









Methods for cutaneous penetration assessment of organic UV filters - a review

Métodos para avaliação da penetração cutânea de filtros solares orgânicos – uma revisão

Débora Quintas Balla¹ , Alicio Vitorino de Souza Neto¹ , Renata Miliani Martinez² , Alexandra de Almeida Hübner² , Catarina Rosado³ , André Rolim Baby² , Fabiana Vieira Lima¹  

Keywords: Franz cell, sunscreens, percutaneous penetration, tape stripping

Palavras-chave: Célula de Franz, filtros solares, penetração cutânea, *tape stripping*

To Cite:

Quintas Balla, D., Vitorino de Souza Neto, A., Miliani Martinez, R., de Almeida Hübner, A., Rosado, C., Rolim Baby, A., Vieira Lima, F. (2023) Methods for cutaneous penetration assessment of organic UV filters - a review. *Biomedical and Biopharmaceutical Research*, 20(1), 106-125.

 [10.19277/bbr.20.1.307](https://doi.org/10.19277/bbr.20.1.307)

1 - Laboratory of Pharmaceutical Technology, Department of Health Science, Federal University of Espírito Santo, São Mateus, ES, Brazil

2 - Department of Pharmacy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

3 - CBIOS - Center for Biosciences & Health Technologies, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Campo Grande 376, 1749-024 Lisboa, Portugal

Correspondence to / Correspondência a:
fabiana.v.lima@ufes.br

Received / Recebido: 03/04/2023
Accepted / Aceite: 31/05/2023

Abstract

Sunscreens are currently considered cosmetic assets and their use has considerably increased since consumers have become greatly aware of the damages induced by ultraviolet (UV) radiation on the skin, such as premature aging and cancer. However, concerns have arisen over the percutaneous absorption of UV filters. In order to ensure both efficacy and safety, sunscreens need to remain in the outermost layers of the stratum corneum, because their penetration into the dermis can cause systemic effects. Herein, a review was conducted of specialized literature published between 2000 to 2020, clustering studies focused on the skin penetration of UV filters. In this context, different *in vitro* and *in vivo* methodologies employed to assess the penetration of such compounds are highlighted, such as those based on tape stripping and diffusion cells. When combined with analytical methods, such as high-performance liquid chromatography, it is possible to trace a profile of the penetration of UV filters and elucidate factors that interfere with this phenomenon. Moreover, studies have been carried out on dissemination strategies that aim to encapsulate the molecules of UV filters, and/or change their physicochemical characteristics, in effort to increase the efficacy and safety of these formulations.

Resumo

Protetores solares são cosméticos amplamente usados atualmente, visto que a população tem se conscientizado cada vez mais dos danos que a radiação ultravioleta causa na pele, como envelhecimento precoce e câncer de pele. Porém os filtros solares podem ser tóxicos ao organismo quando penetram na pele. Para que sejam eficazes, os filtros solares precisam se depositar nas camadas mais externas do estrato córneo, pois sua penetração até a derme pode proporcionar efeitos sistêmicos. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão de publicações no período dos anos 2000 a 2020, agrupando estudos de penetração de filtros solares. Neste contexto, destaca-se o uso de métodos *in vitro* e *in vivo* que avaliaram a penetração destes, como a técnica de *tape stripping* e o sistema de difusão de célula de Franz, que combinadas a métodos analíticos como cromatografia líquida de alta eficiência e espectrofotometria, permitiram traçar um perfil da penetração dessas substâncias e elucidar fatores que interferem na sua penetração. Ademais, estudos vêm sendo realizados com estratégias de veiculação que visam encapsular as moléculas de filtros solares, e/ou alterar suas características físico-químicas, visando aumento da eficácia e segurança do usuário.

Introduction

The skin is the largest human organ in dimension and of relevance for the application of pharmacological and cosmetic substances. In this context, studies on the behavior of chemical actives when applied on the skin and on the mechanisms regulating their penetration through the *stratum corneum* (SC) are clearly important. SC acts on the skin as a diffusion barrier and, thus, several physicochemical characteristics of the components of the applied formulation should be considered for this analysis (1).

Sunscreens are among the most commonly used formulations for the skin, especially as exposure to ultraviolet radiation (UVR) is associated with various harmful effects such as skin cancer, erythema and premature skin aging (2). Sunscreens are defined by regulatory agencies as substances with the exclusive and/or main purpose of protecting the skin against UVR by absorbing, dispersing or reflecting radiation (3,4).

UV filters can be classified according to their mechanism of action as chemical (or organic) or as physical (or inorganic). To be effective, chemical filters need to accumulate in the SC layers, as they act by absorbing the UVR. The physical filters, in turn, must remain on the SC surface, forming a film reflecting the UVR (5).

When these molecules penetrate the *stratum corneum*, they can permeate through the remaining skin layers, leading to systemic circulation. The SC is the primary barrier to the penetration of substances, and can also act as a reservoir of these substances that are applied to the skin (6).

The penetration mechanism involves the entry of the sunscreen molecule into the most superficial layer of the skin but does not require the passage of it from one layer to another as occurs in the permeation movement (7). As it influences the partition from the formulation and its diffusion in the skin, the lipophilicity of the active molecules is one of the most significant mechanisms facilitating this permeation, and it is an important property to be studied to understand the penetration of sunscreens in the SC (8).

Penetration is the first step for filters to reach the vascularized layers of the skin, which can trigger toxic effects (9). Moreover, the permeation of the filters can lead to the loss of photoprotection, because, as mentioned above, the photoprotective action depends on the molecules remaining in the most superficial layers of the SC (10,11).

Introdução

A pele é o maior órgão humano em extensão e de relevância para aplicação de substâncias farmacológicas e cosméticas. Neste contexto, enfatiza-se a importância de estudos do comportamento de ativos químicos quando aplicados sobre a pele e, seu mecanismo de penetração pelo estrato córneo (EC). O EC atua na pele, como uma barreira de difusão e por isso, uma série de características físico-químicas da formulação aplicada deve ser levada em conta para esta análise (1).

Os protetores solares estão entre as formulações mais comuns utilizadas sobre a pele, especialmente porque a exposição à radiação ultravioleta (RUV) está associada a vários efeitos nocivos como câncer de pele, eritema e envelhecimento precoce da pele (2). Os filtros solares são definidos pelos órgãos regulamentadores como substâncias com a finalidade exclusiva e/ou principal de proteger a pele contra RUV absorvendo, dispersando ou refletindo a radiação (3,4).

Os filtros solares podem ser classificados quanto ao seu mecanismo de ação em filtros químicos (ou orgânicos) e em filtros físicos (ou inorgânicos). Para serem eficazes os filtros químicos precisam se acumular no EC, pois agem absorvendo a RUV. Os filtros físicos por sua vez, devem permanecer na superfície da pele, formando um filme, refletindo a RUV (5).

Os filtros solares ao penetrarem no estrato córneo podem permear através da pele até a circulação sistêmica. O EC é a barreira primária para a penetração de substâncias, podendo atuar também como reservatório dessas substâncias que são aplicadas sobre a pele (6).

O mecanismo de penetração envolve a entrada da molécula do filtro solar na camada mais superficial da pele, mas não requer a passagem dela de uma camada para outra como ocorre no movimento de permeação (7). Uma vez que influencia a partição da formulação e a sua difusão na pele, a lipofilia das moléculas ativas é um dos mecanismos mais significativos que facilitam esta permeação, e é uma propriedade importante a ser estudada para compreender a penetração dos protetores solares na SC (8).

A penetração é o primeiro passo para que os filtros alcancem as camadas vascularizadas da pele, o que pode desencadear efeitos tóxicos (9). Ademais, a permeação dos filtros pode acarretar na perda da fotoproteção, pelo fato de sua ação fotoprotetora depender das moléculas permanecerem nas camadas mais superficiais do EC (10,11).

In this framework, several methodologies for the evaluation of the penetration and permeation of substances in SC have been developed. Thus, the objective of this work was to conduct a review of the literature regarding the different *in vitro* and *in vivo* methodologies employed in the study of the penetration of chemical UV filters in the skin, as well as the factors that can influence the penetration profile of sunscreens in the skin.

Material and Methods

The bases used for search were Google Scholar, Scielo, Pubmed, Scopus and CAPES Journals. The keywords used for the research were "sunscreen" and "penetration". The publication period selected for the research comprised publications from the years 2000 to 2020, finding a total of 20,277 results. Based on the results found, a selection was made by title, where 398 results were selected. The exclusion criteria of the titles used were the absence of the searched terms, the absence of methods that assess the penetration of filters, absence of chemical filters and, finally, review papers. The Mendeley Desktop platform was used to perform the selection, reading of abstracts and exclude duplicates. After reading the abstracts, 122 articles were selected. The same exclusion criteria were used after reading the articles, resulting in the selection of 61 articles for this review.

Results and Discussion

The articles were analyzed in relation to the methodology used to evaluate the penetration and/or permeation of sunscreens on the skin, regarding the substrate used as a model for analysis and for the results presented.

To unify the UV filter nomenclature the international nomenclature of cosmetic ingredients (INCI) was used, other synonyms and details can be found in the [Supplementary Table](#). Among the most cited filters found in this review were butyl methoxydibenzoylmethane, ethylhexyl methoxycinnamate, and benzophenone-3 (Tables 1, 2 and 3, respectively). Table 4 details the list of UV filters found in isolation, whereas Table 5 contains filters in association, as well as the vehicles used, the methodology employed and the substrate that was used as a study model.

Diversos métodos para a avaliação da penetração e permeação de substâncias no EC tem sido aplicada, assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão da literatura a respeito dos diferentes métodos *in vitro* e *in vivo* utilizados para o estudo de penetração de filtros solares químicos na pele, assim como, os fatores que podem influenciar no perfil de penetração dos mesmos na pele.

Material e Métodos

As bases utilizadas para busca foram: Google Acadêmico, Scielo, Pubmed, Scopus e Periódicos CAPES. As palavras-chave utilizadas para a pesquisa foram "sunscreen" e "penetration". O período de publicação selecionado para a pesquisa compreendeu publicações dos anos 2000 a 2020, encontrando no total 20.277 resultados. A partir dos resultados encontrados, realizou-se a seleção por título onde foram selecionados 398 resultados. Os critérios de exclusão dos títulos utilizados foram: a não presença dos termos buscados, a não utilização de métodos que avaliem a penetração dos filtros, ausência de filtros químicos e estudos de revisão. Foi utilizada a plataforma Mendeley Desktop para realização da seleção, leitura dos resumos e exclusão das duplicatas. Após a leitura dos resumos foram selecionados 122 artigos. Os mesmos critérios de exclusão foram utilizados após a leitura dos artigos, resultando na seleção de 61 artigos para esta revisão.

