

RELATÓRIO DE ENSAIO

AVALIAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO UVA IN VITRO

Patrocinador: KOHLL BEAUTY
Endereço: NÃO INFORMADO
Local de realização da pesquisa: IPclin Instituto de Pesquisa Clínica Integrada Ltda.
Rua Leonardo Cavalcanti, 314, Centro
Jundiaí-SP, Brasil, CEP 13201-013
Código do Produto: 2024.2384
Nome do Produto: BASE BLINDADA
Lote / Fabricação / Validade: 1024COR1/ NÃO INFORMADO / 03/2027
Emissão do Relatório: 03/07/2024

UVA

2024.2384

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	3
2. OBJETIVO.....	4
3. METODOLOGIA.....	4
3.1. Informações do produto fornecidas pelo Patrocinador.....	4
3.2. Aplicação do Produto-Teste no Substrato.....	5
3.3. Procedimento de teste.....	5
4. RESULTADOS.....	9
5. CONCLUSÃO.....	10
6. REFERÊNCIAS.....	11
7. APROVAÇÕES.....	11

1. INTRODUÇÃO

A determinação do Fator de Proteção UVA (FPUVA), por meio de método espectrofotométrico, é inicialmente descrita por B. L. Diffey e J. Robson^[1] e depois modificada e adaptada pela COLIPA^[2] para a avaliação da proteção da pele contra os raios UVA conferida por um produto.

O presente método consiste em avaliar a proteção UVA conferida por um produto por método espectrofotométrico utilizando um substrato adequado para a aplicação da amostra.

O teste se baseia na medida de transmitância da radiação UV pela amostra que é aplicada a um substrato apropriado e com rugosidade controlada. As amostras são expostas a níveis determinados e controlados de radiação UV através do emprego de uma fonte de irradiação especificada pelo método COLIPA^[2]. Devido a possíveis variações de resultados interlaboratoriais é utilizado o FPS *in vivo* para o ajuste matemático dos espectros de transmissão de radiação através de um coeficiente de multiplicação C.

A amostra de protetor solar é exposta a uma dose de irradiação proporcional ao Fator de Proteção UVA inicial (FPUVA₀), calculada através dos dados de transmitância da amostra não-exposta. O Fator de Proteção UVA final (FPUVA) é calculado através dos dados de transmitância ajustados da amostra exposta à radiação UV.

O método consiste em medir o fluxo de radiação UV através do produto, expressa em termos de transmitância e comparar com o fluxo de radiação UV inicial do substrato sem produto de acordo com o princípio espectrofotométrico abaixo:

$$T(\lambda) = I / I_0 \text{ onde } \lambda \text{ é o comprimento de onda.}$$

A Absorbância em um determinado comprimento de onda λ é relacionada com a Transmitância por:

$$A(\lambda) = -\log(T(\lambda))$$

Os valores de absorbância são multiplicados por diferentes irradiâncias e espectros de ação para que então se busque correlações com respostas biológicas obtidas por métodos *in vivo*.

Para o cálculo do FPS:

- Fonte de irradiação. Irradiância espectral gerada pela fonte ultravioleta $I(\lambda)$.
- Espectro de ação relacionado à resposta cutânea. Espectro de ação relacionado ao Eritema que expressa a relação entre a reação cutânea/subcutânea e a energia luminosa $E(\lambda)$ (conforme definição da CIE "Commission Internationale de l'Eclairage").

Para o cálculo do FPUVA:

- Fonte de irradiação. Irradiância espectral gerada pela fonte ultravioleta $I(\lambda)$.
- Espectro de ação relacionado à resposta cutânea. Espectro de ação relacionado ao Persistent Pigment Darkening (PPD) que expressa a relação entre a reação cutânea/subcutânea e a energia luminosa na região de 320-400nm $P(\lambda)$.

$I(\lambda)$, $E(\lambda)$ e $P(\lambda)$ são conhecidos e seus valores são tabelados.

O Fator de Proteção UVA (FPUVA) é determinado seguindo os seguintes passos:

Passo 1: Medida da Absorbância *in vitro* $A_0(\lambda)$ do produto espalhado no substrato PMMA previamente a qualquer irradiação UV.

Passo 2: Ajuste matemático do espectro UV inicial usando o coeficiente “C” para alcançar um FPS *in vitro* igual ao FPS *in vivo* da amostra em teste. Então o Fator de Proteção UVA inicial (FPUVA₀) é calculado usando $A_0(\lambda)$ e C.

