	59.33 ± 2.28

<sup>a</sup>Mean ± SD.

Phytic acid was selected as a chelating agent to prevent oxidation reactions caused by the eventual presence of metal residues in the formulation. Furthermore, chelating agents boost the performance of antioxidants and preservatives in cosmetics (MARTINS; MARTO, 2023). Other ingredients used were a photoprotection booster, rheological and sensory modifier, a film former, humectants, emollients, and preventatives of cosmetic grade.

### 3.2 Risk assessment of CQAs

The potential variables influencing the physical stability of the final sunscreen formulation were categorized into three groups: raw material, formulation, and process-related ones, as identified in Figure 1.

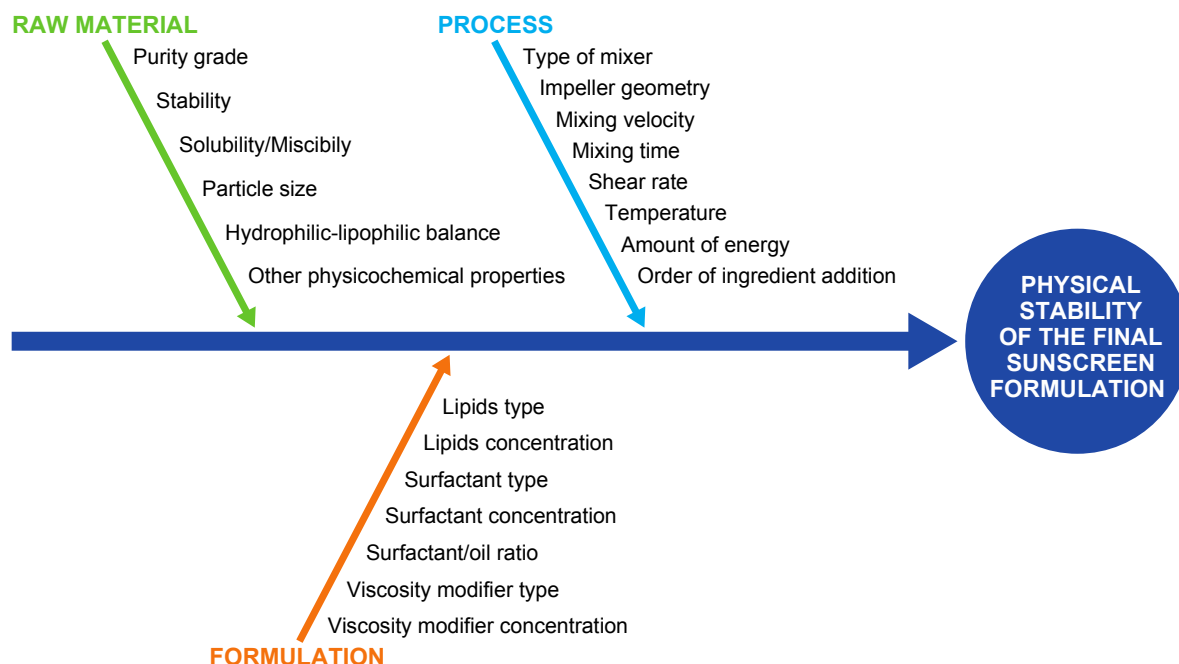


Figure 1. Ishikawa diagram illustrating variables that may impact the physical stability of the final sunscreen formulation.

Considerations about the rationale on raw materials selection were made in section 3.1. The critical process parameters (CPP), i.e. those whose variability has an impact on CQAs and therefore should be monitored and controlled, were fixed as described in section 2.2.5 on the basis of preliminary tests (data not shown).

The concentrations of surfactant (PSGSSA), co-emulsifier (BG), and gelling agent (XG), the last two being viscosity modifiers, were selected as the most relevant formulation-related variables that could impact the physical stability of the emulsified vehicle; and the apparent viscosity and  $I_{\text{index}}$  were chosen as physical stability-indicating CQAs for the optimization study.

Additionally to stability concerns, the rational selection of surfactant concentration is crucial to prevent skin damage or irritation, requiring (1) the identification of the lowest possible concentration to form micelles; and (2) avoidance of high concentrations of free surfactant molecules that may negatively affect the skin. Incorporating polymers and co-emulsifiers can reduce the required amount of surfactants for stabilization and thus minimize the potential negative effects on the skin (CALVO *et al.*, 2020; SEWERYN, 2018).

Once the vehicle was optimized, the study proceeded to investigate the effects of incorporating various concentrations of ZnO, TiO<sub>2</sub> and PA on the physical stability ( $I_{\text{index}}$ ) of

the final sunscreen formulation (section 3.3). The UV filters were chosen based on previous studies of our group (ZONTA *et al.*, 2019, 2020a, 2020b), while the addition of PA was justified not only by its chelating property but also because it contributes to adjusting the high pH often imparted by ZnO in mineral sunscreens (LIONETTI; RIGANO, 2017) to a more skin-compatible level.

### **3.3 Design of experiments (DoE) and optimization studies**

The statistical analysis of all responses from both experimental matrices (Tables 4 and 5) demonstrated adequate precision ( $> 4$ ) without indication of lack of fit ( $p > 0.05$ ). As shown respectively in Tables 7 and 9, the obtained correlation coefficients  $R^2$  and Adjusted  $R^2$  displayed good values, affirming the robustness of the mathematical models, which were found to be statistically significant.

#### **3.3.1 DoE and optimization of the emulsified vehicle**

The coefficient column in Table 7 reflects the relative strength of each factor, where a higher absolute value corresponds to a greater effect on the response. A positive value indicates an increase in the response caused by the factor, while a negative value represents an inverse relationship between the response and the factor.

Table 7. ANOVA summary of the emulsified vehicle experimental matrix for instability index and apparent viscosity.

Term	Instability index ( $I_{\text{index}}$ )		Apparent viscosity (cP)	
	Coefficient Estimate	<i>p</i> -value	Coefficient Estimate	<i>p</i> -value
Intercept	-5.16	0.0015	384,300.00	0.0127
PSGSSA	-1.42	0.0009	46,040.13	0.0086
BG	0.67	0.0403	NS	NS
XG	NS	NS	25,644.37	0.0556 <sup>a</sup>
PSGSSA*BG	NS	NS	-23,694.87	0.0689 <sup>a</sup>
PSGSSA*XG	NS	NS	-50,089.12	0.0064
BG*XG	NS	NS	NS	NS
PSGSSA*BG*XG	NS	NS	-20,245.63	0.1023 <sup>a</sup>
Lack of fit	p = 0.2824		p = 0.0796	
R <sup>2</sup>	0.8022		0.9445	
Adjusted R <sup>2</sup>	0.7527		0.8751	
Predicted R <sup>2</sup>	0.6804		0.7155	
Adequate Precision	10.756		94.797	

PSGSSA: polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol; BG: brassica glycerides; XG: xanthan gum; NS: not significant ( $p > 0.05$ ); a: non-significant term included to ensure model fit.

The information derived from the mathematical model was also visually presented using surface and interaction plots (Figure 2). The general interpretation is that higher concentrations of PSGSSA led to lower  $I_{\text{index}}$  values, indicating improved physical stability of the emulsions under centrifugation, while the opposite was observed for BG. The concentration of XG did not influence the  $I_{\text{index}}$  of the formulations. Increasing PSGSSA or XG concentration raised apparent viscosity, except when XG was at the highest level, where augmenting PSGSSA did not lead to an increment in emulsion apparent viscosity. Additionally, when PSGSSA, BG, and XG were at their highest levels, there was a decrease in apparent viscosity, demonstrating the impact of factor interactions on the emulsion's apparent viscosity.

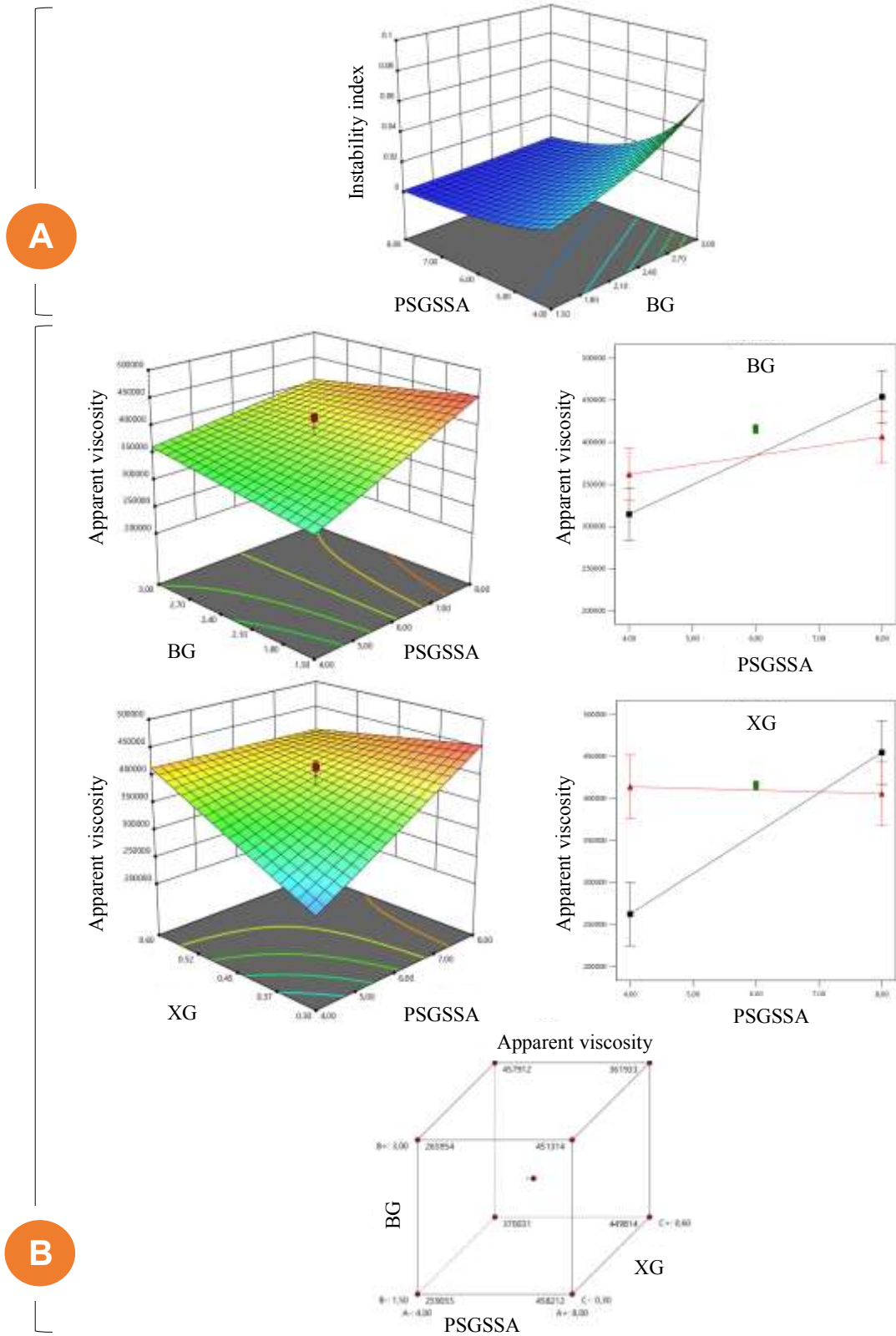


Figure 2. Surface and interaction plots showing the influence of the concentrations of PSGSSA, BG and XG over the instability index (A) and the apparent viscosity (B) of the emulsified vehicle.