Resultados e Discussão

Os artigos foram analisados em relação à metodologia utilizada para avaliação da penetração e/ou permeação dos filtros solares na pele, quanto ao substrato utilizado como modelo para análise e quanto aos resultados apresentados.

Para unificar a nomenclatura dos filtros solares foi utilizada a nomenclatura internacional de ingredientes cosméticos (INCI), outros sinônimos e detalhes podem ser encontrados na [Tabela Suplementar](#). Entre os filtros UV mais encontrados nessa revisão destacaram-se *butyl methoxydibenzoylmethane*, *ethylhexyl methoxycinnamate*, e *benzophenone-3* (Tabelas 1, 2 e 3 respectivamente). Na Tabela 4 detalha-se lista filtros solares encontrados isoladamente, e na Tabela 5, em associação, assim como os veículos utilizados, a metodologia empregada e o substrato que foi utilizado como modelo de estudo.

Table 1 - List of articles for UV filter butyl methoxydibenzoylmethane.

Tabela 1 - Lista de artigos para o filtro solar butyl methoxydibenzoylmethane.

Vehicle/vectorization / Veículo/vetorização	Methodology / Metodologia	Substrate / Substrato	Reference / Referência
Microcapsules/Cyclodextrins / Microcápsulas/Ciclodextrinas	Tape Stripping and HPLC / <i>Tape Stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(46)
Cyclodextrins / Ciclodextrinas	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Human skin / Pele humana	(60)
-	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Rat skin / Pele de ratos	(61)

Legend: HPLC - high-performance liquid chromatography / Legenda: CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência

Table 2 - List of articles for UV filter ethylhexyl methoxycinnamate.

Tabela 2 - Lista de artigos para o filtro solar ethylhexyl methoxycinnamate.

Vehicle/vectorization / Veículo/vetorização	Methodology / Metodologia	Substrate / Substrato	Reference / Referência
Poly nanoparticles / Poly nanopartículas	Tape stripping, HPLC and Confocal laser microscopy / <i>Tape stripping</i> , CLAE e Microscopia de Varredura Confocal a Laser	Swine skin / Pele suína	(12)
Lipid nanoparticles / Nanopartículas lipídicas	Franz cell; tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(64)
Nanocapsules; nanoemulsion; emulsion / Nanocápsulas; nanoemulsão; emulsão	-	Human skin / Pele humana	(49)
Nanoemulsion / Nanoemulsão	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(39)
Nanocapsules / Nanocápsulas	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(19)
Nanocapsules; liposomes; cyclodextrins / Nanocápsulas; lipossomos; ciclodextrinas	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(10)
Liposomes / Lipossomos	Tape stripping and HPLC / <i>Tape stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(65)
Polymeric nanocapsules / Nanocápsulas poliméricas	Tape stripping and HPLC / <i>Tape stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(41)
Liquid Crystal systems / Sistema de Cristais Líquidos	Franz cell, tape stripping and UPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e UPLC	Swine skin / Pele suína	(40)
Microcapsules; Cyclodextrins / Microcápsulas; Ciclodextrinas	Tape stripping and HPLC / <i>Tape Stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(47)

Legend: HPLC - high-performance liquid chromatography ; UPLC - ultra high performance liquid chromatography /
 Legenda: CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência; UPLC - cromatografia líquida de ultra eficiência

Table 3 - List of articles for UV filter benzophenone-3.**Tabela 3** – Lista de artigos para o filtro solar benzofenona-3.

Vehicle/vectorization / Veículo/vetorização	Substances added / Substâncias adicionadas	Methodology / Metodologia	Substrate / Substrato	Reference / Referência
Hydroxypropyl cyclodextrin complex / Complexo de beta- hidroxipropil ciclodextrinas	-	Photoacoustic spectroscopy / Espectroscopia Fotoacústica	Rabbit skin / Pele de coelhos	(15)
O/W emulsion; Starch microsponge / Emulsão O/A ; Microesponjas de amido	-	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Rat skin / Pele de ratos	(13)
-	-	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Rat skin / Pele de ratos	(62)
O/W emulsion / Emulsão O/A	-	-	Human skin / Pele humana	(36)
O/W emulsion; Submicron emulsion / Emulsão O/A ; Emulsão submicro	Coconut oil; Propyleneglycol; capic caprylictriglyceride acids / Óleo de coco; propilenoglicol; triglicerídeos de ácido capri-caprílicos	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Human skin; Swine skin / Pele humana; Pele suína	(6)
-	DEET	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(55)
-	DEET	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(54,56)
-	DEET	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(56)
-	DEET	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(8)
Mesoporous silica / Sílicas mesoporosas	-	Franz cell and FTIR / Célula de Franz e FTIR		(63)
Polymeric nanoparticles / Nanopartículas poliméricas	-	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(44)
Lipid microparticles / Micropartículas lipídicas	-	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Swine skin / Pele suína	(43)
Lipid microparticles / Micropartículas lipídicas	-	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(42)
-	Retinoides	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(25)
Polymeric nanocapsules / Nanocápsulas poliméricas	-	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Swine skin / Pele suína	(45)
Lipid nanoparticles; O/W emulsion / Nanopartículas lipídicas; Emulsão O/A	-	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Cellulose acetate membrane / Membrana de acetato celulose	(14)

Legend: HPLC - high-performance liquid chromatography; O/W - oil/water; W/O - water/oil; DEET - N, N-diethyl-m-toluamide /
 Legenda: CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência; O/A - óleo/água; A/O - água/óleo; DEET - N,N-Dietil-m-toluamida

Table 4 - List of articles by UV filter used alone.**Tabela 4** - Lista de artigos por filtro solar encontrado isoladamente.

UV filter / Filtro solar	Vehicle / Veículo	Substances added / Substâncias adicionadas	Methodology / Metodologia	Substrate / Substrato	Reference / Referência
Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol	-	-	Tape Stripping and Raman spectroscopy / <i>Tape stripping</i> e Microscopia de Raman	Human skin / Pele humana	(16)
Benzophenone-8	Pullulan polysaccharides / Polissacarídeo de Pullulan	-	Franz cell and UV/VIS / Célula de Franz e UV/VIS	Rat skin / Pele de ratos	(58)
4-Methylbenzylidene Camphor	-	Cyclodextrins / Ciclodextrinas	Tape Stripping and HPLC / <i>Tape Stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(2)
4-Methylbenzylidene Camphor	-	-	Tape Stripping and HPLC / <i>Tape Stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(22)

Legend: HPLC - high-performance liquid chromatography / Legenda: CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência

Part of the studies selected in this review were conducted on formulations that could increase the retention of filters in the SC, avoiding their permeation to the dermis and hypodermis by encapsulation with the use of nano and microparticles, for example, and will be highlighted below.

The tape stripping technique and the study of diffusion using Franz diffusion cells were the most common approaches found among the studies. Some authors chose to use both methodologies in the same study in order to evaluate penetration *in vivo* and *in vitro*. Nevertheless, other methodologies were found, such as those based on photoacoustic microscopic mapping using Raman and electron microscopy (12-17).

The substrate used as a model membrane also varied, such as rat skin (18), rabbit (15), pig (19), and human skin (20), when performing the *in vitro* study.

Tape stripping

The evaluation of the penetration of UV filters in the skin is relevant for determining the safety of those used in sunscreen formulations. Studies have been developed to improve techniques that make it possible to trace the penetration profile of these substances, among them, the tape stripping technique has been widely used, being one of the most common methods for evaluating the penetration of substances in the SC.

Partes dos estudos encontrados dedicava-se a encontrar formulações que pudessem auxiliar na retenção dos filtros no EC, evitando a permeação dos filtros até a derme e hipoderme por meio de encapsulação dos filtros, com o uso de nano e micropartículas por exemplo e serão destacados a seguir.

A técnica de *tape stripping* e a utilização de difusão por meio de células de Franz foram os achados mais comuns entre os estudos. Alguns autores optaram por utilizar os dois métodos no mesmo estudo, a fim de avaliar a penetração de filtros *in vivo* e *in vitro*. Outros métodos também foram utilizados pelos investigadores, como espectroscopia fotoacústica, mapeamento microscópico de Raman e microscopia eletrônica (12-17).

O substrato utilizado como modelo de estudo também apresentou variações, como o de pele de ratos (18), coelhos (15), porcos (19) e pele humana (20), quando realizado o estudo *in vitro*.

Tape stripping

A avaliação da penetração dos filtros UV na pele é relevante para determinar a segurança dos utilizados em formulações de protetores solares. Estudos foram desenvolvidos para aprimoramento de técnicas que tornassem possível traçar o perfil de penetração dessas substâncias, entre elas, a técnica de *tape stripping* tem sido muito empregada, sendo um dos métodos mais comuns para avaliação da penetração de substâncias no EC.

Table 5 - List of articles for UV filters in association (*continued next page*).**Tabela 5** - Lista de artigos para filtros solares em associação (*continua na página seguinte*).

UV filter (INCI name)/ Filtro UV (Designação INCI)	Vehicle/ vectorization / Veículo/vetorização	Substances Added / Substâncias adicionadas	Methodology / Metodologia	Substrate / Substrato	Reference / Referência
Benzophenone-3; Butyl methoxydibenzoylmethane; Ethylhexyl Methoxycinnamate; Ethylhexyl Salicylate; Homosalate; Octocrylene	-	-	Diffusion system / Sistema de Difusão	-	(52)
Benzophenone-3; Ethylhexyl methoxycinnamate; Homosalate	Gel-cream; petroleum jelly / Creme gel; Vaselina	-	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(38)
Benzophenone-3; Benzophenone-4	-	-	-	Human skin / Pele humana	(28)
Butyl methoxydibenzoylmethane; Octocrylene	Silica microparticles / Micropartículas de sílica	-	Tape stripping and FTIR / <i>Tape stripping</i> e FTIR	Swine skin / Pele suína	(66)
Benzophenone-3; Butyl methoxydibenzoylmethane; Ethylhexyl methoxycinnamate	Mesoporous silica / Sílica mesoporosas	-	Franz cell and UPLC MS/MS / Célula de Franz e UPLC MS/MS	Swine skin / Pele suína	(67)
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine; Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate; Ethylhexyl methoxycinnamate; Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol	O/W emulsion / Emulsão O/A	-	-	Human skin / Pele humana	(31)
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine; Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate; Ethylhexyl methoxycinnamate; Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol	-	Betacarotene and transresveratrol / Betacaroteno e transresveratrol	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Swine skin / Pele suína	(57)
Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol; Octocrylene	-	-	Franz cell; HPLC; UV/VIS spectroscopy / Célula de Franz; CLAE e Espectroscopia UV/VIS	Swine skin / Pele suína	(29)
Benzophenone-3; Ethylhexyl methoxycinnamate	-	Transcutol CG®-	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Rat skin / Pele de ratos	(51)
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine; Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	O/W emulsion / Emulsão O/A	-	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Swine skin / Pele suína	(30)
Benzophenone-3; Butyl methoxydibenzoylmethane; Octocrylene; Ethylhexyl dimethyl PABA	O/W emulsion / Emulsão O/A	-	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(68)
Benzophenone-3; Butyl methoxydibenzoylmethane;		-	Franz cell and Fluorescence microscopy / Célula de Franz e Microscopia de Fluorescência	Rat skin / Pele de ratos	(69)

