

UNIVERSITÉ DE NANTES

FACULTE DE PHARMACIE

**Les produits solaires : des pistes pour améliorer leur
efficacité**

**Mise au point de méthodes *in vitro* d'évaluation –
Criblage de molécules d'intérêt**

THÈSE DE DOCTORAT

Ecole Doctorale : Science Vie Santé VENAM

Discipline : Pharmacie Galénique

Spécialité : Cosmétologie

*présentée
et soutenue publiquement par*

Clotilde CHEIGNON

Le 20 juin 2012 devant le Jury ci-dessous :

Président :	M. Philippe PICCERELLE, Professeur
Rapporteurs :	Mme Naïma ZERROUK, Maître de Conférences-HDR M. Thierry DEVERS, Maître de Conférences-HDR
Examineur :	Mme Marie-Christine ANDRY, Professeur
Directeur de thèse :	Mme Laurence COIFFARD, Professeur
Co-Directeur de thèse :	Mme Céline COUTEAU, Maître de Conférences-HDR

1.1.4.4.2.	Les cancers cutanés	31
1.1.4.5.	Synthèse	31
1.2.	La photoprotection	33
1.2.1.	La photoprotection environnementale	33
1.2.2.	La photoprotection vestimentaire	33
1.2.3.	La photoprotection topique	34
1.2.3.1.	Qu'est-ce que la photoprotection topique ?	34
1.2.3.2.	Les filtres ultraviolets	34
1.2.3.2.1.	Aspects réglementaires	34
1.2.3.2.2.	La classification des filtres UV	35
1.2.3.2.3.	Les propriétés attendues d'un filtre « idéal » et d'un produit solaire « idéal »	36
1.2.3.2.3.1.	La photo-stabilité	37
1.2.3.2.3.1.1.	Généralités concernant la photo-stabilité	37
1.2.3.2.3.1.1.1.	Produits de photo-réactions photo-stables	37
1.2.3.2.3.1.1.1.1.	Cas des isomérisations réversibles	37
1.2.3.2.3.1.1.1.2.	Cas de transfert intramoléculaire de photon	38
1.2.3.2.3.1.1.2.	Réactions photo-instables	38
1.2.3.2.3.1.1.2.1.	Isomérisations irréversibles	38
1.2.3.2.3.1.1.2.2.	Réactions biomoléculaires	40
1.2.3.2.3.1.2.	Conclusion	40
1.2.3.2.3.2.	La substantivité	41
1.2.3.2.3.3.	La rémanence	41
1.2.3.2.3.4.	La largeur du spectre UV couvert	42
1.2.3.2.3.5.	L'absence d'effets pour l'être humain et son environnement	42
1.2.3.2.3.5.1.	Effets toxiques sur l'être humain	42
1.2.3.2.3.5.2.	Impact sur l'environnement	43
1.2.3.2.3.5.2.1.	Cas particulier de l'impact sur les poissons	44
1.2.3.2.3.5.2.2.	Cas particulier de l'impact sur le corail	44
1.2.3.2.3.5.2.3.	Synthèse	46
1.2.3.2.3.5.3.	Conclusion	46
1.2.3.2.3.6.	L'aspect esthétique	47
1.2.3.2.4.	Les filtres UV inorganiques	48
1.2.3.2.4.1.	Définition	48
1.2.3.2.4.2.	Mécanismes d'action des filtres inorganiques	49
1.2.3.2.5.	Les filtres UV organiques	50

1.2.3.2.5.1.	Définition	50
1.2.3.2.5.2.	Mécanismes d'action	51
1.2.3.2.5.3.	Les différentes familles de filtres organiques	52
1.2.3.2.5.3.1.	Les filtres UVB	52
1.2.3.2.5.3.1.1.	Les dérivés du camphre	52
1.2.3.2.5.3.1.2.	Les cinnamates	55
1.2.3.2.5.3.1.3.	Les imidazolés	57
1.2.3.2.5.3.1.4.	Les malonates	59
1.2.3.2.5.3.1.5.	Les dérivés du PABA	61
1.2.3.2.5.3.1.6.	Les salicylates	63
1.2.3.2.5.3.1.7.	Les triazones	65
1.2.3.2.5.3.2.	Les filtres UVA	67
1.2.3.2.5.3.2.1.	Les dérivés du camphre	67
1.2.3.2.5.3.2.2.	Les dérivés du dibenzoylméthane	68
1.2.3.2.5.3.2.3.	Les imidazolés	69
1.2.3.2.5.3.2.4.	Les diphenylcétones	71
1.2.3.2.5.3.3.	Les filtres à large spectre	71
1.2.3.2.5.3.3.1.	Les diphenylcétones	72
1.2.3.2.5.3.3.2.	Les benzotriazoles	74
1.2.3.2.5.3.3.3.	Les phényltriaziènes	77
1.2.3.3.	Les nouvelles molécules	79
1.2.3.4.	Les méthodes d'évaluation	83
1.2.3.4.1.	Notion de Facteur de Protection Solaire (FPS)	83
1.2.3.4.1.1.	Détermination <i>in vivo</i> du <i>Sun Protection Factor</i> (SPF)	84
1.2.3.4.1.2.	Méthode de détermination <i>in vitro</i> du SPF	85
1.2.3.4.1.3.	Règles d'étiquetage	86
1.2.3.4.2.	Détermination du niveau de protection dans le domaine UVA	87
1.2.3.4.2.1.	Méthodes <i>in vivo</i>	87
1.2.3.4.2.1.1.	Le PUVAtest	87
1.2.3.4.2.1.2.	La méthode Charbon	88
1.2.3.4.2.1.2.1.	Principe	88
1.2.3.4.2.1.2.2.	Protocole	88
1.2.3.4.2.2.	Méthode <i>in vitro</i>	89
1.2.3.4.2.2.1.	Méthode proposée par le COLIPA	89
1.2.3.4.2.2.2.	Méthode <i>in vitro</i> mise au point au LPiC	90

1.2.3.4.2.3.	Règles d'étiquetage	90
1.2.3.4.3.	Normalisation des méthodes de détermination des facteurs de protection solaire	91
1.2.3.4.4.	Evaluation de la résistance à l'eau d'un produit solaire	91
1.2.3.4.4.1.	Méthode <i>in vivo</i>	91
1.2.3.4.4.2.	Méthodes <i>in vitro</i>	93
1.2.3.4.4.3.	Règles d'étiquetage	94
1.2.3.4.5.	Résistance à la friction	94
1.2.3.4.6.	Evaluation de la photo-stabilité d'un produit solaire	95
2.	PARTIE EXPERIMENTALE	96
2.1.	Mise au point de nouvelles méthodes pour la détermination de la résistance à l'eau des produits solaires	97
2.1.1.	Comparaison de deux méthodes <i>in vitro</i> d'évaluation du caractère de résistance à l'eau des produits solaires	97
2.1.1.1.	Matériel et méthodes	97
2.1.1.1.1.	Produits solaires testés	97
2.1.1.1.2.	Méthode	99
2.1.1.1.2.1.	Préparation de l'échantillon	101
2.1.1.1.2.2.	Détermination de la résistance à l'eau des produits étudiés	102
2.1.1.2.	Résultats	103
2.1.1.2.1.	Résultats concernant l'efficacité des produits solaires testés	104
2.1.1.2.2.	Résultats concernant la résistance à l'eau	104
2.1.2.	Mise au point d'une méthode rapide de détermination de la résistance à l'eau des produits solaires	106
2.1.2.1.	Matériel	106
2.1.2.2.	Méthode	108
2.1.2.3.	Résultats	108
2.1.2.3.1.	Résultats obtenus avec les formules réalisées au laboratoire	108
2.1.2.3.2.	Résultats obtenus avec les formules réalisées au laboratoire contenant différentes associations de tensioactifs	110
2.1.2.3.3.	Résultats obtenus avec les produits du commerce	110
2.1.2.3.4.	Conclusion	112
2.2.	Criblage de molécules d'intérêt en termes de photo-protection topique	113
2.2.1.	Ingrédients visant à augmenter l'efficacité en termes de résistance à l'eau	113
2.2.1.1.	Etude de l'influence de l'excipient sur le caractère résistant à l'eau des produits solaires	113
2.2.1.1.1.	Matériel	113

2.2.1.1.2.	Méthode	115
2.2.1.1.3.	Résultats	115
2.2.1.2.	Influence de la balance hydrophile lipophile (HLB) sur le caractère de résistance à l'eau d'émulsions solaires	118
2.2.1.2.1.	Matériel	118
2.2.1.2.2.	Méthode	120
2.2.1.2.3.	Résultats	120
2.2.2.	Efficacité en termes de photo-protection	121
2.2.2.1.	Matériel	121
2.2.2.2.	Méthode	122
2.2.2.2.1.	Formules réalisées à base de silymarine	122
2.2.2.2.2.	Détermination du spectre d'absorption UV de la silymarine	122
2.2.2.2.3.	Etude de la photo-stabilité des crèmes solaires formulées	122
2.2.2.3.	Résultats	123
Conclusion		126
Annexe 1		128
Annexe 2		133
Annexe 3		152
Annexe 4		167
Annexe 5		171
Liste des figures		179
Liste des tableaux		182
Références bibliographiques		184

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique
BEMT : bis-éthylhexyloxyphénol méthoxyphényl triazine
BM : bain marie
BMDBM : butylméthoxydibenzoylméthane
BC : benzylidène camphre
CIE : Commission internationale de l'éclairage
COLIPA : Comité des liaisons des Industries de la Parfumerie (devenue en 2012, Cosmetics Europe)
DEM : dose érythématogène minimale
DME : dose minimale érythématogène
EEC : *european economic community*
EHMC : éthylhexyl méthoxycinnamate, synonyme de octylméthoxycinnamate (voir OMC)
EHT : éthylhexyl triazine
FPS : facteur de protection solaire
FP-UVA : facteur de protection UVA
H/L : hydrophile/lipophile
HLB : hydrophile lipophile balance
INCI : *international nomenclature of cosmetic ingredients*
IP : indice de protection
IPD : immediate pigment darkening
IR : infrarouges
JDE : jonction dermo-épidermique
L/H : lipophile/hydrophile
LPiC : Laboratoire de Pharmacie industrielle et de Cosmétologie
4-MBC : 4-méthylbenzylidène camphre
5-MOP : 5-méthoxypsoralène
MBBT : méthylène bis-benzotriazolyl tétraméthylbutylphénol
OMC : octylméthoxycinnamate
OCR : octocrylène
O/W : oil/water
PABA : acide para-aminobenzoïque
PBSA : acide 2-phénylbenzimidazole-5-sulfonique
PMMA : polyméthyl méthacrylate
PPD : *persistent pigment darkening*
RER : réticulum endoplasmique rugueux
SPF : *sun protection factor*
UEM : unité épidermique de mélanisation
UPF : *ultra violet protection factor*
UV : ultraviolet
UVA, UVB, UVC : ultraviolets A, B, C
W/O : water/oil
WRR : *water resistant retention*

Introduction

Le soleil est un élément essentiel à la vie.

Longtemps vénéré dans un grand nombre de civilisations, il est, dans notre société actuelle, toujours l'objet d'une forme de culte, culte lié à celui de la peau bronzée.

Sur tous les continents, des signes de son adoration sont retrouvés. Les Peuples du soleil, Incas, Mayas et Aztèques, sacrifiaient des êtres humains afin d'apporter de l'énergie à leur Dieu Soleil. Les Incas s'étaient nommés les « Fils du soleil ». Cet astre leur apportait force, puissance. Grâce à lui, ils pouvaient sortir victorieux des guerres auxquelles ils participaient. En signe d'allégeance, de nombreux lieux de culte furent bâtis, tel que le temple Inca de Vilcashuamán au Pérou.

En Mésopotamie, le soleil, pour la civilisation sumérienne, symbolisait la justice. Le Dieu Soleil portait, d'ailleurs, un disque solaire pour emblème.

La divinité Soleil protégeait le Japon, encore appelé « Pays du soleil levant », contre les invasions.

Nous pourrions multiplier et développer les exemples, qui montrent tous que cet astre fut divinisé pour sa puissance et son rôle primordial pour la vie des espèces terrestres.

Aujourd'hui encore, même si les êtres humains ne le louent plus comme par le passé, il occupe, bien souvent, une place particulière dans leur vie. Qui ne parle jamais de la pluie et du beau temps ? Le soleil rythme notre vie, et influence notre moral. Etre bronzé signifiait et signifie encore, être en bonne santé. Pendant de longues années, la peau tannée était celle des hommes travaillant la terre, et était donc boudée par les classes aisées de la société. Avec les congés payés, le fait d'être bronzé n'est plus préjudiciable. C'est au contraire le signe d'appartenance à une catégorie sociale élevée. Malgré une prise de conscience des effets néfastes du soleil, les mauvaises habitudes persistent. Les vacanciers rentrent chez eux avec la peau bronzée. Ceux qui n'ont pas cette opportunité vont faire des séances dans les cabines UV et les solariums, afin de rivaliser avec les plus chanceux. Enfin, nous voyons les rayons des magasins se remplir de produits autobronzants, cosmétiques assurant un hâle indépendant de toute intervention de la mélanine. Ces derniers offrent cette couleur « bonne santé » tant souhaitée, sans les méfaits du soleil.

Il faut toutefois rappeler qu'abuser du soleil peut compromettre la santé. Depuis quelques années, les professionnels de santé mettent en garde contre les effets délétères du soleil. Même s'il est reconnu que le soleil exerce des propriétés positives sur le corps humain, les surexpositions s'avèrent néfastes. Pour preuves, les cancers cutanés qui détiennent le triste record de la plus importante progression depuis ces 20 dernières années.

On peut déplorer que les professionnels de santé soient peu écoutés. En effet, peu de gens résistent à l'appel de ce teint hâlé. Les mauvaises habitudes persistent : les heures d'exposition ne sont pas respectées, les expositions sont excessives et répétées [1], le port

de vêtements protecteurs surtout dans le cas des enfants, est souvent oublié [2], les crèmes solaires utilisées ont des indices inadaptés au phototype du sujet et/ou aux conditions d'exposition.

D'un point de vue historique, le premier produit solaire apparu sur le marché français fut une huile filtrante baptisée Ambre Solaire® par les laboratoires L'Oréal. Sa mise sur le marché coïncide avec l'apparition des congés payés (1936). Son rôle était seulement de prévenir les coups de soleil, les méfaits du soleil étant mal connus à l'époque [3]. Cette huile était formulée avec du salicylate de benzyle, filtre absorbant dans le domaine UVB, domaine responsable de l'érythème. Nous étions alors à l'aube d'un marché naissant, celui du bronzage « protégé », pendant les vacances.

Depuis d'énormes progrès ont été faits en matière de connaissance du spectre solaire, de la biologie cutanée, ainsi que de la chimie des filtres. Les ultraviolets A et B ont été étudiés afin de mettre en évidence leurs effets néfastes sur la peau.

Différentes molécules ont été synthétisées afin de mieux protéger la peau des rayonnements solaires. Depuis quelques années, la tendance, dans diverses industries, est au « naturel ». De nombreuses sociétés cosmétiques mettent sur le marché des produits dits « bio » ou « naturels ». Des molécules filtrantes d'origine naturelle sont donc recherchées afin de substituer les filtres de synthèse utilisés à ce jour [4]. Par ailleurs, d'autres ingrédients ont vu le jour afin d'augmenter rémanence et substantivité des filtres en cas de baignades à la mer ou en piscine.

Afin de mettre en évidence l'efficacité des produits solaires, différentes méthodes de détermination des indices de protection solaire ont été mises en place. La plus ancienne et la plus utilisée d'entre elles est la méthode de Schulze reprise par le COLIPA. La détermination du SPF (*Sun Protection Factor*) par cette technique implique l'irradiation de volontaires sains.

En conséquence et pour des raisons éthiques évidentes, les méthodes *in vitro* sont celles qui ont été retenues pour ce travail.

Dans une première partie, nous aborderons des généralités sur le soleil et la peau. Puis, un rappel sur les filtres solaires disponibles sur le marché européen sera effectué. Nous détaillerons ensuite notre travail expérimental qui a consisté à mettre au point de nouvelles techniques *in vitro*. L'une d'elle permet la détermination simple et rapide de la résistance à l'eau des produits solaires. L'autre est une adaptation de ce test avec un appareillage courant dans l'industrie pharmaceutique.

Enfin, le nombre de filtres UV disponibles pour les formulateurs étant assez réduit (surtout dans le domaine UVA) et leur sécurité d'emploi de plus en plus remise en cause, il nous a paru important de rechercher des alternatives dans le milieu végétal.

1. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. LE SOLEIL ET LA PEAU

1.1.1. Généralités sur le rayonnement solaire

Le rayonnement électromagnétique (figure 1) émis par le soleil est subdivisé en différentes catégories, en fonction de la longueur d'onde : les rayons cosmiques, les rayons gamma, les rayons X, les ultraviolets (200-400 nm), la lumière visible (400-800 nm), les infrarouges (800-5000 nm), les micro-ondes et les ondes radio.

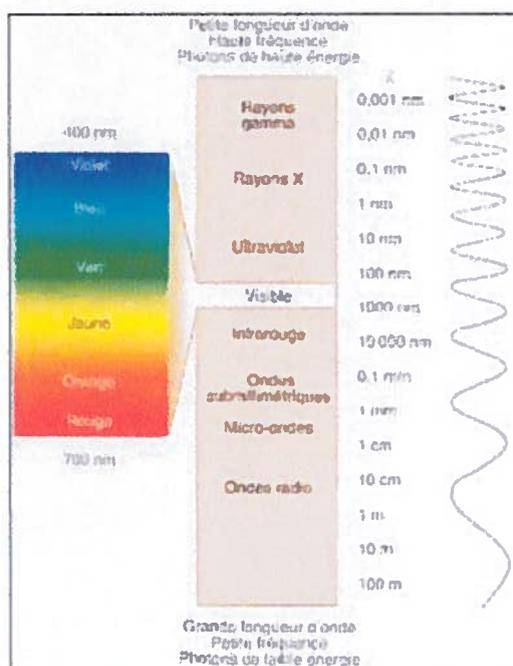


Figure 1: Spectre électromagnétique [5]

Seule une faible partie du rayonnement solaire atteint la surface de la terre (tableau 1).

	Longueur d'onde (nm)	Fraction de l'énergie totale en %
Infrarouge	700-2500	50
Visible	400-700	44
Ultraviolet	295-400	6
UVA	320-400	95,9 des UV
UVA ₁ (long)	340-400	
UVA ₂ (court)	320-340	
UVB	295-320	4,1 des UV
UVC	200-295	0 (couche d'ozone intacte)

Tableau 1 : Composition du rayonnement solaire atteignant la surface de la terre [6]

Il s'agit des rayons UV (à l'exception des UVC), de la lumière visible et des infra-rouges. Le reste est réfléchi ou filtré par l'atmosphère. La couche d'ozone, par exemple, arrête les rayonnements dont la longueur d'onde est inférieure à 300 nm environ.

Dans le cadre de notre étude, le rayonnement qui nous intéresse est celui qui interagit avec la peau (figure 2) à savoir principalement le rayonnement UV.

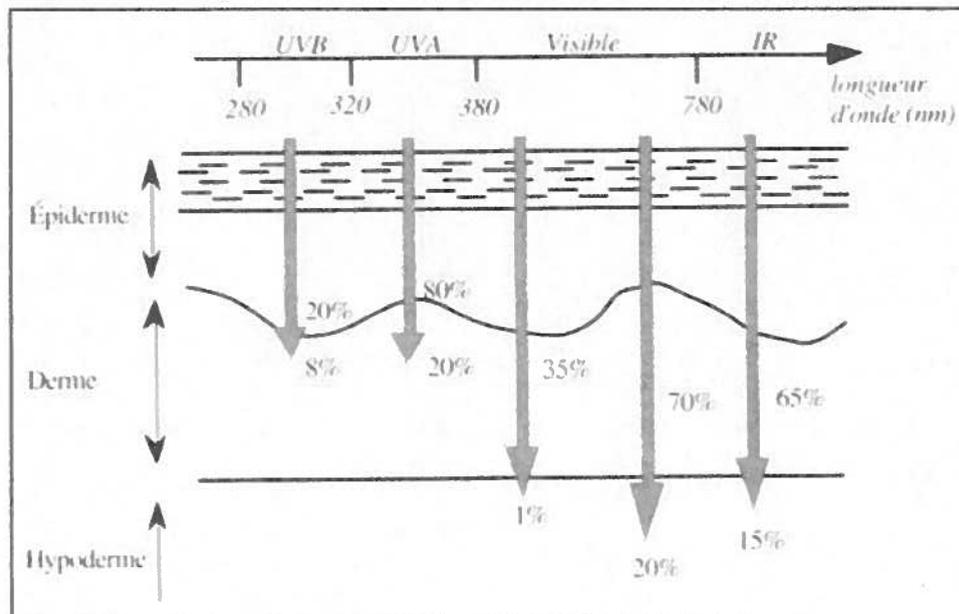


Figure 2 : Spectre solaire et niveau de pénétration cutanée [7]

Les rayonnements visible et infra-rouge traversent l'épiderme et le derme et sont susceptibles d'atteindre l'hypoderme superficiel. A ce jour, peu de recherches concernent les effets de la lumière visible sur la peau.

Cependant, quelques études récentes concernant les infra-rouges sont loin de démontrer un effet bénéfique de ce rayonnement pour la peau [8]. On constate en effet un phénomène de vieillissement prématuré lié à ces radiations [9].

Les radiations UV sont les principales radiations dont il faut se protéger. Ils sont divisés en trois domaines : les UVC (de 200 à 290 nm), les UVB (de 290 à 320 nm) et les UVA (de 320 à 400 nm).

La totalité des UVC est absorbée avant leur arrivée à la surface de la terre, par l'oxygène de l'atmosphère ainsi que par l'ozone [10]. Du fait de l'amincissement de la couche d'ozone, la question de l'efficacité de cette barrière naturelle commence à se poser, et ce, pour certaines régions du monde.

Les UVB (290-320 nm) pénètrent dans l'épiderme et dans le derme superficiel alors que les UVA (320-400 nm) pénètrent jusqu'au derme profond (figure 3).

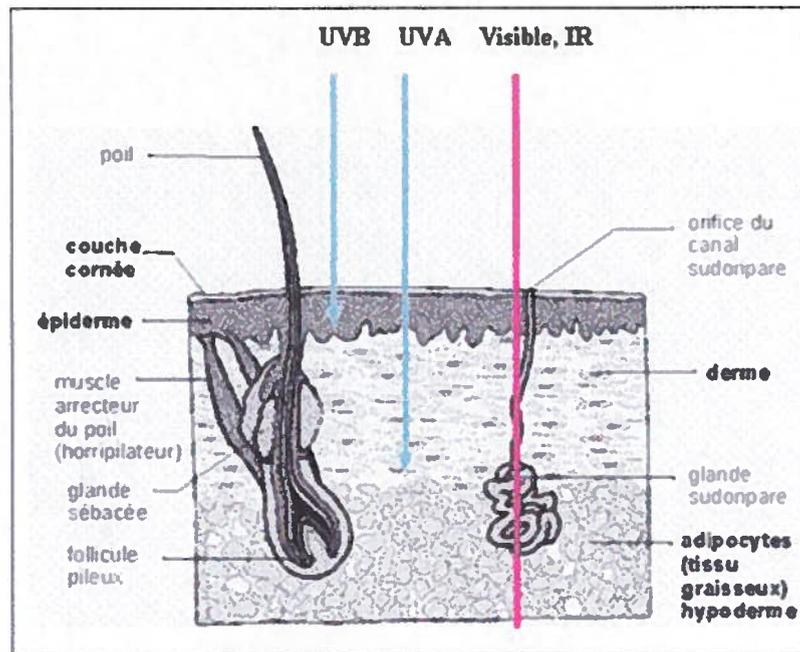


Figure 3 : Couches cutanées atteintes par les UV [11]

Les UVB sont les plus énergétiques, alors que les UVA le sont moins mais pénètrent plus profondément dans la peau [12]. Leurs effets sur la peau seront décrits ultérieurement. Il est important de noter que la proportion de rayonnement UV reçue par la peau varie en fonction de la journée, mais aussi de la saison et de la latitude [13].

1.1.2. Rappels sur la physiologie cutanée

1.1.2.1. INTRODUCTION

La peau est l'organe le plus étendu et le plus lourd de l'organisme. C'est un organe vivant possédant des propriétés complexes [14] qui protège l'organisme contre les agressions extérieures (physiques, chimiques, biologiques) [15].

Sur le plan structural, elle est composée de trois tissus superposés : l'épiderme, le plus externe, le derme, couche intermédiaire et l'hypoderme, le plus profond (figure 4) [16].

Les glandes sébacées et sudoripares ainsi que les phanères, ou annexes cutanées, sont localisées au sein de la peau [16].

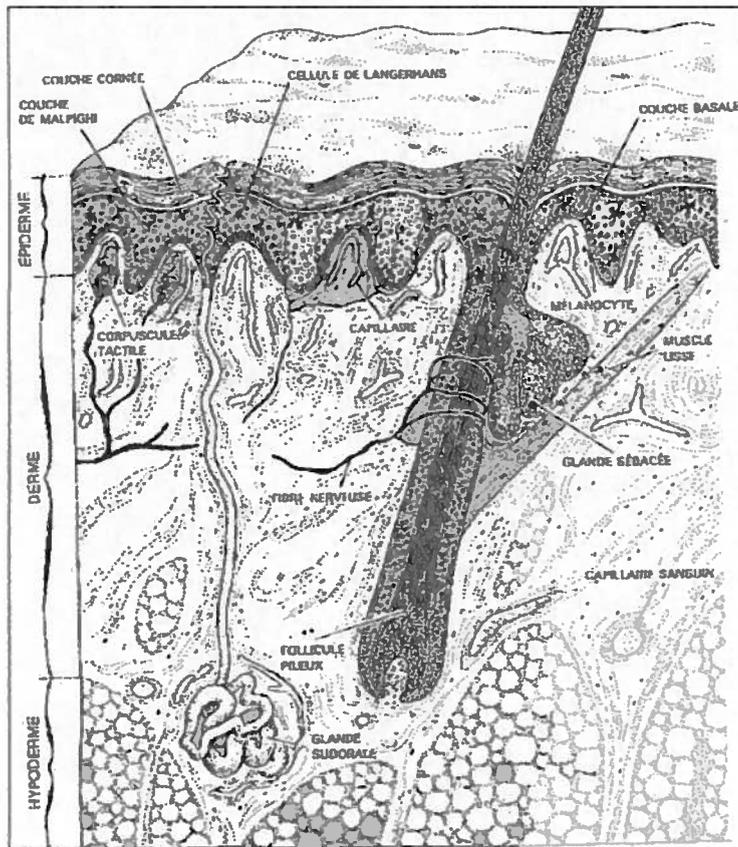


Figure 4 : Coupe histologique de peau [14]

1.1.2.2. L'ÉPIDERME

L'épiderme est un tissu épithélial. Plusieurs strates de cellules superposées le constituent, au sein desquelles migrent les kératinocytes (figure 5).

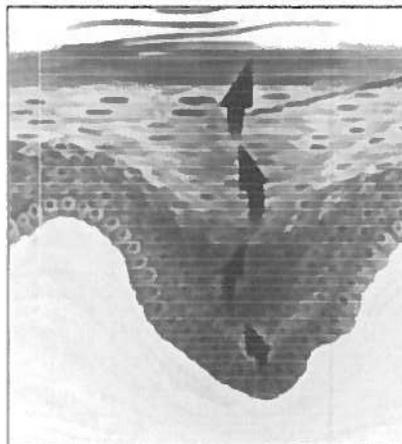


Figure 5 : Migration des kératinocytes à travers les différentes couches de l'épiderme [17]

L'épiderme est situé au niveau le plus superficiel de la peau. Il est constitué de différentes populations cellulaires (figure 6) :

- 80 % de kératinocytes ;
- 13 % de mélanocytes ;
- 4% de cellules de Langerhans ;
- 3% de cellules de Merkel.