The optimal concentrations of PSGSSA, BG, and XG for the emulsified vehicle were determined through numerical optimization, following specific criteria outlined in Table 8. The ranges specified for PSGSSA, BG, and XG came from the scientific literature, technical data provided by manufacturers, and the effects observed for these ingredients on the DoE responses (Figure 2). The ranges for apparent viscosity and  $I_{\text{index}}$  were set to attain QTPP (Table 1). Although the literature often considers  $I_{\text{index}} < 0.1$  as an indicator of emulsion physical stability (MODI; SHARMA; CAMPBELL, 2020; HERNANDEZ *et al.*, 2020), a more stringent limit was set for the emulsified vehicle, considering the potential impact of subsequent UV filters addition on physical destabilization. It is relevant to note that the  $I_{\text{index}}$  was determined under 45 °C, a very stressful condition to challenge the formulation.

The composition of the optimized vehicle (i.e. PSGSSA 8%, BG 3% and XG 0.3%, Table 8) was selected from one hundred solutions generated by the software, based on the highest desirability score (1.00). A desirability index of 1.00 indicates that the concentrations chosen for the studied ingredients can result in optimal performance of the emulsified vehicle in terms of physical stability against phase separation.

Table 8. Optimal conditions to the emulsified vehicle.

Variable	Goal	Lower Limit	Upper Limit	
PSGSSA (%)	in range	7.00	9.00	
BG (%)	in range	2.00	4.00	
XG (%)	in range	0.20	0.40	
$I_{\text{index}}$	in range	0.001	0.003	
Apparent viscosity (cP)	in range	430,000.00	460,000.00	
Optimized emulsified vehicle				
PSGSSA (%)	BG (%)	XG (%)	$I_{\text{index}}$	Apparent viscosity (cP)
8.17	2.85	0.33	0.003	444,549.01

PSGSSA: polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol; BG: brassica glycerides; XG: xanthan gum;  $I_{\text{index}}$ : instability index.

### 3.3.2 DoE and optimization of the sunscreen formulation

The coefficients in Table 9 reflect the effects of ZnO, TiO<sub>2</sub> and PA concentrations on the  $I_{\text{index}}$  of the formulations. Additionally, the information derived from the mathematical model was visually presented using surface and interaction plots (Figure 3). The results show that the higher the ZnO concentration, the higher the  $I_{\text{index}}$ , indicating that adding this UV filter increased the tendency of the formulations to undergo phase separation in a concentration-

dependent manner. Conversely, adding only TiO<sub>2</sub> at the studied concentrations did not influence the I<sub>index</sub> (tendency to phase separation). Interestingly, the addition of PA tended to increase the physical stability of the formulations, particularly when ZnO or TiO<sub>2</sub> were at their higher levels. However, this effect was not observed when both ZnO and TiO<sub>2</sub> were at their higher levels.

Table 9. ANOVA summary of the sunscreen formulation experimental matrix for instability index.

<b>Term</b>	<b>Coefficient Estimate</b>	<b><i>p</i>-value</b>
Intercept	0.10	0.0014
ZnO	0.05	0.0004
TiO <sub>2</sub>	NS	NS
Phytic acid	-0.02	0.0643 <sup>a</sup>
ZnO*TiO <sub>2</sub>	NS	NS
ZnO*PA	-0.02	0.0265
TiO <sub>2</sub> *PA	-0.02	0.0152
ZnO*TiO <sub>2</sub> *PA	NS	NS
Lack of fit	p = 0.2412	
R <sup>2</sup>	0.9281	
Adjusted R <sup>2</sup>	0.8801	
Predicted R <sup>2</sup>	0.7112	
Adequate Precision	14.1877	

ZnO: zinc oxide; TiO<sub>2</sub>: titanium dioxide; PA: phytic acid; NS: not significant ( $p > 0.05$ ); a: non-significant term included to ensure model fit.

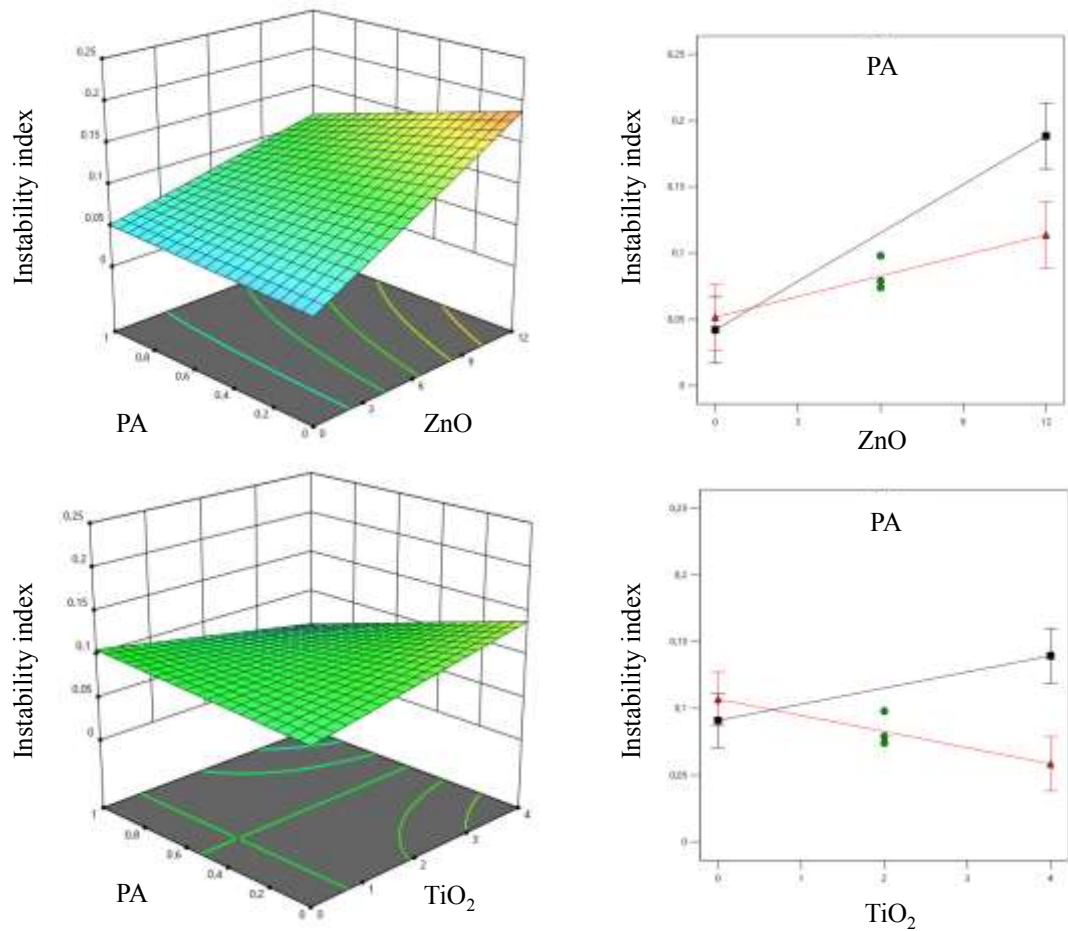


Figure 3. Surface and interaction plots showing the influence of the concentrations of ZnO, TiO<sub>2</sub> and PA over the instability index of the emulsified vehicle.

The optimal concentrations of ZnO, TiO<sub>2</sub>, and PA for the sunscreen formulation were determined through numerical optimization, following specific criteria outlined in Table 10. The concentrations of UV filters were selected to achieve the desired photoprotection (ZONTA *et al.*, 2019, 2020a, 2020b). Meanwhile, the range for PA was established through preliminary tests (data not shown). The  $I_{\text{index}}$  limits were set to attain  $\leq 0.1$ , which was defined as acceptable in QTPP (Table 5).

The composition of the optimized sunscreen formulation (i.e. ZnO 6.3%, TiO<sub>2</sub> 2%, and PA 1%, Table 10) was selected based on the highest desirability score (1.00) from 52 solutions generated by the software with the aim of achieving the optimal performance of the sunscreen formulation against phase separation.

Table 10. Optimal conditions to sunscreen formulation.

Variable	Goal	Lower Limit	Upper Limit	
ZnO (%)	target = 6.30	0.00	12.00	
TiO <sub>2</sub> (%)	target = 2.00	0.00	4.00	
PA (%)	in range	0.00	1.00	
I <sub>index</sub>	in range	0.000	0.095	
Optimized sunscreen formulation				
ZnO (%)	TiO <sub>2</sub> (%)	PA (%)	I <sub>index</sub>	Desirability
6.30	2.00	0.99	0.084	1.00

ZnO: zinc oxide; TiO<sub>2</sub>: titanium dioxide; PA: phytic acid; I<sub>index</sub>: instability index.