Legend: HPLC - high-performance liquid chromatography ; UPLC - ultra high performance liquid chromatography /
 Legenda: CLAE - cromatografia líquida de altaeficiência; UPLC - cromatografia líquida de ultra eficiência

Table 5 - Continued / Tabela 5 - Continuação

UV filter (INCI name)/ Filtro UV (Designação INCI)	Vehicle/vectorization / Veículo/vetorização	Substances added / Substâncias adicionadas	Methodology / Metodologia	Substrate / Substrato	Reference / Referência
Ethylhexyl methoxycinnamate; Ethylhexyl Salicylate; Ethylhexyl dimethyl PABA	-	-	Fluorescence emission / Emissão por Fluorescência	HaCats cell culture / Cultura de células HaCats	(70)
Benzophenone-3; Butyl methoxydibenzoylmethane	Mesoporous silica / Sílicas mesoporosas	-	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Rat skin; Swine skin / Pele de ratos; Pele suína	(34)
Benzophenone-3; Benzophenone-5; Ethylhexyl methoxycinnamate; Homosalate; Ethylhexyl dimethyl PABA	-	2,4 diclorophenoxyacetic acid	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Rat skin; Human skin / Pele de ratos; Pele humana	(53)
Benzophenone-3; Benzophenone-5; Ethylhexyl methoxycinnamate; Homosalate; Ethylhexyl dimethyl PABA	O/W emulsion; Emulsão O/A	-	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Human skin / Pele humana	(24)
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine; Butyl methoxydibenzoylmethane; Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate; Ethylhexyl methoxycinnamate; Ethylhexyl triazone	Lipid nanostructures; Nanoemulsion / Nanoestruturas lipídicas; Nanoemulsão	Betacarotene and transresveratrol / Betacaroteno e transresveratrol	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Human skin / Pele humana	(20)
Benzophenone-3; Ethylhexyl methoxycinnamate; Ethylhexyl Salicylate	Gel-cream; petroleum jelly / Creme gel; vaselina	-	Tape stripping; HPLC and Fickian diffusion / <i>Tape stripping</i> ; CLAE e Difusão de Fick	Human skin / Pele humana	(71)
Benzophenone-3; Ethylhexyl methoxycinnamate; Homosalate; Octocrylene	-	-	-	Human skin / Pele humana	(72)
Butyl methoxydibenzoylmethane; Ethylhexyl methoxycinnamate; Ethylhexyl triazone	Lipid microparticles; O/W Emulsion / Micropartículas lipídicas; Emulsão O/A	-	Tape Stripping e HPLC / <i>Tape Stripping</i> and CLAE	Human skin / Pele humana	(23)
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine; Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate; Ethylhexyl triazone; Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol	O/W Emulsion / Emulsão O/A	-	Franz cell, tape stripping and HPLC / Célula de Franz, <i>tape stripping</i> e CLAE	Swine skin / Pele suína	(11)
Ethylhexyl salicylate; Octocrylene	-	-	Raman Spectroscopy / Espectroscopia Confocal de Raman	Human skin / Pele humana	(73)
Butyl methoxydibenzoylmethane; Ethylhexyl methoxycinnamate	AL-PDA nanoparticles / Nanopartículas de AL-PDA	-	Franz cell and HPLC / Célula de Franz e CLAE	Swine skin / Pele suína	(50)

Legend: HPLC - high-performance liquid chromatography ; UPLC - ultra high performance liquid chromatography /
 Legenda: CLAE - cromatografia líquida de altaeficiência; UPLC - cromatografia líquida de ultra eficiência

This methodology is performed by applying and removing adhesive tapes successively in an area of the skin, which needs to be clean and free of hair. If these tapes are applied successively in the same skin site, they can contain an entire layer of SC, with the first tape containing the most superficial layer of cells and the other tapes corresponding to deeper layers (21).

The aggregates of corneocytes along with the substances that have been topically applied are transferred to the tapes, after which they are analyzed by quantitative spectrophotometric methods. One of the most commonly employed methods is UV/VIS spectrophotometry (22). Figure 1 shows the step by step application of the method on a volunteer's forearm.

One benefit of the tape stripping technique is that it is non-invasive and can be employed *in vivo* studies (6,16), which makes the study more realistic simulating the conditions of use of the formulation (23).

This methodology can also be applied *in vitro*, when used in conjunction with Franz cell, in which the SC of the biological model being studied is removed with adhesive tapes, making it possible to trace the penetration profile in the SC and the permeation profile of the substances at the same time. The membrane models used in these cases can be human skin discarded after plastic surgeries or animal models such as pig skin (24,25).

Some studies which used this methodology to evaluate the penetration of filters have shown that most of the filters applied to the skin could be recovered in the first tapes. This means that they penetrated only the most superficial layers of the SC, without evidence that deep penetration can be considered to the point of finding systemic circulation. It was also found that this penetration depends on the level of lipophilicity of the molecule, presenting greater affinity for SC, as is the case of benzophenone-3 (24,26).

Another benefit of using tape stripping is that it can evaluate penetration in a short period of time and with a small amount of filter applied to the skin (27). However, Couteau *et al.* (2001) demonstrated that when evaluating penetration over a longer period of time, the recovery content of the filters decreases, leading to the conclusion that the longer the filters remain on the skin, the greater their penetration (28).

Essa metodologia é realizada por meio da aplicação e remoção de fitas adesivas sucessivamente em uma área da pele, que precisa estar limpa e livre de pelos. Essas fitas que são aplicadas no mesmo local de pele, quando retiradas sucessivamente podem conter uma camada inteira de EC, sendo a primeira fita com a camada mais superficial de células e as demais fitas com camadas mais profundas (21).

Os agregados de corneócitos junto com as substâncias que foram aplicadas topicamente são transferidos para as fitas, depois são analisadas por métodos espectrométricos para quantificar as mesmas na camada de estrato córneo retirada com as fitas. Um dos métodos utilizados é a espectrofotometria UV/VIS que permite determinar a quantidade de substâncias no EC removido em cada uma das fitas, podendo assim determinar se o EC foi retirado de forma homogênea (22). A Figura 1 mostra o passo a passo da aplicação do método no braço de um voluntário.

Uma benefício da técnica de *tape stripping* é que ela pode ser empregada para estudos *in vivo*, utilizando voluntários para a aplicação das substâncias (6,16); o que torna o estudo mais realista simulando as condições de uso da formulação (23).

Essa metodologia também pode ser aplicada *in vitro*, quando utilizada em conjunto com a célula de Franz, no qual o EC do modelo biológico que está sendo estudado é retirado com fitas adesivas, tornando possível traçar o perfil de penetração no EC e o perfil de permeação das substâncias ao mesmo tempo, os modelos usados nesses casos podem ser pele humana, advinda de cirurgias plásticas ou outros modelos como a pele de porco (24,25).

Alguns estudos, que utilizaram essa metodologia para avaliar a penetração de filtros, demonstraram que a maior parte dos filtros aplicados na pele, pôde ser recuperada nas primeiras fitas, ou seja, penetrando apenas nas camadas mais superficiais do EC sem evidência de que possa se considerar uma penetração profunda a ponto de encontrar a circulação sistêmica, mas que essa penetração depende do quanto a molécula é lipofílica, apresentando maior afinidade pelo EC, como é o caso da benzofenona-3 (24,26).

Outro benefício de se utilizar *tape stripping* é que o método pode avaliar a penetração em um curto período de tempo e com uma pequena quantidade do filtro aplicada sobre a pele (27). No entanto, Couteau *et al.* (2001) demonstraram que ao avaliar a penetração em um período maior de tempo, o teor de recuperação dos filtros diminui, levando a concluir que quanto maior o tempo que os filtros permanecem sobre a pele, maior é a sua penetração (28).