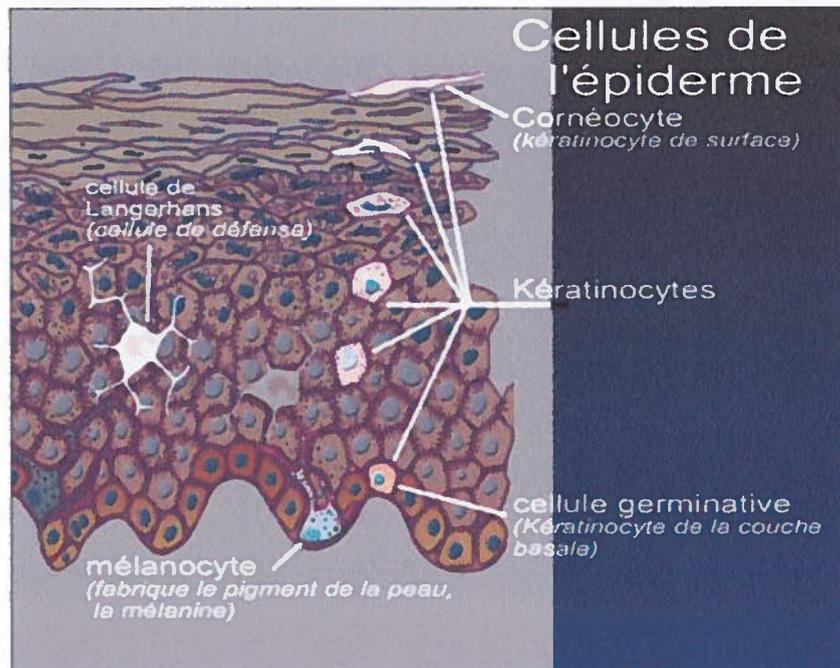
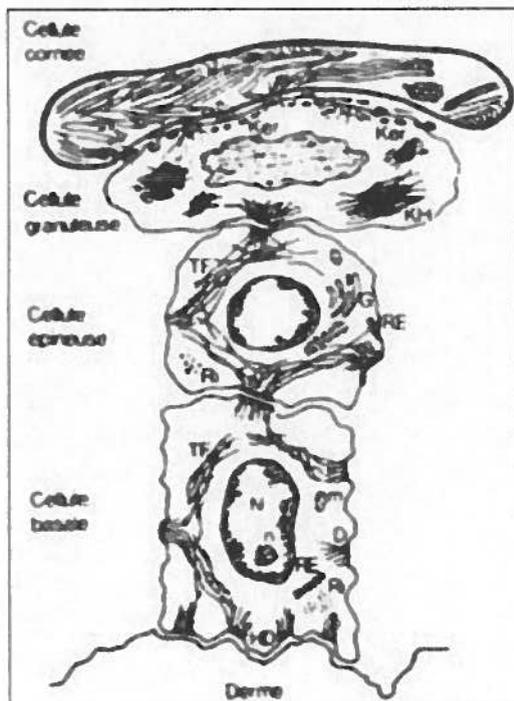


Figure 6 : Géographie des cellules de l'épiderme [18]

1.1.2.2.1. Les kératinocytes

Les kératinocytes sont les cellules les plus représentées au sein de l'épiderme. On les retrouve également au niveau des phanères (ongles, cheveux, poils). Leur rôle est de synthétiser la kératine, protéine résistante et fibreuse, insoluble dans l'eau, qui assure à la peau sa propriété d'imperméabilité et de protection vis-à-vis du monde extérieur [19].

L'épiderme est constitué de 2 parties : une partie vivante en renouvellement permanent et une, « morte », desquamante. Les kératinocytes vont se diviser de la profondeur vers la surface de l'épiderme. Durant ce processus, ces cellules vont se transformer, passant de l'état nucléé, sans kératine, à l'état anucléé, remplies de kératine. Cette différenciation cellulaire se nomme processus de kératinisation (figure 7).



- avec :
- N : noyau
 - n : nucléole
 - m : mitochondries
 - Ri : ribosomes
 - RE : réticulum endoplasmique
 - G : appareil de Golgi
 - HD : hémidesmosomes
 - D : desmosomes
 - KH : kératohyaline
 - TF : tonofilaments

Figure 7 : Le processus de kératinisation [20]

En outre, la mélanine synthétisée dans les mélanocytes, situés au sein de la membrane basale, est transférée aux kératinocytes [21]. Ce biopolymère donne à la peau sa couleur, mais est également responsable de la photoprotection naturelle [22].

1.1.2.2.2. Les mélanocytes

Les mélanocytes forment la deuxième grande population cellulaire de l'épiderme. Ils sont caractérisés par le fait que ce sont des cellules dendritiques et pigmentogènes (figure 8).

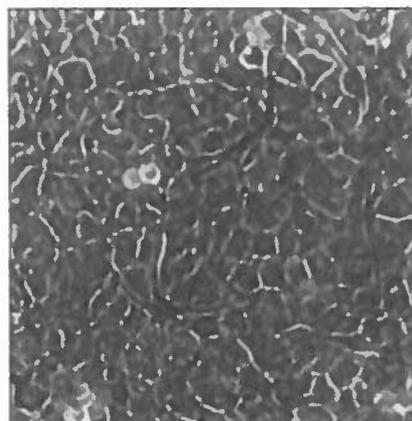


Figure 8 : Mélanocytes en co-culture avec des kératinocytes [23]

Au niveau de la membrane basale, un mélanocyte est au contact de plusieurs dizaines de kératinocytes. Les mélanocytes et les kératinocytes voisins des couches basale et épineuse forment l'Unité Epidermique de Mélanisation (UEM) (figure 9). On compte environ un mélanocyte pour 36 kératinocytes. C'est au sein de cette unité que le transfert des mélanosomes, organelles contenant la mélanine, se réalise [14]. Une coopération s'établit entre kératinocytes et mélanocytes.

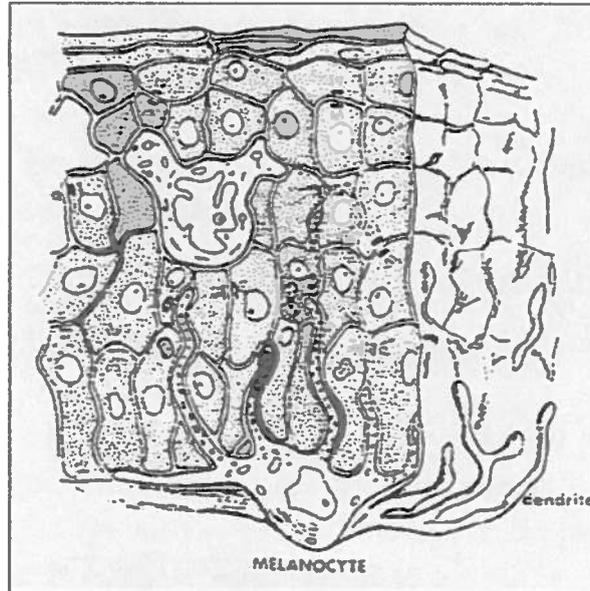


Figure 9 : L'Unité Epidermique de Mélanisation [24]

Au sein du mélanocyte, les mélanines sont synthétisées suite à une irradiation ultraviolette [25]. Elles sont de deux types. Les eumélanines représentent la famille des pigments sombres, les phæomélanines, celle des pigments clairs. Le processus de mélanogenèse, intervenant dans la photoprotection naturelle, sera présenté par la suite.

Les mélanocytes se retrouvent non seulement au niveau de la peau, mais également au niveau des cheveux et des yeux.

1.1.2.2.3. Les cellules de Langerhans

Ces cellules dendritiques (figure 10) sont des cellules du système immunitaire.



Figure 10 : Cellules de Langerhans [26]

Elles vont phagocyter les corps étrangers (virus, bactéries, allergènes...) ayant pénétrés au niveau de l'épiderme. Après cette étape, elles migrent vers les ganglions lymphatiques, afin de présenter les antigènes aux lymphocytes T, cellules de défense [27]. Une réponse immunitaire spécifique sera alors enclenchée.

1.1.2.2.4. Les cellules de Merkel

Cette quatrième et dernière catégorie de cellules épidermiques est la moins nombreuse. En effet, ces cellules ne représentent environ qu'1% du nombre total de cellules. Elles sont d'origine neuro-épithéliale. Elles sont appelées mécanorécepteurs du sens du toucher (figure 11) [28].

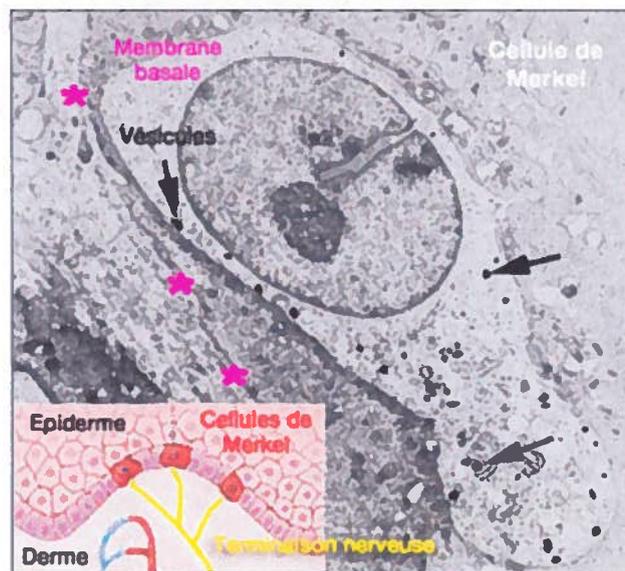


Figure 11 : Cellule de Merkel [29]

Leur répartition à la surface du corps n'est pas homogène. Elles sont, par exemple, particulièrement abondantes au niveau des lèvres, de la paume des mains, de la pulpe des doigts et de la plante des pieds.

1.1.2.3. LA JONCTION DERMO-EPIDERMIQUE

La jonction dermo-épidermique (JDE) permet la cohésion épiderme-derme. Elle implique à la fois les kératinocytes de la membrane basale et les fibroblastes dermiques. Elle se caractérise par la présence de structures d'ancrage spécifiques, tels que les hémidesmosomes et les fibres de collagène. Comme toutes les membranes basales, la jonction dermo-épidermique a un rôle, ici, de contrôle des échanges, entre l'épiderme et le derme [30].

1.1.2.4. LE DERME

Le derme est le tissu sous-jacent [31]. C'est un tissu conjonctif, qui se subdivise en deux parties : le derme papillaire, situé juste sous la jonction épidermique, et le derme réticulaire, le plus profond et le plus épais. Ce dernier représente environ 80% de l'épaisseur totale du derme.

1.1.2.5. L'HYPODERME

L'hypoderme, ou tissu adipeux, est la couche la plus profonde de la peau. Il constitue pour l'organisme une réserve de nutriments et d'énergie [31]. Il intervient dans le phénomène de thermorégulation.

1.1.3. La photoprotection naturelle

1.1.3.1. LA PHOTOPROTECTION MELANIQUE

1.1.3.1.1. La mélanogenèse

Ce processus biochimique permet de synthétiser les mélanines au sein des mélanosomes présents dans les mélanocytes (figure 12) [14, 32].

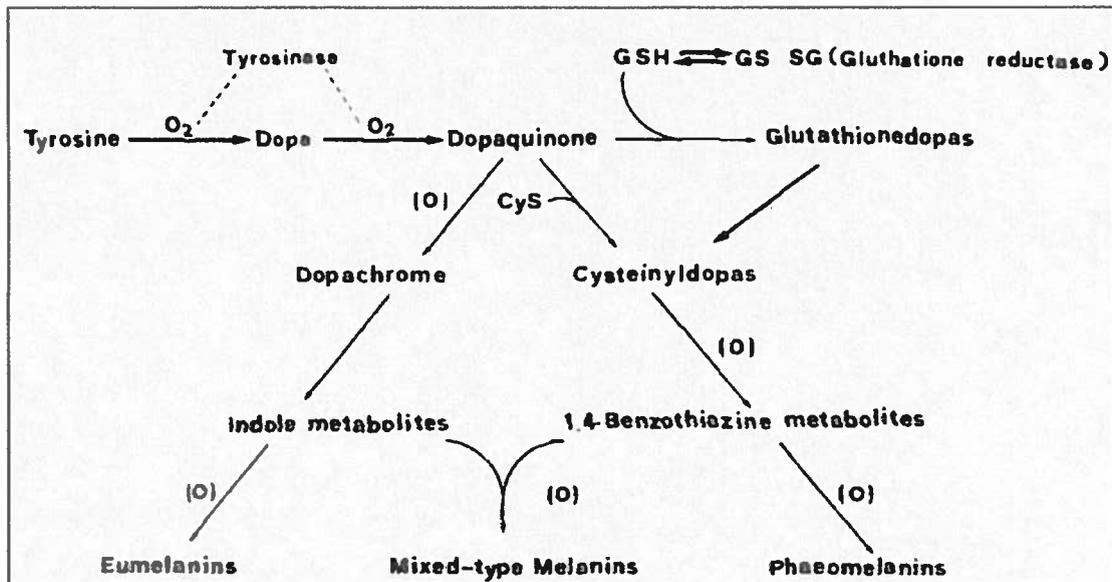


Figure 12 : Principales étapes de la biosynthèse des mélanines [33]

L'acide aminé indispensable à la synthèse mélanique est la tyrosine.

Les deux types de mélanines obtenues, eumélanines et phæomélanines, se différencient par leur structure chimique, leur couleur et leurs propriétés photoprotectrices. Sous l'action des radiations UV, la tyrosinase est activée ; la production de mélanines débute, alors, dans les organelles [32, 34].

Même si la pigmentation mélanique est génétiquement programmée, elle peut être stimulée ou inhibée par de nombreux agents intrinsèques (hormones, peptides) [32].

Deux types d'organelles existent : les eumélanosomes et les phæomélanosomes. Ils se différencient par leur forme finale : les premiers sont plutôt plats et allongés, alors que les deuxièmes sont de forme ovoïde (figure 13) [35].

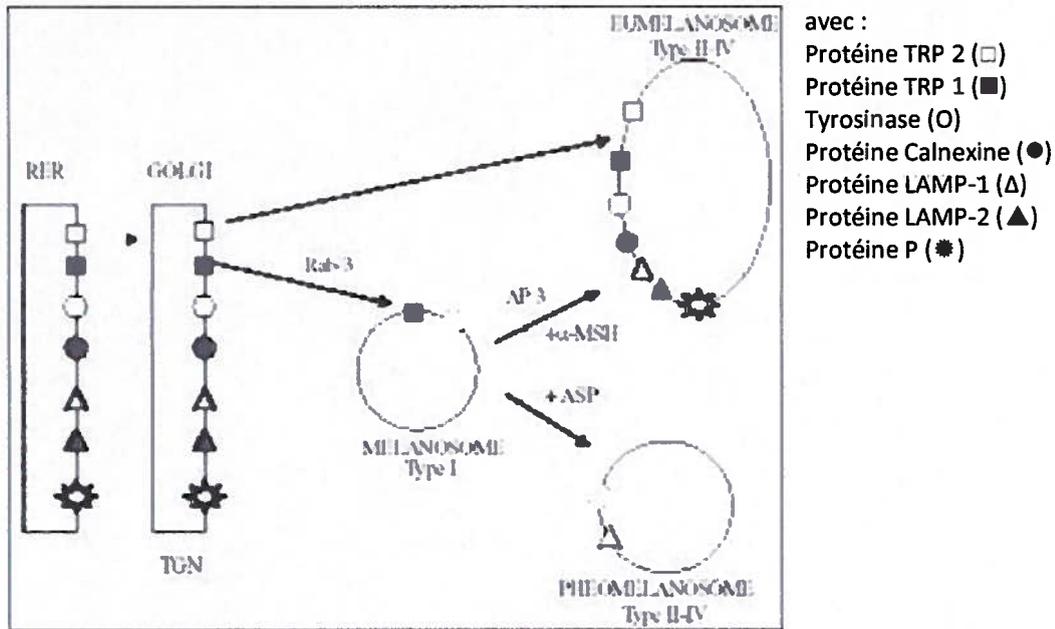


Figure 13 : Schéma simplifié de la biogenèse des deux types de mélanosomes [35]

Une fois que les mélanosomes sont entièrement opaques et parvenus à l'extrémité des dendrites, ils sont transférés dans les kératinocytes adjacents (figures 14 et 15) [36].

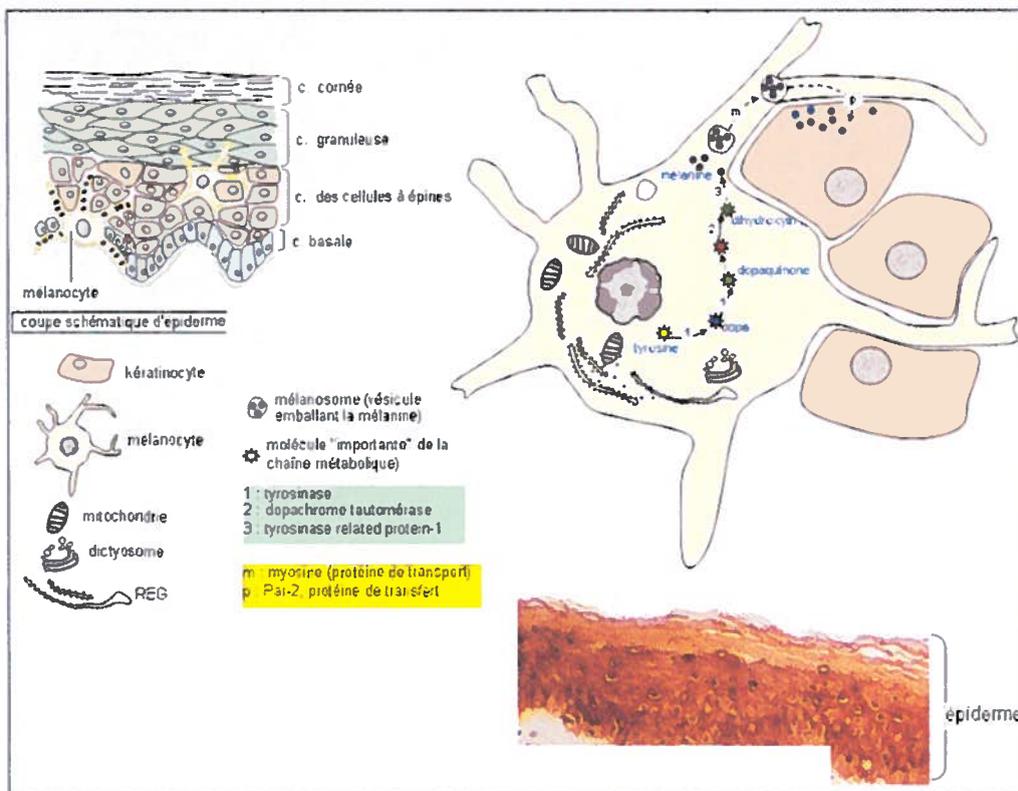
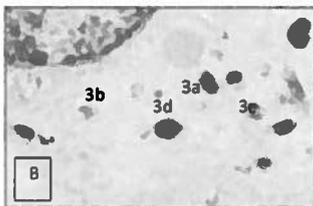
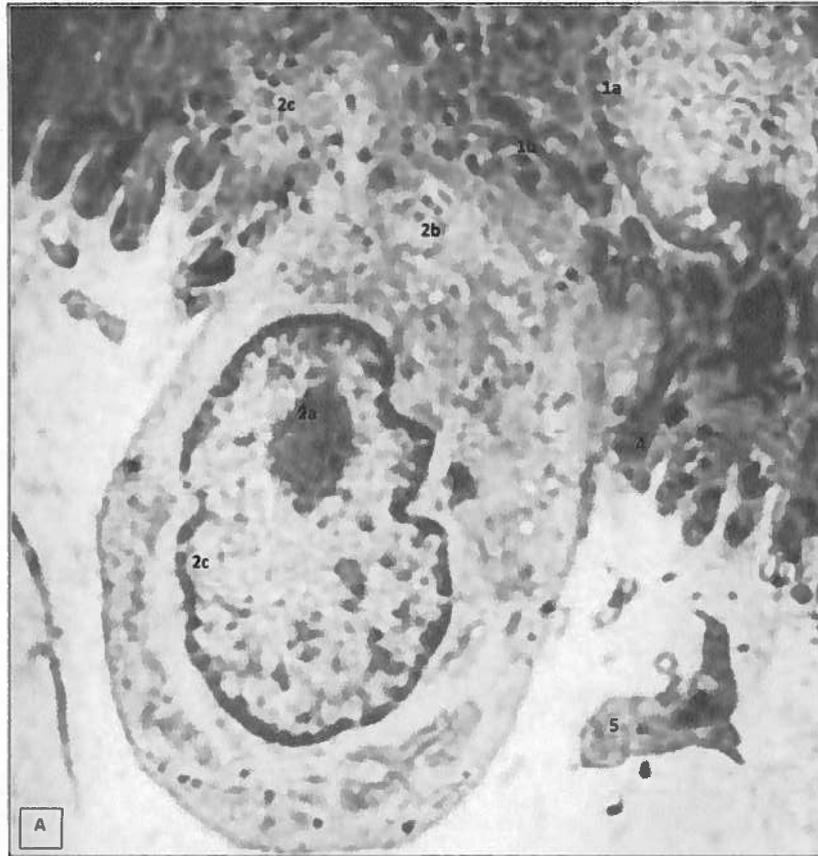


Figure 14 : Production et transfert de la mélanine dans la peau [37]



avec :

1. Kératinocyte de la couche basale de l'épiderme, avec en 1a : son noyau, en 1b : des tonofilaments rassemblés en trousseau
2. Mélanocyte faisant saillie dans le derme, avec en 2a : son noyau, en 2b : le cytoplasme clair de son corps cellulaire, et en 2c : l'origine d'un prolongement
3. Mélanosomes à eumélanine, à différents stades de maturation, avec en 3a : un mélanosome I, en 3b : un mélanosome II, avec ses lamelles non mélanisées, en 3c : un mélanosome III, avec ses lamelles mélanisées grâce à la tyrosinase, en 3d : un mélanosome IV mature, capable de migrer dans les prolongements et, en 3e : un mélanosome IV phagocyté par les kératinocytes
4. Jonction dermo-épidermique
5. Derme papillaire superficiel

Figure 15 : Kératinocytes, mélanocytes, jonction dermo-épidermique et derme papillaire en microscopie électronique à faible (A) et fort (B, C) grossissements [38]

1.1.3.1.2. Les mélanines et leurs propriétés

La coloration de la peau est la conséquence visible de la présence des mélanines [39], associées à d'autres types de molécules colorées (carotènes, oxyhémoglobine, hémoglobine) [14, 30].

Chaque individu combine les deux sortes de mélanines à des concentrations différentes [32]. Le mélange des deux et la répartition des mélanosomes au sein de la peau donnera les divers phototypes [30, 40]. Pour rappel, les eumélanines sont caractérisées par des couleurs brunes à noires, alors que les phæomélanines, elles, sont jaunes à rouges [35].

Le rôle principal de la mélanine reste la photoprotection [41]. Mais elle possède aussi des propriétés anti-oxydantes et anti-radicalaires [42]. La mélanine absorbe les rayonnements qui n'ont pas été réfléchis à la surface de la peau [14, 30]. Le maximum d'absorption se situe aux environs de 335-340 nm. De ce fait, la mélanine est plus efficace vis-à-vis des radiations UVA que des radiations UVB (figure 16) [30].

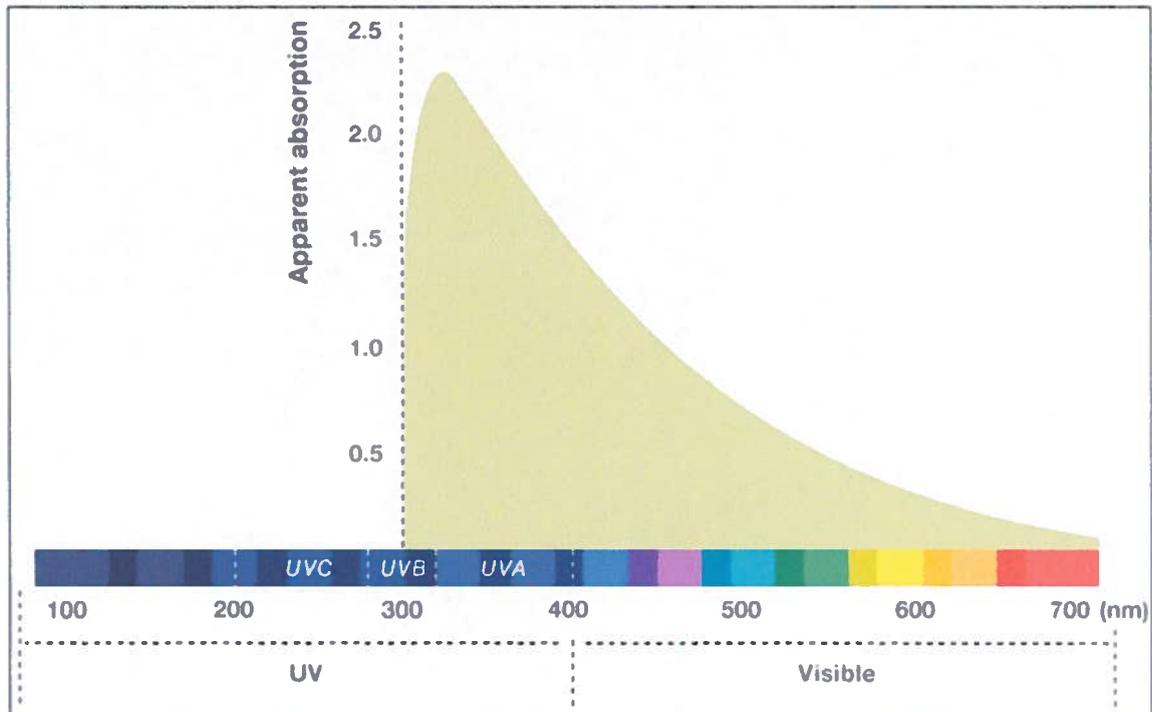


Figure 16 : Spectre d'absorption de la mélanine [43]

Lors d'une irradiation, les mélanosomes se rassemblent au-dessus du noyau de la cellule et, ainsi, protègent le matériel génétique des kératinocytes (figures 17 et 18) [4].

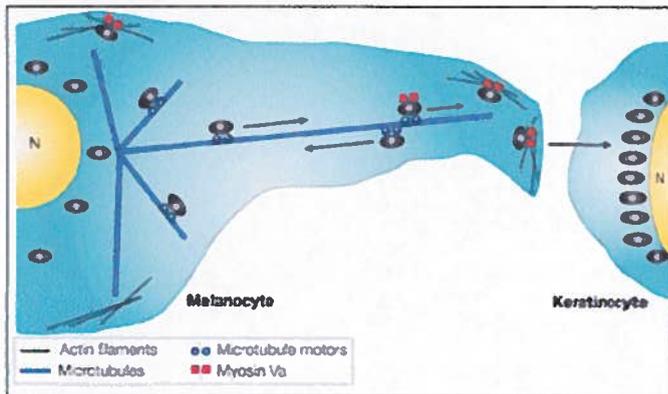


Figure 17 : Modélisation du transfert des mélanosomes des mélanocytes aux kératinocytes au sein de l'épiderme [4]

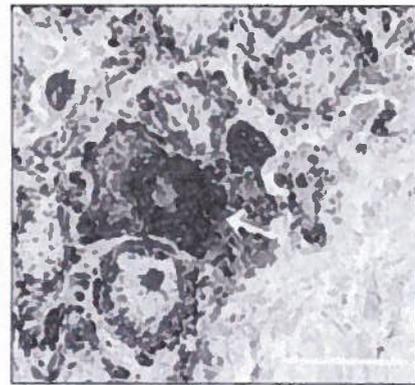


Figure 18 : Agrégat de mélanosomes autour du noyau d'un kératinocyte [20]

Au sein de la peau, la pigmentation mélanique est le système photoprotecteur le plus important. Mais malgré tous les processus d'absorption, environ 15% des UVB parviennent jusqu'à la couche basale de l'épiderme et environ 50% des UVA atteignent le derme superficiel (figure 19) [41, 44]. Ces chiffres sont variables selon le phototype concerné.