Passo 3: Uma dose UV única é calculada, proporcional ao FPUVA₀. ($D = \text{FPUVA}_0 \times 1.2 \text{ J.cm}^{-2}$).

Passo 4: Irradiação UV da amostra de acordo com a dose D calculada.

Passo 5: Medida da Absorbância *in vitro* do produto após a exposição UV. Obtenção do segundo espectro de absorção UV – Dados de $A(\lambda)$.

Passo 6: Ajuste matemático do segundo espectro (espectro após exposição à irradiação UV) de acordo com o mesmo coeficiente “C” previamente determinado em Passo 2. Então se tem o cálculo do Fator de Proteção UVA *in vitro* (FPUVA).

2. OBJETIVO

Avaliar o comportamento de um protetor solar quanto à sua eficácia na proteção UVA empregando o protocolo baseado na norma ISO 24443:2021 Cosmetics — Determination of sunscreen UVA photoprotection *in vitro*.

3. METODOLOGIA

3.1. Informações do produto fornecidas pelo Patrocinador

NOME DO PRODUTO BASE BLINDADA

FÓRMULA INCI NÃO INFORMADO

Uma amostra do produto foi armazenada e será mantida no IPclin® por um período de 1 mês a partir da emissão do Relatório de Ensaio.

UVA	2024.2384
------------	------------------

3.2. Aplicação do Produto-Teste no Substrato

O substrato é um material ao qual a amostra é aplicada. Ele deve ser não-fluorescente, fotoestável, não-reativo e compatível com todos os ingredientes de uma formulação. Além disso, ele deve distribuir o produto de uma forma similar ao que ocorre na pele humana e, portanto, deve possuir uma face texturizada.

Para este método, placas de PMMA (poli-meta-acrilato de metila HD6 - Helioplate) com um lado do substrato texturizado foram utilizadas.

O produto foi aplicado no substrato em gotas uniformemente distribuídas ao longo da placa, na razão de 1,2 mg/cm² (±1,5 %). Em seguida, o produto foi espalhado de modo padronizado com dedo até obtenção de filme uniforme. A amostra foi, então, submetida à secagem por 30 minutos no escuro à mesma temperatura sob condições de exposição UV.

Uma placa de PMMA com 5mg de glicerina espalhada foi utilizada para o registro da linha de base do espectrofotômetro.

3.3. Procedimento de teste

3.3.1. Pré-irradiação das placas

Uma dose única de irradiação foi calculada a partir do valor de FPUVA₀ (os cálculos são apresentados abaixo). As amostras devem ser mantidas nas mesmas condições de secagem durante a exposição à radiação UV; ou seja, se as condições de secagem forem de 30°C, as condições de exposição da fonte UV também devem estar a 30 °C; ou se as condições de secagem forem 27 °C, as condições de exposição da fonte UV também devem estar a 27 °C.

3.3.2. Cálculos

Cálculo do FPS *in vitro*:

$$\text{FPS}_{in vitro} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)} \times d\lambda}$$

Onde:

E(λ) = Espectro de ação para o eritema;

UVA

2024.2384

$I(\lambda)$ = é a irradiância espectral recebida da fonte UV;

$A_0(\lambda)$ = Absorbância monocromática média do produto em teste antes da exposição aos raios UV;

$d\lambda$ = Variação no comprimento de onda (1 nm)

Cálculo do FPS *in vitro* ajustado e determinação do coeficiente de ajuste “C”:

“C” é o coeficiente de ajuste utilizado para ajustar o valor de FPS *in vitro* com o FPS do produto determinado *in vivo*. É recomendado que “C” esteja entre 0,6 e 1,6.

$$\text{FPS } in \text{ vitro, adj} = \text{FPS rotulado } / \text{ in vivo} = \frac{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=290}^{\lambda=400} E(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)C} \times d\lambda}$$

Cálculo do FP-UVA₀:

FP-UVA₀ é calculado para cada placa de PMMA individualmente com a finalidade de determinar a dose de exposição UV de acordo com a seguinte fórmula:

$$\text{FPUVA}_0 = \frac{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times d\lambda}{\int_{\lambda=320}^{\lambda=400} P(\lambda) \times I(\lambda) \times 10^{-A_0(\lambda)C} \times d\lambda}$$

Onde $P(\lambda)$ = Espectro de ação para o PPD;

C = é o coeficiente de ajuste.