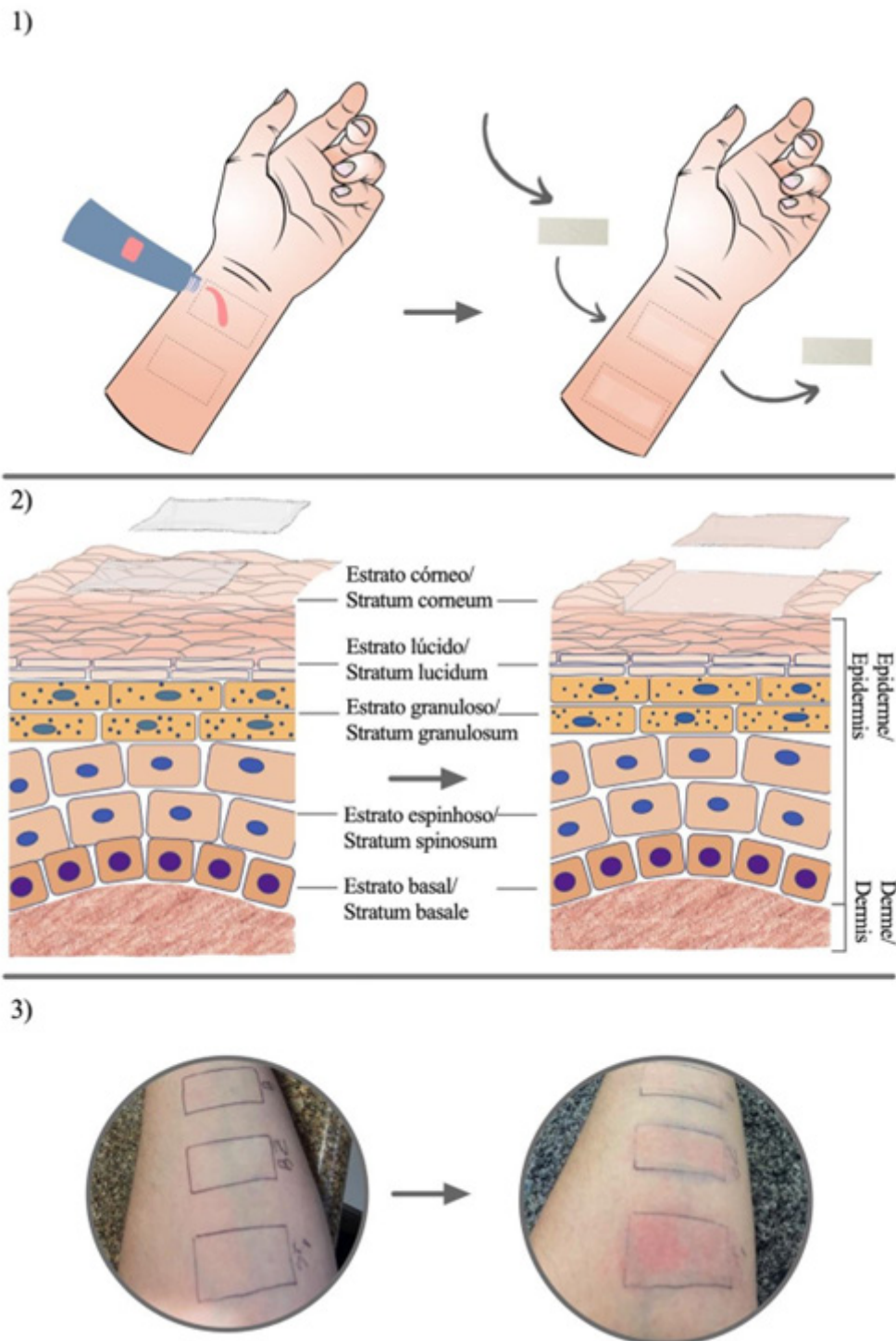


Figure 1 - Representation of the tape stripping method: 1) The area is demarcated and specific quantity of the product is applied, and after a set time the tapes are applied and removed successively from the same location; 2) Representation of skin layers and superficial layers of the stratum corneum removed by the tapes; 3) Photographs demonstrating the procedure before and after the removal of the tapes at the place of application.

Figura 1 - Representação do método de tape stripping: 1) A área é demarcada e quantidade específica do produto é aplicado, e após tempo determinado as fitas são aplicadas e retiradas sucessivamente do mesmo local; 2) Representação das camadas da pele e camadas superficiais do estrato córneo retirado pelas fitas; 3) Fotografias demonstrando o procedimento antes e após a retirada das fitas no local de aplicação.

When making a comparison between the techniques used to evaluate the penetration of sunscreens on the skin, tape stripping for an *in vivo* study and Franz cell for an *in vitro* analysis, researchers realized that both techniques, when used together, could help in the creation of new formulations of sunscreens, since the *in vivo* study model provides information on the penetration of filters in SC and the *in vitro* study model can help in the screening of new molecules that can act as sunscreens and new vehicles for formulations (14).

The tape stripping technique can also be combined with other analytical methods such as Raman confocal microscopy, that allows visualization of the contents of the tapes obtaining a three-dimensional view of the distribution of filters in the SC (16). It was also used in conjunction with spectrometric methods, such as photoacoustic spectroscopy, which enables evaluating the depth of the penetration profile of the filters through the length of thermal diffusion (15). Gebauer et al. (2012) demonstrated that this technique tied to tape *stripping* is useful in the analysis of the homogeneity of the UV filter distribution in the SC (29). However, Haque et al. (2016) observed that some excipients used in the formulation may interfere with the adhesive strip (30).

Regarding the results found on the recovery of filters in studies that used the tape stripping technique, it is noted that most have a recovery content of about 90%, as demonstrated for methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol - 91.1%, ethylhexyl methoxycinnamate - 103.5%, for diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate - 101.1%; for bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine - 90.6% (16,31).

Franz diffusion cells

This procedure is very often employed in the study of the skin permeation of topically applied substances. A Franz diffusion cell consists of two compartments, a recipient and a donor. The filter to be studied is deposited in the donor compartment, while in the receiving compartment there is a medium into which the compound diffuses, with a magnetic stirrer maintaining its homogeneity (32).

The two compartments are separated by a model membrane. Diverse tissues can be used, such as human skin or relevant animal models such as pigs, rats or rabbits (31-33). The dermis side of the cutaneous model is positioned next to the receptor

Ao fazer uma comparação entre as técnicas empregadas para avaliar a penetração dos filtros solares na pele, *tape stripping* para um estudo *in vivo* e célula de Franz para uma análise *in vitro*, os investigadores perceberam que ambas as técnicas, quando utilizadas em conjunto poderiam auxiliar na criação de novas formulações de protetores solares, visto que o modelo de estudo *in vivo* traz informações sobre a penetração dos filtros nos EC e o modelo de estudo *in vitro* pode ajudar na triagem de novas moléculas que podem atuar como filtros solares e novos veículos para as formulações (14).

A técnica de *tape stripping* também pode ser empregada junto com outros métodos analíticos como a microscopia confocal de Raman que permite a visualização do conteúdo das fitas obtendo uma visão tridimensional da distribuição dos filtros no EC (16). Também foi utilizada em conjunto com métodos espectrométricos, como a espectroscopia fotoacústica, que permite avaliar a profundidade do perfil de penetração dos filtros através do comprimento de difusão térmica (15). Gebauer et al. (2012) demonstraram que essa técnica atrelada ao *tape stripping* é útil na análise da homogeneidade que o filtro UV está distribuído no EC (29). No entanto, Haque et al. (2016) observou que alguns excipientes utilizados na formulação podem interferir na adesão das fitas (30).

Em relação aos resultados encontrados, sobre a recuperação dos filtros em estudos que utilizaram a técnica de *tape stripping*, nota-se que a maioria dos filtros possui teor de recuperação em cerca de 90%, como demonstrado para o *methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol* - 91,1%, para o *ethylhexyl methoxycinnamate* - 103.5%, para o *diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate* - 101,1%; para o *bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine* - 90,6% (16,31).

Célula de Franz

Esse procedimento permite avaliar a permeação de substâncias topicamente aplicadas no EC. Ela consiste em duas células, uma receptora e uma doadora. Na célula doadora é depositado o filtro a ser estudado e na célula receptora há uma solução onde o composto se difunde. As duas células são separadas por uma membrana, equipadas com uma barra magnética para manter a solução de difusão homogênea (32).

Como membrana, diversos tecidos podem ser utilizados como por exemplo pele humana, ou modelos advindos de animais como porcos, ratos ou coelhos (31-33). O lado da derme do modelo cutâneo é posicionado junto a célula receptora, e a lado de

compartment and the SC side faces the donor, as shown in Figure 2. With Franz diffusion cells, it is possible to predict whether there will be systemic permeation of the filters, but the model membrane used should be considered in order to avoid bias, since it has been found that pig skin has greater permeability than human skin (30).

Many of the studies found in this review used the Franz cell as a research source for substance permeation in the skin in combination with the tape stripping technique, using analytical methods to quantify the penetration and permeation of substances with an *in vivo* and *in vitro* research model (6).

Study model membranes

As observed in the previous section, it is possible to perform penetration and permeation studies with several model membranes. In this review, synthetic membranes as well as human, pig, rats and rabbits skin were found (Tables 1-5).

The use of human skin is the most indicated for the study of sunscreen penetration because that is where the product is intended. The studies can be performed *in vivo* when performed on volunteers, or

EC junto a célula doadora conforme Figura 2. Com a célula de Franz é possível avaliar se há permeação transdérmica dos filtros, mas o modelo utilizado deve ser observado, pois a pele suína que possui maior permeabilidade que a pele humana, e isto deve ser considerado nos estudos que utilizam essa técnica a fim de evitar vieses (30).

Muitos dos estudos encontrados nesta revisão utilizaram a célula de Franz como fonte de pesquisa para a permeação de substância na pele em combinação com a técnica de *tape stripping*, usando métodos analíticos para quantificar a penetração e permeação das substâncias com um modelo de pesquisa *in vivo* e *in vitro* (6).

Modelos de estudo

É possível realizar estudo de penetração e permeação com vários modelos de estudo, sendo os encontrados nessa revisão, membranas artificiais, pele humana, suína, ratos e de coelhos. Nesta revisão, diferentes tipos de pele como humanas, de porco, ratos e coelhos foram encontradas (Tabela 1-5).

A utilização de pele humana é a mais indicada para o estudo de penetração de filtros solares pois é a ela que o produto se destina. Os estudos podem ser realizados *in vivo* quando realizada em voluntários,

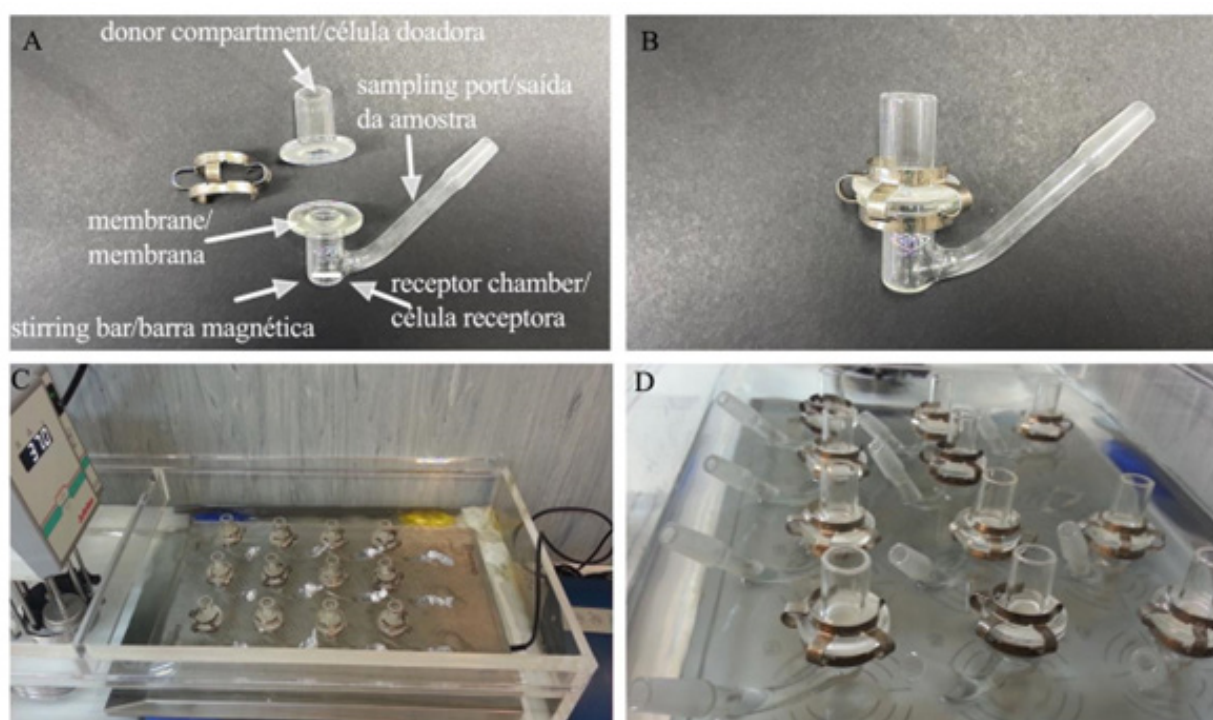


Figure 2 - Representation of the Franz cell diffusion system: A) Parts of the cell; B) Cell arranged for use; C and D) Cells in a 37°C water bath.