### 3.4 Characterization of the optimized emulsified vehicle and sunscreen formulation

#### 3.4.1 Apparent viscosity and instability index

The I<sub>index</sub> of the optimized emulsified vehicle was in agreement with the estimated value from the optimization study, while the apparent viscosity of this vehicle and the I<sub>index</sub> of the optimized sunscreen formulation were slightly higher than anticipated in the optimization (Tables 8 and 10). Nevertheless, all these findings satisfied the requirements outlined in Tables 1 and 2, thereby aiding in the accomplishment of the study's objectives.

Table 11. Characterization of the optimized emulsified vehicle and sunscreen formulation.

	pH	Apparent viscosity (cP)	I <sub>index</sub>	%NFR	SPF	%WRR	UVA-PF	λ <sub>c</sub> (nm)
Emulsified vehicle	5.32±0.03	498,293.67±11,228.04	0.0027±0.0015	50.85±3.86	-	-	-	-
Sunscreen formulation	5.69±0.01	-	0.1167±0.0025	-	7.6±1.2	60.4	10.2±0.4	384±0.0

I<sub>index</sub>: instability index; %NFR: free radical neutralization percentage; SPF: sun protection factor; %WRR: percentage water resistance retention; UVA-PF: UVA protection factor e λ<sub>c</sub>: critical wavelength.

#### 3.4.2 Rheological analysis

Rheological properties of cosmetics influence formulation's physical appearance, performance, and sensory profile, so they need to be meticulously developed and characterized and should not change over the shelf life. However, factors such as loading and dispensing the product can lead to microstructure deformation by experiencing large shear forces. Changes in

viscoelastic properties may cause variations in spreadability and thus result in different skin feel, affecting user compliance (BEKKER; WEBBER; LOUW, 2013; NAMJOSHI *et al.*, 2020).

The viscosity profiles (A) and flow curves (B) of the optimized emulsified vehicle and the sunscreen formulation in Figure 4 reveal non-Newtonian behavior, indicating that their viscosity is influenced by the shear rate. More specifically, the formulations exhibit shear-thinning (pseudoplastic) behavior, where their structure requires an initial tension (yield stress) to deform and initiate flow. Therefore, non-linear curves are observed, with the apparent viscosity decreasing as the stress increases (CHHABRA; RICHARDSON, 2008).

In order to acquire information regarding the behavior of the viscoelastic systems, oscillation frequency sweep tests were performed at a strain within the linear viscoelastic regime, which was previously determined. The magnitude of the shear stress within this linear viscoelasticity region, situated between the values of  $G'$  (elastic modulus) and  $G''$  (viscous modulus), signifies the appropriate shear stress to be employed in both frequency sweep and creep/recovery tests (MARTO *et al.*, 2016).

The frequency sweep curves revealed the absence of interchangeability between the elastic and viscous moduli within the range of 0.1-100 Hz for both systems. The optimized emulsified vehicle and the sunscreen formulation demonstrated significantly higher  $G'$  values than  $G''$ , indicating the predominance of the elastic modulus (Figure 4 C). When a viscoelastic material possesses an elastic modulus surpassing the viscous modulus, the shear energy is temporarily stored during the test and can be subsequently retrieved. This phenomenon is commonly observed in emulsion systems. Emulsion systems exhibiting such behavior typically demonstrate remarkable stability (MARTO *et al.*, 2016). To investigate the systems' response to shear stress, a 30-second creep test was conducted, followed by a 150-second period without shear stress (recovery). During the creep phase (Figure 4 D), the formulations experienced deformation, leading to a reduction in viscosity. While in the recovery phase, the sample was able to regain its initial structure, and the elastic part of the deformation was reversed.

The rheological and thixotropic behavior shown by the optimized emulsified vehicle and the sunscreen formulation seems to be a key factor in the cosmetics' ability to be easily applied to a surface (through structure breakdown in spreading) and then rebuild their structure and viscosity, preventing it from dripping and running from the skin (MCINTOSH *et al.*, 2018). The sunscreen formulation had a lower viscosity than the optimized emulsified vehicle, as can be observed in Figures 4 (A), (B), and (D). The decreased viscosity could be attributed to the

inclusion of physical sunscreens, along with the incorporation of phytic acid. In any case, we are of the opinion that the observed alteration will not result in a notably negative application experience for the user. On the contrary, the identified lower viscosity can actually enhance the spreadability of the sunscreen formulation on the skin and make the formulation more pleasant to use.

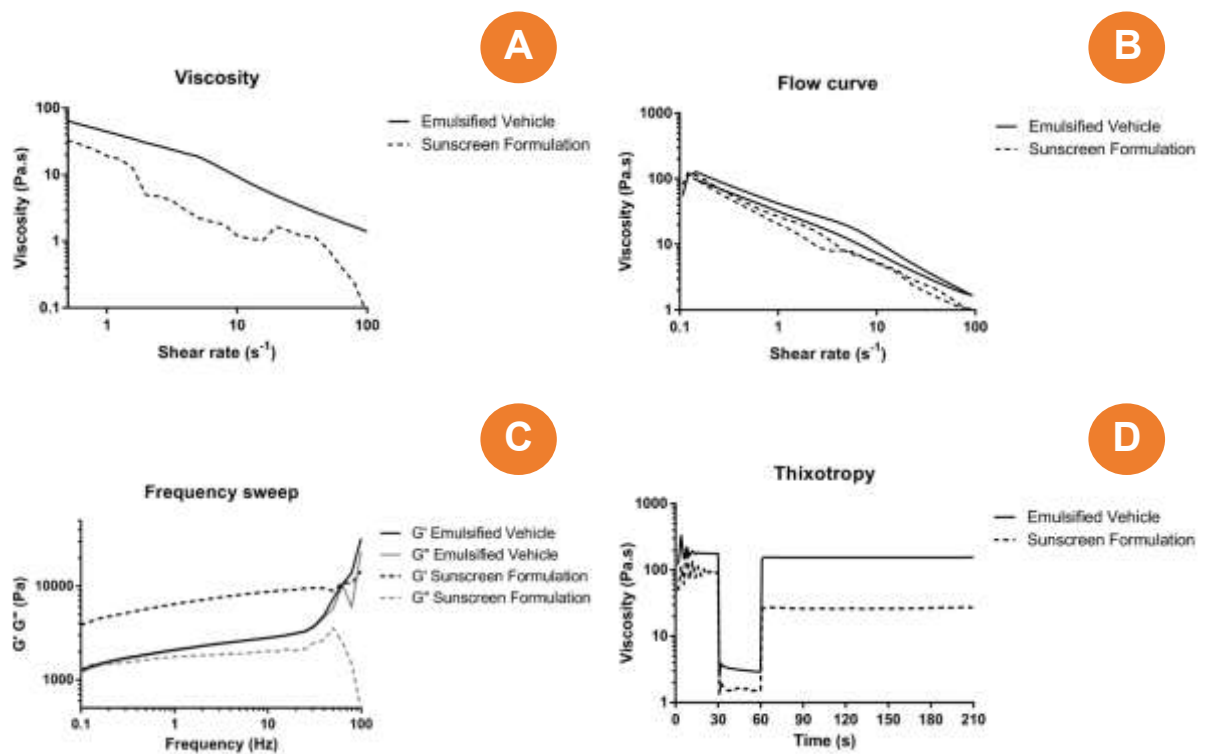


Figure 4. Viscosity profile (A), flow curve (B), frequency sweep plot (C), and creep and recovery plot (D) of optimized emulsified vehicle and sunscreen formulation.

### 3.4.3 pH

The pH of cosmetic emulsions can impact various critical aspects, including solubility and efficacy of active ingredients and preservatives; droplet size distribution, zeta potential, viscosity, and stability of the formulation. Furthermore, pH affects skin compatibility, as deviations from the skin's pH can lead to potential irritations. As a result, pH adjustment is a common practice in formulating topical products to ensure optimal biocompatibility, effectiveness, safety, and long-term stability (NAMJOSHI *et al.*, 2020).

The isolated addition of zinc oxide and phytic acid to the optimized emulsified vehicle (S1) alters its pH from  $5.32 \pm 0.03$  to  $7.60 \pm 0.07$  (S2) and  $1.88 \pm 0.03$  (S5) respectively, while the isolated addition of titanium dioxide (S3) does not exert an important effect on pH ( $5.60 \pm 0.02$ ). The optimized photoprotective formulation exhibited a pH of  $5.69 \pm 0.01$ , suggesting that phytic acid was capable of mitigating the pH elevation induced by zinc oxide, thereby aligning it within the established ideal range as outlined in Table 2.

#### **3.4.4 Antioxidant activity**

Pigmentary conditions (including lentigines, post-inflammatory hyperpigmentation, melasma), yellowing, and uneven skin tone are strongly linked to extrinsic skin aging, typically appearing on the face, neck, chest, and dorsal hands. Consistent use of a broad-spectrum sunscreen containing antioxidant and anti-aging active ingredients effectively reduces the impact of extrinsic aging (KRUTMANN *et al.*, 2021).

The antioxidant capacity of the optimized vehicle has been proven (Table 11), in line with the requirement specified in Table 1. This effect stems from the inclusion of natural active ingredients with antioxidant and anti-aging properties, as outlined in Section 3.1.

#### **3.4.5 *In vivo* SPF, water resistance, *in vitro* UVA-PF, and critical wavelength**

The *in vivo* SPF, water resistance, *in vitro* UVA-PF, and critical wavelength of the optimized sunscreen (Table 11) were in line with the requirement specified in Table 2.

## **4 Conclusion**

The optimized formulations (emulsified vehicle and sunscreen) fully met the Quality Target Product Profiles, demonstrating the effectiveness of the QbD approach in developing a physically stable, high-quality natural sunscreen.

## **5 Acknowledgments**

The authors would like to express their gratitude to CAPES/MEC (Ministry of Education, Brazil) for the awarded scholarships. They extend their appreciation to Professor Dachamir Hotza and Emanuelle Acosta (LINDEN - Interdisciplinary Laboratory for the Development of Nanostructures, Federal University of Santa Catarina, Brazil) for their guidance in instability index analyses, and to Clarissa ten Caten for her assistance with DPPH analysis. The authors

would also like to acknowledge the raw material suppliers: IMCD, Inolex, Razzini & Partners, Colormix, PIC, Heide, and Cosmotec (Brazil).