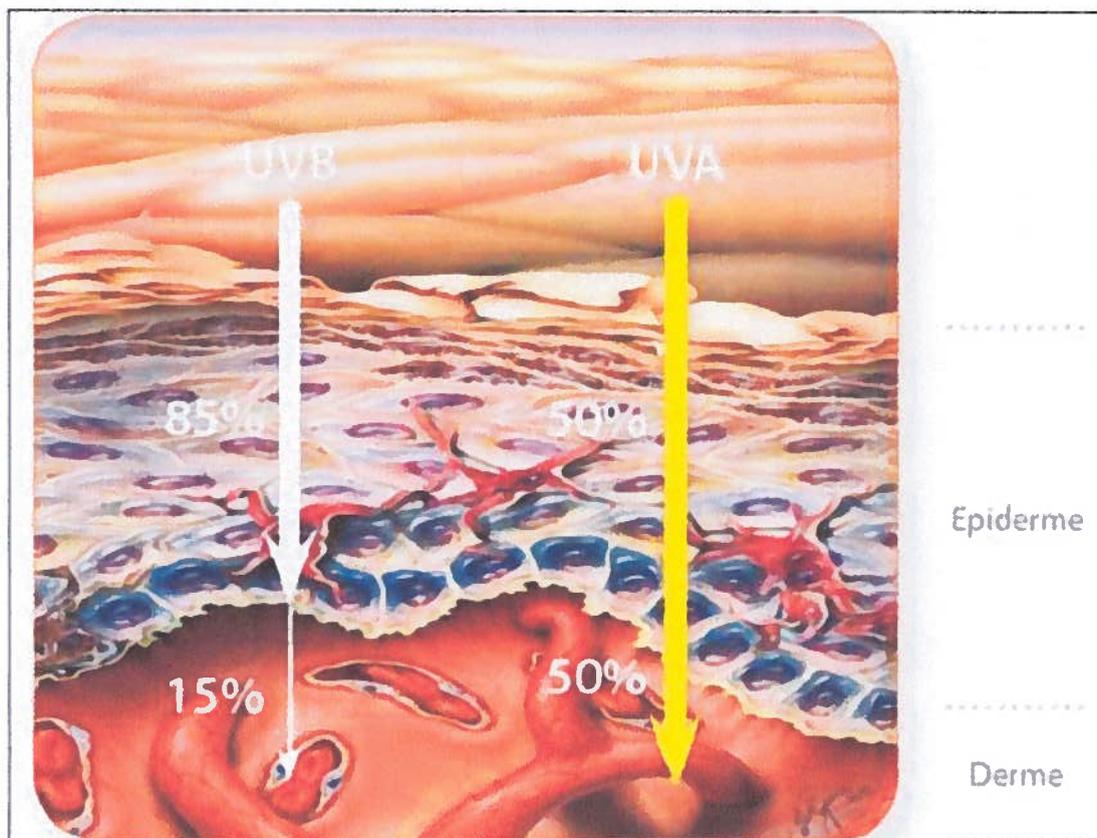


Figure 19 : Quantification de la pénétration des UV dans la peau [44]

1.1.3.1.3. Les différents phototypes

La différence existant entre les phototypes ne provient pas du nombre de mélanocytes, mais de leur activité pigmentogène, du transfert de la mélanine et de la présence des mélanosomes au sein de l'épiderme.

Le phototype est clairement lié à la propriété de la peau qui s'est adaptée, grâce à la pigmentation, aux rayons UV [45]. Une classification a été mise en place afin de prédire les réactions de la peau après irradiation UV [46]. La première proposée par Fitzpatrick en 1975 prenait en compte le caractère phénotypique de la peau, ainsi que sa susceptibilité à bronzer ou bien à brûler suite à une exposition UV [46, 47]. D'autres critères sont associés, comme par exemple la couleur des cheveux [30]. Le tableau 2 regroupe les différents éléments à prendre en compte pour la détermination du phototype d'un individu.

Phototype	Carnation	Peau	Ephélides	Cheveux	Coup de soleil	Bronzage
I	Blanche	Laitéuse	+++	Roux	Constant ++	Ne bronze pas
II		Claire	++	Blonds	Constant +	Hâle léger - Bronze légèrement
III		Claire Mate	+ 0	Blonds Châtains	Fréquent Fréquent	Clair Moyen - Bronze progressivement
IV		Mate	0	Bruns	Rare	Foncé - Bronze toujours bien
V	Mate (méditerranéens, asiatiques, arabes)	Brune	0	Bruns	Exceptionnel	Très foncé - Bronze intensément
VI	Noire	Noire	0	Noirs	Absent	Noir - Bronze très intensément

Tableau 2 : Adaptation de la classification de Fitzpatrick [30]

Les phototypes vont permettre de prédire les effets liés aux rayonnements UV sur la peau. Ils sont très utiles pour déterminer les risques de survenue des mélanomes [48].

1.1.3.2. LA BARRIERE CUTANEE

Même si la photoprotection mélanique est essentielle et permet d'absorber plus de 90% des UV ayant franchi la couche cornée et de lutter contre les radicaux libres photo-induits, la couche cornée constitue la première barrière. Elle s'oppose à la pénétration des radiations dans la peau.

Cet effet photoprotecteur se traduit par un double mécanisme [24]. Dans un premier temps, les photons des spectres visible et IR sont réfléchis par les filaments de kératine. Les UVB, quant à eux, sont absorbés par différents composés :

- certains lipides de surface, constituants du sébum ;
- l'acide urocanique présent dans la sueur ;

- et surtout par les acides aminés de la kératine (acide glutamique, acide aspartique, cystéine, phénylalanine, sérine, tryptophane, tyrosine) (figure 20).

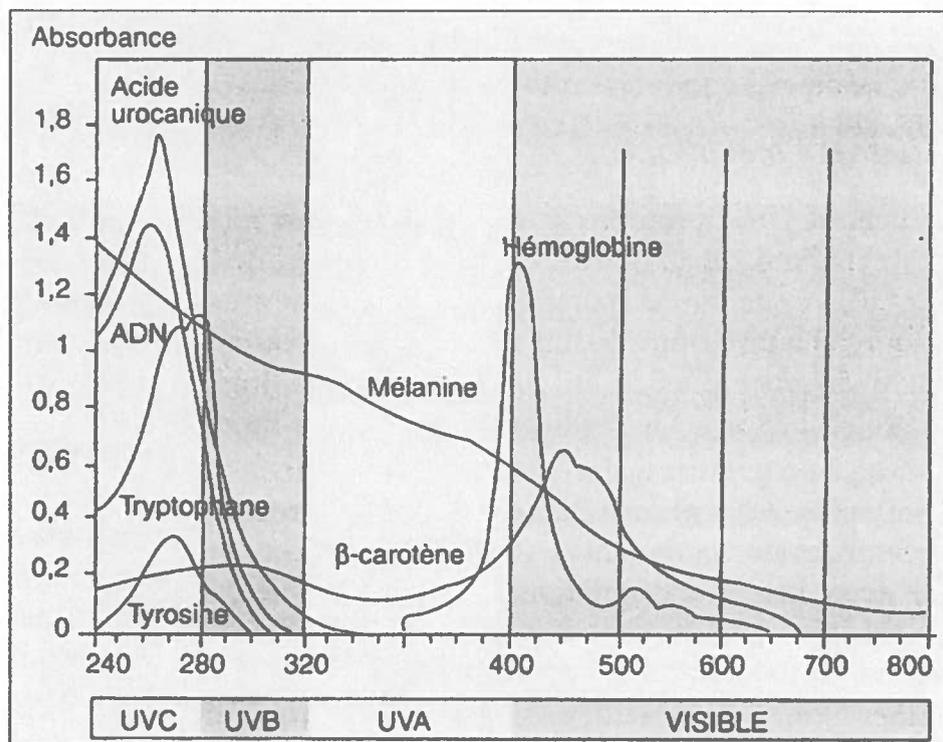


Figure 20 : Spectres d'absorption des chromophores cutanés

Grâce à ces composés, la couche cornée d'une peau blanche arrête 70 % des UVB. De plus, après des expositions solaires répétées, les kératinocytes se multiplient, entraînant un épaissement global de l'épiderme. Cette hyperkératinisation correspond à une réaction d'adaptation de la peau face au soleil. Elle peut multiplier la dose érythématogène minimale (DEM) de départ par un facteur compris entre 2 et 4, et augmentera ainsi l'efficacité photoprotectrice de notre peau.

1.1.4. Les effets biologiques du soleil sur la peau

1.1.4.1. INTRODUCTION

Différents types de manifestations cutanées apparaissent en cas d'exposition solaire. Elles sont classées en fonction du temps nécessaire à leur apparition [31]. On distinguera les effets immédiats et les effets retardés. Certains sont bénéfiques, d'autres néfastes pour la peau [49]. Les rayonnements UV auront des impacts différents selon leur longueur d'onde car ils interagissent à différents niveaux de la peau.

1.1.4.2. LES EFFETS IMMEDIATS

1.1.4.2.1. La pigmentation immédiate

Elle est encore appelée phénomène de Meirowski. Elle apparaît après une exposition aux UVA chez les sujets de phototypes III et IV [50]. L'intensité maximale est immédiate (elle apparaît en quelques minutes) et décroît très rapidement (en quelques heures). Il s'agit du résultat d'une photo-oxydation de la mélanine présente dans les mélanosomes préexistants. Mais en aucun cas, la tyrosinase n'est activée [14]. Cette pigmentation n'est donc pas protectrice.

1.1.4.2.2. Action calorigène

Elle est due à l'action des infra-rouges, qui provoquent une vasodilatation, avec sensation de chaleur, et par conséquent, une sudation [51]. Un érythème immédiat et non persistant apparaît [24].

1.1.4.2.3. Action antirachitique

Il a été démontré que l'irradiation de la peau par les UVB provoquait la synthèse de la vitamine D au sein de l'épiderme [52]. Celle-ci est nécessaire à la minéralisation du squelette [53], son rôle principal étant de faciliter la fixation du calcium et du phosphore au niveau osseux [54]. La prévitamine nécessaire à la production de vitamine D est la vitamine D3 qui ne se trouve pas dans les aliments [53]. Le seul moyen de l'obtenir est de la synthétiser [55].

1.1.4.3. LES EFFETS RETARDES

1.1.4.3.1. L'érythème actinique

Il est encore appelé « coup de soleil » (figure 21). C'est une brûlure induite par une exposition aux UVB, mais l'influence des UVA n'est pas à négliger [14].

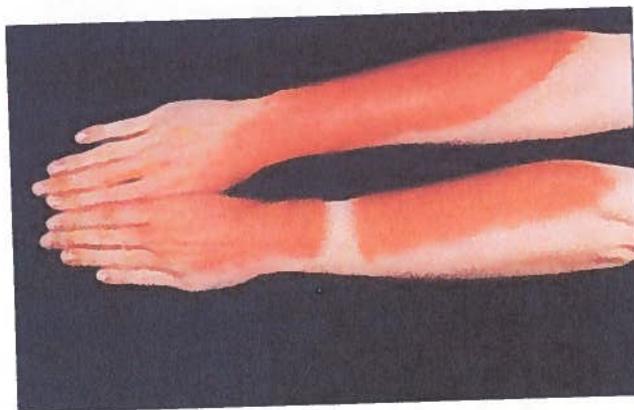


Figure 21 : Exemple d'érythème actinique [56]

Il est à différencier de la photosensibilisation et de la lucite (ou allergie solaire). Les signes cliniques seront, selon le degré de gravité, un érythème de couleur variable, un œdème, voire dans les cas extrêmes des phlyctènes [50]. Le coup de soleil est à l'origine de « *sunburn cells* », nom donné aux kératinocytes en apoptose [57].

Quatre stades peuvent être identifiés cliniquement [31] :

- le premier degré est un érythème rose pâle ;
- le second degré, l'érythème est rouge vif ;
- le troisième degré, l'érythème est douloureux, œdémateux ;
- le quatrième degré, il y a présence de phlyctènes et atteinte de l'état général avec vertiges, maux de tête et fièvre, ...

1.1.4.3.2. La pigmentation retardée

Le bronzage est une réaction de défense de la peau vis-à-vis des rayonnements UV. Il correspond à la production d'une quantité supplémentaire de mélanine, qui sera suivie par une migration de celle-ci vers la surface de la peau [31].

1.1.4.3.3. L'hyperkératose

La couche cornée s'épaissit suite à l'irradiation UVB. Cette hyperkératinisation, qui aboutit rapidement à un doublement de l'épaisseur de la couche cornée, permet d'arrêter environ 70% des rayonnements [31]. Il s'agit d'un moyen de photoprotection non négligeable.

1.1.4.4. LES EFFETS A LONG TERME

1.1.4.4.1. Le vieillissement actinique

Appelé également héliodermie, il s'agit de l'un des facteurs du vieillissement extrinsèque. Ce dernier recouvre le vieillissement provoqué par un certain nombre d'agents extérieurs (pollution, cigarette) [60, 61].

Le vieillissement actinique affecte la peau exposée chroniquement au soleil, aussi bien aux rayonnements UVB qu'UVA, et au rayonnement visible. Il se traduit par des modifications cliniques, histologiques et fonctionnelles de la peau [58]. La marque la plus évidente en est l'élastose solaire (figure 22).

Les signes cutanés visibles sont :

- une hyperpigmentation ;
- une apparence de « cuir tanné » ;
- une peau sèche ;
- des rides profondes (figures 22 et 23) [59].



Figure 22 : Elastose solaire et érythrose des faces latérales des joues [58]



Figure 23 : Rides et taches actiniques [58]

1.1.4.4.2. Les cancers cutanés

Deux types de cancers cutanés induits par le rayonnement UV ont été mis en évidence :

- les épithéliomas ou carcinomes cutanés ;
- les mélanomes.

Les premiers touchent les cellules épithéliales. Ils sont liés aux expositions solaires cumulées tout au long d'une vie [24]. Les deuxièmes sont provoqués par les expositions répétées, et souvent liés aux coups de soleil [62]. Ils touchent les cellules pigmentaires de la peau (figure 24). Ces derniers sont les plus meurtriers.

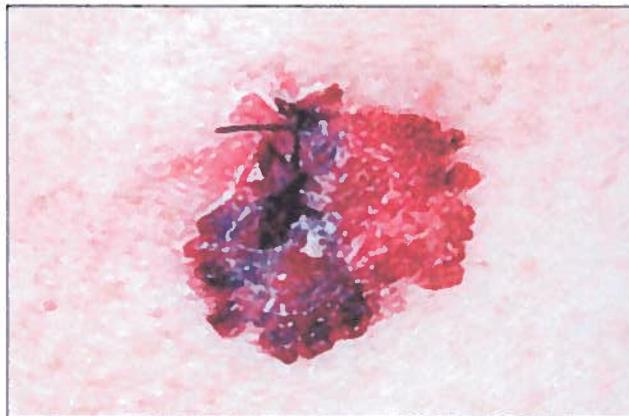


Figure 24 : Mélanome superficiel [62]

1.1.4.5. SYNTHESE

En faible quantité, les rayonnements UV peuvent être bénéfiques pour l'être humain. Ils agissent, par exemple, sur le moral, participent à la synthèse de la vitamine D

[4]. Ils sont utilisés dans le cadre de la photothérapie médicale, afin de traiter certaines maladies comme le psoriasis [63]. *A contrario*, de nombreux effets néfastes sont à déplorer. Les cancers cutanés en sont de bons exemples. Rappelons également que les cas d'insolation et de photo-allergies ne sont pas rares [64].

Le tableau 3 fait une balance entre les principaux effets du soleil sur la peau.

Effets favorables	Effets néfastes
Synthèse de la vitamine D Chaleur, énergie Photothérapie Action bactéricide Pigmentation	Erythème Cancers cutanés photo-induits Photo-toxicité Photo-immunosuppression Photo-vieillessement

Tableau 3 : Principaux effets du soleil sur la peau [14]

1.2. LA PHOTOPROTECTION

Après ces rappels de physiologie cutanée mettant en lumière le rôle primordial de la peau en termes de photoprotection naturelle, il est important de connaître les autres moyens qui renforcent cette protection contre les rayonnements solaires.

Dans cette étude, nous nous attarderons sur la protection topique. Cependant, il existe d'autres moyens de photoprotection. Le premier moyen, mais aussi le plus simple, est l'éviction solaire [65, 66]. Le deuxième est d'ordre environnemental et le troisième, vestimentaire.

1.2.1. La photoprotection environnementale

Il est reconnu que les UVB sont arrêtés en partie par la couche d'ozone. Ils ne représentent plus que 5% des radiations qui parviennent à la surface de la terre [67]. Quant aux UVA, une faible partie seulement sera stoppée [65, 68].

Les nuages, quant à eux, ont un rôle mineur, car ils ne sont susceptibles de n'arrêter que 15 à 30% des radiations UV [66].

1.2.2. La photoprotection vestimentaire

Le port de vêtements est le moyen le plus simple et le plus efficace pour protéger la peau des effets néfastes du soleil [65, 66, 69]. Il aide à réduire le risque de cancer cutané, de photosensibilisation, et il prévient le vieillissement actinique [69].

Il est possible de quantifier l'efficacité protectrice de chaque vêtement, *in vitro*. C'est en Australie qu'a été proposé, en premier, un facteur de protection, l'UPF (*Ultra violet Protection Factor*) [70]. Ce dernier rend compte de la capacité du vêtement à limiter la transmission des rayonnements UV [71].

En Europe, il est demandé aux sociétés produisant des vêtements revendiquant une protection solaire de suivre la norme EN-13758-2 [72].

Le niveau de photoprotection assuré par le vêtement est influencé par la nature des fibres, la qualité, la couleur et l'épaisseur du tissu [2, 69, 73].

Les textiles sont l'un des moyens les plus fiables pour se protéger du soleil [4].

Il est intéressant de noter que le port de lunettes de protection solaire et d'un chapeau est recommandé, afin d'optimiser la protection surtout chez l'enfant, comme le montre la figure 25 [66].



Figure 25 : Lunettes et chapeau, des moyens efficaces de photoprotection externe [74]

1.2.3. La photoprotection topique

1.2.3.1. QU'EST-CE QUE LA PHOTOPROTECTION TOPIQUE ?

Partant du constat que tout le monde souhaite profiter du soleil sans risques, les sociétés cosmétiques ont conçu des produits contenant des matières premières filtrantes.

Il est recommandé de les utiliser, sans négliger vêtements protecteurs et lunettes [75]. Il conviendra, bien évidemment d'éviter le soleil entre 11h et 15h [76]. Notons que seulement 1 à 9% de la population adulte respectent ces recommandations [77].

Il a été démontré que l'utilisation des produits solaires joue un rôle de prévention contre les coups de soleil. Ils retardent leur apparition [65, 78, 79], évitent l'altération de l'ADN cutané [80] et retardent le vieillissement cutané photo-induit. Ils permettent de réduire l'apparition des cancers cutanés, mais n'ont pas d'intérêt curatif [65, 80].

Les matières premières qui nous intéressent dans les produits de photo-protection topique sont les filtres solaires.

1.2.3.2. LES FILTRES ULTRAVIOLETS

1.2.3.2.1. Aspects réglementaires

La réglementation est différente selon les pays. Une notion commune est celle de listes positives d'ingrédients actifs pouvant être utilisés. Parmi ces listes, l'une d'elles concerne les filtres solaires (annexe VII de la Directive 76/768/CEE modifiée). Elle indique pour chaque filtre la concentration maximale autorisée.

Nous nous intéresserons principalement à la situation en Europe. L'Union Européenne considère les produits solaires comme des produits cosmétiques. Leur fonction est de protéger des coups de soleil [65]. Aux Etats-Unis, en revanche, il s'agit de médicaments.

Actuellement, seuls 26 filtres (tableau 4) peuvent être contenus et revendus dans les produits de protection solaire, au regard de la réglementation en vigueur.

EEC n° de ref.	Nom INCI	Concentration maximale autorisée % (m/m)
2	Camphor benzalkonium methosulfate	6
3	Homosalate	10
4	Benzophenone-3	10
6	Phenylbenzimidazole sulfonic acid	8 (forme acide)
7	Terephthalidene dicamphor sulfonic acid	10 (forme acide)
8	Butylmethoxydibenzoylmethane	5
9	Benzylidene camphor sulfonic acid	6 (forme acide)
10	Octocrylene	10
11	Polyacrylamido methylbenzylidene camphor	6
12	Ethylhexylmethoxycinnamate	10
13	PEG-25 PABA	10
14	Isoamyl p-methoxycinnamate	10
15	Ethylhexyltriazone	5
16	Dorometrizole trisiloxane	15
17	Diethylhexylbutamidotrazone	10
18	4-Methylbenzylidene camphor	4
19	3-Benzylidene camphor	2
20	Ethylhexyl salicylate	5
21	Ethylhexyl dimethyl PABA	8
22	Benzophenone-4 (forme acide) Benzophenone-5 (forme salifiée)	5 (forme acide)
23	Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol	10
24	Disodium phenyl dibenzylimidazole tetrasulfonate	10
25	Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	10
26	Polysilicone-15	10
27	Titanium dioxide	25
28	Diethylaminohydroxybenzoylhexylbenzoate	10

Tableau 4 : Liste des filtres UV de la liste positive européenne [65,82]

1.2.3.2.2. La classification des filtres UV

Il existe différents moyens de classer les filtres solaires. La première classification est d'ordre chimique (tableau 5). On distinguera alors les filtres organiques des filtres inorganiques [4].

Famille chimique	Nom INCI
Filtres organiques	
Anthranilates	Menthyl anthranilate
Diphénylcétones	Benzophenone-1,-2,-3, -4, -5, -6, -7, -8, -9 Diethylaminohydroxybenzoylhexylbenzoate
Benzotriazole	Drometrizole, Drometrizole trisiloxane, Methylene bis-benzotrazolyl tetramethylbutylphenol
Dérivés du camphre	3-Benzylidene camphor, Benzylidene camphor sulfonic acid, Camphor benzalkonium methosulfate, 4-Methylbenzylidene camphor, Polyacrylamido methylbenzylidene camphor, Terephthalidene dicamphor sulfonic acid
Cinnamates	Cinoxate, DEA methoxycinnamate, Diisopropylmethoxycinnamate, Ethylhexyl methoxycinnamate, Ferulic acid, Glyceryl ethylhexanoate dimethoxycinnamate, Isoamyl p-methoxycinnamate, Isopentyl trimethoxycinnamate trisiloxane, Isopropyl methoxycinnamate, Octocrylene
Dérivés du dibenzoylméthane	Butylmethoxydibenzoylmethane
Imidazolés	Disodium phenyldibenzylimidazole tetrasulfonate, Ethylhexyl dimethoxy benzylidene dioxoimidazoline propionate, Phenylbenzimidazole sulfonic acid
Malonates	Polysilicone-15
Dérivés du PABA	Ethylidihydroxypropyl PABA, Ethylhexyldimethyl PABA, Glyceryl PABA, PEG-25 PABA, Pentyl dimethyl PABA
Phényl triazines	Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyltriazine
Salicylates	Ethylhexylsalicylate, Homosalate, Isopropylbenzyl salicylate, Salicylic acid, TEA salicylate
Triazones	Diethylhexylbutamidotriazone, Ethylhexyltriazone
Filtres inorganiques	
Oxydes	Titanium dioxide, Zinc oxide

Tableau 5 : Classification des filtres UV par familles chimiques [82]

La deuxième méthode est basée sur la largeur de leur spectre : certains filtres ont un spectre large qui couvre l'ensemble des domaines UVB et UVA ; d'autres, un spectre étroit, centré sur une portion du domaine UV.

1.2.3.2.3. Les propriétés attendues d'un filtre « idéal » et d'un produit solaire « idéal »

Pour obtenir des produits solaires conformes aux attentes des consommateurs et performants, les fournisseurs de matières premières doivent développer ou trouver les « meilleurs filtres solaires », ce qui est un challenge [83]. La question est de savoir quelles sont les principales caractéristiques que devrait avoir le filtre UV « idéal » [82] :

1. il devra couvrir un large spectre. Une association de plusieurs filtres UV sera possible pour garantir ce large spectre ;

2. son poids moléculaire sera élevé (plus de 500 Daltons), afin d'éviter toute pénétration transdermique ;
3. il devra avoir une excellente solubilité dans l'excipient pour ne pas recristalliser sur la peau, et rester chimiquement stable dans la formule ;
4. il devra être photo-stable et inerte photo-chimiquement ;
5. pour garantir l'efficacité des produits solaires aux consommateurs et enrayer les problèmes écologiques, il sera préférable d'utiliser des filtres peu hydrophiles. Créer des formules résistantes à l'eau sera un bon moyen de lutter contre ces problèmes ;
6. il ne devra être ni toxique, ni comédogène, ni sensibilisant, ni photo-toxique ;
7. il devra avoir une bonne compatibilité avec le reste de la formule et être facile à utiliser ;
8. afin de simplifier la tâche des services règlementaires, il est bon d'utiliser des molécules autorisées dans le plus grand nombre de pays possible.

1.2.3.2.3.1. La photo-stabilité

1.2.3.2.3.1.1. Généralités concernant la photo-stabilité

Une des caractéristiques les plus importantes pour un filtre UV est d'être photo-stable. Cela signifie qu'il ne doit pas se dégrader sous l'effet des radiations solaires. Si cela est le cas, alors le filtre ne possède plus, en totalité, la capacité d'absorber les radiations UV [84, 85]. Des espèces chimique potentiellement toxiques et oxydantes, telles que les radicaux libres, les composés dérivés du filtre solaire, pourront être générés [86, 87]. Des effets génotoxiques peuvent avoir lieu : l'ADN cellulaire est, dans ce cas, endommagé [88]. Les radiations solaires, principalement les UVA [89], sont parfois juste suffisantes pour engendrer ce phénomène.

Dans d'autres cas, la présence d'autres molécules, comme par exemple certains filtres solaires, au sein de la formule peut améliorer la photo-stabilité de l'ensemble.

Certaines photo-réactions sont réversibles, d'autres non [82, 90, 91].

1.2.3.2.3.1.1.1. PRODUITS DE PHOTO-REACTIONS PHOTO-STABLES

La fluorescence, la phosphorescence, les réactions d'isomérisation réversibles et le transfert d'énergie à une autre molécule sont considérés comme modifiant le filtre UV qui les subit, mais n'altérant pour autant son efficacité.

Les filtres UV qui subissent ce type de réactions sont considérés comme photo-stables [82].

1.2.3.2.3.1.1.1.1. Cas des isomérisations réversibles

Un exemple connu de photo-isomérisation cis/trans est celle de l'octylméthoxycinnamate (OMC). Cette réaction n'est pas considérée comme une photo-instabilité (figure 26) [87]. En effet, l'OMC peut revenir à sa forme initiale après irradiation, et donc garder ses capacités de protection.

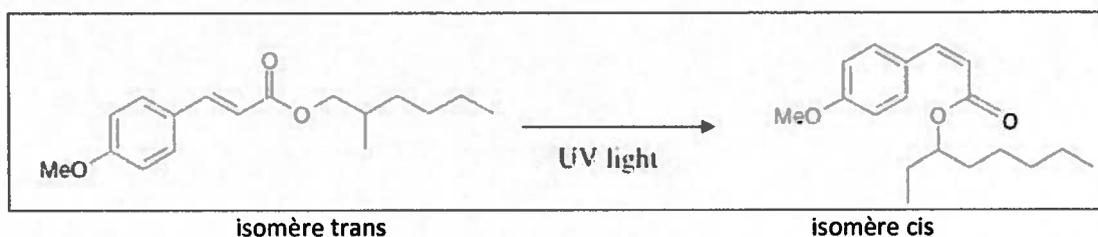


Figure 26 : Cis-isomérisation de l'OMC [92]

D'autres filtres, comme l'octocrylène, le 4-méthylbenzylidène camphre et l'acide téréphtalydène dibornanone sulfonique subissent également des isomérisations réversibles [82].

1.2.3.2.3.1.1.2. Cas de transfert intramoléculaire de photon

Les filtres UV, tels que les benzophénones, les salicylates, le bisoctrizole (Tinosorb M®) et le bémotrizinol (Tinosorb S®) ont la capacité de transférer rapidement et efficacement de l'énergie pour revenir de leur état excité, à leur état initial [82].