Cálculo da dose UVA 'D' para a irradiação da amostra:

A dose UVA única "D" é deduzida do valor de FPUVA₀. A dose unitária D₀ foi definida experimentalmente para se obter boa correlação entre o FPUVA *in vivo* e o FPUVA *in vitro*. De acordo com o método da ISO 14443:2021². D₀ = 1,2 J.cm⁻²:

A dose de exposição UVA única "D", é o valor FPUVA₀ multiplicado por um fator de 1,2, em J/cm² mostrado na fórmula a seguir:

$$D = \text{FPUVA}_0 \times 1,2$$

A dose pré-irradiação deve ser limitada a um máximo de 36 J/cm² (PFUVA₀ máximo 30).

Cálculo do FP-UVA após a irradiação da amostra:

O FPUVA *in vitro* é calculado usando a seguinte fórmula:

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

Onde A(λ) é a absorvância monocromática média do produto em teste após a exposição UV.

Cada placa de PMMA foi lida em diferentes sítios a fim de assegurar que pelo menos 2 cm² fossem medidos.

O PFUVA₀ ou FPUVA de uma placa é calculado através da absorvância média de todos os sítios de uma mesma placa de PMMA. Se o coeficiente de variação para a absorvância entre os diferentes sítios excedesse 50%, esta placa seria rejeitada e uma nova placa seria preparada.

O FP-UVA₀ ou FP-UVA do produto é a média dos FP-UVA₀ ou FPUVA de pelo menos 3 placas individuais. Se os coeficientes de variação entre os FP-UVA₀ ou FP-UVA das placas individuais excedessem 20% então novas placas seriam preparadas até que o critério para o coeficiente de variação fosse alcançado.

Cálculo do comprimento de onda crítico

O valor do comprimento de onda crítico (λ_c) para o produto teste é definido como aquele comprimento de onda onde a área abaixo do espectro de absorvância para o produto irradiado de 290 nm a λ_c é 90% da integral do espectro de absorvância de 290 nm a 400 nm, e é calculado da seguinte forma:

Uma série de valores de absorvância (dependente do incremento do comprimento de onda) são calculados para cada uma das três placas, separadamente, nas quais o produto teste foi aplicado. A absorvância em cada incremento do comprimento de onda (A_λ) é calculada da seguinte forma:

$$A(\lambda) = \log(C(\lambda)/P(\lambda))$$

Onde:

$$C(\lambda) = \sqrt[n]{C(\lambda)[1] * C(\lambda)[2] * \dots * C(\lambda)[n]}$$

$$P(\lambda) = \sqrt[n]{P(\lambda)[1] * P(\lambda)[2] * \dots * P(\lambda)[n]}$$

$C(\lambda)[n]$ = Média aritmética das medidas de transmissão tomadas como n pontos de medida e o comprimento de onda λ da amostra de referência (Placa de PMMA rugosa e tratada com glicerina)

$P(\lambda)[n]$ = Média aritmética das medidas de transmissão tomadas como n pontos de medida e o comprimento de onda λ da amostra tratada com o protetor solar (na placa de PMMA rugosa)

O Comprimento de onda crítico λ_c é calculado para cada placa irradiada:

$$\int_{\lambda=290}^{\lambda_c} A_e(\lambda) \times d\lambda = 0,9 \times \int_{\lambda=290}^{\lambda=400} A_e(\lambda) \times d\lambda$$

$A_e(\lambda)$ é a absorvância média em cada comprimento de onda após a exposição;

$d(\lambda)$ é o intervalo de comprimento de onda entre as medições.

O valor do comprimento de onda crítico final para cada produto teste é a média dos valores de cada placa de PMMA irradiada e tratada com o produto no qual a área sob a curva de absorvância representa 90% da área total sob a curva na região UV.

4. RESULTADOS

Os resultados obtidos para a amostra testada constam na tabela abaixo.

Placa	FPA ₀	Dose (J/cm ²)	λ _c	FPA	Coefficiente C	FPS <i>in vivo</i>
1	13	14,85	380	12	1	30
2	13	14,39	380	12	1	
3	14	15,32	380	13	1	
4	13	14,96	380	12	1	
Média	13,3	14,9	380,0	12,3	1,0	
DP	0,5	0,4	0,0	0,5	0,0	
Estatística t	3,182446					
Número de placas	4					
IC95	0,795612					
% do IC em relação à média	6,5					

Legenda: λ_c = comprimento de onda crítico; DP = desvio padrão.