Figura 2 - Representação do sistema de difusão Célula de Franz: A) Partes da célula; B) Célula montada; C e D) Células em banho maria 37°C.

in vitro using skin removed from plastic surgeries, usually from the abdominal region or breast region (20).

When pig skin is used, many researchers prefer to use that removed from the ear, being considered an adequate study model since it is very similar to human skin (34). However, it has been found that when using the tape stripping method, it is possible to remove greater amounts of SC when this membrane is employed (30).

Factors that determine the diffusion of sunscreens on the skin

Among the factors that determine the diffusion of sunscreens in the skin are: physicochemical characteristics, vehicle used in the formulation, concentration of molecules and skin status (31). The first two of these factors will be highlighted below.

An important feature to be observed is the lipophilicity of the molecule. Lipophilic filters such as benzophenone-3, ethylhexyl methoxycinnamate, or 2-ethylhexyl salicylate are easier to penetrate the SC (27,35). The skin has both hydrophilic and lipophilic areas, and the partition coefficient (expressed as log P) can be used to predict the penetration of these molecules. If the partition coefficient is too low, the molecules are more water soluble and will have difficulties crossing the hydrophobic barrier of the stratum corneum (the lipophilic part of the skin). On the other hand, if lipophilicity increases too much, the molecules will remain in the SC and will have a low partition into the viable epidermis which is hydrophilic. The previous study showed the percutaneous penetration presented predicted behaviors according to log P, considering ideal log P 1 (31).

Vehicle and vectorization

There are several ways to modulate the penetration of sunscreens, such as changing the physical and chemical properties of the formulation, including increasing the viscosity of the formulation (26,36).

It is consensually considered that the vehicle used can influence percutaneous absorption, either increasing or blocking the passage of the UV filters (26). Therefore, the composition of the formulation should be carefully chosen to prevent the penetration of sunscreens into the skin (37).

A study by Chatelain et al. (2003) demonstrated that filter penetration is dependent on the vehicle used in the formulation. In that study, the filters

ou *in vitro* quando é feito o uso de pele retirada de cirurgias plásticas geralmente da região abdominal ou da região dos seios (20).

Quando é utilizada a pele suína, muitos pesquisadores preferem utilizar a pele retirada da orelha, sendo considerada um modelo de estudo por ser muito similar a pele humana (34). No entanto, quando comparada a pele humana, utilizando o método de *tape stripping*, é possível retirar uma maior quantidade EC na pele suína (30).

Fatores que determinam a difusão dos filtros solares na pele

Dentre os fatores que determinam a difusão dos filtros solares na pele estão: características físico-químicas, veículo utilizado na formulação, concentração das moléculas e o estado da pele (31). Serão destacados a seguir dois desses fatores: as características físico-químicas e o veículo das formulações.

Uma característica importante a ser observada é o quanto a molécula é lipofílica. Filtros lipofílicos como a *benzophenone-3*, *ethylhexyl methoxycinnamate*, *2-ethylhexyl salicylate* possuem mais facilidade de penetrar no EC (27,35). No entanto, a pele apresenta sítios hidrofílicos e lipofílicos, e o coeficiente de partição (log P n-octanol/água) pode ser usado para estudo da penetração dessas moléculas. Se o coeficiente de partição for muito baixo, as moléculas são mais hidrossolúveis e não passam a barreira do estrato córneo, por outro lado se for muito alto a lipofilicidade aumenta e as moléculas são tão solúveis que permanecem dissolvidas no EC. Estudo anterior mostrou que a penetração percutânea apresentou comportamentos preditivos de acordo com log P, considerado o log P 1 como ideal para penetração percutânea (31).

Veículo e vetorização

Há diversas formas de alterar a penetração dos filtros solares, como por exemplo alterar as propriedades físicas e químicas da formulação, entre elas, o aumento da viscosidade da formulação (26,36).

O veículo utilizado é muito importante na formulação, pois ele pode influenciar na absorção cutânea, aumentando ou bloqueando a passagem do filtro UV na pele (26). Portanto, deve ser cuidadosamente escolhido para evitar a penetração dos filtros solares na pele (37).

Foi demonstrado por Chatelain et al. (2003) que de fato, a penetração dos filtros é dependente do veículo usado na formulação pois nesse estudo os filtros

benzophenone-3, ethylhexyl methoxycinnamate, 2-ethylhexyl salicylate, homosalate and butyl methoxydibenzoylmethane had higher recovery rates when in formulations that had a gel cream as a vehicle rather than in petroleum jelly (38). In addition, the Sun Protection Factor (SPF) remained higher when the vehicle consisted of a gel cream, demonstrating that the filters remained in the most superficial layers of the SC. In another work, O/W emulsions have been shown to improve the penetration of benzophenone-4 (28).

Encapsulating the active molecules of the sunscreen has been shown to be a useful formulation strategy to increase the stability and efficacy of products containing UV filters (33). It has been shown that nanoemulsions can also assist in maintaining filters in the uppermost layers of SC (39).

Other studies have revealed that the use of liquid crystal systems may decrease the permeability of ethylhexyl methoxycinnamate in the skin (40). The use of nanocapsules can reduce the penetration of ethylhexyl methoxycinnamate forming a film on the surface and reducing penetration into the SC (19,33). On the other hand, the size of these nanoparticles should be taken into account, because particles larger than 10 μm remain on the surface of the skin, whereas particles smaller than 3 μm are distributed by the hair follicles and the SC (41).

The use of solid lipid microspheres caused a decrease in the penetration of ethylhexyl triazone and benzophenone-3, and was suggested by Mestres et al. (2010) as the ideal vehicle for formulations containing these filters (23,42). Martins et al. (2014) also suggested the formulation of these microspheres with natural waxes, such as bee wax and carnauba (43). On the other hand, the use of polymeric nanostructures and starch microsponges reduced the permeation of benzophenone-3 in the skin, even leading to an increase in the SPF (13,44).

Siqueira et al. (2011) observed that nanocapsules containing chitosan enabled maintaining benzophenone-3 in the most superficial layers of SC, and that vehicles containing these nanocapsules can prevent systemic distribution (45). Other studies have shown that the use of beta cyclodextrin microcapsules, as well as the use of lipid microparticles incorporated with ethylhexyl methoxycinnamate and butyl methoxydibenzoylmethane filters, were able to reduce the penetration of butyl

benzophenone-3, ethylhexyl methoxycinnamate, 2-ethylhexyl salicylate, homosalate e butyl methoxydibenzoylmethane tiveram maiores taxas de recuperação quando em formulações que tinham como veículo um creme gel em vez de um veículo de vaselina (38). O Fator de Proteção Solar (FPS) se manteve mais elevado quando o veículo era constituído de um creme gel, demonstrando que os filtros mantiveram nas camadas mais superficiais do EC. No entanto, emulsões O/A demonstraram ser potencializadoras da penetração da benzofenona-4 (28).

Encapsular as moléculas do filtro solar tem se mostrado uma estratégia de formulação para aumentar a estabilidade e a eficácia de produtos contendo filtros solares (33). Foi demonstrado que nanoemulsões também podem auxiliar na manutenção dos filtros nas camadas mais superficiais do EC (39).

Outros estudos revelaram que a utilização de sistemas de cristais líquidos podem diminuir a permeabilidade do *ethylhexyl methoxycinnamate* na pele (40), assim como o uso nanocápsulas como veículo pode reduzir a penetração do *ethylhexyl methoxycinnamate*, formando um filme na superfície e diminuindo a penetração no EC (19,33). Por outro lado, o tamanho dessas nanopartículas deve ser levado em conta, pois partículas com tamanho maior que 10 μm permanecem na superfície da pele e partículas menores que 3 μm distribuem-se pelos folículos capilares e pelo EC (41).

O uso de microsferas lipídicas sólidas como veículo apresentou uma diminuição na penetração de *ethylhexyl triazone* e de *benzophenone-3*, sendo sugerido pelos autores Mestres et al. (2010) como o veículo ideal para formulações contendo esses filtros (23,42). Os autores Martins et al. (2014) sugerem também a formulação dessas microsferas com ceras naturais como as de abelha e de carnaúba (43). Por outro lado, a utilização de nanoestruturas poliméricas e microesponjas de amido se mostraram eficientes em reduzir a permeação da *benzophenone-3* na pele e até mesmo levar a um aumento do fator de proteção solar (13,44).

Siqueira et al. (2011) demonstraram também que nanocápsulas contendo quitosana apresentam eficiência em manter a *benzophenone-3* nas camadas mais superficiais do EC, e que fórmulas contendo essas nanocápsulas podem evitar a distribuição sistêmica da mesma (45). Outros estudos demonstram que a utilização de microcápsulas de beta ciclodextrina, bem como o uso de micropartículas lipídicas incorporadas aos filtros *ethylhexyl methoxycinnamate* e *butyl methoxydibenzoylmethane*, foram capazes de reduzir

methoxydibenzoylmethane through SC, an important effect to ensure protection to UV rays and also limit potential toxic reactions by these filters (46–48).

In a study conducted by Calderilla-Fajardo et al. (2006), when ethylhexyl methoxycinnamate was loaded in nanocapsules and nanoemulsions, in addition to altering the penetration and the retention of the filters in the SC, the SPF of the formulation was increased (49, 50).

A study conducted by Wissing & Müller (2002) showed that solid lipid nanoparticles enabled benzophenone-3 to remain longer on the skin surface, maintaining its sun protection function (14).

Influence of other ingredients

The use of adjuvants in formulations may or may not help the penetration of filters into the skin. Fernandez et al. (2000) showed that using coconut oil and triglycerides of capric and caprylic acid as solvents for UV filters limited skin permeation (6).

Another study showed that adding Transcutol® CG (diethylene glycol monoethyl ether) to transdermal bases facilitated the accumulation of benzophenone-3 and ethylhexyl methoxycinnamate filters in SC (51).