1.2.3.2.3.1.1.2. REACTIONS PHOTO-INSTABLES

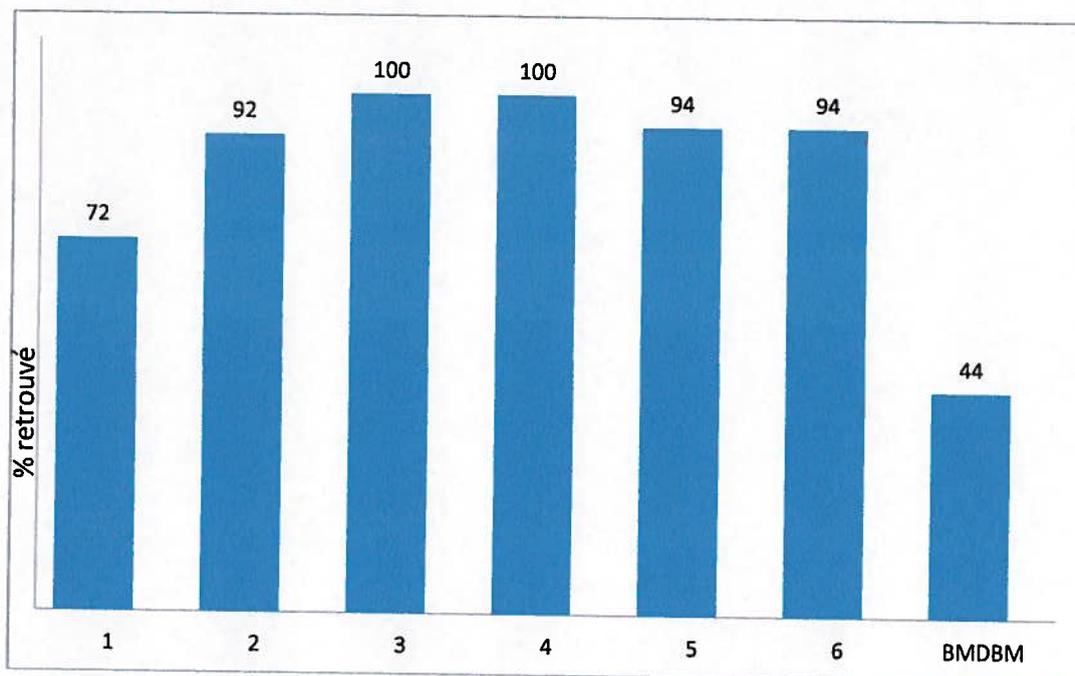
Seules les photo-réactions engendrant une modification chimique de la molécule filtrante de départ seront responsables de photo-instabilités [82, 90]. Les réactions d'isomérisation irréversible, la fragmentation et les réactions biomoléculaires en font partie [82].

1.2.3.2.3.1.1.2.1. Isomérisations irréversibles

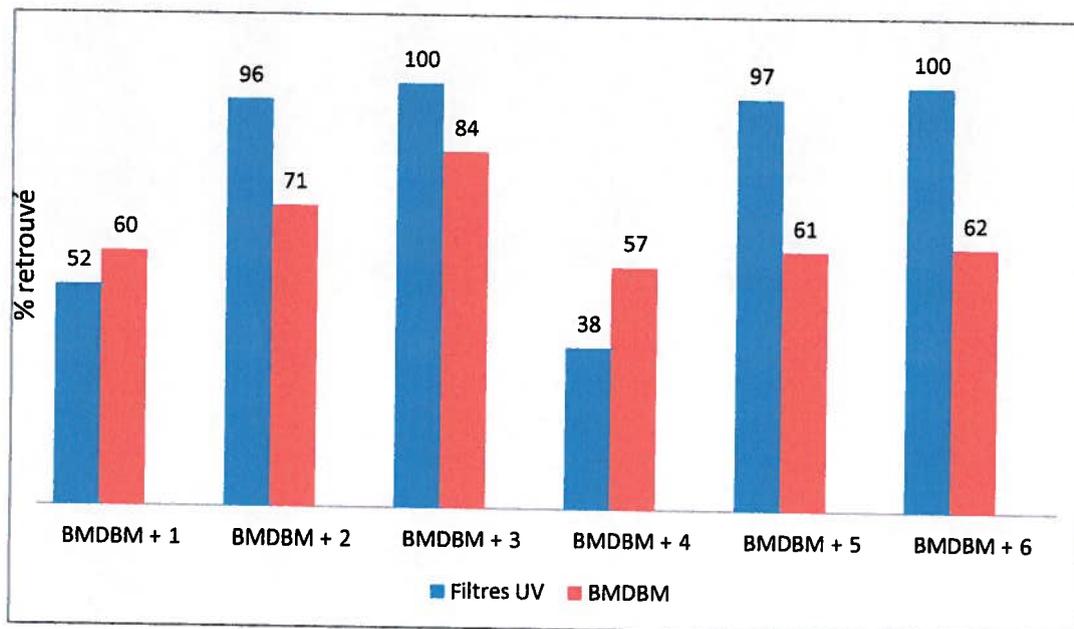
On citera, pour exemple, le cas de l'avobenzène, l'un des filtres UVA les plus utilisés dans les produits solaires. Elle est partiellement décomposée, après irradiation [93]. Cela conduit à une diminution de son efficacité [94]. Elle subit une isomérisation céto-énolique, qui aboutit à un photo-produit dont la longueur d'onde maximale d'absorption sera différente de celle du filtre initial.

La photo-stabilité de l'avobenzène a été très étudiée. Il a été démontré que cette molécule était capable de revenir à son état initial suite à une irradiation UV, puisqu'elle n'est pas chimiquement détruite [82]. Toutefois, elle est réputée très photo-instable.

L'association à d'autres filtres UV peut moduler sa photo-stabilité. La figure 27 illustre ce qui se produit à l'échelon moléculaire, selon que l'avobenzène est irradiée seule ou en association avec d'autres filtres. Il est clairement établi que l'association à l'octocrylène ou au 4-méthylbenzylidène-camphre, par exemple, est photo-stabilisante.



(a)



(b)

avec :

- 1: Octyl méthoxycinnamate
- 2: bis-Ethylhexyloxyphénol methoxyphenyl triazine
- 3: Octocrylène

- 4: Diéthylamino hydroxy benzoyl hexyl benzoate
- 5: Octyl triazone
- 6: Dioctyl butamido triazone

Figure 27 : Photo-stabilité de différents filtres seuls ou en association, en solution dans le Miglyol® [95]

Une autre méthode pour stabiliser l'avobenzone ou toute autre molécule photolabile consiste à les incorporer à un excipient polaire, comme le démontre le tableau 6.

Filtre UV	Ethanol/Eau	Myristate d'isopropyle	Paraffine liquide
Benzophénone-3	0,0	1,8	0,0
Benzophénone-8	1,9	0,3	0,0
BMDBM	4,8	2,9	20,6
Homosalate	1,6	4,7	4,0
4-Isopropyl dibenzoylméthane	2,7	3,0	36,8
Menthyl anthranilate	15,1	17,1	14,8
Octocrylène	0,0	1,1	2,8
Octyl diméthyl PABA	3,9	52,8	31,2
Octyl <i>p</i> -méthoxycinnamate	39,1	18,7	18,7
Octyl salicylate	1,5	9,8	0,0

Tableau 6 : Pourcentage de dégradation de certains filtres UV dans différents solvants (à 200 ppm, après 5 MED) [82]

Les dérivés de PABA, les cinnamates et d'autres dérivés de dibenzoylméthane sont également l'objet de telles réactions [82].

1.2.3.2.3.1.1.2.2. Réactions biomoléculaires

Ces processus chimiques peuvent être de l'ordre de l'homo-photo-cyclo-addition, de l'hétéro-photo-cyclo-addition ou du clivage. L'association de cinnamates à des dérivés du dibenzoylméthane peut générer ce type de réactions [82].

1.2.3.2.3.1.2. Conclusion

Il est clairement démontré que certains filtres sont photo-instables. Cette dégradation est susceptible d'être augmentée par association d'autres molécules filtrantes. C'est le cas typique de l'association OMC - BMDMB [94, 96].

De nombreuses études ont été réalisées pour garantir un maximum de photostabilité, même si elle l'on sait que celle-ci ne sera jamais totale. Le formulateur doit relever le challenge. Afin de palier à une perte d'efficacité, des associations judicieuses de filtres sont recherchées. Les associations entre les molécules filtrantes doivent être réalisées avec la plus grande attention. Il est reconnu, par exemple, que l'association de l'octocrylène avec le BMDMB prévient une dégradation trop importante de ce dernier et ce même, en présence d'OMC [94, 95]. La bis-éthylhexyloxyphénol méthoxyphényl triazine aura le même type d'effet [93, 95].

Il existe sur le marché des molécules, qui ne sont pas des filtres, mais que l'on peut utiliser comme photo-stabilisateurs [97].

Le solvant exerce un rôle prépondérant, permettant dans certains cas d'obtenir des augmentations significatives de photo-stabilité [98].

Des recherches ont été engagées afin de trouver des molécules naturelles qui augmenteraient la photostabilité de l'avobenzone, par exemple [96]. Certaines équipes de recherche s'intéressent à l'encapsulation des filtres UV photo-labiles [85, 94], ou à leur association avec des molécules de transport [94, 99].

Les benzophénones, l'octocrylène, les salicylates ainsi que les filtres inorganiques sont, quant à eux, considérés comme des ingrédients photo-stables [82].

Il est nécessaire que les filtres UV entrant dans la composition d'un produit solaire présentent une bonne photo-stabilité, afin que le produit de protection solaire conserve son efficacité pendant plusieurs heures [90].

1.2.3.2.3.2. La substantivité

Une autre caractéristique recherchée dans le cadre de la formulation des produits solaires est la substantivité. La substantivité est liée à l'affinité des filtres pour la kératine de la couche cornée. Un filtre substantif permet le maintien de l'efficacité quelles que soient les conditions d'utilisation du produit solaire [100].

Cette propriété est souvent associée à la résistance à l'eau du produit [101]. Le but est de permettre que la crème adhère à la surface cornée de la peau le plus longtemps possible afin d'assurer la protection réclamée par le consommateur.

L'idéal serait de formuler des produits avec une forte teneur en phase lipophile. Malheureusement, ce type de produit n'est pas forcément le premier choix du consommateur. Une autre alternative est d'utiliser des filtres inorganiques dont la substantivité est bien supérieure à celle des filtres organiques [102]. Là encore, pour des raisons d'application et d'esthétisme, les consommateurs les utilisent peu.

Afin d'améliorer les qualités des produits solaires, les fournisseurs de matières premières ont développé depuis quelques années des molécules qui augmentent la résistance à l'eau, et investissent dans la recherche de filtres inorganiques enrobés.

La substantivité, depuis peu, s'associe aussi à la résistance à la friction (serviette de plage, sable) [103, 104]. Certains polymères mis sur le marché possèdent ces deux propriétés [102, 104].

1.2.3.2.3.3. La rémanence

Le produit solaire sera rémanent s'il conserve ses propriétés protectrices intactes pendant plusieurs heures. La rémanence fait référence à la résistance à l'eau et à la sueur [105], mais aussi dans une certaine mesure à la photo-stabilité.

1.2.3.2.3.4. La largeur du spectre UV couvert

Depuis plusieurs années, les fournisseurs de matières premières se focalisent sur le développement de filtres UVA, étant donné l'implication de ce type de radiations dans la survenue des cancers cutanés [85, 106]. Les premiers filtres à avoir vu le jour dans les années 30 étaient des filtres à spectre étroit, des filtres exclusivement UVB [82]. Le consommateur, aujourd'hui, doit protéger sa peau non seulement des radiations UVB, mais aussi des UVA [75, 107].

L'idéal serait que les filtres UV puissent protéger contre les UVB et les UVA, courts et longs [65]. Il en existe quelques-uns sur le marché. Par ailleurs, le formulateur aura recours à des associations filtrantes, afin de couvrir le plus large spectre possible [99].

1.2.3.2.3.5. L'absence d'effets pour l'être humain et son environnement

Comme nous l'avons dit précédemment, le statut du produit solaire dépend du pays dans lequel il est vendu. En Europe, il est considéré comme un produit cosmétique. De ce fait, il ne doit pas nuire à la santé humaine, dans les conditions normales d'utilisation [81].

1.2.3.2.3.5.1. Effets toxiques sur l'être humain

Un produit solaire, comme tout produit cosmétique, doit présenter une parfaite innocuité pour la santé humaine. Cela signifie que tous les ingrédients qui le composent doivent avoir subi avec succès les batteries de tests toxicologiques [108].

Les molécules filtrantes sont des molécules particulièrement sensibles. Comme nous l'avons déjà indiqué, elles peuvent subir des modifications irréversibles lors d'une irradiation UV, conduisant à l'apparition de nouvelles molécules qui peuvent être néfastes pour la peau.

Elles peuvent être photo-sensibilisantes par elles-mêmes ou bien par le biais de leurs photo-produits.

Un point important à déterminer est la granulométrie des actifs utilisés. Il est important de vérifier que la taille des particules n'est pas trop petite afin qu'elles ne passent pas la barrière cornée. Il est aussi important de vérifier que l'excipient ne constitue pas un bon vecteur de pénétration transdermique.

Il a été démontré que l'oxyde de zinc, sous l'influence des UVB, se décomposait en libérant des ions Zn^{2+} . Ces ions libres sont susceptibles de s'accumuler dans les kératinocytes, et ainsi d'engendrer un effet cytotoxique et un stress oxydant [109].

Certains filtres, tels que les esters de PABA, les cinnamates et l'oxybenzone, pénètrent partiellement dans la peau [110, 111].

A la fin des années 80, une spécialité d'octyldiméthyl PABA (le Padimate O®) a été soupçonnée d'être cancérigène du fait de la présence d'une nitrosamine qui contaminait le

produit. Des études ont démontré, par la suite, que les quantités de polluant dans le produit fini étaient trop faibles pour avoir un impact réel sur la santé [110, 112].

Dans les années 2000, des recherches auraient démontré que la benzophénone-3, l'octyl méthoxycinnamate et le 4-méthylbenzylidène camphre auraient des effets œstrogéniques objectivés sur des cellules issues de biopsies de tumeur mammaire. Par la suite, on a montré qu'il faudrait appliquer, généreusement sur tout le corps, un produit solaire, contenant ces trois filtres en quantités deux fois supérieures à celles autorisées par la réglementation, pour pouvoir les détecter dans les urines [75, 112].

Le spectre de la puberté précoce, celui de la stérilité masculine, du cancer et d'une imprégnation hormonale excessive en période post-ménopausique sont agités très régulièrement. Rien n'est encore clairement démontré, même si certains auteurs se plaisent à être anormalement alarmistes [112, 113, 114].

1.2.3.2.3.5.2. Impact sur l'environnement

Les scientifiques s'intéressent de plus en plus à l'impact des filtres UV sur notre environnement.

Il a été démontré que ceux-ci y sont disséminés de différentes manières (figure 28), principalement en milieu aquatique. Parce que la plupart sont extrêmement lipophiles, ils s'accumulent dans la nature, ainsi que dans/sur les organismes vivants, comme, les poissons [108], le corail [115], par exemple.

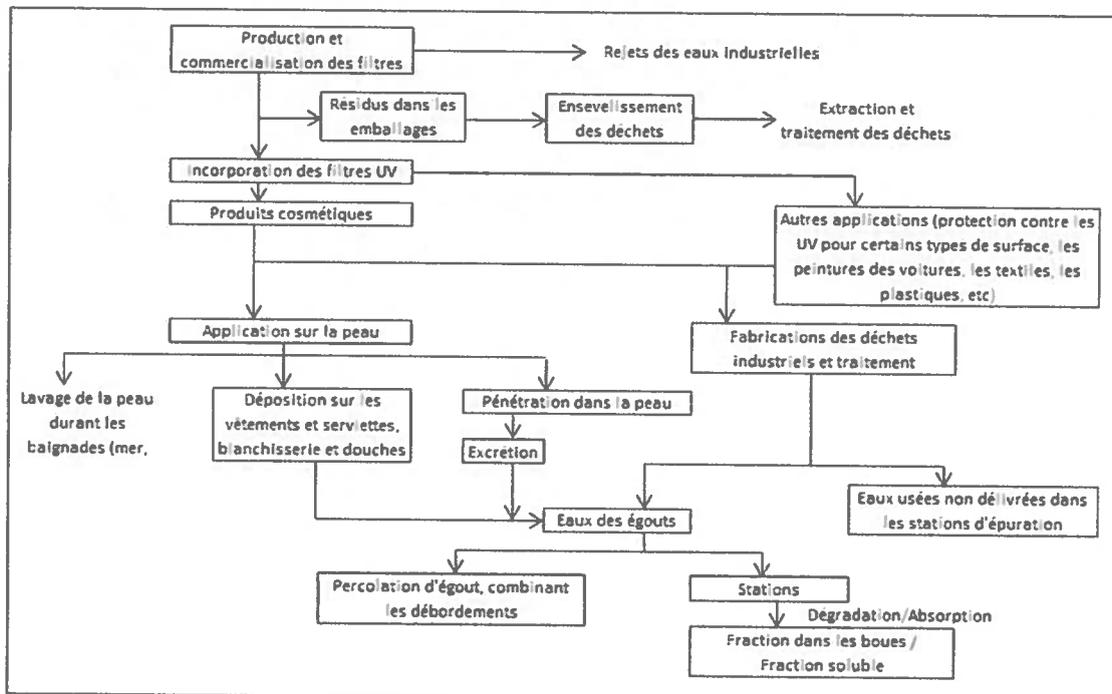


Figure 28 : Voies de dissémination des filtres UV dans l'environnement [108]

Leur passage dans les eaux usées se fait *via* les douches et les bains pris par les personnes s'étant appliquées préalablement du produit solaire. Par ailleurs, l'usage de produits non rincés à l'eau permet une solubilisation de certains filtres dans l'eau de baignade (rivières, lacs, mers) [116, 117]. On constate d'ailleurs que la concentration en filtres, dans ces milieux est plus importante durant les périodes estivales [117, 118].

1.2.3.2.3.5.2.1. CAS PARTICULIER DE L'IMPACT SUR LES POISSONS

Waring et *al.* ont mis en évidence le fait que, durant la période estivale, les poissons des lacs et rivières allemands étaient contaminés par des dérivés de camphre, provenant des produits solaires appliqués par les touristes [118]. Ont été réalisés des dosages de dérivés camphrés présents dans la graisse des poissons de certains lacs. La concentration moyenne était proche de 7 µg/kg. Cette concentration serait susceptible d'avoir un impact sur le développement et la reproduction des poissons [119, 120, 121, 122].

Pour quelques filtres comme l'oxybenzone, on constate chez certaines espèces aquatiques un changement de sexe [121]. Elle pourrait également avoir un impact sur le nombre d'œufs éclos en cas de parents contaminés par cette molécule [122]. Ceci serait dû à un effet oestrogéno-mimétique [116].

Il conviendra toutefois d'être prudent dans les conclusions tirées, puisque les conditions expérimentales mises en œuvre sont loin de la réalité.

Des filtres comme l'octocrylène, le 4-méthylbenzylidène camphre, la benzophénone-3 et l'octylméthoxycinnamate peuvent être retrouvés dans les tissus adipeux de certaines espèces de poissons [116].

Une étude datant de 2005 rappelle que, dans ce type de travail, il est important non seulement de réaliser les tests *in vitro* mais aussi *in vivo* de manière à obtenir les résultats les fiables possibles [123] et à ne pas affoler les populations inutilement.

1.2.3.2.3.5.2.2. CAS PARTICULIER DE L'IMPACT SUR LE CORAIL

Le blanchiment du corail a des impacts négatifs sur la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes au niveau des récifs. Ce phénomène est associé à différents paramètres comme les variations de température, une augmentation du niveau d'irradiation solaire, l'augmentation de la pollution et les proliférations microbiennes.

Le résultat du blanchiment est la mort du corail, s'il n'est pas pris à temps. La figure 29 explique le processus de blanchiment provoqué par l'augmentation de la température de l'eau. Le corail voit l'algue *Zooxanthellae* qui le colonise disparaître, quand la température augmente ; son squelette blanc devient alors visible. Si les conditions reviennent à la normale suffisamment rapidement, le corail peut être sauvé. Sinon il meurt (figure 30).

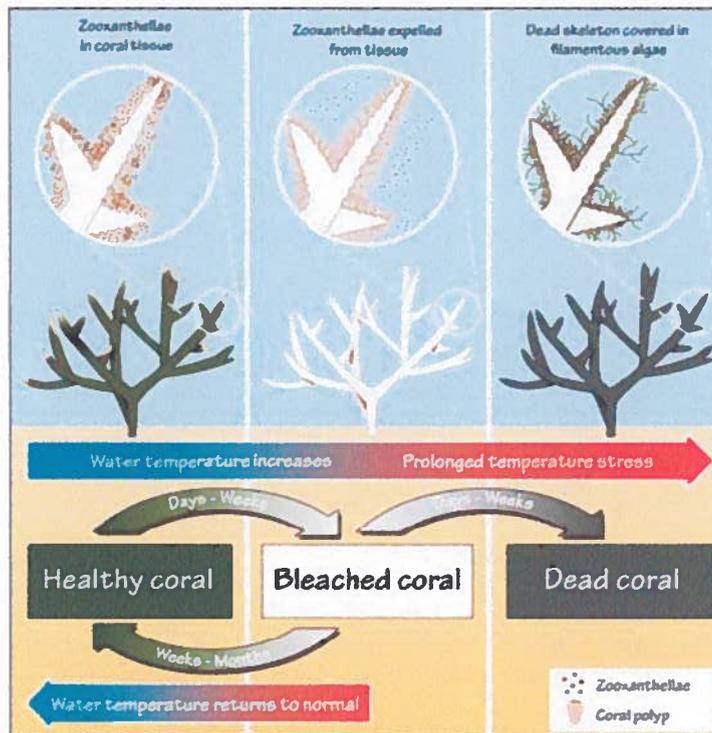


Figure 29 : Etapes du processus de blanchiment du corail [124]



Figure 30 : Coexistence de coraux vivant et mort [124]

Il a été démontré récemment que les produits solaires avaient un impact sur les organismes aquatiques comme d'autres contaminants connus [125]. Selon des estimations, 10% du récif corallien mondial est menacé par les produits solaires [126, 127]. Pointer du doigt seulement les produits solaires comme responsables de cette situation, semble bien excessif puisque le mécanisme du blanchiment paraît multifactoriel.

D'autres études ont été effectuées sur des invertébrés, comme certaines espèces d'escargots et de lombrics, pour analyser le potentiel toxique et œstrogénique de filtres solaires tels que le 4-MBC et le 3-BC [128].

Afin d'éviter la bioaccumulation de filtres UV dans l'environnement et spécialement dans le milieu aquatique, il est nécessaire que les sociétés développent les futurs produits solaires en augmentant leur caractère de résistance à l'eau.

Il est bien évident que l'objectif pour le futur est la synthèse de filtres dépourvus de toxicité, aussi bien pour l'homme que pour son environnement.

1.2.3.2.3.5.2.3. SYNTHÈSE

Il est important de continuer les recherches afin de mieux comprendre l'impact des filtres UV organiques et inorganiques sur notre environnement.

Pour certains auteurs, il apparaît clairement que les filtres solaires ont un impact sur les espèces aquatiques ; toutefois ceci n'est observable que pour des concentrations très supérieures à celles retrouvées réellement dans les milieux aquatiques. Il conviendra de poursuivre les recherches pour connaître exactement quel serait l'effet à long terme et voir si en diminuant les doses, les effets toxiques sur l'environnement peuvent être réduits [122].

De nombreuses études ont été réalisées sur les filtres organiques. Mais les filtres inorganiques ont eux aussi un impact sur l'environnement. Certaines sociétés préconisent l'utilisation d'oxyde de zinc pour formuler les produits solaires, arguant d'un spectre plus large que celui du dioxyde de titane. Ceci n'est pas sans risques comme en témoignent de récentes études. Comme vu précédemment des ions Zn^{2+} peuvent être générés à partir de ZnO par action catalytique ; en solution, ces ions peuvent présenter une certaine toxicité pour certains organismes [109]. La forme nanoparticulaire serait la plus incriminée, en ce qui concerne une action néfaste sur les diatomées et certaines algues marines. Cependant, cette forme de présentation du ZnO serait moins toxique pour certains crustacés et poissons que ses formes micrométriques. Notons que la toxicité engendrée l'est toujours par le biais d'un stress oxydant [129].

1.2.3.2.3.5.3. Conclusion

Suite à ces différentes études, certains auteurs ont dressé une liste non exhaustive des matières premières considérées comme toxiques et donc à éviter, afin d'aider le consommateur dans son choix. Dans cette liste, on dénombre certains filtres solaires (tableau 7).

Toxic ingredients to avoid	
4-MBC (4-methylbenzylidene camphor)	5-methoxypsoralen (5-MOP)
Avobenzone, Parsol 1789 (butyl methoxy dibenzoylmethane)	Benzophenones
Cinoxate (2-ethoxy ethyl p-methoxycinnamate)	Dibenzoylmethanes
Escalol 506 (amyl dimethyl para aminobenzoate)	Escalol 507 (octyl dimethyl para-aminobenzoate)
Ethoxy ethyl-p-methoxy cinnamate)	Eusolex 8020 (isopropyl dibenzoyl methane)
Homosalate	Hydroxy methoxy methylbenzophenone (mexenone)
Menadione	Methyl sinapate (methyl 3,5-dimethoxy 4-hydroxycinnamate)
Octocrylene	Octyl salicylate
Octyl methoxycinnamate (OMC)	Oxybenzone (benzophenone-3)
PABA (para-aminobenzoic acid)	Padimate A (amyl para-dimethylaminobenzoate)
Padimate O	PBSA (2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid)
Psolaren	Titanium dioxide

Tableau 7 : Liste des ingrédients toxiques à éviter, selon Dingle [127]

Cette liste, parue en 2009 dans un journal australien, est peu crédible. Elle fait l'amalgame entre des ingrédients indésirables car phototoxiques (psoralènes) ou bien allergisants (ménadione, molécule de synthèse à activité vitaminique K) et des filtres solaires qui, pour la plupart, sont bien tolérés et approuvés par les différentes autorités de santé. Notons que, dans cette liste, figure le PABA, interdit en Europe depuis 2008.

1.2.3.2.3.6. L'aspect esthétique

Les consommateurs recherchent non seulement la protection de leur peau vis-à-vis du rayonnement solaire, mais ils achètent également un produit pour ses qualités organoleptiques. Le côté agréable d'emploi du produit passe malheureusement souvent en premier, devant la propriété principale, qu'est le niveau de photo-protection procuré.

Les formulateurs doivent relever ce nouveau challenge : créer un produit solaire agréable au toucher, à l'application [130] et qui sente bon [79], qui devra s'étaler facilement, ne pas laisser de résidus gras ou brillants [74].

Un dernier critère à prendre en compte est un « fini » le plus transparent possible, sans traces blanches. Cela est difficile à obtenir, car beaucoup de filtres organiques sont colorés (en jaune principalement) et les filtres inorganiques sont blancs. Les fabricants travaillent sur ce sujet et recherchent, en particulier par la voie de l'enrobage de la matière active, à limiter ces désagréments.

1.2.3.2.4. Les filtres UV inorganiques

1.2.3.2.4.1. Définition

La dénomination « filtre inorganique » doit être préférée à celle d'« écran physique » ou d'« écran minéral » [81]. Les deux plus connus et utilisés sont le dioxyde de titane (TiO_2) (figure 31) et l'oxyde de zinc (ZnO).



Figure 31 : Dioxyde de titane en microscopie électronique en transmission [132]

Ce sont des molécules dont le spectre d'action dépend de la taille des particules et de leur concentration dans le produit fini [82]. Ces filtres sont souvent présents dans les formules solaires, en association avec d'autres filtres UV [131].

Un rappel important, l'oxyde de zinc ne fait pas partie de la liste positive approuvée en Europe, mais l'est dans celle des Etats-Unis, par exemple [81].

Ils sont de plus en plus populaires [133] car ils ne provoquent pas d'allergies et sont mieux tolérés que les filtres organiques [65, 134]. Après application, les formes micronisées restent à la surface de la peau [135]. Ils réfléchissent plus les rayonnements qu'ils ne les absorbent [136]. Malheureusement, du point de vue de la formulation, les laboratoires se heurtent encore à des problèmes d'incorporation dans les formules. Le consommateur, quant à lui, n'apprécie pas toujours l'application de tels produits. En fonction de la taille des particules et de leur enrobage, l'effet blanchissant est plus ou moins présent et le niveau de protection est variable [65]. Il a été démontré que la forme micronisée de l'oxyde de zinc donne un produit moins blanchissant que celle du dioxyde de titane [137].

Les fabricants de matières premières, aujourd'hui, essaient d'obtenir des produits de meilleure qualité, par micronisation, encapsulation et enrobage.

Les nanoparticules sont apparues, il y a plusieurs années, mais n'ont pas pour le moment très bonne presse [66]. De nombreuses études ont été réalisées et sont encore en cours pour démontrer que les microparticules [132] et les nanoparticules [99, 131, 137] ne

sont pas dangereuses pour l'être humain lorsque l'application se fait sur une peau saine. Les laboratoires analysent la taille, la forme des particules pour vérifier leur efficacité et leur profil toxicologique [138].

Du point de vue de la formulation, les produits solaires contenant des nanoparticules sont transparents, avec des touches beaucoup plus agréables que ce que l'on obtenait avec des granulométries plus importantes [139].

1.2.3.2.4.2. Mécanismes d'action des filtres inorganiques

Les filtres inorganiques actuels (enrobés) agissent par différents mécanismes : ils sont capables de réfléchir, disperser et absorber une partie de la lumière visible, des UV et des IR [81, 140].

Les spectres d'absorption du dioxyde de titane et de l'oxyde de zinc couvrent aussi bien le domaine UVB qu'UVA (figure 32).