## 6 References

ADDOR, Flavia Alvim Sant'Anna *et al.* Sunscreen lotions in the dermatological prescription: review of concepts and controversies. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, [S.L.], v. 97, n. 2, p. 204-222, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abd.2021.05.012>.

AHMAD, Anas; AHSAN, Haseeb. Lipid-based formulations in cosmeceuticals and biopharmaceuticals. *Biomedical Dermatology*, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 1-10, 6 maio 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s41702-020-00062-9>.

AKHTER, Parveen *et al.* Antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seed oil extracted using various organic solvents. *Korean Journal Of Chemical Engineering*, [S.L.], p. 1-7, 3 jul. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11814-023-1453-8>.

ANTONY, Jiju. Design of experiments for engineers and scientists. 2. ed. Amsterdam: Elsevier, 2014.

BADRUDDOZA, Abu Zayed Md *et al.* Assessing and Predicting Physical Stability of Emulsion-Based Topical Semisolid Products: a review. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, [S.L.], v. 112, n. 7, p. 1772-1793, jul. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.xphs.2023.03.014>.

BASHIR, Tasneem *et al.* Chemistry, Pharmacology and Ethnomedicinal Uses of *Helianthus annuus* (Sunflower): a review. *Pure And Applied Biology*, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 226-235, 8 jun. 2015. Bolan Society for Pure and Applied Biology (BSPAB). <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2015.42011>.

BEKKER, M.; WEBBER, G. V.; LOUW, N. R.. Relating rheological measurements to primary and secondary skin feeling when mineral-based and Fischer-Tropsch wax-based cosmetic emulsions and jellies are applied to the skin. *International Journal Of Cosmetic Science*, [S.L.], v. 35, n. 4, p. 354-361, 26 abr. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ics.12050>.

CALVO, Fernando *et al.* Integrated design of emulsified cosmetic products: a review. *Chemical Engineering Research And Design*, [S.L.], v. 161, p. 279-303, set. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cherd.2020.07.014>.

CHHABRA, R. P.; RICHARDSON, J. F.. Non-Newtonian Fluid Behaviour. *Non-Newtonian Flow And Applied Rheology (Second Edition)*, [S.L.], p. 1-55, 2008. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-7506-8532-0.00001-9>.

COLIPA. Guidelines for Evaluating Sun Product Water Resistance. The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association, Brussels, 2005.

COLIPA. In Vitro Method for the Determination of the UVA Protection Factor and “Critical Wavelength” Values of Sunscreen Products; COLIPA: Brussels: The European Cosmetics Association, 2011.

COSMETICS EUROPE. Recommendation N° 16: Water Resistance Labelling. Brussels: Cosmetics Europe – The Personal Care Association, 2023.

COSMETICS EUROPE. N° 23 important usage and labelling instructions for sun protection products. COLIPA Recommendation N°23 Approved by PCPM. February 2009. Brussels: Cosmetics Europe – The Personal Care Association. Available in: [https://www.cosmeticseurope.eu/files/9814/6408/4022/CR-23-Sunscreens\\_Labelling.pdf](https://www.cosmeticseurope.eu/files/9814/6408/4022/CR-23-Sunscreens_Labelling.pdf). Access at: Aug 12th, 2023.

COSMOS. COSMOS-standard: Cosmetics organic and natural standard: criteria. Version 4.0. Brussels: COSMOS-standard AISBL, 2023a. Available in: [https://media.cosmos-standard.org/filer\\_public/a9/35/a935e9a9-6623-4d5d-b0dd-0c56c81417c3/cosmos-standard\\_v40.pdf](https://media.cosmos-standard.org/filer_public/a9/35/a935e9a9-6623-4d5d-b0dd-0c56c81417c3/cosmos-standard_v40.pdf). Access at: Aug 12th, 2023.

COSMOS. COSMOS-standard: Cosmetics organic and natural standard: technical guide. Version 4.0. Brussels: COSMOS-standard AISBL, 2023b. Available in: [https://media.cosmos-standard.org/filer\\_public/da/40/da40a051-69e6-49cc-b5fe-b584ee3aabb2/cosmos-standard\\_technical\\_guide\\_v40.pdf](https://media.cosmos-standard.org/filer_public/da/40/da40a051-69e6-49cc-b5fe-b584ee3aabb2/cosmos-standard_technical_guide_v40.pdf). Access at: Aug 12th, 2023.

COSTA, Gabriela Maria D’angelo; CAMPOS, Patricia Maria Berardo Gonçalves Maia. Development of Photoprotective Formulations: influence of formulation composition on the spf and mechanical properties. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 24, n. 4, p. 1-11, 4 abr. 2023. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1208/s12249-023-02558-z>.

DAHL, Verena *et al.* Structural Analysis of a Modern o/w-Emulsion Stabilized by a Polyglycerol Ester Emulsifier and Consistency Enhancers. **Colloids And Interfaces**, [S.L.], v. 2, n. 1, p. 3, 18 jan. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/colloids2010003>.

DAMASCENO, Elisa Tatiana Silva *et al.* Lippia organoides Kunth. essential oil loaded in nanogel based on the chitosan and p-coumaric acid: encapsulation efficiency and antioxidant activity. **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 125, p. 85-94, dez. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.074>.

EU. The European Parliament Union; The Council of the European. **Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on Cosmetic Products**. Off J Eur Union. 2009; L342(59).

EUROPEAN. Commission Recommendation of 22 September 2006 on the efficacy of sunscreen products and the claims made relating thereto (2006/647/EC). Official Journal of the European Union. L265, 39–43 (2006).

FUKUDA, Isa Martins *et al.* Design of Experiments (DoE) applied to Pharmaceutical and Analytical Quality by Design (QbD). **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 54, n. , p. 1-16, 8 nov. 2018. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902018000001006>.

HERNANDEZ, Christopher *et al.* Investigating the effect of transcutol on the physical properties of an O/W cream. **Journal Of Dispersion Science And Technology**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 600-606, 2020. <http://dx.doi.org/10.1080/01932691.2019.1609362>.

International Conference on Harmonization. Q8 ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Q8 (R2) Guideline: Pharmaceutical Development (2009). Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q8%28R2%29%20Guideline.pdf>. Acesso em: 10 de out. 2023.

International Conference on Harmonization. Q9 ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Q9 (R1) Guideline: Quality Risk Management (2023). Disponível em: [https://database.ich.org/sites/default/files/ICH\\_Q9%28R1%29\\_Guideline\\_Step4\\_2023\\_0126\\_0.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q9%28R1%29_Guideline_Step4_2023_0126_0.pdf). Acesso em: 10 de out. 2023.

ISO - International Organization for Standardization. **ISO 24443:2012**: Determination of sunscreen UVA photoprotection in vitro. Brussels: ISO, 2012. 27 p.

ISO - International Organization for Standardization. **ISO 24444:2019**: Cosmetics – Sun protection test methods – In vivo determination of the sun protection factor (SPF). Switzerland: ISO, 2019. 59 p.

KOCH *et al.* Applications of Tea (*Camellia sinensis*) and its Active Constituents in Cosmetics. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 23, p. 4277, 24 nov. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24234277>.

KRUTMANN, Jean *et al.* Daily photoprotection to prevent photoaging. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, [S.L.], v. 37, n. 6, p. 482-489, 6 maio 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/phpp.12688>.

LIONETTI, Nicola; RIGANO, Luigi. The New Sunscreens among Formulation Strategy, Stability Issues, Changing Norms, Safety and Efficacy Evaluations. **Cosmetics**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 15, 16 maio 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cosmetics4020015>.

MARTINS, Ana M.; MARTO, Joana M.. A sustainable life cycle for cosmetics: from design and development to post-use phase. **Sustainable Chemistry And Pharmacy**, [S.L.], v. 35, p. 101178, out. 2023. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scp.2023.101178>.

MARTO, J. *et al.* Design of novel starch-based Pickering emulsions as platforms for skin photoprotection. **Journal Of Photochemistry And Photobiology B: Biology**, [S.L.], v. 162, p. 56-64, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.06.026>.

MCINTOSH, Kyle *et al.* Alkenones as a Promising Green Alternative for Waxes in Cosmetics and Personal Care Products. **Cosmetics**, [S.L.], v. 5, n. 2, p. 34, 5 jun. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cosmetics5020034>.

MODI, Dimple; SHARMA, Himanshu; CAMPBELL, Gossett. Accelerate development of topical cream drug product using a common platform base formulation. **Pharmaceutical Development And Technology**, [S.L.], v. 25, n. 6, p. 767-778, 25 mar. 2020. <http://dx.doi.org/10.1080/10837450.2020.1741617>.

NAMJOSHI, Sarika *et al.* Quality by Design: development of the quality target product profile (QTPP) for semisolid topical products. **Pharmaceutics**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 287, 23 mar. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics12030287>.

RAFALSKA, Adrianna; ABRAMOWICZ, Katarzyna; KRAUZE, Magdalena. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) as a plant for universal application. **World Scientific News**, [S.L.], v. [], n. 72, p. 123-140, 2017.

SEWERYN, Artur. Interactions between surfactants and the skin – Theory and practice. **Advances In Colloid And Interface Science**, [S.L.], v. 256, p. 242-255, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2018.04.002>.

WANG, [D1] Steven Q.; VIRMANI, Pooja; LIM, Henry W.. Consumer acceptability and compliance: the next frontier in sunscreen innovation. *Photodermatology*, **Photoimmunology & Photomedicine**, [S.L.], v. 32, n. 1, p. 55-56, 16 out. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/phpp.12211>.

WEIG, Emily A. *et al.* Assessing factors affecting sunscreen use and barriers to compliance: a cross-sectional survey-based study. **Journal Of Dermatological Treatment**, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 403-405, 2020. <http://dx.doi.org/10.1080/09546634.2019.1587147>.

ZHAO, Tiantian *et al.* Green Tea (*Camellia sinensis*): a review of its phytochemistry, pharmacology, and toxicology. **Molecules**, [S.L.], v. 27, n. 12, p. 3909, 18 jun. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27123909>.

ZONTA, Soraia *et al.* Composições fotoprotetoras, formulações fotoprotetoras incluindo composições fotoprotetoras, métodos de preparação e seus usos. Depositante: Bioart Biocosméticos LTDA - ME; Universidade Federal de Santa Catarina. Procurador: Rafael Migliorini. BR102019024166-7A. Depósito: 15 nov. 2019.