Some sunscreens can act as penetration enhancers of other substances. Studies show that in six out of nine tested products [ethylhexyl methoxycinnamate, 2-ethylhexyl salicylate, benzophenone-3, benzophenone-4, ethylhexyl dimethyl PABA and homosalate] increased the penetration of dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), a herbicide used by farm workers (52,53).

Since there are formulations on the market that combine repellent and sun protection functions, some studies show that sunscreens can penetrate more into the skin when applied together with the use of biocides, such as benzophenone-3 which can penetrate about 89% more, when a repellent, DEET (N,N-diethyl-m-toluamide), is applied on it, presenting a synergistic effect (54–56). In other publications it was observed that the addition of antioxidants, such as trans-resveratrol and beta carotene, can also improve the performance of UV filters, increasing their SPF and decreasing their penetration into the SC (57).

a penetração da *butyl methoxydibenzoylmethane* através do EC, efeito importante para garantir a proteção aos raios UV e também limitar potenciais reações tóxicas por parte desses filtros (46–48).

Estudo conduzido por Calderilla-Fajardo et al. (2006) com o filtro solar *ethylhexyl methoxycinnamate* demonstrou que o uso de nanocápsulas e de nanoemulsões além de alterar a diminuir a penetração dos filtros aumentando a retenção dos filtros no estrato córneo, foi capaz de aumentar seu fator de proteção solar (49,50).

Estudo conduzido por Wissing & Müller (2002) mostrou que, nanopartículas lipídicas sólidas foram capazes de fazer com que a *benzophenone-3* permanecesse por mais tempo na superfície da pele, mantendo sua função de proteção solar (14).

Influências de outras substâncias

O uso de adjuvantes nas formulações pode auxiliar ou não na penetração dos filtros na pele. Fernandez et al. (2000) mostraram que o óleo de coco e de triglicerídeos de ácido cáprico e caprílico como solventes para os filtros UV possuem o papel de limitar a permeação cutânea (6).

Outro estudo, demonstrou que, o Transcutol® CG (*diethylene glycol monoethyl ether*) adicionando à bases transdérmicas, facilitou o acúmulo dos filtros *benzophenone-3* e *ethylhexyl methoxycinnamate* no EC (51).

Alguns filtros solares podem atuar como potencializadores da penetração de outras substâncias. Estudos demonstram que seis de nove produtos testados [*ethylhexyl methoxycinnamate*, *2-ethylhexyl salicylate*, *benzophenone-3*, *benzophenone-4*, *ethylhexyl dimethyl PABA* e *homosalate*] podem aumentar a penetração do ácido diclorofenoxiacético (2,4-D) um herbicida usado por trabalhadores rurais (52,53).

Visto que há no mercado formulações que possuem função repelente e de proteção solar, alguns estudos demonstram que filtros solares podem penetrar mais na pele quando aplicados junto com o uso de repelentes, como a benzofenona-3 que pode penetrar cerca de 89% mais, quando um repelente, DEET (*N,N-diethyl-m-toluamide*), é aplicado sobre ela, apresentando um efeito sinérgico (54–56). No entanto, há publicações que demonstram que a adição de antioxidantes como o trans-resveratrol e o betacaroteno também podem mudar o perfil de penetração dos filtros, aumentando seu FPS e diminuindo sua penetração no EC (57).

Some sunscreens need to be stabilized in the formulation, such as 4-methylbenzilidene camphor, a filter that is currently in disuse. One of the forms of stabilization used is through cyclodextrin complexes, but Scalia et al. (2007) observed that these complexes do not influence the penetration profile of 4-methylbenzilidene camphor (2). Heo et al. (2018) added polysaccharides of pullulan into benzophenone-8 showing that this conjugated can increase the time that the filter is retained on the skin (58).

Finally, in a work observing the impact of caffeine in sunscreen formulations, an increase of approximately 25% in the anti-UVB protection was obtained, combined with good skin compatibility (59).

Conclusion

Through the review of the articles in this study it is possible to conclude that the use of only one methodology can be considered for the evaluation of the penetration of sunscreens, but the combination of techniques such as Franz diffusion cells and tape stripping can reveal the complete profile of permeation and penetration of sunscreens in the skin.

The tape stripping technique reveals the penetration profile of filters associated with analytical methods such as high-performance liquid chromatography and spectrophotometric methods. It is observed that the penetration of the filters into the SC does not necessarily imply that the filters had a transdermal passage. For this reason, the recovery content of the filters should be taken into account, and researchers should observe in which layers of the SC this content is higher, since a higher recovery content in the first tapes suggests the non-permeation of the UV filter.

To evaluate whether there is transdermal permeation, the method based in Franz diffusion cells is suitable, because it evaluates the passage of these substances through all the skin layers, both epidermis and dermis, being possible to evaluate whether the sunscreens could be available to reach blood circulation and act systemically.

Several factors can influence the penetration of sunscreens, such as the substrate used, the physicochemical characteristics, such as the partition coefficient and lipophilicity of the molecule, the vehicles used, interactions with other substances and the vectorization thereof.

Determinados filtros solares precisam ser estabilizados na formulação, como é o caso da *4-methylbenzilidene camphor*, um filtro que se encontra atualmente em desuso. Uma das formas de estabilização utilizada é por meio de complexos de ciclodextrinas, porém Scalia et al. (2007) (2) observaram que esses complexos não influenciam no perfil de penetração da *4-methylbenzilidene camphor*. Heo et al. (2018) adicionaram polissacarídeos de pullulan a *benzophenone-8*, um polissacarídeo natural, demonstrando que a formação desse conjugado pode aumentar o tempo que o filtro fica retido na pele (58).

Finalmente, um estudo observou a influência da cafeína em aumentar cerca de 25% a ação fotoprotetora UVB associada a boa compatibilidade cutânea (59).

Conclusão

Através da revisão dos artigos nesse estudo é possível concluir que o uso de apenas uma metodologia pode ser considerada para a avaliação da penetração de filtros solares, porém a combinação de técnicas como a célula de Franz e *tape stripping* pode revelar o perfil completo de permeação e penetração dos filtros solares na pele.

A técnica de *tape stripping* revela o perfil de penetração dos filtros associado à métodos analíticos como a cromatografia líquida de alta eficiência e métodos espectrométricos. Observa-se que a penetração dos filtros no EC não significa que os filtros tiveram uma passagem transdérmica, por essa razão deve se levar em conta o teor de recuperação dos filtros e observar em quais camadas do EC este teor foi maior, visto que um maior teor de recuperação nas primeiras fitas sugere a não permeação do filtro.

Para avaliar se há permeação transdérmica o método de difusão por célula de Franz, é o mais indicado, porque este avalia a passagem dessas substâncias em todas as camadas da pele, incluindo epiderme e derme, sendo possível avaliar se os filtros solares analisados poderiam estar disponíveis para alcançar a circulação sanguínea e atuar sistemicamente.

Vários fatores podem influenciar os resultados de penetração dos filtros solares, como o substrato utilizado, as características físico-químicas como o coeficiente de partição e a lipofilia da molécula, os veículos utilizados, a adição de outras substâncias e a vetorização destes.

It is noted that the use of these methodologies is important to ensure the safety and efficacy of these products, since filters such as benzophenone-3, ethylhexyl methoxycinnamate and butyl methoxydibenzoylmethane, for example, present several reports that suggest penetration into the skin, and are still widely used in various formulations of sunscreens.

Contributions of the Authors

Conceptualization, D.Q.B, A.V.S.N., F.V.L.; methodology, D.Q.B, F.V.L.; formal analysis, C.R., R.M.M., A.R.B.; research, D.Q.B, A.V.S.N., F.V.L.; writing, D.Q.B, R.M.M., A.A.H., C.R. original draft preparation, D.Q.B. ; writing and editing, D.Q.B., R.M.M., F.V.L. C.R.; supervision, F.V.L.; project administration, F.V.L.; acquisition of financing, D.Q.B.; F.V.L. All authors read and agreed with the published version of the manuscript.

Funding

The authors thank the Foundation for Research and Innovation Support of Espírito Santo (FAPES) for the scientific initiation grant.

Conflicts of Interest

The editors involved in this manuscript's authorship had no participation in the review or decision process. All authors have stated that there are no financial and/or personal relationships that could represent a potential conflict of interest.

Nota-se que o emprego desses métodos é importante para garantir a segurança e eficácia dos protetores solares, visto que filtros como a *benzophenone-3*, *ethylhexyl methoxycinnamate* e *butyl methoxydibenzoylmethane* por exemplo, apresentaram vários relatos que sugerem penetração na pele, e ainda são muito utilizados em diversas formulações de protetores solares.

Contribuições autorais

Conceituação, D.Q.B, A.V.S.N., F.V.L.; metodologia, D.Q.B, F.V.L.; análise formal, C.R., R.M.M., A.R.B.; investigação, D.Q.B, A.V.S.N., F.V.L.; redação, D.Q.B, R.M.M., A.A.H.: preparação original do rascunho, D.Q.B.; redação e edição, D.Q.B., R.M.M., F.V.L.; supervisão, F.V.L.; administração de projetos, F.V.L.; aquisição de financiamento, D.Q.B.; F.V.L. Todos os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

Financiamento

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pela bolsa de iniciação científica.

Conflitos de Interesse

Os editores envolvidos na autoria desses manuscritos não tiveram participação no processo de revisão ou decisão. Todos os autores declararam que não existem relações financeiras e/ou pessoais que possam representar um potencial conflito de interesses.