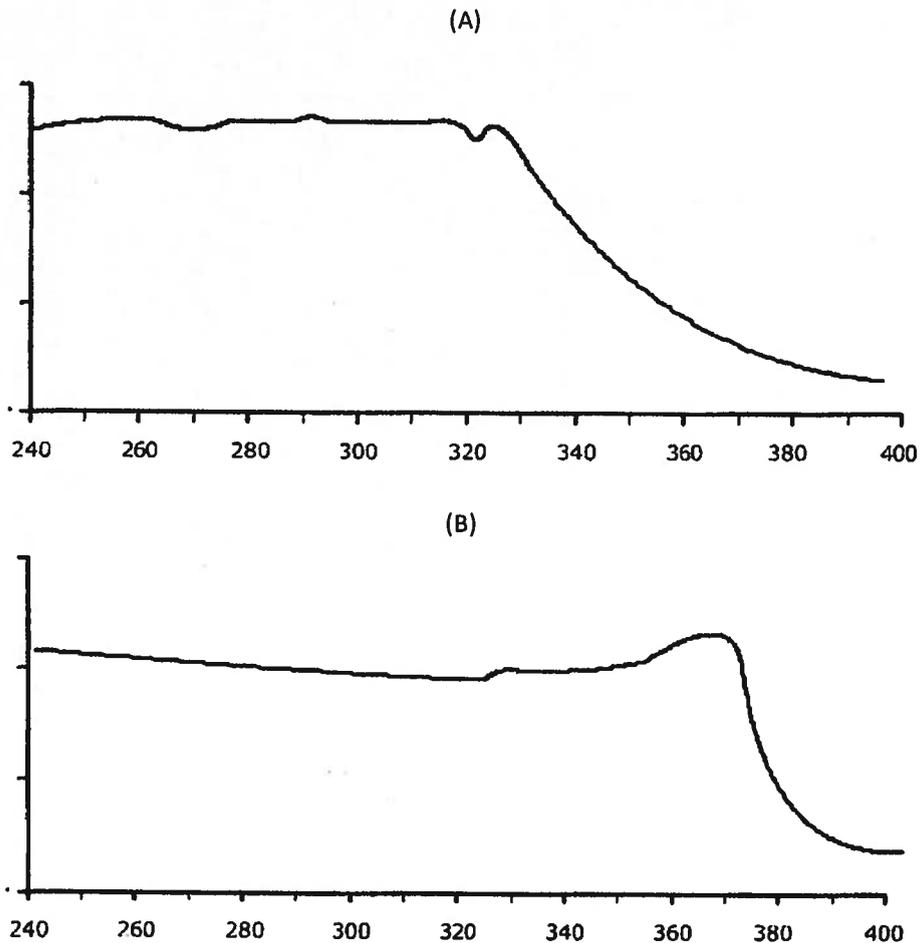


Figure 32 : Spectres d'absorption dans le domaine ultraviolet du TiO_2 (A) et du ZnO (B) [81]

Ils sont tous les deux photo-stables [65, 137, 141]. La figure 33 montre le comportement de l'oxyde de zinc avant et après irradiation.

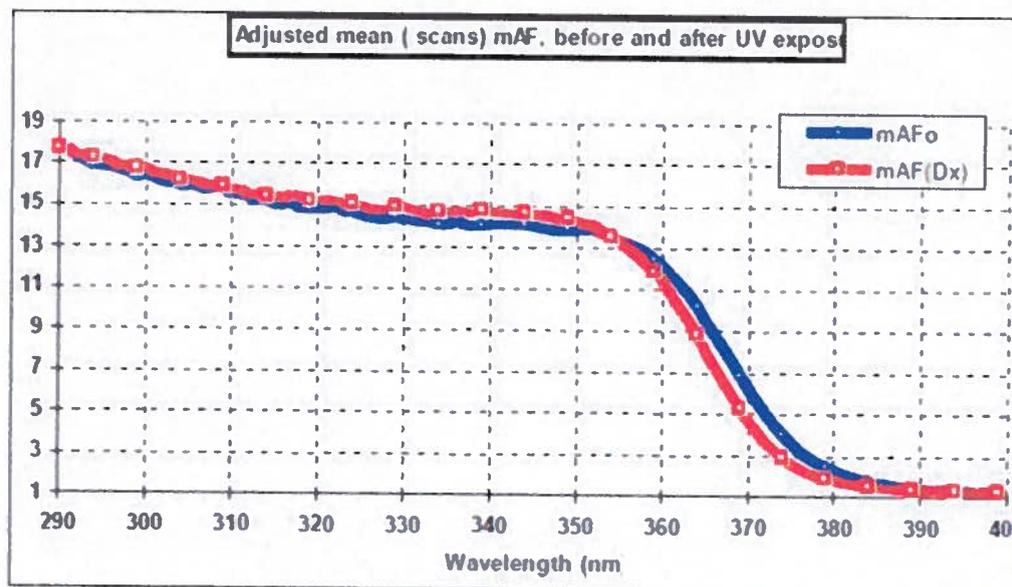


Figure 33 : Spectre d'un produit solaire contenant du ZnO avant (bleu) et après irradiation (rouge) [142]

Le dioxyde de titane micronisé protège mieux dans le domaine UVB que l'oxyde de zinc micronisé. Inversement, le pouvoir de protection de l'oxyde de zinc est plus important dans le domaine UVA que celui procuré par le dioxyde de titane [137, 143].

Pour ce faire, l'Europe étudie la possibilité d'inclure l'oxyde de zinc dans la liste positive des filtres UV. Les formulateurs auront alors, dans leur portfolio, une autre matière première photo-stable [143].

Malgré les nombreuses questions soulevées au sujet de leur profil toxicologique, les filtres minéraux présentent des avantages certains.

1.2.3.2.5. Les filtres UV organiques

1.2.3.2.5.1. Définition

Les filtres organiques sont des molécules complexes, qui agissent en absorbant l'énergie des rayonnements UV.

De nombreux filtres sont sur le marché. Malheureusement, nous verrons par la suite que certains d'entre eux, malgré leur efficacité, soulèvent de nombreux problèmes.

Parce qu'ils n'absorbent majoritairement pas dans le visible, les filtres organiques sont généralement incolores, à l'exception de certains qui sont plus ou moins jaunes. A l'application, ils forment un film mince et invisible sur la peau, acceptable d'un point de vue cosmétique.

1.2.3.2.5.2. Mécanismes d'action

Les filtres organiques sont capables d'absorber les radiations UV incidentes [66]. Il s'agit généralement de molécules présentant un ou plusieurs noyau(x) aromatique(s) substitué(s), en position ortho- ou para-, par différents groupements donneurs d'électrons [79] tels que les groupements carbonyle, amine ou ester (figure 34).

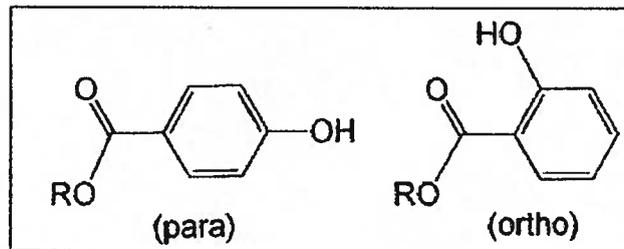


Figure 34 : Exemple du groupement ester en ortho et para [79]

La molécule, du fait de sa configuration, peut absorber les radiations de courtes longueurs d'onde (280 à 400 nm), de forte énergie et nocives pour l'être humain. Le surplus d'énergie sera alors converti en radiations de longueurs d'onde plus grandes (en général au-dessus de 400 nm), de faible énergie et non nocives.

La molécule passe ainsi d'un état initial à un état excité, par absorption d'un photon, pour revenir à son état initial grâce à la délocalisation des électrons du noyau aromatique, comme démontré sur la figure 35 [65, 79]. Elle sera de nouveau efficace et capable d'absorber de nouvelles radiations.

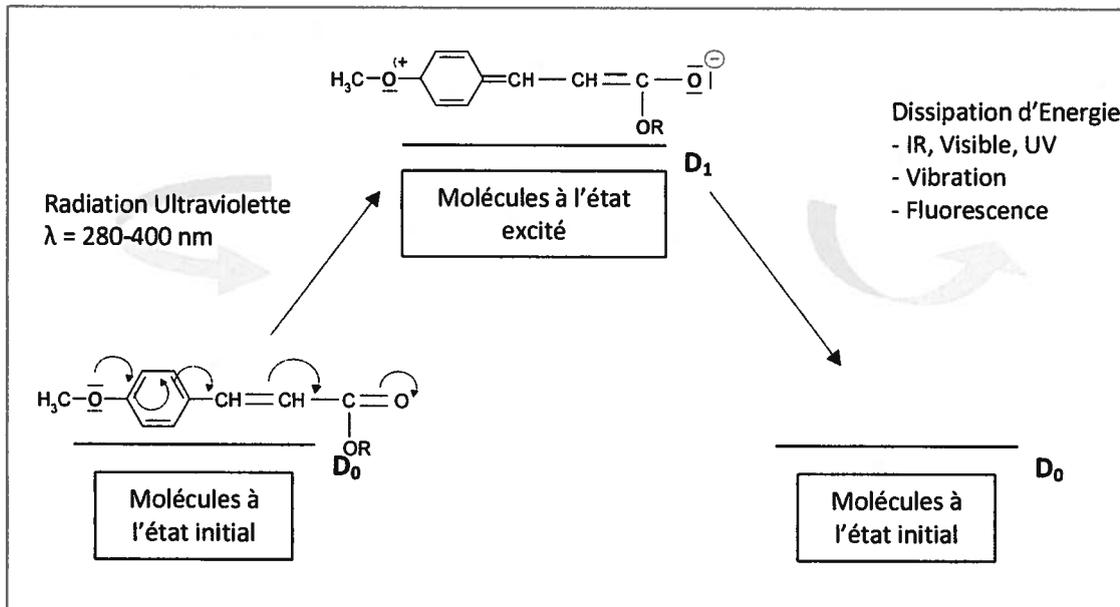


Figure 35 : Schéma du mécanisme d'action des filtres organiques [4]

La dissipation d'énergie, sous forme d'un dégagement de chaleur, est la réponse la plus fréquente [79]. D'autres mécanismes, comme la fluorescence, peuvent être responsables du retour à son état initial de la molécule de filtre. Bien évidemment ces derniers mécanismes ne sont pas recherchés, du fait d'une incompatibilité avec une application cutanée.

1.2.3.2.5.3. Les différentes familles de filtres organiques

Il existe différents types de filtres UV : les filtres à spectre étroit (filtres UVB et filtres UVA) et ceux à large spectre. Nous nous attarderons sur les filtres de la liste positive européenne.

1.2.3.2.5.3.1. Les filtres UVB

Ces molécules n'absorbent que dans le domaine UVB, soit entre 290 et 320 nm. Nous trouverons dans cette catégorie certains composés de la famille des dérivés du camphre, de l'acide cinnamique, du noyau imidazole, de l'acide *p*-aminobenzoïque (PABA), de l'acide salicylique et du noyau triazone.

1.2.3.2.5.3.1.1. LES DERIVES DU CAMPHRE

Le tableau 8 liste les filtres UVB de cette famille chimique. Ils sont liposolubles, sauf l'acide benzylidène-camphre sulfonique, qui est hydrosoluble [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
3-Benzylidene camphor	3-Benzylidène-bornan-2-one (3-Benzylidène-D, L-camphor)	Ultren 9 K, Mexoryl® SD, Unisol® S22	2
4-Methylbenzylidene camphor	3-(4'-Méthyl)benzylidène-bornan-2-one; (3-[4'-Méthylbenzylidène]-D, L-camphor); Enzacamène	Eusolex® 6300, Parsol® 5000, Neo Heliopan® MBC	4
Polyacrylamido methyl benzylidene camphor	N-((2,4)-((2-Oxoborn-3-ylidène)-méthyl]benzyl)acrylamide polymère	Mexoryl® SW	6
Camphor benzalkonium methosulfate	(3-(4'-Triméthylammonium-benzylidène)-bornan-2-one-méthylsulfate	Mexoryl® SO	6
Benzylidene camphor sulfonic acid	3-(4'-Sulfobenzylidène) camphre; acide alpha-(2-Oxoborn-3-ylidène)-toluène-4 sulphonique	Mexoryl® SL	6 (forme acide)

Tableau 8 : Liste des filtres UV appartenant à la famille des dérivés du camphre [65, 81, 82, 144]

Les dérivés du camphre sont de moins en moins utilisés en Europe. Ceux qui l'étaient le plus, à savoir le 3-benzylidène-camphre (3BC) et le 4-méthylbenzylidène-camphre (MBC), sont controversés. Le 3-benzylidène-camphre a été interdit en France, en 2011. Comme nous l'avons indiqué au préalable, c'est une activité œstrogénique qui lui est reprochée [145].

Le spectre UV du 4-méthylbenzylidène camphre (figure 36) présente une longueur d'onde maximale d'absorption située au voisinage de 300 nm, ce qui le classe bien parmi les filtres UVB.

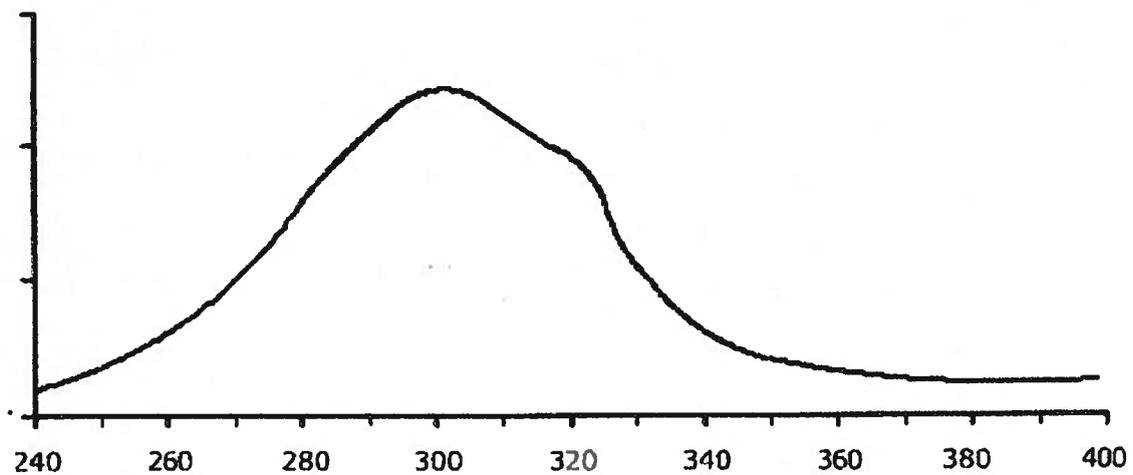


Figure 36 : Spectre UV du 4-MBC [82]

Les longueurs d'onde maximales d'absorption (λ_{\max}) et les structures chimiques de chacun des filtres de cette famille sont reportées dans le tableau 9.

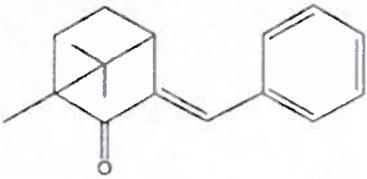
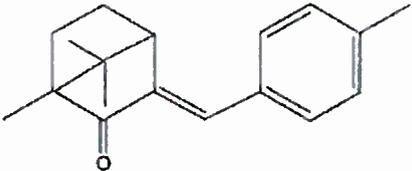
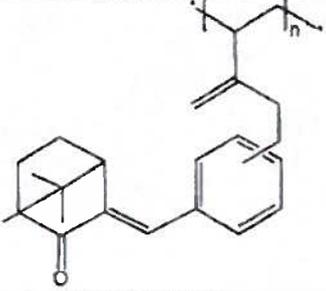
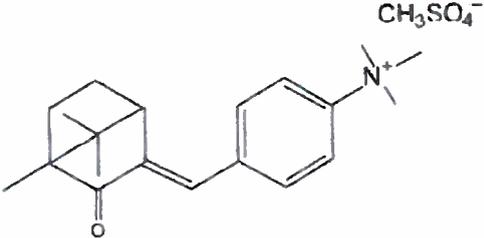
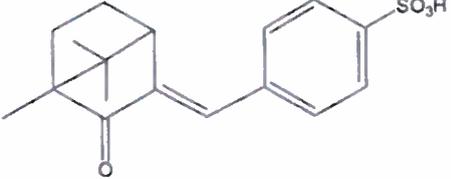
Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
3-Benzylidene-camphor	294	
4-methylbenzylidene-camphor	300	
Polyacrylamido methyl benzylidene camphor	297	
Camphor benzalkonium methosulfate	284	
Benzylidene camphor sulfonic acid	294	

Tableau 9 : Longueurs d'onde maximale et structure chimique des filtres de la famille des dérivés du camphre [82]

Les dérivés du camphre sont photo-stables et entraînent peu de réactions allergiques. Le 4-MBC est l'un des filtres UVB les plus photo-stables (figure 37) [146].

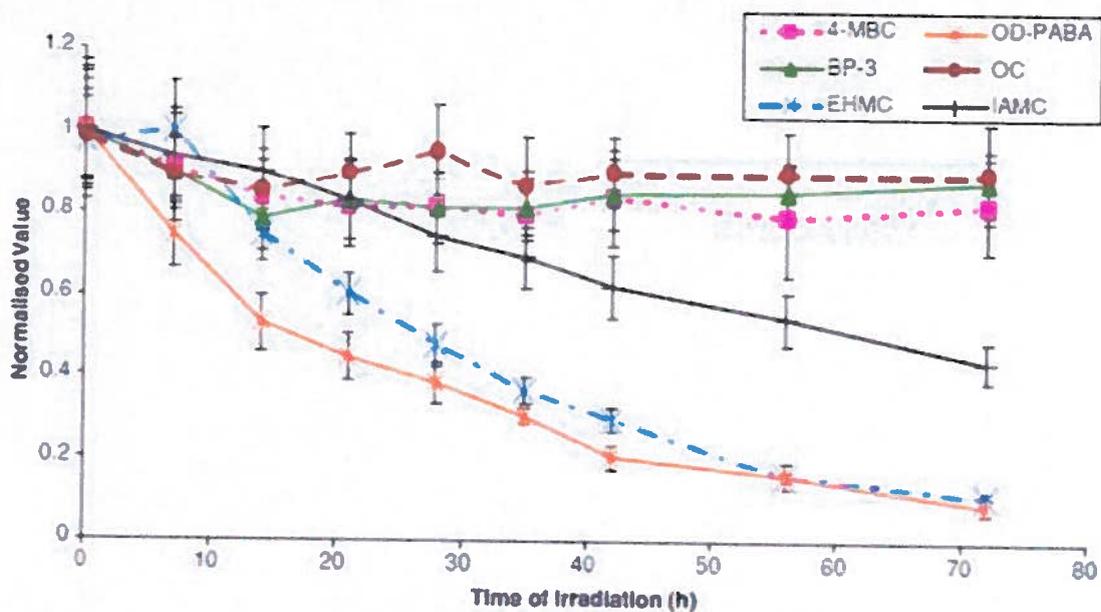


Figure 37 : Comparaison de la photo-stabilité de différents filtres UV [146]

1.2.3.2.5.3.1.2. LES CINNAMATES

Le tableau 10 liste les filtres UVB de cette famille chimique, qui sont liposolubles [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
Ethylhexyl methoxycinnamate	<i>p</i> -Méthoxycinnamic acid 2-éthylhexyl ester; Octinoxate; (E)-3-(4-méthoxyphenyl) prop-2-énoic acid 2-éthylhexyl ester	Parsol® MCX, Neo Heliopan® AV, Uvinul® MC80, Eusolex® 2292, Escalol® 557	10
Isoamyl <i>p</i> -methoxycinnamate	4-Méthoxycinnamate isoamylester; Isopentyl-4-méthoxycinnamate; Amiloxate	Neo Heliopan® E1000	10
Octocrylene	acide 2-Cyano-3,3-diphényl-2-acrylique; 2-Ethylhexylester; Octyl cyanophénylcinnamate	Uvinul® N539, Eusolex® OCR, Escalol® 597, Neo Heliopan® 303, Parsol® 340	10

Tableau 10 : Liste des filtres UV appartenant à la famille des cinnamates [65, 81, 82, 144]

Les cinnamates sont très utilisés en Europe, principalement l'octylméthoxycinnamate et l'octocrylène. Leur coût est faible, ce qui peut expliquer leur omniprésence dans les produits du commerce.

L'octylméthoxycinnamate est certainement le filtre UVB le plus utilisé, aujourd'hui dans le monde, malgré son manque de photo-stabilité. Il a de bonnes propriétés d'absorption, comme le démontre son spectre UV (figure 38).

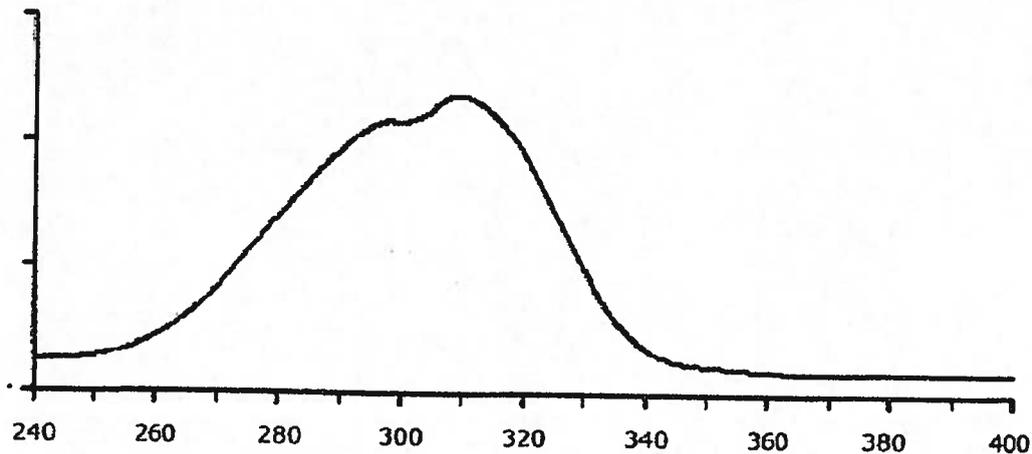


Figure 38 : Spectre UV de l'éthylhexyl méthoxycinnamate [82]

Le spectre d'absorption de l'octocrylène est présenté figure 39. Il est très utilisé, car il permet de photo-stabiliser l'avobenzène [94, 147], ainsi que la benzophénone-3 et l'OMC à moindre coût [147].

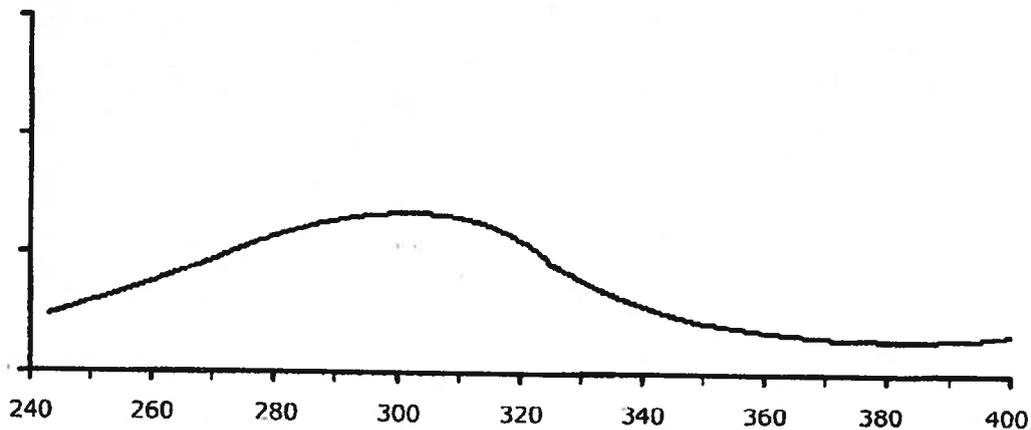


Figure 39 : Spectre UV de l'octocrylène [82]

Un sujet de discussion dans le cas de l'octylméthoxycinnamate est sa photo-instabilité (figure 37). De nombreuses études ont été réalisées afin de trouver une solution à ce problème. L'encapsulation de cette molécule dans des nanoparticules lipidiques semble une des solutions parmi les meilleures envisageables [92, 148], d'autant plus, que cela permettrait de diminuer le phénomène d'absorption cutanée de ce filtre [148].

Les longueurs d'onde maximales d'absorption et les structures chimiques de chacun des cinnamates sont reportées tableau 11.

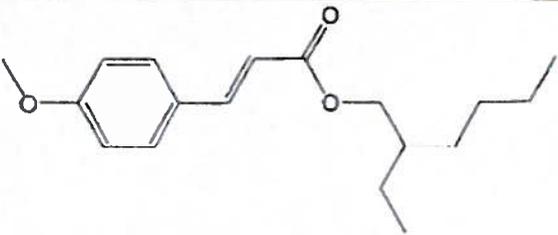
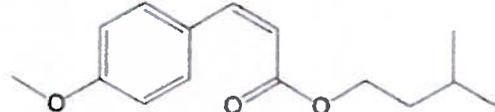
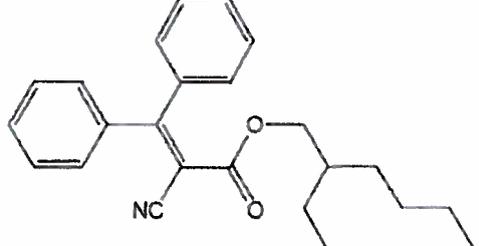
Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Ethylhexyl methoxycinnamate	311	
Isoamyl p-methoxycinnamate	308	
Octocrylene	303	

Tableau 11 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des cinnamates [82]

Les cinnamates sont responsables de réactions de sensibilisation cutanée [111]. C'est une des raisons pour lesquelles la revue allemande *Öko-Test*, revue équivalente de la revue *Que choisir* en France, met en garde les consommateurs contre l'utilisation de produits solaires contenant de l'octocrylène. De plus en plus de marques en Allemagne développent des crèmes solaires sans ce filtre, ce qui ne facilite pas la tâche des formulateurs.

Par ailleurs, une étude a démontré que l'isoamyl p-méthoxycinnamate ne cause que très peu de cas de dermatites de contact [149].

1.2.3.2.5.3.1.3. LES IMIDAZOLES

Le tableau 12 présente le filtre UVB de cette famille chimique. Il s'agit de l'un des rares filtres hydrosolubles [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
Phénylbenzimidazole sulfonic acid	acide 2-Phényl-3H-benzimidazol-5-sulfonique; Ensulizole	Eusolex® 232, Neo Heliopan® Hydro, Parsol® HS	8

Tableau 12 : Filtre UV de la famille des imidazolés [65, 81, 82, 144]

La longueur d'onde maximale d'absorption et la structure chimique de l'acide phénylbenzimidazole sulfonique sont reportées dans le tableau 13.

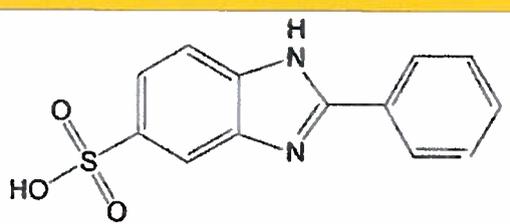
Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Phénylbenzimidazole sulfonic acid	302	

Tableau 13 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique de l'acide phénylbenzimidazole sulfonique [82]

L'acide phénylbenzimidazole sulfonique est souvent utilisé en association avec des filtres liposolubles, afin d'augmenter leur efficacité [4]. Par ailleurs, son spectre d'action dans les UVB est assez large (figure 40).

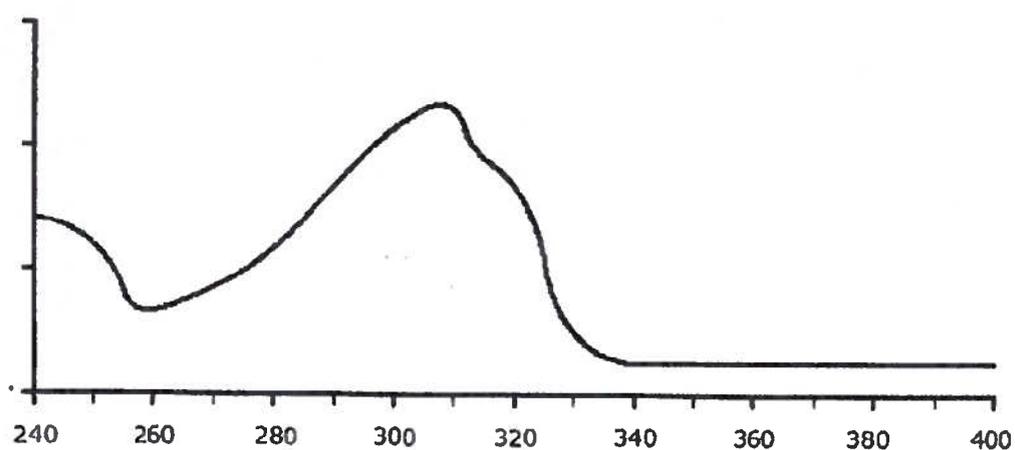


Figure 40 : Spectre UV de l'acide phénylbenzimidazole sulfonique [82]

Il est peu allergisant [150]. Son inconvénient majeur est sa photo-instabilité. Des études ont été menées afin de trouver des solutions à ce problème [151]. Sous l'effet des radiations UV, l'acide phénylbenzimidazole sulfonique se décompose et donne naissance à des radicaux libres et à des espèces réactives de l'oxygène, responsables, en partie, des photo-allergies observées [151].