ZONTA, Soraia *et al.* Composições fotoprotetoras, formulações fotoprotetoras incluindo composições fotoprotetoras, métodos de preparação e seus usos. Depositante: Bioart Biocosméticos LTDA - ME; Universidade Federal de Santa Catarina. Procurador: Rafael Migliorini. WO2021/092667A1. Depósito: 14 out. 2020b.

## 4 DISCUSSÃO

O mercado de produtos cosméticos e de cuidados pessoais é caracterizado pelo constante surgimento de novos produtos, impulsionado pela disseminação de padrões de beleza cada vez mais exigentes (FRANCA; UENO, 2020). Além disso, a crescente conscientização dos consumidores sobre os impactos nocivos à saúde e ao meio ambiente, de produtos químicos sintéticos presentes em cosméticos, vem despertando a indústria para preocupações éticas e de sustentabilidade, gerando aumento de investimentos em pesquisa e desenvolvimento de cosméticos naturais e orgânicos (FRANCA; UENO, 2020; GVR, 2019). Nesse contexto, o mercado global de cosméticos naturais deve atingir um valor de US\$ 48,04 bilhões e deve expandir a uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 5,01% até 2025, de acordo com a Grand View Research (GVR, 2019). Já a receita global de cosméticos orgânicos foi avaliada em US\$ 19,3 bilhões em 2021, com previsão de expansão anual de 9,1% (CAGR) até 2030 (GVR, 2022b).

Uma ferramenta interessante e consolidada para satisfazer a busca cada vez mais exigente por produtos cosméticos de elevada qualidade é a *Quality-by-Design* (QbD), em que a qualidade do produto é moldada e integrada de forma sistemática, desde o design inicial até a fabricação final, com base no saber científico e no conhecimento profundo do produto e do processo, assegurando segurança e eficácia (FUKUDA *et al.*, 2018).

Nesse sentido, no presente trabalho, as características ideais de qualidade, segurança e eficácia, ou seja, os perfis-alvo de qualidade dos produtos (QTPPs) e os atributos críticos de qualidade (CQAs), foram previamente definidos, no contexto da QbD, para um veículo emulsionado e um protetor solar natural, visando (1) atingir uma formulação final fisicamente estável, com propriedades antioxidantes e eficácia fotoprotetora, e (2) atender à demanda dos consumidores por cosméticos sustentáveis.

Com relação à avaliação de risco dos CQAs, as variáveis potencialmente influentes na estabilidade física do protetor solar final foram categorizadas em: relacionadas à matéria-prima, à formulação e ao processo. As concentrações de tensoativo (polyglyceryl-2 stearate, glyceryl stearate, stearyl alcohol - PSGSSA), co-emulsionante (brassica glycerides - BG) e agente gelificante (xanthan gum - XG) foram selecionadas como as variáveis relacionadas à formulação mais relevantes que poderiam afetar a estabilidade física do veículo emulsionado;

e a viscosidade aparente e o índice de instabilidade ( $I_{\text{index}}$ ) foram escolhidos como CQAs indicadores de estabilidade física para o estudo de otimização. Uma vez otimizado o veículo, o estudo passou a investigar os efeitos da incorporação de várias concentrações de ZnO, TiO<sub>2</sub> e ácido fítico (PA) na estabilidade física ( $I_{\text{index}}$ ) da formulação final do protetor solar.

Sobre o estudo de otimização do veículo emulsionado, a interpretação geral é que maiores concentrações de PSGSSA levaram a menores valores de  $I_{\text{index}}$ , indicando melhor estabilidade física das emulsões sob centrifugação, enquanto o oposto foi observado para BG. A concentração de XG não influenciou o  $I_{\text{index}}$  das formulações. O aumento da concentração de PSGSSA ou XG aumentou a viscosidade aparente, exceto quando XG estava no nível mais alto, onde o aumento de PSGSSA não levou a um aumento na viscosidade aparente da emulsão. Além disso, quando PSGSSA, BG e XG estavam em seus níveis mais altos, houve uma diminuição na viscosidade aparente, demonstrando o impacto das interações dos fatores na viscosidade aparente da emulsão.

A composição do veículo otimizado (ou seja, PSGSSA 8%, BG 3% e XG 0,3%, Tabela 8) foi selecionada a partir de cem soluções geradas pelo software utilizado, com base na pontuação de desejabilidade mais alta (1,00). Um índice de desejabilidade de 1,00 indica que as concentrações escolhidas para os ingredientes estudados podem resultar em ótimo desempenho do veículo emulsionado em termos de estabilidade física contra a separação de fases.

Com relação à otimização da formulação do protetor solar, os resultados mostram que quanto maior a concentração de ZnO, maior o  $I_{\text{index}}$ , indicando que a adição desse filtro UV aumentou a tendência de as formulações sofrerem separação de fase de maneira dependente da concentração. Por outro lado, adicionar apenas TiO<sub>2</sub>, nas concentrações estudadas, não influenciou o  $I_{\text{index}}$  (tendência à separação de fases). Curiosamente, a adição de PA tendeu a aumentar a estabilidade física das formulações, principalmente quando ZnO ou TiO<sub>2</sub> estavam em seus níveis mais altos. No entanto, esse efeito não foi observado quando o ZnO e o TiO<sub>2</sub> estavam ambos em seus níveis mais elevados.

Os resultados da caracterização do veículo emulsionado e da formulação de protetor solar otimizados mostraram que o  $I_{\text{index}}$  do veículo emulsionado otimizado estava de acordo com o valor estimado no estudo de otimização, enquanto a viscosidade aparente desse veículo e o  $I_{\text{index}}$  da formulação de protetor solar otimizada foram ligeiramente superiores ao previsto na otimização (Tabelas 8 e 10). No entanto, todos esses achados atenderam aos requisitos estabelecidos nos QTPPs (Tabelas 1 e 2), auxiliando no cumprimento dos objetivos do estudo.

O perfil de viscosidade e a curva de fluxo do veículo emulsionado e do protetor solar otimizados, apresentados na Figura 4 (A) e (B), revelam comportamento não newtoniano, indicando que sua viscosidade é influenciada pela taxa de cisalhamento. Mais especificamente, as formulações exibem um comportamento pseudoplástico, em que sua estrutura requer uma tensão inicial (tensão de escoamento) para deformar e iniciar o fluxo. Portanto, observam-se curvas não lineares, com a viscosidade aparente diminuindo à medida que a tensão aumenta (CHHABRA; RICHARDSON, 2008).

As curvas de varredura de frequência revelaram a ausência de intercambialidade entre os módulos elástico e viscoso na faixa de 0,1-100 Hz para ambos os sistemas. O veículo emulsionado e o protetor solar otimizado demonstraram valores de  $G'$  significativamente maiores do que  $G''$ , indicando a predominância do módulo elástico (Figura 4 C). Quando um material viscoelástico possui um módulo elástico superando o módulo viscoso, a energia de cisalhamento é armazenada temporariamente durante o teste e pode ser recuperado posteriormente. Esse fenômeno é comumente observado em sistemas emulsionados. As emulsões que exibem esse comportamento normalmente demonstram uma estabilidade notável (MARTO *et al.*, 2016). Para investigar a resposta dos sistemas à tensão de cisalhamento, um teste de escoamento de 30 segundos foi conduzido, seguido por um período de 150 segundos sem tensão de cisalhamento (recuperação). Durante a fase de escoamento (Figura 4 D), as formulações sofreram deformação, levando a uma redução na viscosidade. Enquanto na fase de recuperação, as amostras conseguiram recuperar sua estrutura inicial, e a parte elástica da deformação foi revertida.

O comportamento reológico observado para o veículo emulsionado e o protetor solar otimizados parece ser um fator chave na capacidade de serem facilmente aplicados a uma superfície (através da quebra da estrutura na aplicação) e depois reconstruírem sua estrutura e viscosidade, evitando que escorram da pele (MCINTOSH *et al.*, 2018). O protetor solar otimizado apresentou uma viscosidade menor do que o veículo emulsionado, como pode ser observado nas Figuras 4 (A), (B) e (D). A diminuição da viscosidade pode ser atribuída à inclusão de filtros solares físicos e de ácido fítico. Em todo o caso, a alteração observada não resultará em uma experiência de aplicação negativa para o utilizador. Pelo contrário, a menor viscosidade identificada pode, na verdade, aumentar a espalhabilidade da formulação do protetor solar na pele e tornar a formulação mais agradável de usar.

Relativo ao pH das formulações analisadas, a adição isolada de óxido de zinco e ácido fítico ao veículo emulsionado otimizado (S1) alterou o pH de  $5,32 \pm 0,03$  para  $7,60 \pm 0,07$  (S2) e  $1,88 \pm 0,03$  (S5) respectivamente, enquanto a adição isolada de dióxido de titânio (S3) não exerceu efeito importante sobre o pH ( $5,60 \pm 0,02$ ). A formulação fotoprotetora otimizada exibiu um pH de  $5,69 \pm 0,01$ , sugerindo que o ácido fítico foi capaz de mitigar a elevação do pH induzida pelo óxido de zinco, alinhando-o dentro da faixa ideal estabelecida conforme descrito na Tabela 2. O pH da epiderme normal é pouco ácido, em torno de 4,5 a 5,5 (LUCCA; DE LACERDA, 2012) e, com isso, é recomendado que os produtos cosméticos sejam biocompatíveis com o pH da pele a fim de garantir a sua proteção (ANSARI, 2014). Dessa forma, o pH da formulação de protetor solar desenvolvida está na faixa adequada para esse tipo de produto.

A capacidade antioxidante do veículo otimizado também atendeu ao requisito desejado (Tabela 2), como mostrado na Tabela 11. Esse efeito decorreu da inclusão de ingredientes ativos naturais com propriedades antioxidantes e antienvelhecimento, conforme descrito na Seção 3.1. O uso de protetor solar de amplo espectro contendo ingredientes ativos antioxidantes e antienvelhecimento reduz efetivamente o impacto do envelhecimento extrínseco (KRUTMANN *et al.*, 2021).