References / Referências

1. Alves, N.C. (2015) Penetração de ativos na pele: revisão bibliográfica. *Amazônia Science & Health*, 3(4), 36–43. <https://doi.org/10.18606/2318-1419/amazonia.sci.health.v3n4p36-43>
2. Scalia, S., Tursilli, R., & Iannuccelli, V. (2007) Complexation of the sunscreen agent, 4-methylbenzylidene camphor with cyclodextrins: Effect on photostability and human stratum corneum penetration. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44(1), 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.01.016>
3. BRASIL. (2012) Resolução. RDC nº 30, de 1º de junho de 2012. *Aprova o Regulamento Técnico Mercosul sobre Protetores solares em Cosméticos e dá outras providências*, 1-7.
4. EUROPEAN UNION. (2009) Regulation (EC) no 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products. *Official Journal of the European Union L*, 342, 59-202.
5. Flor, J., Davolos, M.R., & Correa, M.A. (2007) Protetores solares. *Química Nova*, 30(1), 153–158. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100027>
6. Fernandez, C., Marti-Mestres, G., Ramos, J., & Maillols, H. (2000) LC analysis of benzophenone-3: II application to determination of “in vitro” and “in vivo” skin penetration from solvents, coarse and submicron emulsions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 24(1), 155–165. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(00\)00399-X](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(00)00399-X)
7. Bolzinger, M.A., Briançon, S., Pelletier, J., & Chevalier, Y. (2012) Penetration of drugs through skin, a complex rate-controlling membrane. *Current opinion in colloid & interface science*, 17(3), 156–165. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2012.02.001>
8. Kasichayanula, S., House, J.D., Wang, T., & Gu, X. (2007) Percutaneous characterization of the insect repellent DEET and the sunscreen oxybenzone from topical skin application. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 223(2), 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.05.016>
9. Balaguer, A., Salvador, A., Chisvert, A., Meliá, M., Herráez, M., & Díez, O. (2006) A liquid chromatography-fluorimetric method for the in vitro estimation of the skin penetration of disodium phenyldibenzimidazole tetrasulfonate from sunscreen formulations through human skin. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(7), 1225–1232. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0344-2>
10. Monteiro, M.S.S.B., Ozzetti, R.A., Vergnanini, A.L., Brito-Gitirana, L., Volpato, N.M., Freitas, Z.M.F., Ricci-Júnior, E., & Santos, E.P. (2012) Evaluation of octyl p-methoxycinnamate included in liposomes and cyclodextrins in anti-solar preparations: preparations, characterizations and in vitro penetration studies. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 3045–3058. <https://doi.org/10.2147/IJN.S28550>
11. Souza, C., & Maia Campos, P.M.B.G. (2017) Development of a HPLC method for determination of four UV filters in sunscreen and its application to skin penetration studies. *Biomedical Chromatography*, 31(12), e4029. <https://doi.org/10.1002/bmc.4029>
12. Alvarez-Román, R., Naik, A., Kalia, Y., Guy, R., & Fessi, H. (2004) Enhancement of Topical Delivery from Biodegradable Nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 21(10), 1818–1825. <https://doi.org/10.1023/b:pham.0000045235.86197.ef>
13. Bhuptani, R.S., & Patravale, V.B. (2019) Starch microsponges for enhanced retention and efficacy of topical sunscreen. *Materials Science and Engineering C*, 104, 109882. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109882>
14. Wissing, S.A., & Müller, R.H. (2002) Solid lipid nanoparticles as carrier for sunscreens: in vitro release and in vivo skin penetration. *Journal of Controlled Release*, 81(3), 225–233. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(02\)00056-1](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(02)00056-1)
15. Berbicz, F., Nogueira, A.C., Neto, A.M., Natali, M.R.M., Baesso, M.L., & Matioli, G. (2011) Use of photoacoustic spectroscopy in the characterization of inclusion complexes of benzophenone-3-hydroxypropyl- β -cyclodextrin and ex vivo evaluation of the percutaneous penetration of sunscreen. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 79(2), 449–457. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.03.026>
16. Adlhart, C., & Baschong, W. (2011) Surface distribution and depths profiling of particulate organic UV absorbers by Raman imaging and tape stripping. *International Journal of Cosmetic Science*, 33(6), 527–534. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2011.00666.x>
17. Bolzinger, M.A., Briançon, S., & Chevalier, Y. (2011) Nanoparticles through the skin: managing conflicting results of inorganic and organic particles in cosmetics and pharmaceutics. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 3(5), 463–478. <https://doi.org/10.1002/wnan.146>
18. Brand, R., McMahon, L., Jendrzewski, J., & Charron, A. (2007) Transdermal absorption of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid is enhanced by both ethanol consumption and sunscreen application. *Food and Chemical Toxicology*, 45(1), 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.08.005>
19. Jiménez, M.M., Pelletier, J., Bobin, M.F., & Martini, M.C. (2004) Influence of encapsulation on the in vitro percutaneous absorption of octyl methoxycinnamate. *International Journal of Pharmaceutics*, 272(1–2), 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2003.11.029>
20. Puglia, C., Damiani, E., Offerta, A., Rizza, L., Tirendi, G.G., Tarico, M.S., Curreri, S., Bonina, F., & Perrotta, R.E. (2014) Evaluation of nanostructured lipid carriers (NLC) and nanoemulsions as carriers for UV-filters: Characterization, in vitro penetration and photostability studies. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51(1), 211–217. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2013.09.023>
21. Lademann, J., Jacobi, U., Surber, C., Weigmann, H.J., & Fluhr, J.W. (2009) The tape stripping procedure - evaluation of some critical parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72(2), 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2008.08.008>
22. Weigmann, H.J., Jacobi, U., Antoniou, C., Tsirikas, G.N., Wendel, V., Rapp, C., Gers-Barlag, H., Sterry, W., & Lademann, J. (2005) Determination of penetration profiles of topically applied substances by means of tape stripping and optical spectroscopy: UV filter substance in sunscreens. *Journal of Biomedical Optics*, 10(1), 014009. <https://doi.org/10.1117/1.1854683>
23. Scalia, S., Battaglioli, S., & Bianchi, A. (2019) In vivo Human Skin Penetration of the UV Filter Ethylhexyl Triazone: Effect of Lipid Microparticle Encapsulation. *Skin Pharmacology and Physiology*, 32(1), 22–31. <https://doi.org/10.1159/000493761>
24. Potard, G., Laugel, C., Schaefer, H., & Marty, J.P. (2000) The Stripping Technique: In vitro Absorption and Penetration of Five UV Filters on Excised Fresh Human Skin. *Skin Pharmacology and Physiology*, 13(6), 336–344. <https://doi.org/10.1159/000029941>
25. Padula, C., Campana, N., & Santi, P. (2008) Simultaneous determination of benzophenone-3, retinol and retinyl acetate in pig ear skin layers by high-performance liquid chromatography. *Biomedical Chromatography*, 22, 1060–1065. <https://doi.org/10.1002/bmc.1024>
26. Fernandez, C., Marti-Mestres, G., Mestres, J.P., & Maillols, H. (2000) LC analysis of benzophenone-3 in pigskin and in saline solution: Application to determination of in vitro skin penetration. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 22(2), 393–402. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(99\)00277-0](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(99)00277-0)
27. Fernandez, C., Nielloud, F., Fortuné, R., Vian, L., & Marti-Mestres, G. (2002) Benzophenone-3: rapid prediction and evaluation using non-invasive methods of in vivo human penetration. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 28(1), 57–63. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(01\)00630-6](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(01)00630-6)
28. Couteau, C., Perez Cullel, N., Connan, A.E., & Coiffard, L.J.M. (2001) Stripping method to quantify absorption of two sunscreens in human. *International Journal of Pharmaceutics*, 222(1), 153–157. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00674-3](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00674-3)
29. Gebauer, V., Weigmann, H.J., Schanzer, S., Meinke, M.C., Vergou, T., Sterry, W., & Lademann, J. (2012) Influence of skin aging effects on the