1.2.3.2.5.3.1.4. LES MALONATES

Le tableau 14 présente les caractéristiques de la polysilicone-15, seule représentante de cette famille chimique.

C'est un filtre liposoluble [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Nom commercial	Concentration maximale d'utilisation (%)
Polysilicone-15	Diméthycodidéthylbenzalmalonate; Polysiloxane-15; Benzylidène malonate polysiloxane	Parsol® SLX	10

Tableau 14 : Caractéristiques de la polysilicone-15 [65, 81, 82, 144]

La longueur d'onde maximale d'absorption et la structure chimique de la polysilicone-15 sont reportées dans le tableau 15.

Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Polysilicone-15	312	<p> n, approx. 60 $R = CH_3$ (approx. 92.1-92.5%) </p> <p> $R =$ (approx. 6%) $R =$ (approx. 1.5%) </p>

Tableau 15 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique de la polysilicone-15 [82]

La polysilicone-15 possède un effet synergique, lorsqu'elle est associée avec d'autres filtres UV (figure 41) [152].

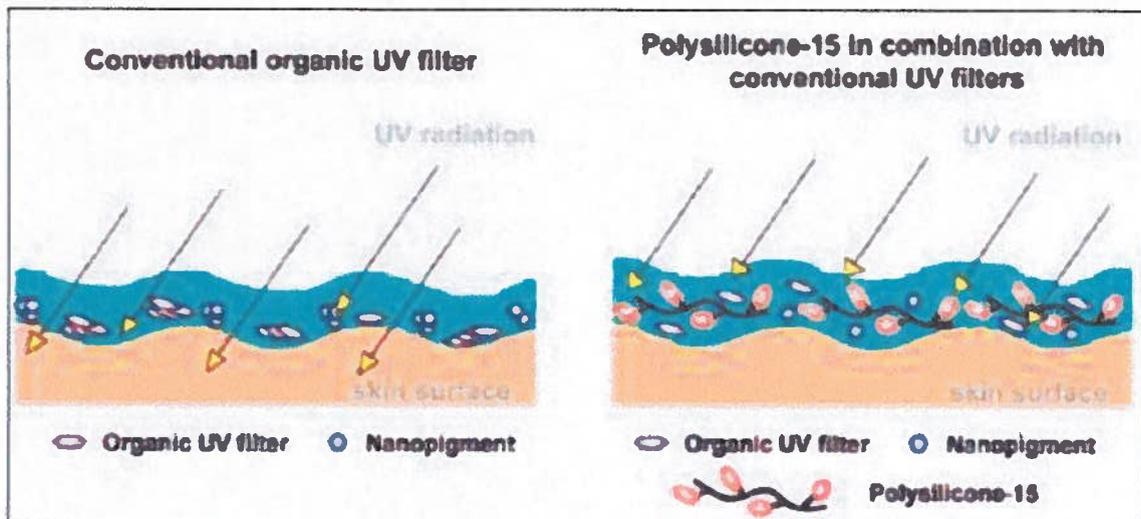


Figure 41 : Effet synergique de la polysilicone-15 en association avec d'autres filtres UV [152]

Utilisée seule, son pouvoir absorbant est relativement faible (figure 42).

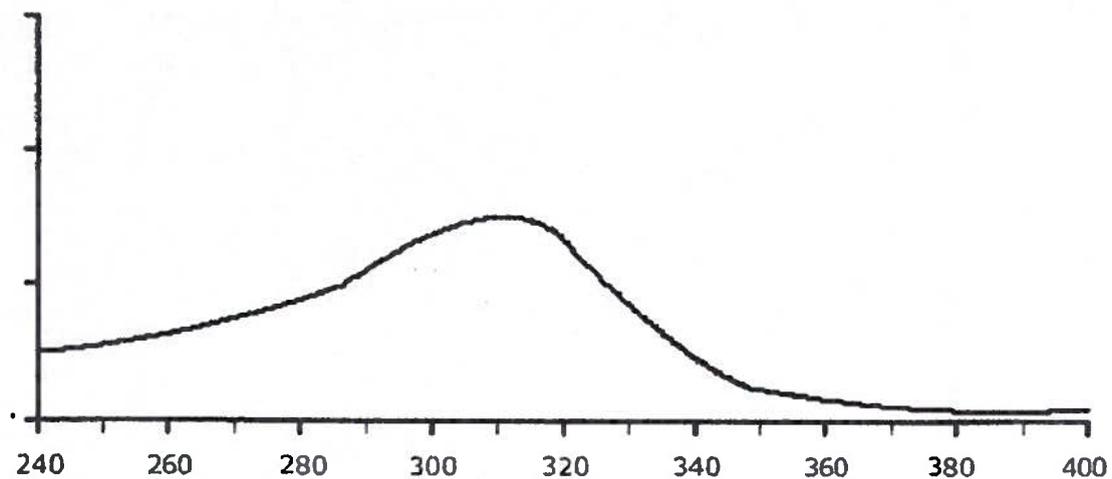


Figure 42 : Spectre UV de la polysilicone-15 [82]

Il est possible d'utiliser ce filtre pour les peaux sensibles, du fait de sa bonne tolérance [152]. De plus, son toucher est velouté ce qui le rend intéressant d'un point de vue cosmétique, comparé à la majorité des filtres UV sur le marché [152]. Son profil sensoriel est très intéressant (figure 43).

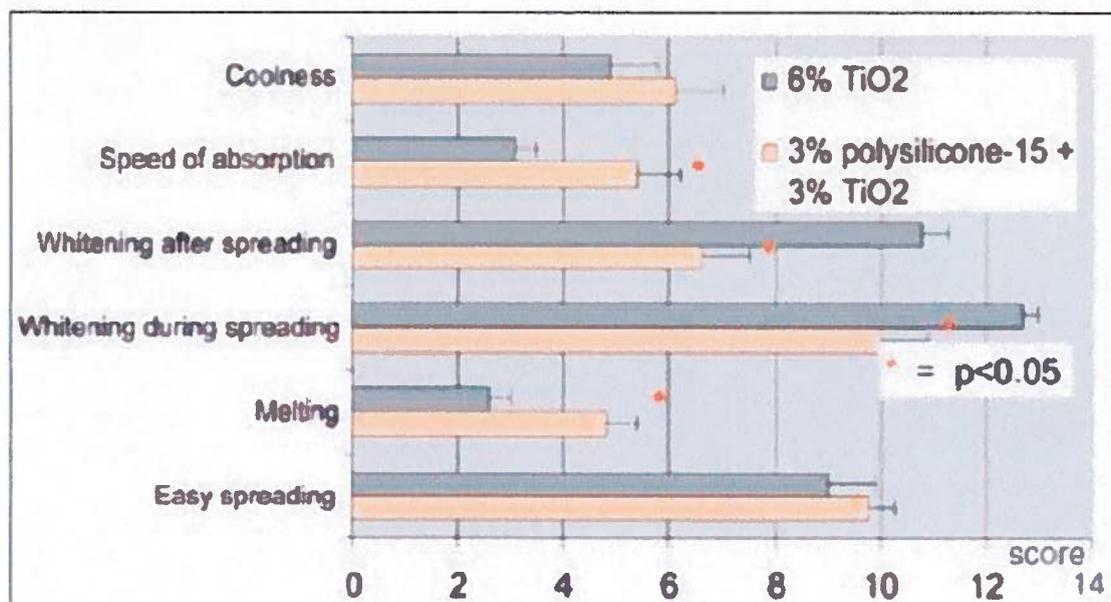


Figure 43 : Comparaison des caractéristiques à l'application de crèmes solaires avec et sans polysilicone-15 [152]

1.2.3.2.5.3.1.5. LES DERIVES DU PABA

Le tableau 16 liste les filtres UVB de cette famille chimique : l'éthylhexyl diméthyl PABA, filtre liposoluble et le PEG-25 PABA, filtre hydrosoluble [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
Ethylhexyl dimethyl PABA	2-Ethylhexyl-4-diméthylamino-benzoate; <i>p</i> -Diméthylamino benzoate	Escalol® 507, Eusolex® 6007, Padimate O®	8
PEG-25 PABA	Ethoxylated PABA éthyl ester; Ethoxylated-éther-4-aminobenzoate	Uvinul® P25	10

Tableau 16 : Caractéristiques des filtres UV, dérivés du PABA [65, 81, 82, 144]

Le PABA a été interdit en Europe en décembre 2008.

L'utilisation de ses dérivés est toujours possible, parce qu'ils font toujours partie de la liste positive européenne des filtres solaires. Malheureusement, ils sont connus, eux aussi, pour leurs caractères photo-allergisant et photo-toxique [153].

Les longueurs d'onde maximales d'absorption et les structures chimiques de chacun de ces filtres sont rappelées tableau 17.

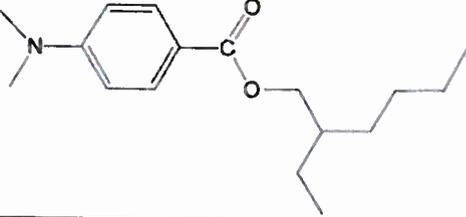
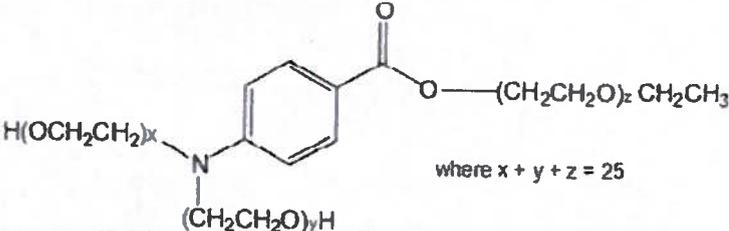
Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Ethylhexyl dimethyl PABA	311	
PEG-25 PABA	309	

Tableau 17 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des dérivés du PABA [82]

Ces deux molécules sont peu utilisées en Europe à cause des allergies qu'elles peuvent provoquer, mais également du fait de leur piètre efficacité (figures 44 et 45).

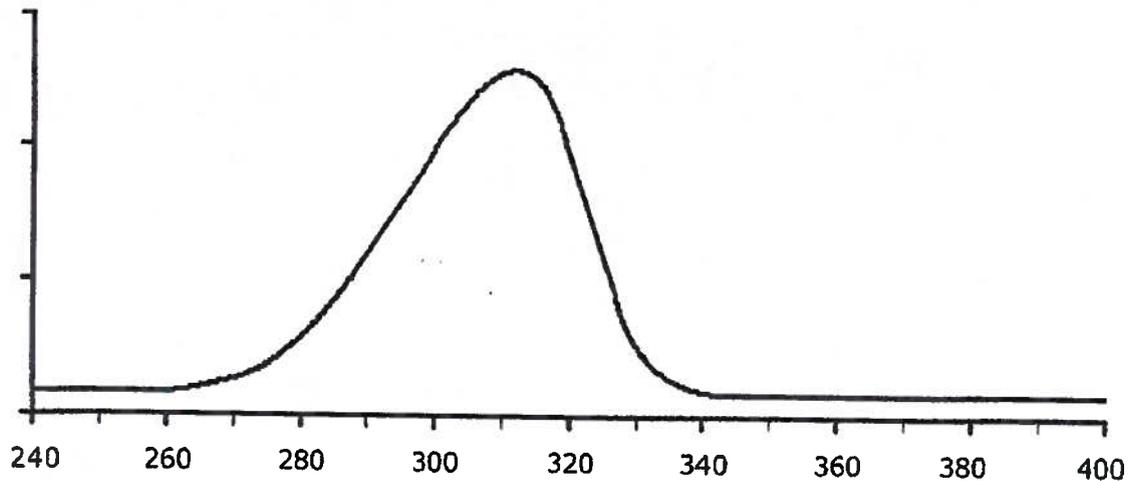


Figure 44 : Spectre UV de l'éthylhexyl diméthyl PABA [82]

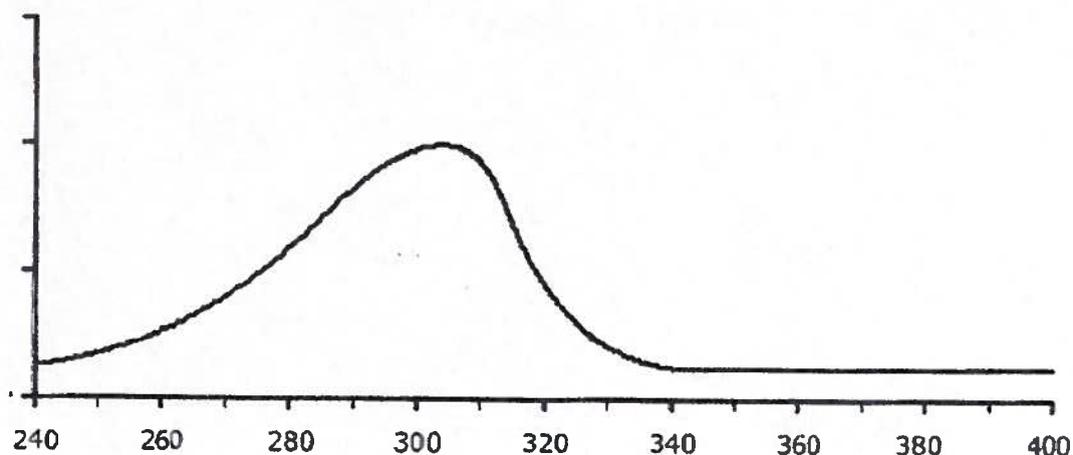


Figure 45 : Spectre UV du PEG-25 PABA [82]

1.2.3.2.5.3.1.6. LES SALICYLATES

Le tableau 18 regroupe les filtres UVB de cette famille chimique. Ils sont liposolubles [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
Ethylhexyl salicylate	2-Hydroxy-2-éthylhexyl ester; Octisalate	Escalol® 587, Neo Heliopan® OS, Eusolex® OS, Parsol® EHS	5
Homosalate	3,3,5-Triméthylcyclohexyl-2-hydroxybenzoate ; Homomenthyl Salicylate; 3,5,5-triméthyl cyclohexyl salicylate	Eusolex® HMS, Neo Heliopan® HMS, Parsol® HMS	10

Tableau 18 : Filtres UV appartenant à la famille des salicylates [65, 81, 82, 144]

Les salicylates sont des filtres UV peu efficaces. Même à forts pourcentages, leur efficacité est faible, et en association avec d'autres filtres, ils ne s'avèrent guère plus efficaces. Leurs spectres d'absorption sont similaires (figure 46).

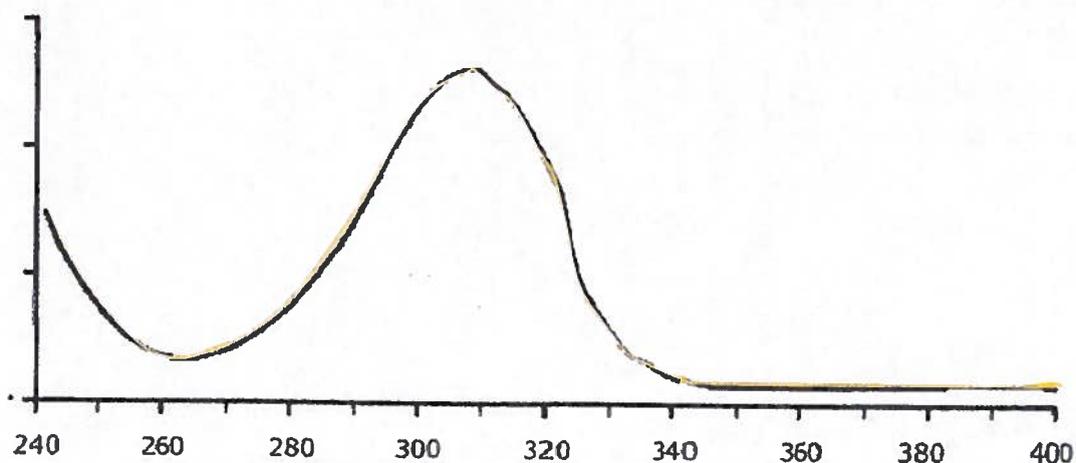


Figure 46 : Spectre UV de l'éthylhexylsalicylate (noir) et de l'homosalate (jaune) [82]

Les longueurs d'onde maximales d'absorption et les structures chimiques de chacun des filtres sont reportées tableau 19.

Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Ethylhexyl salicylate	305	
Homosalate	306	

Tableau 19 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des salicylates [82]

L'avantage de ces deux filtres est de se présenter sous forme liquide, ce qui leur permet de solubiliser d'autres filtres UV qui se présentent sous forme de poudres cristallines et d'en augmenter la photo-stabilité [154].

1.2.3.2.5.3.1.7. LES TRIAZONES

Le tableau 20 liste les filtres UVB de cette famille chimique.

Ce sont des filtres liposolubles [82], très peu solubles dans les huiles apolaires, alors qu'ils le sont dans les huiles polaires [82, 155].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
Diethylhexyl butamido triazone	4,4-[[6-[4-((1,1-Diméthyléthyl)-aminocarbonyl) phénylamino]-1,3,5-triazine-2,4-diyl]-diamino]-bis-(2-éthylhexyl)benzoate; Dioctylbutamidotriazone; Iscotrizinol	Uvasorb® HEB	10
Ethylhexyl triazone	2,4,6-Triazin-p-(carbo-2'-éthylhexyl-1'-oxi)-1,3,5-triazine; 4-[[4,6-bis[[4-(2-Ethylhexoxy-oxométhyl)phényl]amino]-1,3,5-triazin-2-yl]amino]benzoic acid 2-éthylhexyl ester	Uvinul® T150	5

Tableau 20 : Filtres UV appartenant à la famille des triazones [65, 81, 82, 144]

Leurs spectres d'absorption sont presque identiques (figures 47 et 48). Ils présentent une forte absorption à leur longueur d'onde maximale. Il s'agit de filtres à spectre étroit.

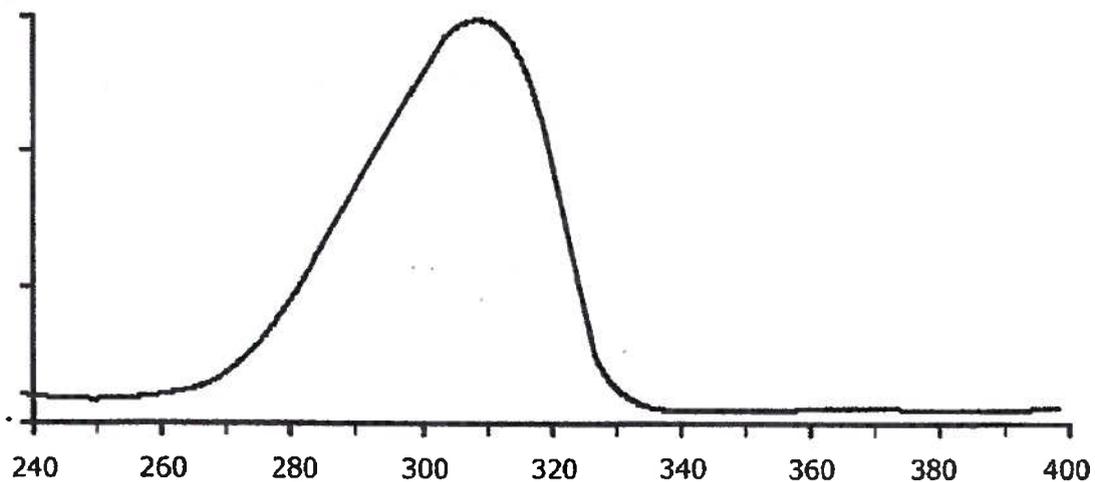


Figure 47 : Spectre UV de la diéthylhexyl butamido triazone [82]

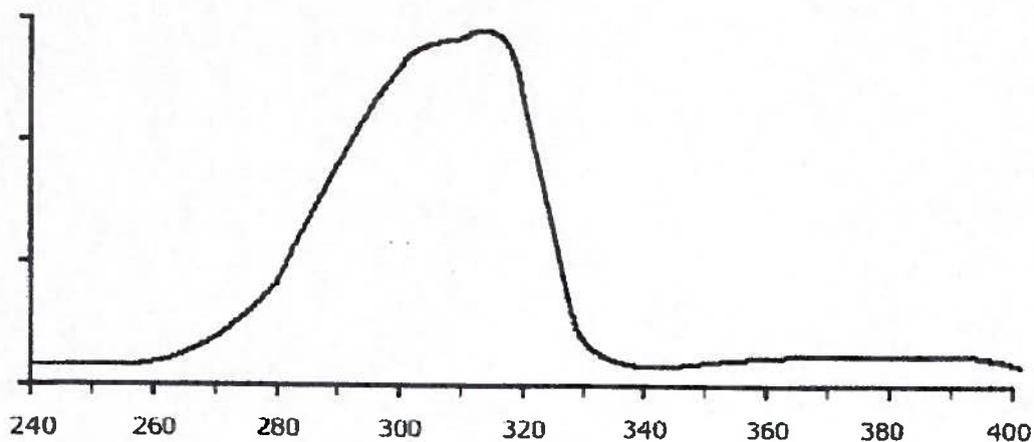


Figure 48 : Spectre UV de l'éthylhexyl triazone [82]

Les longueurs d'onde maximales d'absorption et les structures chimiques de chacun de ces deux filtres sont reportées dans le tableau 21.

Nom INCI	λ_{max} (nm)	Structure chimique
Diethylhexyl butamido triazone	311	
Ethylhexyl triazone	314	

Tableau 21 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des triazones [82]

L'avantage de ces nouveaux filtres est qu'ils ne semblent pas provoquer de réactions photo-allergiques, en comparaison des molécules plus anciennes [156].

1.2.3.2.5.3.2. Les filtres UVA

Ces molécules n'absorbent que dans le domaine UVA, à savoir entre 320 et 400 nm. Nous trouverons dans cette catégorie des dérivés du camphre, des dérivés du dibenzoylméthane, des imidazolés et des diphenylcétones.

1.2.3.2.5.3.2.1. LES DERIVES DU CAMPHRE

Le tableau 22 présente le filtre UVA de cette famille chimique. Le filtre en question est l'acide téréphthalylidène dicamphre sulfonique. Il est hydrosoluble [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Nom commercial	Concentration maximale d'utilisation (%)
Terephthalylidene dicamphor sulfonic acid	[(3Z)-3-[[4-[(Z)-[7,7-Diméthyl-2-oxo-1-(sulfométhyl)-3-bicyclo[2.2.1]heptanylidène]méthyl]phényl]méthylidène]-7,7-diméthyl-2-oxo-1-bicyclo[2.2.1]heptanyl]méthane sulfonic acid; Ecamsule	Mexoryl® SX	10 (forme acide)

Tableau 22 : Caractéristiques du Mexoryl® SX [65, 81, 82, 144]

Sa longueur d'onde maximale d'absorption et sa structure chimique sont reportées tableau 23.

Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Terephthalylidene dicamphor sulfonic acid	345	

Tableau 23 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique du Mexoryl® SX [82]

Il s'agit probablement de l'un des filtres UVA les plus performants à l'heure actuelle. Son spectre couvre la majorité du rayonnement UVA (figure 49).

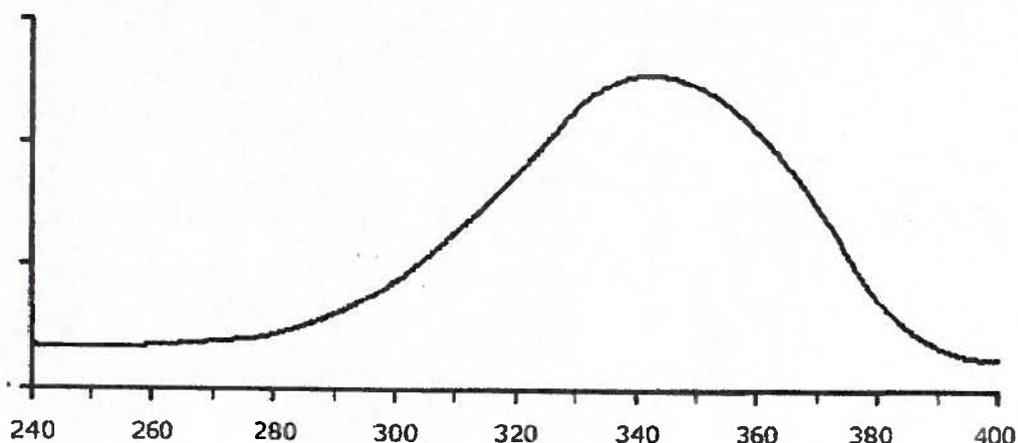


Figure 49 : Spectre UV du Mexoryl® SX [82]

Il est très peu irritant [155] et de ce fait très bien toléré [157].

Par ailleurs, Dominique Moyal de la Société L'Oréal, fait remarquer en 2004 son intérêt dans la prévention des taches pigmentaires [158]. Il aurait été bon de comparer le Mexoryl® SX avec d'autres filtres UVA du commerce.

Ce filtre UV n'est pas disponible commercialement, car il est breveté par la société L'Oréal, qui en a, de ce fait, l'exclusivité pour ses produits [4].

1.2.3.2.5.3.2.2. LES DERIVES DU DIBENZOYLMETHANE

Le tableau 24 présente le filtre UVA de cette famille chimique. Il s'agit du butylméthoxydibenzoylméthane (BMDBM) ou avobenzone, molécule liposoluble [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
Butyl methoxydibenzoylmethane	1-(4-Méthoxyphényl)-3-(4-tert-butylphényl)propane-1,3-dione; Avobenzone	Parsol® 1789, Eusolex® 9020, Escalol® 517, Neo Heliopan® 357	5

Tableau 24 : Caractéristiques du butylméthoxydibenzoylméthane [65, 81, 82, 144]

C'est un filtre très bien toléré [155], qui absorbe dans le domaine UVA, principalement dans les UVA1 (figure 50).

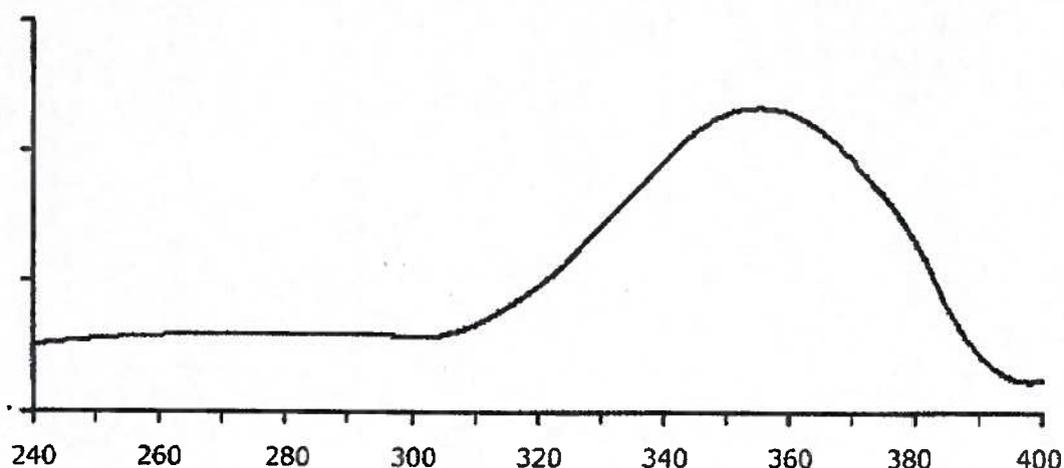


Figure 50 : Spectre UV de l'avobenzone [82]

La longueur d'onde maximale d'absorption et la structure chimique du butylméthoxydibenzoylméthane sont reportées dans le tableau 25.

Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Butyl methoxydibenzoylmethane	357	

Tableau 25 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique du BMDBM [82]

Comme vu précédemment, cette molécule est fortement photo-instable [93, 98], ce qui est un inconvénient majeur.

Il est relativement facile de formuler un produit de faible SPF avec cette molécule en tenant compte des nouvelles recommandations en termes de protection UVA. En revanche, dans le cas de la formulation de produits à hauts indices, il est nécessaire d'associer le BMDBM à d'autres filtres UVA, d'une part pour une question d'efficacité, d'autre part pour une question de stabilité.

1.2.3.2.5.3.2.3. LES IMIDAZOLES

Le tableau 26 présente le phényl dibenzylimidazole tétrasulfonate de sodium, filtre hydrosoluble et seul représentant de cette famille [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Nom commercial	Concentration maximale d'utilisation (%)
Disodium phenyl dibenzylimidazole tétrasulfonate	2,2'-(1,4-Phénylène) bis-[1H-benzimidazole-4,6-disulfonic acid], disodium salt; Bisdisulizole disodium; Bisimidazylate	Neo Heliopan® AP	10

Tableau 26 : Filtre UV appartenant à la famille des Imidazolés [65, 81, 82, 144]

Il absorbe dans le domaine UVA, principalement dans les UVA1 (figure 51).

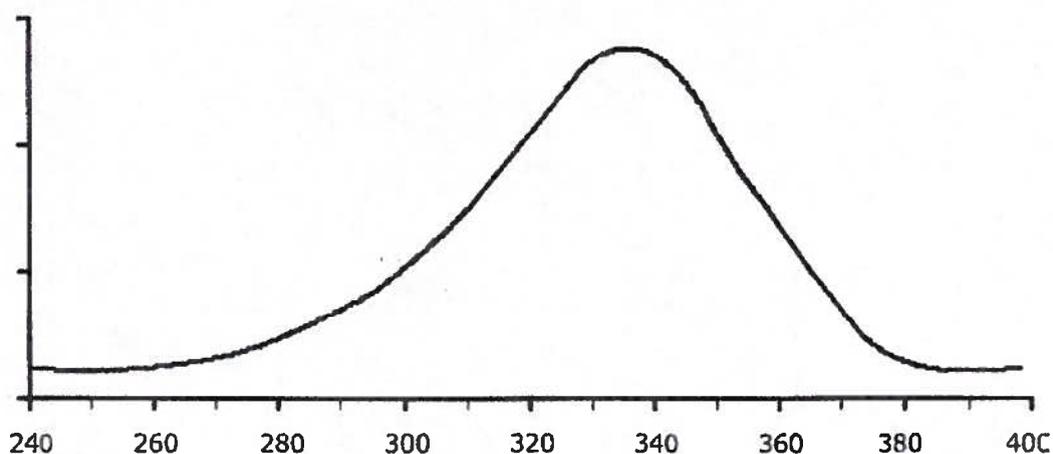


Figure 51 : Spectre UV du phényl dibenzylimidazole tétrasulfonate de sodium [82]

La longueur d'onde maximale d'absorption et la structure chimique du phényl dibenzylimidazole tétrasulfonate de sodium sont reportées dans le tableau 27.

Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Disodium phenyl dibenzylimidazole tétrasulfonate	335	

Tableau 27 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique du phényl dibenzylimidazole tétrasulfonate de sodium [82]

1.2.3.2.5.3.2.4. LES DIPHENYLCETONES

Le tableau 28 présente le diéthylaminohydroxybenzoylhexylbenzoate, filtre UVA liposoluble, de cette famille [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Nom commercial	Concentration maximale d'utilisation (%)
Diéthylamino hydroxy benzoyl hexyl benzoate	Hexyl 2-[4-(diéthylamino)-2-hydroxybenzoyl]benzoate	Uvinul® A Plus	10

Tableau 28 : Caractéristiques du diéthylaminohydroxybenzoylhexylbenzoate [65, 81, 82, 144]

Sa longueur d'onde maximale d'absorption et sa structure chimique sont présentées tableau 29.

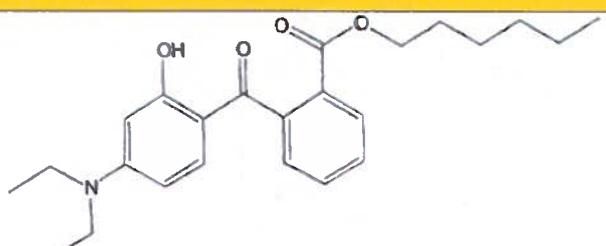
Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Diéthylamino hydroxy benzoyl hexyl benzoate	354	

Tableau 29 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique du diéthylaminohydroxybenzoylhexylbenzoate [82]

Ce filtre UV possède une très bonne photostabilité. Il a une bonne compatibilité avec la plupart des filtres solaires et des autres matières premières à usage cosmétique [4].

1.2.3.2.5.3.3. Les filtres à large spectre

Cette catégorie de molécules possède une particularité : elles absorbent les rayonnements UVB et UVA (290 nm à 400 nm). Ces filtres UV présentent donc deux pics d'absorption : l'un dans le domaine UVB et l'autre dans le domaine UVA.

Nous trouverons dans cette catégorie certains composés de la famille des diphenylcétones, des benzotriazoles et les phényltriazines.

1.2.3.2.5.3.3.1. LES DIPHENYLCETONES

Le tableau 30 présente les filtres de cette famille chimique. Il existe 12 benzophénones différentes, mais seulement trois d'entre elles figurent dans la liste positive européenne (annexe VII).

La benzophénone-3 ou oxybenzone est liposoluble. La benzophénone-4 est hydrosoluble, après neutralisation. La benzophénone-5 est hydrosoluble car il s'agit de la forme salifiée de la précédente [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
Benzophenone-3	Oxybenzone; 2-Hydroxy-4-méthoxy-benzophénone	Eusolex® 4360, Uvinul® M40, Neo Heliopan® BB, Escalol® 567	10
Benzophenone-4	acide 2-Hydroxy-4-méthoxybenzophénone-5-sulfonique et sel	Escalol® 577, Uvinul® MS40	5
Benzophenone-5		Heliosorb® 5	

Tableau 30 : Caractéristiques des diphenylcétones à spectre large [65, 81, 82, 144]

L'oxybenzone est le filtre UV de cette famille le plus utilisé en Europe.

Les benzophénones sont très photo-stables, mais leur efficacité est médiocre [159]. Un autre problème auquel le formulateur doit faire face est la recristallisation de la benzophénone-3 [160]. Il faudra donc veiller à une bonne dispersion de ce filtre, si l'on souhaite conserver une efficacité optimale.

Comme vu précédemment, l'oxybenzone est aussi utilisée afin de stabiliser l'avobenzone [147].

Les longueurs d'onde maximales d'absorption et les structures chimiques de chacun de ces filtres sont reportées dans le tableau 31.

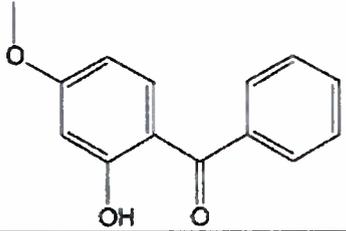
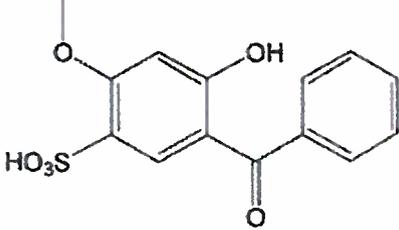
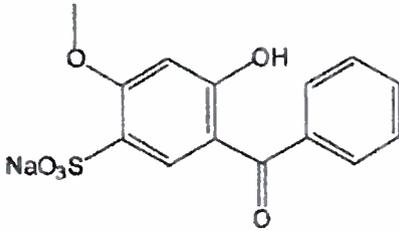
Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Benzophenone-3	286 - 324	
Benzophenone-4	286 - 324	
Benzophenone-5	286 - 324	

Tableau 31 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des benzophénones-3, -4 et -5 [82]

Les spectres de ces trois filtres couvrent à la fois les domaines UVB et UVA (figures 52, 53 et 54). Ils montrent clairement deux pics d'absorption.

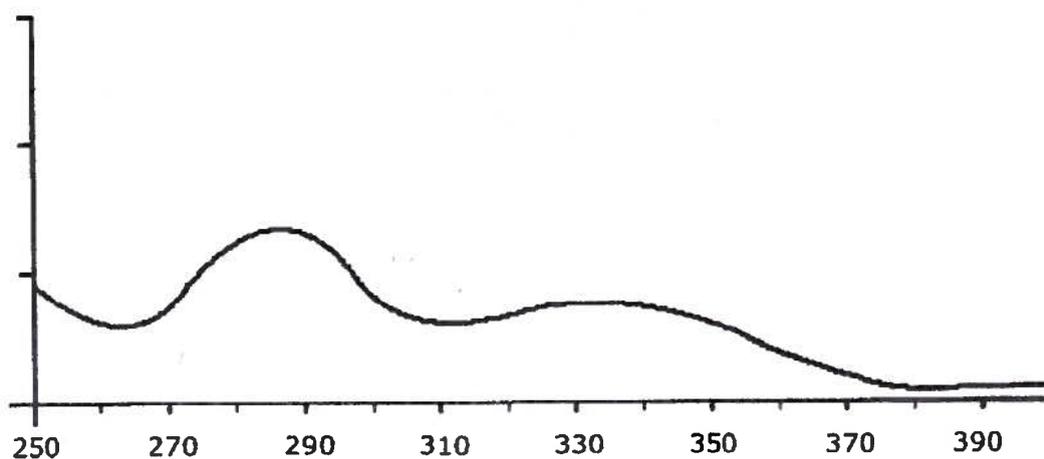


Figure 52 : Spectre UV de la benzophénone-3 [82]

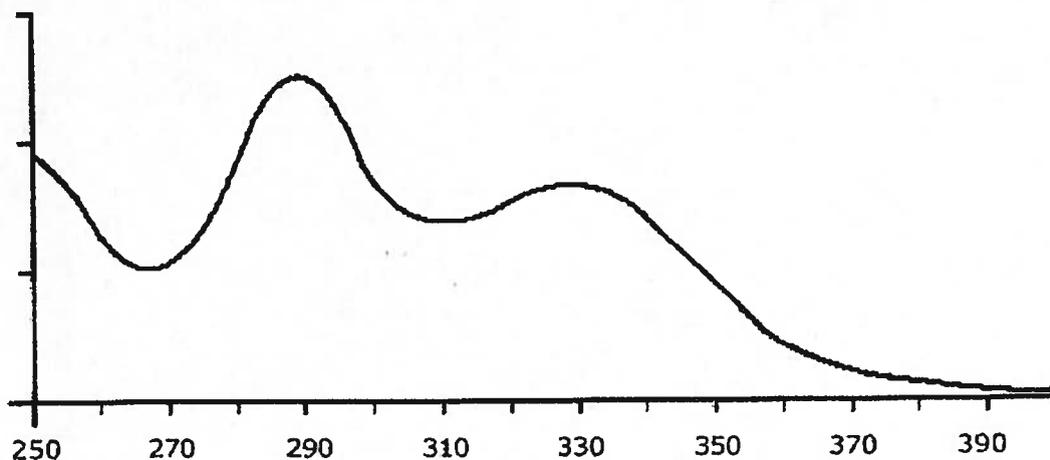


Figure 53 : Spectre UV de la benzophénone-4 [82]

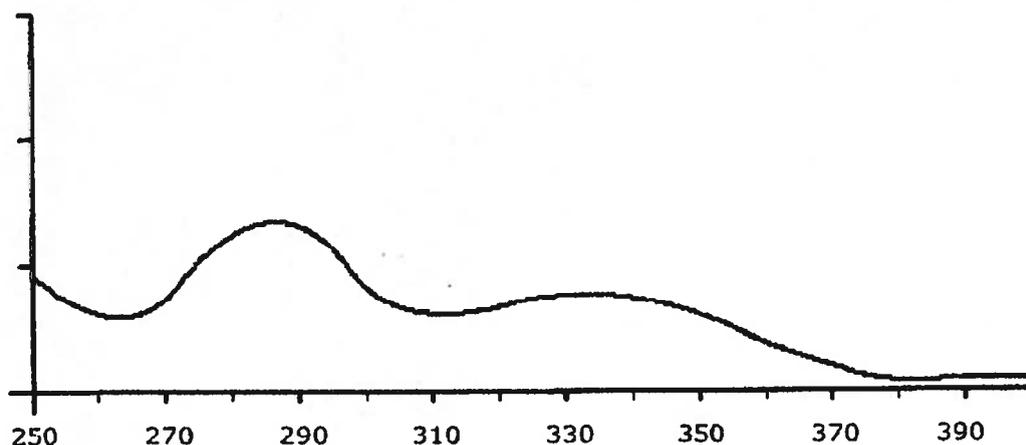


Figure 54 : Spectre UV de la benzophénone-5 [82]

La revue allemande *Öko-Test* met en garde les consommateurs contre l'utilisation de produits solaires contenant de la benzophénone-3, car il s'agit d'une molécule photo-allergisante [161]. Comme dans le cas de l'octocrylène décrit précédemment, de plus en plus de marques en Allemagne développent des crèmes solaires sans benzophénone-3. Ceci rend le travail du formulateur difficile, étant donné le peu de filtres UVA à disposition.

Des études dirigées par C. Kerr ont démontré que la benzophénone-4 avait, par ailleurs, un potentiel irritant [156].

1.2.3.2.5.3.3.2. LES BENZOTRIAZOLES

Le tableau 32 présente les filtres de cette famille chimique. Le drométrizole trisiloxane est liposoluble. Quant au méthylène bis-benzotriazolyl tétraméthylbutylphénol, il est hydrosoluble, après neutralisation [162].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
Drometrizole trisiloxane	2-(2H-Benzotriazol-2-yl)-4-méthyl-6(2-méthyl-3[1,3,3,3-tétraméthyl-1-[(triméthylsilyl)oxy]-disiloxanyl]propyl-phénol); Silatrizole	Mexoryl® XL	15
Méthylène bis-benzotriazol-yl-tetraméthylbutylphénol	2,2'-Méthylène-bis[6-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-(1,1,1,3-tétraméthylbutyl)phénol]; Bisocyltriazole	Tinosorb® M	10

Tableau 32 : Filtres UV appartenant à la famille des benzotriazoles [65, 81, 82, 144]

Les longueurs d'onde maximales d'absorption et les structures chimiques de chacun de ces filtres sont reportées dans le tableau 33.

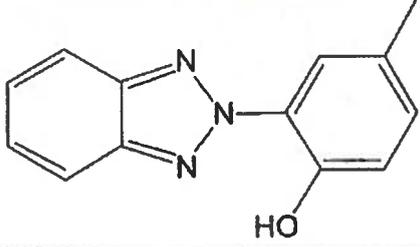
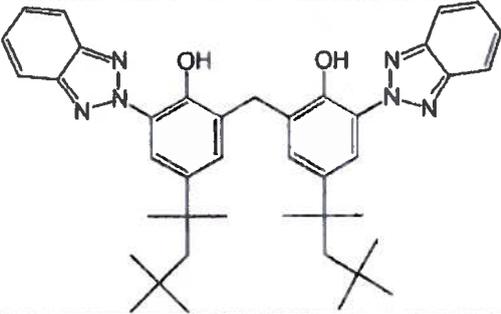
Nom INCI	λ_{\max} (nm)	Structure chimique
Drometrizole trisiloxane	300 - 340	
Méthylène bis-benzotriazol-yl-tetraméthylbutylphénol	305 - 360	

Tableau 33 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des benzotriazoles [82]

Le Mexoryl® XL est un filtre UV breveté par la société L'Oréal. Il n'est donc disponible pour aucune autre société.

C'est une molécule qui est présentée par les chercheurs de la firme comme très peu allergisante [163, 164] et photo-stable [165].

Des études menées par le groupe L'Oréal, entre autres, démontrent que les Mexoryl[®] XL et SX ont un effet synergique [158].

Utilisé seul, le drométrizole trisiloxane possède une certaine efficacité (figure 55), mais il est, le plus souvent, utilisé en association avec du Mexoryl[®] SX ou avec d'autres filtres, afin d'obtenir le large spectre de protection recommandé [166, 167].

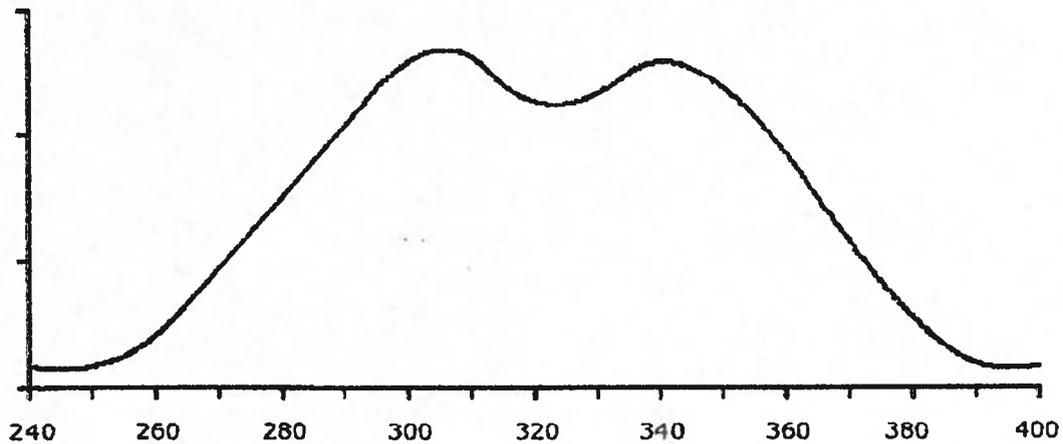


Figure 55 : Spectre UV du drométrizole trisiloxane [82]

Le MBBT (Tinosorb[®] M), quant à lui, bien qu'organique présente la caractéristique d'agir à la fois par absorption et par réflexion. L'énergie absorbée est, alors, restituée sous forme de chaleur.

Son spectre s'étend des UVB aux UVA (figure 56) [165].

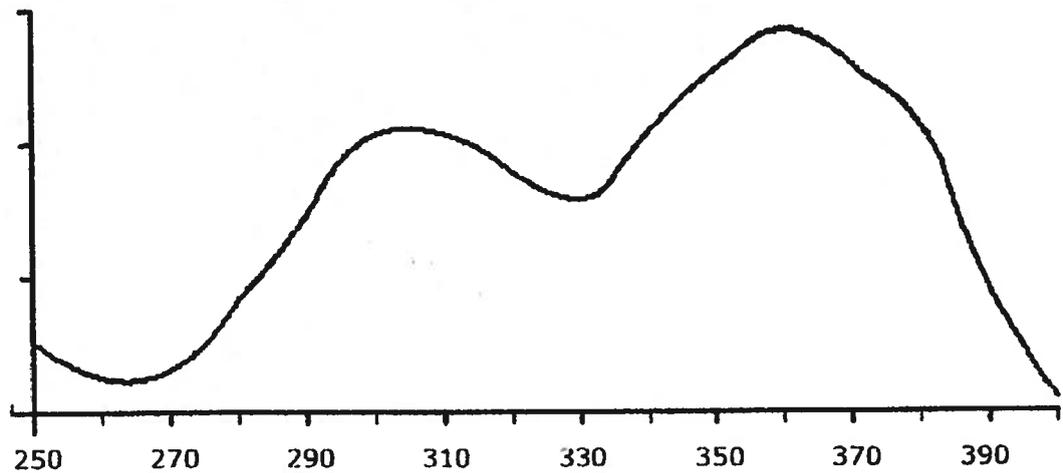


Figure 56 : Spectre UV du méthylène bis-benzotriazolyl tétraméthylbutylphénol [82]

Du fait de sa structure particulière, son efficacité en termes d'absorption est, par exemple, supérieure à celle du Mexoryl[®] XL (figure 57) [165].

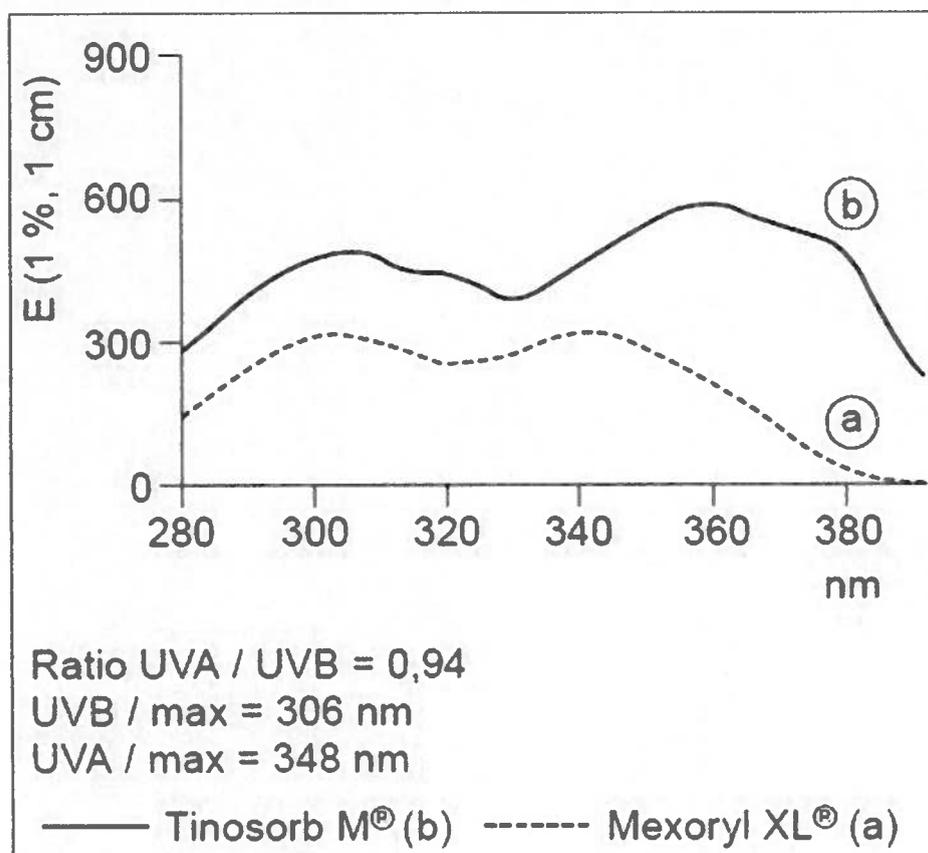


Figure 57 : Comparaison du pouvoir d'absorption du Mexoryl[®] XL avec celui du Tinosorb[®] M [165]

Du fait de sa granulométrie, le MBBT peut être retrouvé dans les premières couches du *Stratum corneum*, après application d'une préparation en contenant [168].

Il est intéressant, car il permet de stabiliser l'avobenzone [169] et possède un effet synergique avec le Tinosorb[®] S.

1.2.3.2.5.3.3. LES PHENYLTRIAZINES

Le tableau 34 présente l'unique filtre de cette famille chimique, la Bis-éthylhexyloxyphénol méthoxypéhy triazine, molécule liposoluble [82].

Nom INCI	Noms chimiques	Noms commerciaux	Concentration maximale d'utilisation (%)
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	2,4-Bis(4-(2-éthylhexyloxy)-2-hydroxy-phényl)-6-(4-méthoxy-phényl)-1,3,5-triazine ; Anisotriazine	Tinosorb® S, Escalol® S	10

Tableau 34 : Filtre UV appartenant à la famille des phényl triazines [65, 81, 82, 144]

La longueur d'onde maximale d'absorption et la structure chimique de la Bis-éthylhexyloxyphénol méthoxypéhyl triazine sont reportées dans le tableau 35.

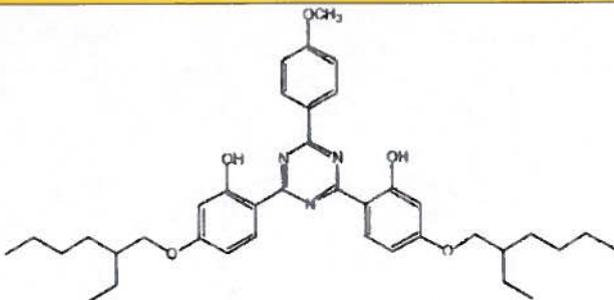
Nom INCI	λ_{max} (nm)	Structure chimique
Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	310 - 343	

Tableau 35 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique de l'anisotriazine [82]

L'anisotriazine couvre un spectre large, permettant d'assurer une protection allant des UVB aux UVA (figure 58).

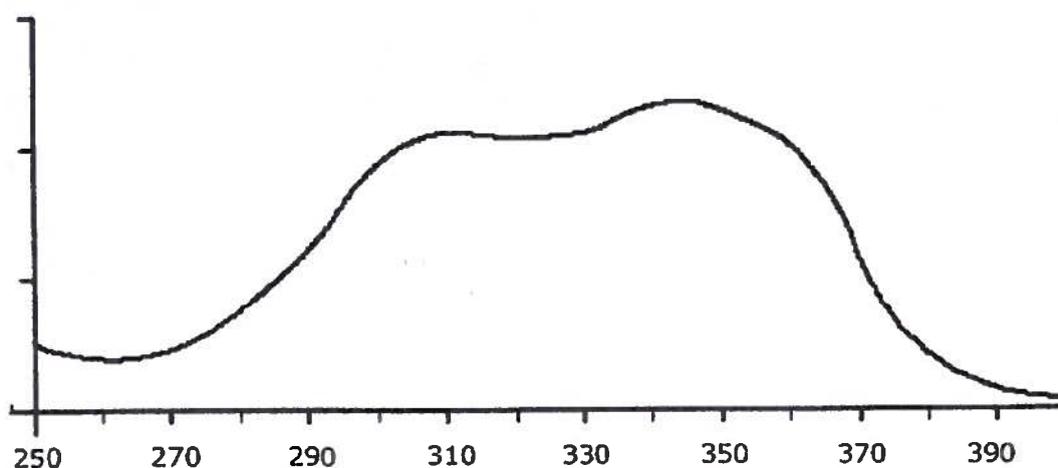


Figure 58 : Spectre UV de la Bis-éthylhexyloxyphénol méthoxypéhyl triazine [82]

C'est un filtre qui est difficile à solubiliser dans les huiles, ce qui le rend peu commode d'emploi. Par contre, c'est un bon solvant des autres filtres solaires de la formule.

Il est extrêmement photo-stable (figure 59) [90].

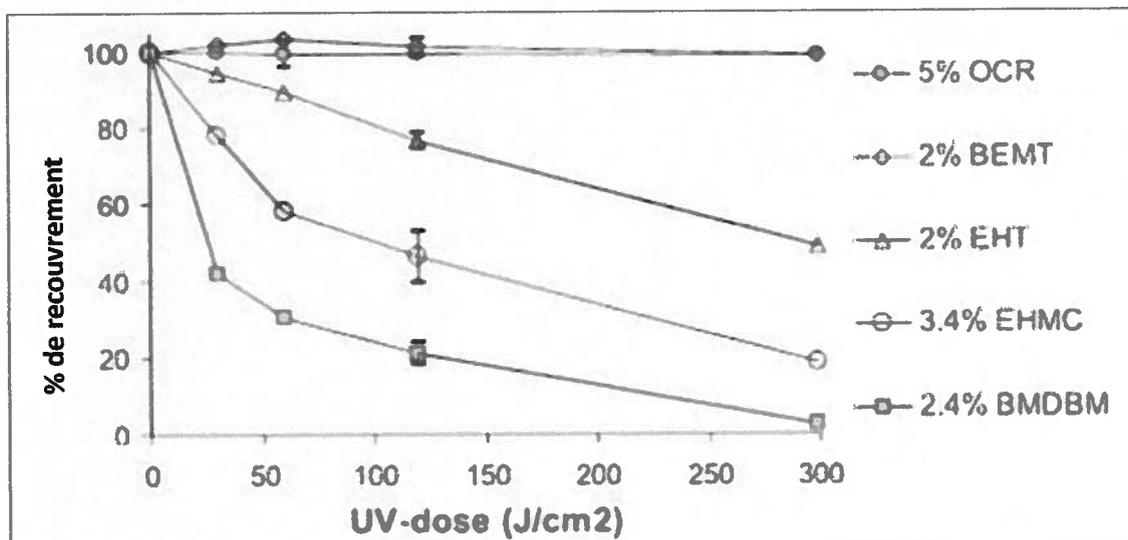


Figure 59 : Comparaison de la photo-stabilité de différents filtres UV en solution dans l'éthanol [90]

De ce fait, il permet de photo-stabiliser des filtres qui ne le sont pas comme l'EHMC ou l'avobenzone [170].