Tabela 1. Padrão: S2 (especificação de UVA-PF = entre 10,7 e 14,7)¹¹.

Placa	FPA ₀	Dose (J/cm ²)	λ _c	FPA	Coefficiente C	FPS <i>in vivo</i>
1	15	18,21	379	12	1,00	16
2	14	17,92	379	13	1,10	
3	15	17,04	380	12	1,00	
4	15	17,94	380	11	1,10	
Média	14,75	17,78	379,50	12,00	1,05	
DP	0,50	0,51	0,58	0,82	0,06	
Estatística t	3,182446					
Número de placas	4					
IC95	1,30					
% do IC em relação à média	10,83					

Legenda: DP = desvio padrão; IC = Intervalo de confiança.

5. CONCLUSÃO

No estudo intitulado “**AVALIAÇÃO DO FATOR DE PROTEÇÃO UVA IN VITRO**”, referente ao produto **BASE BLINDADA**, código **2024.2384**, enviado pelo Patrocinador **KOHL BEAUTY**, pode-se concluir que:

O produto apresentou Fator de Proteção UVA (FPUVA) médio igual a 12,3 e comprimento de onda crítico igual a 380,0nm.

Este relatório destina-se ao uso interno do patrocinador do estudo **KOHL BEAUTY** e para fins de registro junto aos órgãos reguladores, **Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde**. Proibida a reprodução e/ou divulgação total e/ou parcial deste documento em meios impressos e/ou eletrônicos.

NOTA 1: O resultado refere-se à amostra recebida.

NOTA 2: A amostragem foi realizada pelo Patrocinador do estudo.

NOTA 3: A condição de realização do ensaio garante a rastreabilidade dos dados gerados.

NOTA 4: É proibida a reprodução parcial deste Relatório de Ensaio.

6. REFERÊNCIAS

- AMARO-ORTIZ, A.; YAN, B.; D'ORAZIO, J. A. Ultraviolet Radiation, Aging and the Skin: Prevention of Damage by Topical cAMP Manipulation. *Molecules*. 19(5):6202-6210, 2014.
- BURKE, K. Environmental aging of the skin: new insights. *Plastic and Aesthetic Research*.7:59, 2020.
- RAI, R.; SHANMUGA, S.; SRINIVAS, C. R. Update on photoprotection. *Indian Journal of Dermatology*. 57(5):335-342, 2012.
- BALOGH, T. S.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A.; KANEKO, T. M.; BABY, A. R. Ultraviolet radiation protection: current available resources in photoprotection. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 86(4):732-42, 2022.
- BATTIE, C.; VERSCHOORE M. Cutaneous solar ultraviolet exposure and clinical aspects of photodamage. Supplement-photoprotection. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, 78:9-14, 2012.
- WANG, F.; SMITH, N. R.; TRAN, B. A. P.; KANG, S.; VOORHEES, J.; FISHER, G. Dermal damage promoted by repeated low-level UVA1 exposure despite tanning response in human skin. *Jama Dermatology*. 150(4):401-406, 2014.
- KRUTMANN, J.; MORITA, A. UVA1 phototherapy. 2022. Post TW, ed. Atualizado: UpToDate Inc Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/uva1-phototherapy>. Acessado em 07 de março de 2022.
- BARRON, B. The Difference Between UVA and UVB Rays. *Paulachoice*. 2022. Disponível em: <https://www.paulaschoice.com/expert-advice/skincare-advice/sunscreen/the-difference-between-uva-and-uvb-rays.html>. Acessado em 07 de março de 2022.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 629, 1 de abril de 2022. Disponível em: <https://www.sindaspcg.org.br/wp-content/uploads/2022/03/RESOLUCAO-RDC-No-629-DE-10-DE-MARCO-DE-2022.pdf>.
- EUROFINS (2021). Sunscreen Regulations. Disponível em: <https://www.eurofins.com.au/dermatest/sunscreen-testing/sunscreen-regulations>. Acesso em: Jan 26 2022.
- INTERNATIONAL ISO STANDARD. ISO 24443:2021: Cosmetics - Determination of sunscreen UVA photoprotection in vitro. 2 ed. p. 1-36, 2021.

7. APROVAÇÕES


Cassiano Carlos Escudeiro
Químico – CRQ: 04153268 IV Região

UVA

2024.2384