- skin surface profile and the correlated distribution of topically applied sunscreens. *Journal of Biophotonics*, 5(3), 274–282. <https://doi.org/10.1002/jbio.201100104>chatelain
30. Haque, T., Crowther, J.M., Lane, M.E., & Moore, D.J. (2016) Chemical ultraviolet absorbers topically applied in a skin barrier mimetic formulation remain in the outer stratum corneum of porcine skin. *International Journal of Pharmaceutics*, 510(1), 250–254. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.06.041>
 31. Durand, L., Habran, N., Henschel, V., & Amighi, K. (2009) *In vitro* evaluation of the cutaneous penetration of sprayable sunscreen emulsions with high concentrations of UV filters. *International Journal of Cosmetic Science*, 31(4), 279–292. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00498.x>
 32. Oliveira, C.A.M. (2009) *Estudos de permeação através da pele* (Dissertação de Mestrado, Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Portugal). Available: <https://ria.ua.pt/bitstream/10773/4552/1/231152.pdf> [Accessed: 17-abr-2023]
 33. Vettor, M., Bourgeois, S., Fessi, H., Pelletier, J., Perugini, P., Pavanetto, F., & Bolzinger, M.A. (2010) Skin absorption studies of octyl-methoxycinnamate loaded poly(D,L-lactide) nanoparticles: Estimation of the UV filter distribution and release behaviour in skin layers. *Journal of Microencapsulation*, 27(3), 253–262. <https://doi.org/10.3109/10717540903097770>
 34. Lin, Y.C., Lin, C.F., Alalaiwe, A., Wang, P.W., Fang, Y.P., & Fang, J.Y. (2018) UV filter entrapment in mesoporous silica hydrogel for skin protection against UVA with minimization of percutaneous absorption. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 122, 185–194. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.07.013>
 35. Sarveiya, V., Templeton, J., & Benson, H. (2004) Inclusion Complexation of the Sunscreen 2-Hydroxy-4-Methoxy Benzophenone (Oxybenzone) with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin: Effect on Membrane Diffusion. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 49(3–4), 275–281. <https://doi.org/10.1007/s10847-004-6098-6>
 36. Cross, S.E., Jiang, R., Benson, H.A.E., & Roberts, M.S. (2001) Can Increasing the Viscosity of Formulations be used to Reduce the Human Skin Penetration of the Sunscreen Oxybenzone? *Journal of Investigative Dermatology*, 117(1), 147–150. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2001.01398.x>
 37. Vilela, F.M.P., Fonseca, Y.M., Vicentini, F.T.M.C., Fonseca, M.J.V., & Do Amaral, M.D.P.H. (2011) Determination of three ultraviolet filters in sunscreen formulations and from skin penetration studies by high-performance liquid chromatography. *Química Nova*, 34(5), 879–883. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000500026>
 38. Chatelain, E., Gabard, B., & Surber, C. (2003) Skin Penetration and Sun Protection Factor of Five UV Filters: Effect of the Vehicle. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 16(1), 28–35. <https://doi.org/10.1159/000068291>
 39. Hanno, I., Anselmi, C., & Bouchemal, K. (2012) Polyamide Nanocapsules and Nano-emulsions Containing Parsol® MCX and Parsol® 1789: *In Vitro* Release, *Ex Vivo* Skin Penetration and Photo-Stability Studies. *Pharmaceutical Research*, 29(2), 559–573. <https://doi.org/10.1007/s11095-011-0592-5>
 40. Prado, A.H., Borges, M.C., Eloy, J.O., Peccinini, R.G., & Chorilli, M. (2017) An ultra-high performance liquid chromatography method to determine the skin penetration of an octyl methoxycinnamate-loaded liquid crystalline system. *Pharmazie*, 72(10), 563–567. <https://doi.org/10.1691/ph.2017.7037>
 41. Olvera-Martínez, B., Cázares-Delgado, J., Calderilla-Fajardo, S., Villalobos-García, R., Ganem-Quintanar, A., & Quintanar-Guerrero, D. (2005) Preparation of polymeric nanocapsules containing octyl methoxycinnamate by the emulsification-diffusion technique: Penetration across the stratum corneum. *Journal of pharmaceutical sciences*, 94(7), 1552–1559. <https://doi.org/10.1002/jps.20352>
 42. Mestres, J.P., Duracher, L., Baux, C., Vian, L., & Marti-Mestres, G. (2010) Benzophenone-3 entrapped in solid lipid microspheres: Formulation and *in vitro* skin evaluation. *International Journal of Pharmaceutics*, 400(1–2), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.07.028>
 43. Martins, R., Siqueira, S., Fonseca, M., & Freitas, L. (2014) Skin penetration and photoprotection of topical formulations containing benzophenone-3 solid lipid microparticles prepared by the solvent-free spray-congealing technique. *Journal of Microencapsulation*, 31(7), 644–653. <https://doi.org/10.3109/02652048.2014.911378>
 44. Marcato, P., Caverzan, J., Rossi-Bergmann, B., Pinto, E., Machado, D., Silva, R., Justo, G., Ferreira, C., & Durán, N. (2011) Nanostructured Polymer and Lipid Carriers for Sunscreen. Biological Effects and Skin Permeation. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(3), 1880–1886. <https://doi.org/10.1166/jnn.2011.3135>
 45. Siqueira, N.M., Contri, R.V., Paese, K., Beck, R.C.R., Pohlmann, A.R., & Guterres, S.S. (2011) Innovative Sunscreen Formulation Based on Benzophenone-3-Loaded Chitosan-Coated Polymeric Nanocapsules. *Skin Pharmacology and Physiology*, 24(3), 166–174. <https://doi.org/10.1159/000323273>
 46. Scalia, S., Mezzena, M., & Ramaccini, D. (2011) Encapsulation of the UV Filters Ethylhexyl Methoxycinnamate and Butyl Methoxydibenzoylmethane in Lipid Microparticles: Effect on *in vivo* Human Skin Permeation. *Skin Pharmacology and Physiology*, 24(4), 182–189. <https://doi.org/10.1159/000324054>
 47. Scalia, S., Coppi, G., & Iannuccelli, V. (2011) Microencapsulation of a cyclodextrin complex of the UV filter, butyl methoxydibenzoylmethane: *In vivo* skin penetration studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 54(2), 345–350. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.09.018>
 48. Scalia, S., & Mezzena, M. (2009) Incorporation in Lipid Microparticles of the UVA Filter, Butyl Methoxydibenzoylmethane Combined with the UVB Filter, Octocrylene: Effect on Photostability. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 10(2), 384–390. <https://doi.org/10.1208/s12249-009-9217-2>
 49. Calderilla-Fajardo, S.B., Cázares-Delgado, J., Villalobos-García, R., Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A., & Robles, R. (2006) Influence of Sucrose Esters on the *In Vivo* Percutaneous Penetration of Octyl Methoxycinnamate Formulated in Nanocapsules, Nanoemulsion, and Emulsion. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 32(1), 107–113. <https://doi.org/10.1080/03639040500388540>
 50. Zhou, Y., Qian, Y., Wang, J., Qiu, X., & Zeng, H. (2020) Bioinspired Lignin-Polydopamine Nanocapsules with Strong Bioadhesion for Long-Acting and High-Performance Natural Sunscreens. *Biomacromolecules*, 21(8), 3231–3241. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c00696>
 51. Godwin, D.A., Kim, N.H., & Felton, L.A. (2002) Influence of Transcutol® CG on the skin accumulation and transdermal permeation of ultraviolet absorbers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 53(1), 23–27. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(01\)00215-6](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(01)00215-6)
 52. Brand, R., Spalding, M., & Mueller, C. (2002) Sunscreens Can Increase Dermal Penetration of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Journal of Toxicology. Clinical Toxicology*, 40(7), 827–832. <https://doi.org/10.1081/clt-120016952>
 53. Pont, A.R., Charron, A.R., & Brand, R.M. (2004) Active ingredients in sunscreens act as topical penetration enhancers for the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 195(3), 348–354. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.09.021>
 54. Gu, X., Wang, T., Collins, D.M., Kasichayanula, S., & Burczynski, F.J. (2005) *In vitro* evaluation of concurrent use of commercially available insect repellent and sunscreen preparations. *British Journal of Dermatology*, 152(6), 1263–1267. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2005.06691.x>

55. Gu, X., Kasichayanula, S., Fediuk, D.J., & Burczynski, F.J. (2004) In-vitro permeation of the insect repellent N,N-diethyl-m-toluamide (DEET) and the sunscreen oxybenzone. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56(5), 621–628. <https://doi.org/10.1211/0022357023402>
56. Kasichayanula, S., House, J.D., Wang, T., & Gu, X. (2005) Simultaneous analysis of insect repellent DEET, sunscreen oxybenzone and five relevant metabolites by reversed-phase HPLC with UV detection: Application to an in vivo study in a piglet model. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 822(1–2), 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2005.06.015>
57. Freitas, J.V., Praça, F.S.G., Bentley, M.V.L.B., & Gaspar, L.R. (2015) *Trans-resveratrol* and beta-carotene from sunscreens penetrate viable skin layers and reduce cutaneous penetration of UV-filters. *International Journal of Pharmaceutics*, 484(1–2), 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.02.062>
58. Heo, S., Hwang, H.S., Jeong, Y., & Na, K. (2018) Skin protection efficacy from UV irradiation and skin penetration property of polysaccharide-benzophenone conjugates as a sunscreen agent. *Carbohydrate Polymers*, 195, 534–541. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.010>
59. Rosado, C., Tokunaga, V.K., Sauce, R., Oliveira, C.A., Sarruf, F.D., Parise-Filho, R., Maurício, E., Almeida, T.S., Velasco, M.V.R., & Baby, A.R. (2019) Another Reason for Using Caffeine in Dermocosmetics: Sunscreen Adjuvant. *Frontiers in Physiology*, 10(519), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00519>
60. Simeoni, S., Scalia, S., & Benson, H.A.E. (2004) Influence of cyclodextrins on in vitro human skin absorption of the sunscreen, butyl-methoxydibenzoylmethane. *International Journal of Pharmaceutics*, 280(1–2), 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.05.021>
61. Yang, J., Wiley, C.J., Godwin, D.A., & Felton, L.A. (2008) Influence of hydroxypropyl-beta-cyclodextrin on transdermal penetration and photostability of avobenzone. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69(2), 605–612. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.12.015>
62. Chen, W.Y., Fang, C.L., Al-Suwayeh, S., Yang, H.H., Li, Y.C., & Fang, J.Y. (2013) Risk assessment of excess drug and sunscreen absorption via skin with ablative fractional laser resurfacing. *Lasers in Medical Science*, 28(5), 1363–1374. <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1257-2>
63. Li, C.C., Lin, Y.T., Chen, Y.T., Sie, S.F., & Chen-Yang, Y.W. (2015) Improvement in UV protection retention capability and reduction in skin penetration of benzophenone-3 with mesoporous silica as drug carrier by encapsulation. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 148 [s.n.], 277–283. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.04.027>
64. Andréo-Filho, N., Bim, A.V.K., Kaneko, T.M., Kitice, N.A., Haridass, I.N., Abd, E., Lopes, P.S., Thakur, S.S., Parekh, H.S., Roberts, M.S., Grice, J.E., Benson, H.A.E., & Leite-Silva, V.R. (2018) Development and Evaluation of Lipid Nanoparticles Containing Natural Botanical Oil for Sun Protection: Characterization and in vitro and in vivo Human Skin Permeation and Toxicity. *Skin Pharmacology and Physiology*, 31(1), 1–9. <https://doi.org/10.1159/000481691>
65. Mota, A.C.V., Freitas, Z.M.F., Ricci Jr., E., Dellamora-Ortiz, G.M., Santos-Oliveira, R., Ozzetti, R.A., Vergnanini, A.L., Ribeiro, V.L., Silva, R.S., & dos Santos, E.P. (2013) In vivo and in vitro evaluation of octyl methoxycinnamate liposomes. *International Journal of Nanomedicine*, 8(1), 4689. <https://doi.org/10.2147/IJN.S51383>
66. Cozzi, A.C., Perugini, P., & Gourion-Arsiquaud, S. (2018) Comparative behavior between sunscreens based on free or encapsulated UV filters in term of skin penetration, retention and photo-stability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 121, 309–318.
67. Daneluti, A.L.M., Neto, F.M., Ruscinc, N., Lopes, I., Velasco, M.V.R., Matos, J.R., Baby, A.R., & Kalia, Y.N. (2019) Using ordered mesoporous silica SBA-15 to limit cutaneous penetration and transdermal permeation of organic UV filters. *International Journal of Pharmaceutics*, 570, 118633. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.118633>
68. Hayden, C.G.J., Cross, S.E., Anderson, C., Saunders, N.A., & Roberts, M.S. (2005) Sunscreen Penetration of Human Skin and Related Keratinocyte Toxicity after Topical Application. *Skin Pharmacology and Physiology*, 18(4), 170–174. <https://doi.org/10.1159/000085861>
69. Hung, C.F., Chen, W.Y., Aljuffali, I.A., Shih, H.C., & Fang, J.Y. (2014) The risk of hydroquinone and sunscreen over-absorption via photodamaged skin is not greater in senescent skin as compared to young skin: Nude mouse as an animal model. *International Journal of Pharmaceutics*, 471(1–2), 135–145. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.05.034>
70. Krishnan, R., Pradhan, S., Timares, L., Katiyar, S.K., Elmets, C.A., & Nordlund, T.M. (2006) Fluorescence of Sunscreens Adsorbed to Dielectric Nanospheres: Parallels to Optical Behavior on HaCat Cells and Skin. *Photochemistry and Photobiology*, 82(6), 1557–1565. <https://doi.org/10.1562/2006-02-08-RA-800>
71. Roussel, L., Gilbert, E., Salmon, D., Serre, C., Gabard, B., Haftek, M., Maibach, H.I., & Pirot, F. (2015) Measurement, analysis and prediction of topical UV filter bioavailability. *International Journal of Pharmaceutics*, 478(2), 804–810. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.026>
72. Sarveiya, V., Risk, S., & Benson, H.A.E. (2004) Skin penetration and systemic absorption of sunscreens after topical application. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 50(3), P75–P75. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2003.10.626>
73. Tippavajhala, V.K., Mendes, T.O., & Martin, A.A. (2018) In Vivo Human Skin Penetration Study of Sunscreens by Confocal Raman Spectroscopy. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 19(2), 753–760. <https://doi.org/10.1208/s12249-017-0852-8>