Por fim, o FPS *in vivo*, a resistência à água, o FPUVA *in vitro* e o comprimento de onda crítico do protetor solar otimizado (Tabela 11) apresentou-se em conformidade com os requisitos especificados no QTPP (Tabela 2), comprovando a eficácia fotoprotetora da formulação.

## 5 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi realizado o desenvolvimento de um veículo emulsionado e, a partir dele, de um protetor solar natural contendo filtros ultravioleta físicos.

A tendência à separação de fases do veículo emulsionado foi influenciada pelas concentrações de emulsionante e co-emulsionante, enquanto sua viscosidade aparente foi influenciada pelas concentrações de emulsionante e agente gelificante e pelas interações entre emulsionante, co-emulsionante e gelificante. A tendência de separar fases do protetor solar foi influenciada principalmente pelas concentrações de óxido de zinco e ácido fítico.

Os modelos matemáticos desenvolvidos foram robustos e foram utilizados para prever composições ótimas das formulações de veículo emulsionado e de protetor solar, dentro dos domínios experimentais estudados.

As formulações otimizadas (veículo emulsionado e protetor solar) atenderam plenamente aos Perfis Alvos de Qualidade de Produto pré-estabelecidos, demonstrando a eficácia da abordagem QbD no desenvolvimento de um protetor solar natural fisicamente estável, eficaz e de alta qualidade.

## REFERÊNCIAS

- ABOU-DAHECH, Mariam *et al.* A mini-review on limitations associated with UV filters. **Arabian Journal Of Chemistry**, [S.L.], v. 15, n. 11, p. 104212, nov. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104212>.
- ADDOR, Flavia Alvim Sant'Anna *et al.* Sunscreen lotions in the dermatological prescription: review of concepts and controversies. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 97, n. 2, p. 204-222, mar. 2022. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abd.2021.05.012>.
- ALMAJANO, M. Pilar *et al.* Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 108, n. 1, p. 55-63, maio 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.040>.
- AL-MOKADEM, Sahar *et al.* Easy phytic peel as a therapeutic agent in acne vulgaris and melasma. **Egyptian Journal of Dermatology and Venerology**, v. 33, n. 1, p. 6, 2013.
- AN, Seokyung *et al.* Indoor Tanning and the Risk of Overall and Early-Onset Melanoma and Non-Melanoma Skin Cancer: systematic review and meta-analysis. **Cancers**, [S.L.], v. 13, n. 23, p. 1-11, 25 nov. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cancers13235940>.
- APALLA, Zoe *et al.* Skin cancer: epidemiology, disease burden, pathophysiology, diagnosis, and therapeutic approaches. **Dermatology and therapy**, v. 7, n. 1, p. 5-19, 2017.
- ARENT, S. M. *et al.* The effects of theaflavin-enriched black tea extract on muscle soreness, oxidative stress, inflammation, and endocrine responses to acute anaerobic interval training: a randomized, double-blind, crossover study. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 11, 2010. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-7-11>.
- ARRUDA, Rejanne Lima *et al.* Natural photoprotectors: a literature review. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 10, n. 5, p. 1-11, 25 abr. 2021. Research, Society and Development. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14603>.
- AZMI, Nooratiqah *et al.* A Review on Cosmetic Formulations and Physicochemical Characteristics of Emollient and Day Cream Using Vegetable Based-Wax Ester. **Malaysian Journal Of Science Health & Technology**, [S.L.], v. 8, n. 2, p. 38-45, 8 ago. 2022. Universiti Sains Islam Malaysia. <http://dx.doi.org/10.33102/2022291>.
- BABBUSH, Kayla M.; BABBUSH, Remy A.; KHACHEMOUNE, Amor. Treatment of melasma: a review of less commonly used antioxidants. **International Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 60, n. 2, p. 166-173, 20 ago. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ijd.15133>.
- BALOGH, Tatiana Santana *et al.* Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S.L.], v. 86, n. 4, p. 732-742, ago. 2011. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0365-05962011000400016>.

BANASZAK, Anastazia T.; LESSER, Michael P. Effects of solar ultraviolet radiation on coral reef organisms. **Photochemical & Photobiological Sciences**, v. 8, n. 9, p. 1276-1294, 2009.

BAREL, André O.; PAYE, Marc; MAIBACH, Howard I.. **Handbook of Cosmetic Science and Technology**. 4. ed. New York: Crc Press, 2014. 681 p.

BARON, Elma D.; KIRKLAND, Eugene B.; DOMINGO, D. S. Advances in photoprotection. **Dermatol Nurs**, v. 20, n. 4, p. 265-272, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC no 30, de 1 de junho de 2012. Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores Solares em Cosméticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 69, de 23 de março de 2016. Regulamento técnico Mercosul sobre lista de filtros ultravioletas permitidos para produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. **Diário Oficial da União**, 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC no 752, de 19 de setembro de 2022. Dispõe sobre a definição, a classificação, os requisitos técnicos para rotulagem e embalagem, os parâmetros para controle microbiológico, bem como os requisitos técnicos e procedimentos para a regularização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. **Diário Oficial da União**, 2022.

BRYDEN, A. M. *et al.* Photopatch testing of 1155 patients: results of the UK multicentre photopatch study group. **British Journal of Dermatology**, v. 155, n. 4, p. 737-747, 2006.

BUZZO, Celia Maria Vargas da Costa *et al.* Quality by design enabled the development of stable and effective oil-in-water emulsions at compounding pharmacy: the case of a sunscreen formulation. **Pharmaceutical Development And Technology**, [S.L.], v. 26, n. 10, p. 1090-1101, 18 out. 2021. <http://dx.doi.org/10.1080/10837450.2021.1990946>.

CABRAL JUNIOR, Marcis *et al.* Argila para Cerâmica Vermelha. In: DA LUZ; Adão Benvindo; LINS, Fernando Antonio Freitas (edit.). **Rochas & Minerais Industriais**. 2. ed. Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2008. 990 p.

CAMOUSE, Melissa M. *et al.* Topical application of green and white tea extracts provides protection from solar-simulated ultraviolet light in human skin. **Experimental Dermatology**, [S.L.], v. 18, n. 6, p. 522-526, jun. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0625.2008.00818.x>.

CAVINATO, Maria *et al.* Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging. **Biogerontology**, v. 18, n. 4, p. 499-516, 2017.

CHIOU, Win L.. Pharmacodynamic Modeling of Sunscreens: efficacy evaluation, melanoma incidences and very low to very high sun protection factor. **Journal Of Dermatologic Research And Therapy**, [S.L.], v. 1, n. 3, p. 20-29, 27 mar. 2020. Open Access Pub. <http://dx.doi.org/10.14302/issn.2471-2175.jdrt-20-3274>.

CIVES, Mauro *et al.* Non-Melanoma Skin Cancers: biological and clinical features. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 15, p. 1-25, 29 jul. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21155394>.

COLIPA. International sun protection factor (SPF) test method. The European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association, Brussels, 2006.

COLLARIS, Esther J.H.; FRANK, Jorge. Photoallergic contact dermatitis caused by ultraviolet filters in different sunscreens. **International journal of dermatology**, v. 47, p. 35-37, 2008.

COSMETICS EUROPE. Guidelines for Evaluating Sun Product Water Resistance. The Personal Care Association, Brussels, 2005.

DEPREZ, Philippe. Easy Phytic Solution: A New Alpha Hydroxy Acid Peel with Slow Release and without Neutralization. **International Journal of Cosmetic Surgery and Aesthetic Dermatology**, v. 5, n. 1, p. 45-51, 2003.

DLOVA, N. C. *et al.* Chemical analysis and in vitro UV-protection characteristics of clays traditionally used for sun protection in South Africa. **Photodermatology Photoimmunology and Photomedicine**, v. 29, n. 3, p. 164–169, 2013.

DONG, Yuan *et al.* Perspectives on the next generation of sunscreen: safe, broadband, and long-term photostability. **ACS Materials Letters**, v. 1, n. 3, p. 336-343, 2019.

D'ORAZIO, John *et al.* UV Radiation and the Skin. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 14, n. 6, p. 12222-12248, 7 jun. 2013. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms140612222>.

DUPONT, Eric; GOMEZ, Juan; BILODEAU, Diane. Beyond UV radiation: a skin under challenge. **International Journal Of Cosmetic Science**, [S.L.], v. 35, n. 3, p. 224-232, 14 fev. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/ics.12036>.

ELMETS, Craig A. *et al.* Cutaneous photoprotection from ultraviolet injury by green tea polyphenols. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 44, n. 3, p. 425-432, mar. 2001. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1067/mjd.2001.112919>.

FAGHIHI, Gita *et al.* Solution of azelaic acid (20%), resorcinol (10%) and phytic acid (6%) versus glycolic acid (50%) peeling agent in the treatment of female patients with facial melasma. **Advanced biomedical research**, v. 6, 2017.

FUKUDA, Isa Martins *et al.* Design of Experiments (DoE) applied to Pharmaceutical and Analytical Quality by Design (QbD). **Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences**,

[S.L.], v. 54, n. , p. 1-16, 8 nov. 2018. FapUNIFESP (SciELO).  
<http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902018000001006>.

FDA. Food and Drug Administration. Sunscreen ingredients. 2021. Disponível em:  
<https://www.fda.gov/drugs/understanding-over-counter-medicines/sunscreen-how-help-protect-your-skin-sun#ingredients>. Acesso em: 10 ago. 2022.

FERLAY, J. *et al.* Cancer statistics for the year 2020: an overview. **International Journal of Cancer**, New York, Apr. 2021. DOI 10.1002/ijc.33588.

FILIPE, P. *et al.* Stratum Corneum Is an Effective Barrier to TiO<sub>2</sub> and ZnO Nanoparticle Percutaneous Absorption. **Skin Pharmacology And Physiology**, [S.L.], v. 22, n. 5, p. 266-275, 2009. S. Karger AG. <http://dx.doi.org/10.1159/000235554>.

FLOR, Juliana; DAVOLOS, Marian Rosaly; CORREA, Marcos Antonio. Protetores solares. **Química Nova**, [S.L.], v. 30, n. 1, p. 153-158, fev. 2007. FapUNIFESP (SciELO).  
<http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422007000100027>.

FMI. Future Market Insights. Mineral Sunscreen Market. 2020. Disponível em:  
<https://www.futuremarketinsights.com/reports/mineral-sunscreen-market>. Acesso em: 14 mar 2022.

FREI, Balz; HIGDON, Jane V. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. **The Journal of nutrition**, v. 133, n. 10, p. 3275S-3284S, 2003.  
<https://doi.org/10.1093/jn/133.10.3275S>

GEGOTEK, Agnieszka *et al.* The Effect of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Seed Oil on UV-Induced Changes in Lipid Metabolism of Human Skin Cells. **Antioxidants**. [Bialystok], p. 1-21. ago. 2018.

GEOFFREY, Kiriiri; MWANGI, A.N.; MARU, S.M.. Sunscreen products: rationale for use, formulation development and regulatory considerations. **Saudi Pharmaceutical Journal**, [S.L.], v. 27, n. 7, p. 1009-1018, nov. 2019. Elsevier BV.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2019.08.003>.

GOMES, Celso *et al.* Benefits and risks of clays and clay minerals to human health from ancestral to current times: a synoptic overview. **Clays And Clay Minerals**, [S.L.], v. 69, n. 5, p. 612-632, out. 2021. Springer Science and Business Media LLC.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s42860-021-00160-7>.

GONZÁLEZ, Salvador; FERNÁNDEZ-LORENTE, Manuel; GILABERTE-CALZADA, Yolanda. The latest on skin photoprotection. **Clinics in dermatology**, v. 26, n. 6, p. 614-626, 2008.

GRETHER-BECK, Susanne *et al.* Effective Photoprotection of Human Skin against Infrared A Radiation by Topically Applied Antioxidants: results from a vehicle controlled,

double-blind, randomized study. **Photochemistry And Photobiology**, [S.L.], v. 91, n. 1, p. 248-250, 24 nov. 2014. <http://dx.doi.org/10.1111/php.12375>.

GUBITOSA, Jennifer *et al.* Hair Care Cosmetics: from traditional shampoo to solid clay and herbal shampoo, a review. **Cosmetics**, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 13, 19 fev. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cosmetics6010013>.

GVR. Grand View Research. Natural Cosmetics Market Worth \$48.04 Billion By 2025 CAGR: 5.01%. 2019. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/press-release/global-natural-cosmetics-market>. Acesso em: 10 ago. 2022.

GVR. Grand View Research. Natural Skin Care Products Market Size, Share & Trends Analysis Report By Type (Mass, Premium), By Product (Facial Care, Body Care), By End-use (Men, Women), By Distribution Channel, By Region, And Segment Forecasts, 2022 - 2030. 2022a. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/natural-skin-care-products-market>. Acesso em: 10 ago. 2022.

GVR. Grand View Research. Organic Personal Care Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Skin Care, Hair Care), By Distribution Channel (Hypermarket/Supermarket, eCommerce), By Region, And Segment Forecasts, 2022 – 2030. 2022b. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/organic-personal-care-market>. Acesso em: 10 ago. 2022.

HANEL, Andrea; CARLBERG, Carsten. Vitamin D and evolution: pharmacologic implications. **Biochemical Pharmacology**, [S.L.], v. 173, p. 113595, mar. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2019.07.024>.

HEINRICH, Ulrike *et al.* Green Tea Polyphenols Provide Photoprotection, Increase Microcirculation, and Modulate Skin Properties of Women. **The Journal Of Nutrition**, [S.L.], v. 141, n. 6, p. 1202-1208, 27 abr. 2011. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.3945/jn.110.136465>.

HOANG-MINH, T. *et al.* UV-protection characteristics of some clays. **Applied Clay Science**, [S.L.], v. 48, n. 3, p. 349-357, abr. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clay.2010.01.005>.

HONG, Yang Hee *et al.* Tannase-converted green tea catechins and their anti-wrinkle activity in humans. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 137-143, jun. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jocd.12038>.

HOUSHMAND, E. B. Effect of glycolic acid, phytic acid, soothing complex containing Emulsion on Hyperpigmentation and skin luminosity: A clinical evaluation. **J Cosmet Dermatol**. 2021; 20: 776– 780. <https://doi.org/10.1111/jocd.13950>

HOWARD, Lucy; BIRNIE, Andrew; SARKANY, Robert. Comment on Benzophenone Accumulates over Time from the Degradation of Octocrylene in Commercial Sunscreen Products. **Chemical Research In Toxicology**, [S.L.], v. 34, n. 9, p. 1944-1945, 27 ago. 2021. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.chemrestox.1c00265>.

IARC. International Agency for Research on Cancer. **Melanoma Awareness Month 2022**. World Health Organization. Lyon, 2022. Disponível em: <https://www.iarc.who.int/news-events/melanoma-awareness-month-2022/>. Acesso em: 20 jul. 2023.

International Conference on Harmonization. Q8 ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Q8 (R2) Guideline: Pharmaceutical Development (2009). Disponível em: <https://database.ich.org/sites/default/files/Q8%28R2%29%20Guideline.pdf>. Acesso em: 10 de out. 2023.

International Conference on Harmonization. Q9 ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. ICH Harmonised Tripartite Q9 (R1) Guideline: Quality Risk Management (2023). Disponível em: [https://database.ich.org/sites/default/files/ICH\\_Q9%28R1%29\\_Guideline\\_Step4\\_2023\\_0126\\_0.pdf](https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q9%28R1%29_Guideline_Step4_2023_0126_0.pdf). Acesso em: 10 de out. 2023.

INCA. Instituto Nacional de Câncer (Brasil). **Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2022. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2023.pdf>. Acesso em: 20 jul. 2023.

JAIN, S. K.; JAIN, N. K. Multiparticulate carriers for sun-screening agents. **International Journal Of Cosmetic Science**, [S.L.], v. 32, n. 2, p. 89-98, abr. 2010.

JESUS, Ana *et al.* UV Filters: challenges and prospects. **Pharmaceuticals**, [S.L.], v. 15, n. 3, p. 263, 22 fev. 2022. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ph15030263>.

KEMÉNY, Lajos; VARGA, Emese; NOVAK, Zoltan. Advances in phototherapy for psoriasis and atopic dermatitis. **Expert Review Of Clinical Immunology**, [S.L.], v. 15, n. 11, p. 1205-1214, 1 out. 2019. <http://dx.doi.org/10.1080/1744666x.2020.1672537>.

KHAN, Barkat Ali *et al.* Whitening efficacy of plant extracts including Hippophae rhamnoides and Cassia fistula extracts on the skin of Asian patients with melasma. **Advances In Dermatology And Allergology**, [S.L.], v. 4, p. 226-232, 2013.

KHEMIS, Abdallah *et al.* A randomized controlled study to evaluate the depigmenting activity of l-ascorbic acid plus phytic acid - serum vs. placebo on solar lentigines. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], v. 10, n. 4, p. 266-272, dez. 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1473-2165.2011.00588.x>.

KLOPČIČ, Ivana; DOLENC, Marija Sollner. Endocrine activity of AVB, 2MR, BHA, and their mixtures. **Toxicological Sciences**, v. 156, n. 1, p. 240-251, 2017.

KOCH *et al.* Applications of Tea (*Camellia sinensis*) and its Active Constituents in Cosmetics. **Molecules**, [S.L.], v. 24, n. 23, p. 4277, 24 nov. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24234277>.

KRUTMANN, Jean *et al.* Daily photoprotection to prevent photoaging. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, [S.L.], v. 37, n. 6, p. 482-489, 6 maio 2021. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/phpp.12688>.

LAUTENSCHLAGER, Stephan; WULF, Hans Christian; PITTELKOW, Mark R. **Photoprotection**. *The Lancet*, v. 370, n. 9586, p. 528-537, 2007.

LEE, Kyung Ok; KIM, Sang Nam; KIM, Young Chul. Anti-wrinkle Effects of Water Extracts of Teas in Hairless Mouse. **Toxicological Research**, [S.L.], v. 30, n. 4, p. 283-289, 31 dez. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.5487/tr.2014.30.4.283>.

LEITE-SILVA, Vânia R. *et al.* The effect of formulation on the penetration of coated and uncoated zinc oxide nanoparticles into the viable epidermis of human skin in vivo. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, [S.L.], v. 84, n. 2, p. 297-308, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.01.020>.

LEITE-SILVA, Vânia R. *et al.* Effect of flexing and massage on in vivo human skin penetration and toxicity of zinc oxide nanoparticles. **Nanomedicine**, [S.L.], v. 11, n. 10, p. 1193-1205, maio 2016. Future Medicine Ltd. <http://dx.doi.org/10.2217/nnm-2016-0010>.

LERGENMULLER, Simon *et al.* Sunscreens With High Versus Low Sun Protection Factor and Cutaneous Squamous Cell Carcinoma Risk: a population-based cohort study. **American Journal Of Epidemiology**, [S.L.], v. 191, n. 1, p. 75-84, 11 ago. 2021. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwab216>.

LIONETTI, Nicola; RIGANO, Luigi. The New Sunscreens among Formulation Strategy, Stability Issues, Changing Norms, Safety and Efficacy Evaluations. **Cosmetics**, [S.L.], v. 4, n. 2, p. 15, 16 maio 2017. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cosmetics4020015>.

LORENZI H., MATOS F.J.A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 512 p.

LORIGO, Margarida; MARIANA, Melissa; CAIRRAO, Elisa. Photoprotection of ultraviolet-B filters: Updated review of endocrine disrupting properties. **Steroids**, v. 131, p. 46-58, 2018.

LOWE, N. J. An overview of ultraviolet radiation, sunscreens, and photo-induced dermatoses. **Dermatologic clinics**, v. 24, n. 1, p. 9-17, 2006.

LOSQUADRO, William D.. Anatomy of the Skin and the Pathogenesis of Nonmelanoma Skin Cancer. **Facial Plastic Surgery Clinics Of North America**, [S.L.], v. 25, n. 3, p. 283-289, ago. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsc.2017.03.001>.

MAIER, T.; KORTING, H. C. Sunscreens—which and what for? **Skin pharmacology and physiology**, v. 18, n. 6, p. 253-262, 2005.

MANCERO, Silvia E.; HU, Judy Y.; WANG, Steven Q. Sunscreens: a review of health benefits, regulations, and controversies. **Dermatologic clinics**, v. 32, n. 3, p. 427-438, 2014.

MANOSROI, Aranya *et al.* Anti-aging efficacy of topical formulations containing niosomes entrapped with rice bran bioactive compounds. **Pharmaceutical Biology**, [S.L.], v. 50, n. 2, p. 208-224, 12 jan. 2012. <http://dx.doi.org/10.3109/13880209.2011.596206>.

MATSUMURA, Yasuhiro; ANANTHASWAMY, Honnavara N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 195, n. 3, p. 298-308, 2004.

MNICH, Christian D. *et al.* Green tea extract reduces induction of p53 and apoptosis in UVB-irradiated human skin independent of transcriptional controls. **Experimental Dermatology**, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 69-77, jan. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0625.2008.00765.x>.

MOHAMMED, Yousuf H. *et al.* Support for the Safe Use of Zinc Oxide Nanoparticle Sunscreens: lack of skin penetration or cellular toxicity after repeated application in volunteers. **Journal Of Investigative Dermatology**, [S.L.], v. 139, n. 2, p. 308-315, fev. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jid.2018.08.024>.

SCHLEMMER, Ulrich *et al.* Phytate in foods and significance for humans: food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. **Molecular Nutrition & Food Research**, [S.L.], v. 53, n. 2, p. 330-375, set. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.200900099>.

MORAES, Jemima D. D. *et al.* Clay minerals: Properties and applications to dermocosmetic products and perspectives of natural raw materials for therapeutic purposes-A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 534, n. 1-2, p. 213-219, 2017.

MOYAL, Dominique. Need for a well-balanced sunscreen to protect human skin from both Ultraviolet A and Ultraviolet B damage. **Indian Journal Of Dermatology, Venereology, And Leprology**, [S.L.], v. 78, n. 7, p. 24, 2012. Scientific Scholar. <http://dx.doi.org/10.4103/0378-6323.97352>.

NAVES, Lucas B. *et al.* Nanotechnology for the treatment of melanoma skin cancer. **Progress In Biomaterials**, [S.L.], v. 6, n. 1-2, p. 13-26, 16 mar. 2017. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s40204-017-0064-z>.

NERY, Érika Minuci *et al.* A short review of alternative ingredients and technologies of inorganic UV filters. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 1061-1065, 16 set. 2020.

NGUYEN, Nhu T.; FISHER, David E. MITF and UV responses in skin: From pigmentation to addiction. **Pigment cell & melanoma research**, v. 32, n. 2, p. 224-236, 2019.

PRASANTH, Mani *et al.* A Review of the Role of Green Tea (*Camellia sinensis*) in Antiphotoreaging, Stress Resistance, Neuroprotection, and Autophagy. **Nutrients**, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 474, 23 fev. 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/nu11020474>.

PUNDIR, Swati *et al.* Ethnomedicinal uses, phytochemistry and dermatological effects of *Hippophae rhamnoides* L.: a review. **Journal Of Ethnopharmacology**, [S.L.], v. 266, p. 113434, fev. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2020.113434>.

RAFALSKA, Adrianna; ABRAMOWICZ, Katarzyna; KRAUZE, Magdalena. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) as a plant for universal application. **World Scientific News**, [S.L.], v. [], n. 72, p. 123-140, 2017.

RATNASOORIYA, Wanigasekara Daya *et al.* In vitro sun screening activity of Sri Lankan orthodox black tea (*Camellia sinensis* linn). **World Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 144-148, 2014.

SADRIEH, Nakissa *et al.* Lack of Significant Dermal Penetration of Titanium Dioxide from Sunscreen Formulations Containing Nano- and Submicron-Size TiO<sub>2</sub> Particles. **Toxicological Sciences**, [S.L.], v. 115, n. 1, p. 156-166, 15 fev. 2010. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfq041>.

SANDER, Megan *et al.* The efficacy and safety of sunscreen use for the prevention of skin cancer. **Canadian Medical Association Journal**, [S.L.], v. 192, n. 50, p. 1802- 1808, 13 dez. 2020.

SARKAR, Rashmi; BANSAL, Shuchi; GARG, Vijayk. Chemical peels for melasma in dark-skinned patients. **Journal Of Cutaneous And Aesthetic Surgery**, [S.L.], v. 5, n. 4, p. 247, 2012. Medknow. <http://dx.doi.org/10.4103/0974-2077.104912>.

SBD. Sociedade Brasileira de Dermatologia. **Cuidados com a pele no verão**. Rio de Janeiro, 2023a. Disponível em: <https://www.sbd.org.br/cuidados/cuidados-com-a-pele-no-verao/>. Acesso em: 20 jul. 2023.

SBD. Sociedade Brasileira de Dermatologia. **Classificação dos fototipos de pele**. Rio de Janeiro, 2023b. Disponível em: <https://www.sbd.org.br/cuidados/classificacao-dos-fototipos-de-pele/>. Acesso em: 20 jul. 2023.

SEMENZATO, Alessandra *et al.* Formulating O/W Emulsions with Plant-Based Actives: a stability challenge for an effective product. **Cosmetics**, [S.L.], v. 5, n. 4, p. 59, 9 out. 2018. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/cosmetics5040059>.

SILVA, Elizabet Saes da *et al.* Use of sunscreen and risk of melanoma and non-melanoma skin cancer: a systematic review and meta-analysis. **European Journal Of Dermatology**, [S.L.], v. 28, n. 2, p. 186-201, mar. 2018. John Libbey Eurotext. <http://dx.doi.org/10.1684/ejd.2018.3251>.

SILVA, Mara Reis; SILVA, Maria Aparecida Azevedo Pereira da. Aspectos nutricionais de fitatos e taninos. **Revista de Nutrição**, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 21-32, abr. 1999. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-52731999000100002>.

SIMÕES, Ana *et al.* A Tutorial for Developing a Topical Cream Formulation Based on the Quality by Design Approach. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S.L.], v. 107, n. 10, p. 2653-2662, out. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.xphs.2018.06.010>.

SINGH, Garvita; KUMAR, Jay. Artificial and natural photoprotective compounds. In: RASTOGI, Rajesh P. (ed.). **Sunscreens: Source, Formulations, Efficacy and Recommendations**. USA: Nova Science Publishers, 2018. Cap. 7. p. 153-200.

SONG, Lei *et al.* An End-to-End Multi-Task Deep Learning Framework for Skin Lesion Analysis. **IEEE Journal Of Biomedical And Health Informatics**, [S.L.], v. 24, n. 10, p. 2912-2921, out. 2020. Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE). <http://dx.doi.org/10.1109/jbhi.2020.2973614>.

SUNG, H. *et al.* In vivo antioxidant effect of green tea. **European Journal Of Clinical Nutrition**, [S.L.], v. 54, n. 7, p. 527-529, 1 jul. 2000. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600994>.

SUNG, H. *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: Cancer Journal for Clinicians**, Hoboken, v. 71, n. 3, p. 209-249, Feb. 2021. DOI 10.3322/caac.21660.

SUOZZI, Kathleen; TURBAN, Jack; GIRARDI, Michael. Focus: Skin: Cutaneous Photoprotection: A Review of the Current Status and Evolving Strategies. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 93, n. 1, p. 55, 2020.

TANESE, Keiji. Diagnosis and Management of Basal Cell Carcinoma. **Current Treatment Options In Oncology**, [S.L.], v. 20, n. 2, p. 1-13, fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11864-019-0610-0>.

THIESEN, Liliani C. *et al.* Litchi chinensis leaf extract provides high in vitro photoprotection associated to a natural mineral clay. **Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine**, [S.L.], v. 36, n. 1, p. 61-62, 13 jun. 2019. Wiley.

VARVARESOU, A. *et al.* Self-preserving cosmetics. **International Journal Of Cosmetic Science**, [S.L.], v. 31, n. 3, p. 163-175, jun. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00492.x>.

VICTOR, Frank C.; COHEN, David E.; SOTER, Nicholas A. A 20-year analysis of previous and emerging allergens that elicit photoallergic contact dermatitis. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 62, n. 4, p. 605-610, 2010.

VINSON, Joe A.; TEUFEL, Karolyn; WU, Nancy. Green and Black Teas Inhibit Atherosclerosis by Lipid, Antioxidant, and Fibrinolytic Mechanisms. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [S.L.], v. 52, n. 11, p. 3661-3665, 4 maio 2004. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jf0352551>.

WANG, Shuzhen *et al.* Multifunctional health-promoting effects of oolong tea and its products. **Food Science And Human Wellness**, [S.L.], v. 11, n. 3, p. 512-523, maio 2022. Tsinghua University Press. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fshw.2021.12.009>.

XING, Holly; GARLAND, Timothy. **SUNSCREEN FORMULATIONS USING NATURAL OCEANIC CLAY** (aka Marine Glacial Clay). U.S. Patent Application n. 13/279,305, 3 maio 2012.

YAMADA, Miko; MOHAMMED, Yousuf; PROW, Tarl W. Advances and controversies in studying sunscreen delivery and toxicity. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 153, p. 72-86, jan. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2020.02.001>.

YANG, Chung S.; LAMBERT, Joshua D.; SANG, Shengmin. Antioxidative and anti-carcinogenic activities of tea polyphenols. **Archives Of Toxicology**, [S.L.], v. 83, n. 1, p. 11-21, 12 nov. 2008. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-008-0372-0>.

YAROVAYA, Liudmila *et al.* Effect of grape seed extract on skin fibroblasts exposed to UVA light and its photostability in sunscreen formulation. **Journal Of Cosmetic Dermatology**, [S.L.], v. 20, n. 4, p. 1271-1282, 21 set. 2020.

YOUNG, Antony R.; CLAVEAU, Joël; ROSSI, Ana Beatris. Ultraviolet radiation and the skin: photobiology and sunscreen photoprotection. **Journal Of The American Academy Of Dermatology**, [S.L.], v. 76, n. 3, p. 100-109, mar. 2017. Elsevier BV.

ZONTA, Soraia *et al.* Composições fotoprotetoras, formulações fotoprotetoras incluindo composições fotoprotetoras, métodos de preparação e seus usos. Depositante: Bioart Biocosméticos LTDA - ME; Universidade Federal de Santa Catarina. Procurador: Rafael Migliorini. BR102019024166-7A. Depósito: 15 nov. 2019.