En 2010, une version hydrosoluble a été mise sur le marché par la société BASF, le Tinosorb® S Aqua. La molécule de bémotrizinol est incorporée dans une matrice de polyméthyl méthacrylate (PMMA), dispersée dans une phase aqueuse. Le nom INCI reste inchangé.

1.2.3.3. LES NOUVELLES MOLECULES

La tendance actuelle est aux produits naturels. Le consommateur s'oriente vers l'achat de cosmétiques « sans » (sans parabens, sans PEG, sans phénoxyéthanol,...) ou comportant le strict minimum de matières premières de synthèse. Tous les types de produits cosmétiques sont touchés : du shampoing à la crème de jour, en passant par les produits solaires...

Cette nouvelle tendance est un challenge du point de vue, entre autres, de la formulation et du choix des matières premières [171].

Pour ne parler que des produits de protection solaire, le nombre d'ingrédients disponibles considérés comme acceptables pour la formulation de produits naturels et faisant partie de la liste positive européenne est très restreint. Un seul est autorisé. Il s'agit du dioxyde de titane. Il est possible de l'associer avec l'oxyde de zinc, qui lui aussi est permis par les organismes de certification. Malheureusement, du point de vue du formulateur, ces

ingrédients ne sont pas toujours faciles à manipuler et la taille des particules peut poser des problèmes en termes de pénétration cutanée. L'autre souci réside dans leur accumulation au niveau environnemental. Certains auteurs auraient tendance à dire que la protection conférée par un mélange de ces deux oxydes ne serait pas suffisante contre les radiations solaires [172].

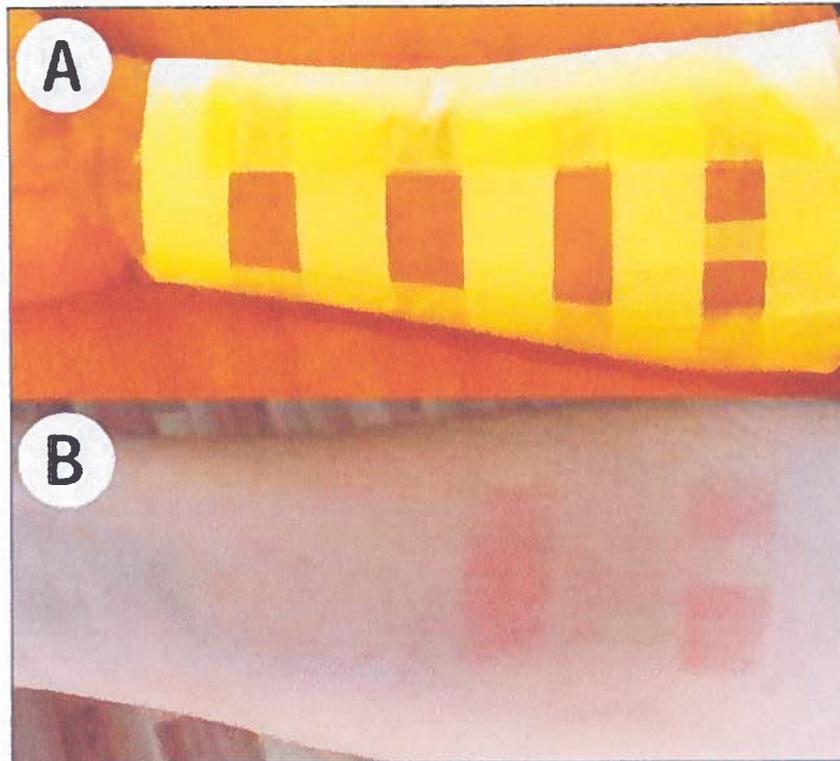
Pour toutes ces raisons, les fabricants de produits solaires recherchent des produits naturels comme ingrédients alternatifs. Il est reconnu que beaucoup d'extraits d'origine végétale, lipophiles ou hydrophiles, possèdent des propriétés anti-oxydantes [173]. C'est pourquoi, ils sont largement étudiés et utilisés dans les produits de protection solaire, pour aider la peau à lutter contre les effets néfastes du soleil. Mais aujourd'hui, ce qui intéresse les chercheurs, c'est une réelle capacité d'absorption des radiations UVB et UVA.

Certains produits naturels ont été étudiés car ils renferment des molécules de la même famille que les filtres UV classiques. Par exemple, l'huile essentielle de cannelle ou le baume du Pérou ont été étudiés pour leurs propriétés filtrantes. Ils renferment des molécules de la famille des cinnamates ayant un pouvoir d'absorption dans les UVB. Toutefois, il n'est pas envisageable d'utiliser le baume du Pérou à ces fins, du fait de son haut pouvoir allergisant. C'est d'ailleurs pour cette raison, qu'il a été éliminé de toutes les formules qui en contenaient. Le meilleur exemple est sans doute celui des sticks Dermophil[®] indien.

En 2010, une autre étude a été réalisée sur l'huile essentielle de basilic renfermant aussi un composé de la famille des cinnamates. Il a été conclu qu'elle possédait des propriétés filtrantes [174].

Il semblerait que certains flavonoïdes, une des classes de polyphénols, puissent absorber les radiations UVB, et ainsi agir comme des filtres solaires [178]. En 2003, Tabrizi *et al.* ont mis en évidence les propriétés filtrantes dans le domaine UVB d'un extrait de fleurs de *Rosa damascena*. Cet extrait renferme des composés de type flavonoïdes [175].

Les extraits de thés noir et vert sont également des ingrédients d'intérêt dans le domaine de la protection UV, du fait de leur forte concentration en polyphénols. Leur capacité d'absorption est importante, comme l'ont démontré Türkoğlu *et al.* en 2010 [176]. La figure 60 montre l'absence de coup de soleil après irradiation, suite à l'application d'une préparation en contenant.



A : Application d'un cache sur l'avant-bras avant irradiation.
De gauche à droite, le gel de thé noir a été appliqué sur la première zone, ensuite le gel de thé vert, puis le gel composé de caféine. Les deux zones à droite sont divisées de telle sorte : en haut, application d'un gel de carbomère, en bas, la zone « contrôle » (eau seule).

B : 24 heures après irradiation UV, lecture des érythèmes.
Il n'y a pas de coup de soleil sur les zones où ont été appliqués les gels à base de thés noir et vert. Pour les autres zones, on remarque la présence d'un érythème.

Figure 60 : Efficacité d'extraits de thé sur l'érythème photo-induit [176]

Shweta *et al.* ont mis en place un protocole de contrôle de qualité des produits solaires contenant des extraits végétaux, mis sur le marché. Ils se sont assurés par différentes méthodes que les revendications en matière de facteurs de protection solaire affichés par les fabricants étaient valides [177]. Les extraits végétaux présents dans ces produits revendiquant une absorption UV sont listés tableau 36.

Produit solaire	Extrait végétal	Nom INCI de l'extrait végétal
HS1	Pastèque	<i>Citrullus vulgaris</i>
HS2	Bois de santal blanc Ginseng indien Bois de fer de Ceylan Germe de blé Bois de santal rouge Symplocos Aloe vera	<i>Santalum album</i> <i>Withania somnifera</i> <i>Mesua ferrea</i> <i>Triticum vulgare</i> <i>Pterocarpus santalinus</i> <i>Symplocos racemosa</i> <i>Aloe barbadensis</i>
HS3	Carotte Symplocos Germe de blé	<i>Daucus carota</i> <i>Symplocos racemosa</i> <i>Triticum vulgare</i>
HS4	Aloe vera Pomme	<i>Aloe barbadensis</i> <i>Malus sylvestris</i>
HS5	Tournesol Indian madder Concombre	<i>Helianthus annuus</i> <i>Rubia cordifolia</i> <i>Cucumis sativus</i>
HS6	Aloe vera	<i>Aloe barbadensis</i>
HS7	Orange	<i>Citrus aurantium</i>
HS8	Coriandre	<i>Coriandrum sativum</i>
HS9	Aloe vera	<i>Aloe barbadensis</i>
HS10	Aloe vera Basilique Turmeric	<i>Aloe barbadensis</i> <i>Ocimum sanctum</i> <i>Curcuma longa</i>
HS11	Bois de santal blanc Aloe vera Carotte Tournesol	<i>Santalum album</i> <i>Aloe barbadensis</i> <i>Daucus carota</i> <i>Helianthus annuus</i>
HS12	Germe de blé	<i>Triticum vulgare</i>
HS13	Aloe vera	<i>Aloe barbadensis</i>
HS14	Concombre Jjoba Orange Bois de santal blanc Lavande	<i>Cucumis sativus</i> <i>Simmondsia chinensis</i> <i>Citrus aurantium</i> <i>Santalum album</i> <i>Lavendula vera</i>

Tableau 36 : Liste des végétaux présents dans les produits solaires étudiés [177]

Les facteurs de protection solaire obtenus par les tests *in vitro* et *in vivo* sont présentés dans le tableau 37.

Produit solaire	SPF ± écart type (n=3)		
	<i>in vitro</i>	<i>in vivo</i>	Valeur de SPF revendiquée
HS1	9.8 ± 1.6	10.0 ± 1.0	10
HS2	31.7 ± 1.8	29.5 ± 1.1	30
HS3	38.0 ± 2.1	40.6 ± 1.0	40
HS4	15.2 ± 2.0	14.5 ± 1.2	15
HS5	21.4 ± 2.6	19.0 ± 1.6	20
HS6	20.8 ± 2.1	19.9 ± 1.4	20
HS7	24.9 ± 1.0	25.2 ± 1.2	25
HS8	20.9 ± 2.2	20.5 ± 1.1	20
HS9	23.9 ± 1.7	24.5 ± 1.2	24
HS10	31.5 ± 1.7	30.8 ± 1.7	30
HS11	14.4 ± 1.6	15.1 ± 1.6	15
HS12	14.7 ± 1.0	14.9 ± 1.0	15
HS13	20.6 ± 1.6	19.0 ± 1.5	20
HS14	32.6 ± 2.0	29.9 ± 1.3	30

Tableau 37 : Evaluation de l'efficacité des produits solaires contenant les extraits végétaux pré-cités [177]

Un certain nombre d'extraits végétaux cités ci-dessus ont déjà été étudiés scientifiquement pour leurs propriétés photo-protectrices [177].

A en croire cette étude, il ne paraît pas difficile de formuler des produits solaires « naturels ». D'autres auteurs sont plus prudents et considèrent les extraits végétaux simplement comme des adjuvants [178].

1.2.3.4. LES METHODES D'ÉVALUATION

Avant leur mise sur le marché, les produits solaires doivent avoir fait preuve de leur efficacité, tant dans le domaine UVB, que dans le domaine UVA. Par ailleurs la résistance à l'eau et la photo-stabilité sont des critères majeurs à évaluer.

Nous verrons ici les différentes méthodes pouvant être mises en œuvre à ces fins. Certaines font l'objet de normes, d'autres sont proposées par différents organismes tels que le COLIPA.

1.2.3.4.1. Notion de Facteur de Protection Solaire (FPS)

Le Facteur de Protection Solaire (FPS), encore appelé Indice de Protection (IP) ou surtout *Sun Protection Factor* (SPF), est l'indicateur qui permet de quantifier le niveau de protection dans le domaine UVB du produit solaire testé.

Selon les pays considérés, pour prouver l'efficacité, des méthodes *in vivo* ou *in vitro* ont été mises au point. En Europe, il est recommandé d'utiliser les méthodes alternatives

que sont les méthodes *in vitro*. Toutefois, la majorité des sociétés ont encore recours à la méthode *in vivo* pour la détermination du SPF.

1.2.3.4.1.1. Détermination *in vivo* du Sun Protection Factor (SPF)

La méthode longtemps utilisée en Europe est celle proposée par le COLIPA [179]. On doit maintenant se référer au protocole de la norme ISO 24444:2010 (*Cosmetics -- Sun protection test methods -- In vivo determination of the sun protection factor (SPF)*). Sont ainsi définies les conditions expérimentales du test : nombre de sujets à inclure dans le test, manière de les sélectionner (en fonction du phototype et en l'absence de troubles de la pigmentation), caractéristiques des lampes à utiliser pour l'irradiation, doses d'irradiation qui doivent être progressives.

Le produit solaire est appliqué, à raison de 2 mg/cm², au niveau du dos du sujet, de part et d'autre de la colonne vertébrale. Après application, le sujet est exposé aux rayons UV (figure 61). L'intensité de l'érythème produit est évaluée, 24 heures après irradiation.

Le SPF sera calculé en fonction du rapport de la Dose Minimale Erythématogène (DME) d'une peau protégée sur la Dose Minimale Erythématogène d'une peau non protégée [180], soit :

$$\text{SPF} = \frac{\text{DME peau protégée}}{\text{DME peau non protégée}}$$



Figure 61 : Détermination *in vivo* du SPF

Cette méthode de détermination du SPF est très controversée. En effet, la quantité de produit appliquée est largement supérieure (un peu plus du double) à celle habituellement utilisée par les consommateurs [4]. Par ailleurs, le nombre de sujets est peu

élevé. C'est une méthode onéreuse. Enfin, le point le plus critique est le fait d'irradier les volontaires, ce qui n'est pas éthiquement parlant le meilleur choix.

Pour ces différentes raisons, une méthode alternative *in vitro* a été proposée. Conformément à la recommandation européenne de septembre 2006, cette dernière doit être privilégiée.

1.2.3.4.1.2. Méthode de détermination *in vitro* du SPF

De nombreuses sociétés utilisent ce type de méthode, durant le développement de leurs produits puis confirment les résultats obtenus, *in vivo* [181].

Cette méthode est basée sur la loi de Beer-Lambert :

$$A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0}$$

avec A : absorption ;
T : transmission ;
I : intensité de la lumière transmise par l'échantillon ;
I₀ : intensité de la lumière incidente.

Le spectre d'absorption du filtre ou de la combinaison de filtres au sein de la formule sera déterminé par spectrophotométrie de transmission à différentes longueurs d'onde. Dans le cas d'un produit solaire, Diffey *et al.* se sont intéressés aux longueurs d'ondes couvrant les domaines UVB et UVA.

Ils ont ainsi développé une relation à partir de laquelle il est possible de déterminer la valeur du SPF de n'importe quel produit [182], soit :

$$SPF = \frac{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} \Delta_{\lambda}}{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} T_{\lambda} \Delta_{\lambda}}$$

avec E_λ : efficacité érythématogène spectrale ;
S_λ : irradiance spectrale solaire ;
T_λ : transmission spectrale de l'échantillon.

Le protocole expérimental impose d'appliquer le produit solaire sur un substrat. La quantité de produit appliquée dépend de la nature du substrat et varie selon les auteurs. Les valeurs de transmission sont alors déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre à sphère d'intégration.

Le premier substrat utilisé a été le système adhésif, Transpore[®] (3M) [182]. Aujourd'hui, les substrats les plus utilisés sont les plaques de polyméthylméthacrylate (PMMA). Ce matériau est considéré comme inerte et donne des résultats pouvant être extrapolés à ceux obtenus *in vivo* [183]. L'avantage du PMMA réside dans la reproductibilité des résultats obtenus.

La rugosité du substrat utilisé a son importance. La manière dont le produit est appliqué est capitale et a une grande influence sur le résultat obtenu [184]. Il a été démontré que les plaques de porosité 6 μm permettent d'obtenir des résultats plus proches de ceux obtenus *in vivo* que celles de porosité 2 μm [183]. La figure 62 compare l'état de surface de la plaque de PMMA de 6 μm et celui d'une empreinte de peau.

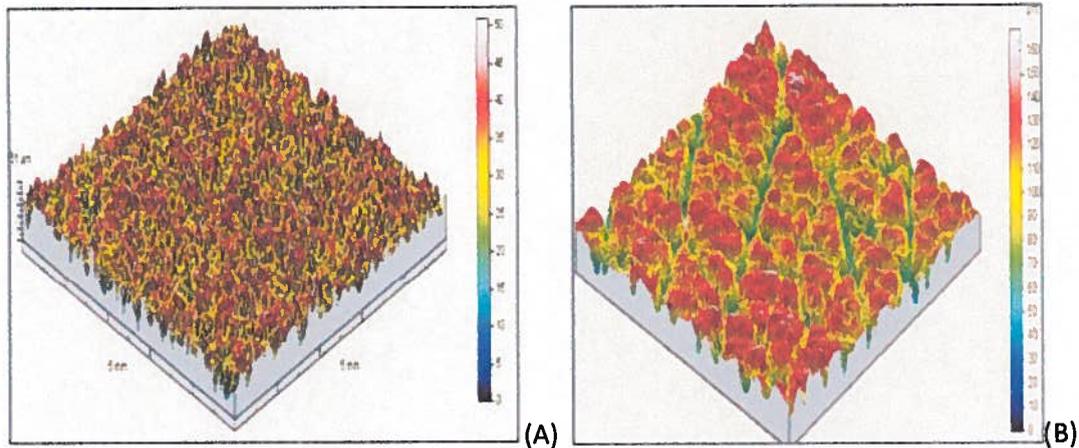


Figure 62 : Comparaison de l'état de surface d'une plaque de PMMA (rugosité de 6 μm) (A) et de celui de la peau (B) [183]

Il est important que le produit appliqué sur la plaque le soit de façon uniforme, de façon à réduire au maximum l'écart-type [184].

1.2.3.4.1.3. Règles d'étiquetage

Il est important de noter que la valeur SPF déterminée par méthode *in vivo* ou *in vitro* est accessible au consommateur. Elle est inscrite sur l'emballage du produit solaire.

Jusqu'en 2007, les valeurs de SPF pouvaient varier de 0 à 100, voire plus. En Europe, le COLIPA a émis une proposition, afin d'aider le consommateur dans son choix. Elle doit lui donner une meilleure visibilité en termes d'indices protecteurs disponibles. Mais aussi, cette règle devrait l'aider à utiliser le produit le mieux adapté à sa peau.

Le tableau 38 indique les SPF recommandés ainsi que les catégories à afficher sur l'emballage des produits solaires, en Europe.

Catégorie	Valeur de SPF	SPF mesuré en accordance avec les méthodes recommandées
Protection faible	6	6-9,9
	10	10-14,9
Protection moyenne	15	15-19,9
	20	20-24,9
	25	25-29,9
Haute protection	30	30-49,9
Très haute protection	50	50-59,9
	50+	≥ 60

Tableau 38 : Catégories de SPF devant figurer sur l'emballage [185]

1.2.3.4.2. Détermination du niveau de protection dans le domaine UVA

Longtemps, les produits solaires n'étaient évalués que sur leurs performances dans le domaine des UVB. Cela ne signifie pas que les sociétés négligeaient pour autant l'impact des filtres UVA sur la peau. Les filtres anti-UVA ont été progressivement incorporés dans les produits de protection solaire, et des protocoles de tests *in vivo*, établis.

Depuis 2007, la protection UVA a pris une ampleur importante et est passée sur le devant de la scène [85]. Il a été établi scientifiquement que la peau devait non seulement être protégée dans le domaine UVB en cas d'exposition solaire, mais aussi dans le domaine UVA. Il est donc recommandé d'avoir non seulement des filtres UVB mais aussi UVA au sein des formules. Cela correspond à l'attente du consommateur d'aujourd'hui.

1.2.3.4.2.1. Méthodes *in vivo*

Comme le SPF, l'évaluation de la protection UVA *in vivo* se base sur une observation et une mesure de la réponse biologique de la peau à l'irradiation UVA. On citera deux méthodes : le PUVAtest et la méthode Charbon.

1.2.3.4.2.1.1. Le PUVAtest

Le principe de cette méthode, destinée à déterminer le facteur de protection UVA, reposait sur l'effet phototoxique des psoralènes. On administrait aux volontaires, par voie orale ou locale, une préparation à base de psoralène (8-méthoxy-psoralène ou 5-méthoxypsoralène), puis on irradiait la peau des sujets à l'aide d'une lampe UVA (peau protégée d'une part par une crème solaire et peau non protégée d'autre part). L'observation se faisait au bout de 48 heures minimum.

Pour des raisons éthiques bien compréhensibles, cette méthode est aujourd'hui abandonnée.

1.2.3.4.2.1.2. La méthode Charbon

1.2.3.4.2.1.2.1. PRINCIPE

Cette méthode est basée sur le phénomène de pigmentation immédiate de la peau (phénomène de Meirowski) survenant immédiatement après irradiation par des rayonnements UVA. On distinguera deux méthodes selon le temps de latence entre irradiation et mesure : la méthode IPD (*Immediate Pigment Darkening*) qui nécessite une mesure directe et la méthode PPD (*Persistent Pigment Darkening*) qui implique une mesure différée de 2 heures après irradiation des sujets [186, 187].

1.2.3.4.2.1.2.2. PROTOCOLE

On utilisera comme source d'émission une lampe à arc au xénon munie d'un filtre vis-à-vis des UVB ou à halogénures (type lampe à vapeur de mercure). L'irradiation des volontaires se fait dans le domaine UVA (entre 320 et 400 nm).

Les pré-requis concernant les volontaires sont similaires à ceux évoqués pour la détermination du SPF, à l'exception des types de peau concernés, puisque ce sont les sujets susceptibles de développer un hâle du soir qui seront recrutés. On cherchera donc un panel de volontaires de phototypes III et IV selon la classification de Fitzpatrick.

Des doses croissantes de radiations UVA (6 doses selon une progression géométrique de raison 1,5) sont appliquées sur le dos des volontaires. En ce qui concerne la lecture qui est effectuée soit immédiatement (IPD) soit après 2h d'attente (PPD), il faudra éliminer le produit solaire à l'aide d'une lotion de façon à ne pas masquer la pigmentation par une trace blanche résiduelle.

On déterminera les doses suivantes :

- DPIM, plus petite dose d'UVA capable de produire une pigmentation perceptible, non ambiguë, aux contours nettement définis et ce immédiatement après irradiation ;
- DPPM, plus petite dose d'UVA capable de produire une pigmentation perceptible, non ambiguë, aux contours nettement définis et ce 2 heures après irradiation.

On en déduira, le facteur de protection UVA :

$$FP - UVA = \frac{DPIM \text{ peau protégée}}{DPIM \text{ peau non protégée}}$$

ou bien :

$$FP - UVA = \frac{DPPM \text{ peau protégée}}{DPPM \text{ peau non protégée}}$$

selon la méthode retenue. L'avantage de la seconde méthode est de s'affranchir du rougissement de la peau inhérent à l'irradiation subie.

1.2.3.4.2.2. Méthode *in vitro*

1.2.3.4.2.2.1. Méthode proposée par le COLIPA

Le COLIPA a proposé une méthode *in vitro*, en 2007, pour déterminer le niveau de protection dans le domaine UVA des produits solaires. Elle a été actualisée en 2009 [188].

Elle se base sur la mesure de l'absorption avant et après irradiation d'un échantillon de produit solaire appliqué sur une plaque de PMMA de rugosité de 6 µm. La détermination se fait comme pour le SPF *in vitro*, à l'aide d'un spectrophotomètre. La figure 63 résume les étapes du protocole opératoire.

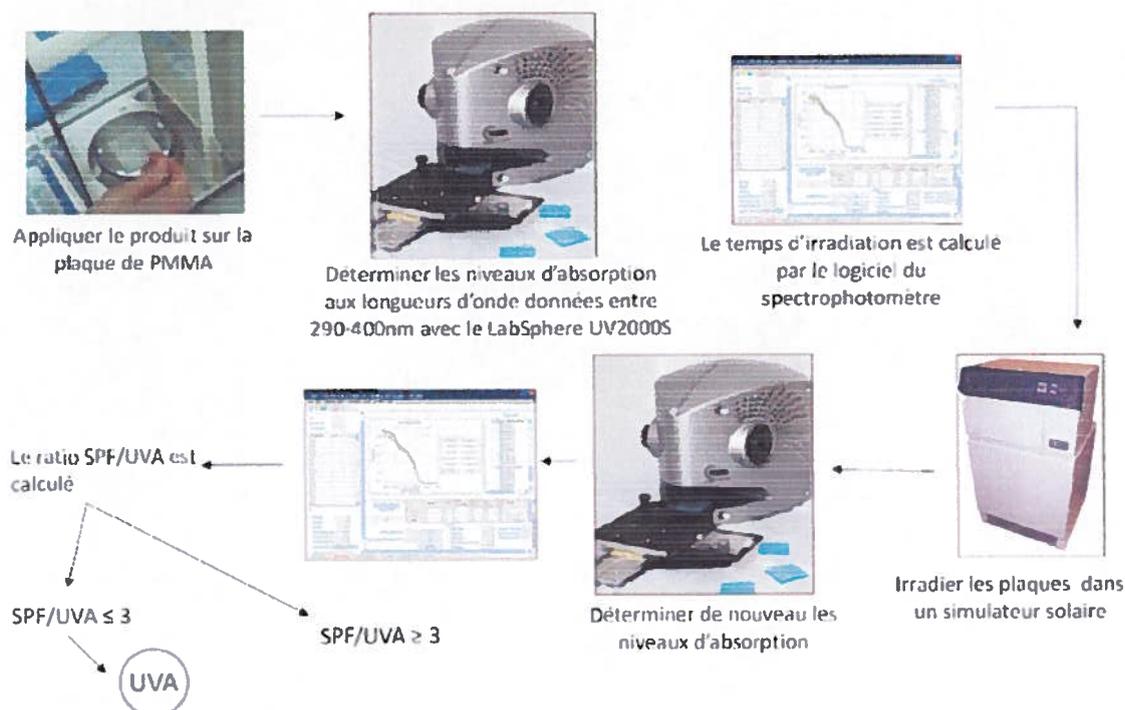


Figure 63 : Détermination *in vitro* du niveau de protection UVA selon le protocole du COLIPA

Pour que cette méthode puisse être mise en œuvre, il faut, au préalable, connaître le SPF déterminé *in vivo*, du produit. En effet le mode de calcul utilisé par le logiciel prend en compte la valeur du SPF déterminée *in vivo*. Le COLIPA propose une feuille de calcul Excel sur son site internet (<http://www.cosmeticseurope.eu/about-cosmetics-europe.html>) qui pallie à l'absence du logiciel *ad hoc*.

Selon le niveau de protection atteint dans le domaine UVB du produit solaire testé, le temps d'irradiation sera plus ou moins long. Ce temps sera déterminé par calcul. Plus la protection UVB est élevée, plus le temps d'irradiation sera long.

Cette méthode de détermination de la protection UVA tient compte de la photostabilité des filtres UVA présents dans la formule [189].

Il conviendra de s'assurer que le ratio SPF/FP-UVA est bien supérieur à 3, en conformité avec les recommandations européennes [185].

Pour les mêmes raisons, il faudra s'assurer que la longueur d'onde critique (λ_c) est supérieure ou égale à 370 nm [188].

Rappelons que la longueur d'onde critique traduit la largeur du spectre d'absorption d'un produit solaire. Il s'agit de la longueur d'onde à partir de laquelle l'intégrale de la courbe du spectre d'absorption atteint 90% de l'intégrale entre 290 et 400 nm [188]. Elle ne peut être déterminée qu'*in vitro* grâce à un logiciel adapté.

1.2.3.4.2.2. Méthode in vitro mise au point au LPiC

Par analogie avec ce que nous avons vu pour le SPF et en se plaçant dans le domaine UVA, on peut déterminer *in vitro*, le facteur de protection UVA, soit :

$$FP - UVA = \frac{\sum_{320}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} \Delta_{\lambda}}{\sum_{320}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} T_{\lambda} \Delta_{\lambda}}$$

avec E_{λ} , efficacité érythématogène spectrale (CIE) ;
 S_{λ} , irradiance spectrale solaire ;
et T_{λ} , transmission spectrale de l'échantillon.

Le protocole expérimental est identique à celui mis en œuvre pour la détermination du SPF *in vitro* : le produit est appliqué sur un substrat à raison de 0,6 mg/cm² et les mesures sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre équipé d'une sphère d'intégration.

C'est cette méthode dont nous nous sommes servies dans le cadre de nos recherches.

1.2.3.4.2.3. Règles d'étiquetage

Le COLIPA a proposé un logo à apposer sur l'emballage (figure 64), afin d'informer le consommateur que le niveau de protection offert par le produit dans le domaine UVA est conforme aux recommandations européennes.



Figure 64 : Logo UVA proposé par le COLIPA

1.2.3.4.3. Normalisation des méthodes de détermination des facteurs de protection solaire

En fonction du continent où les produits solaires sont vendus, les règles diffèrent. Tout d'abord, la liste positive des filtres solaires n'est pas la même. Par ailleurs, les règles d'étiquetage fluctuent. Il en est de même pour les tests à réaliser.

Depuis quelques années, des groupes de travail se sont constitués afin de mettre en place des normes ISO afin que les produits solaires soient testés de la même manière, avec les mêmes référentiels, dans le but de faciliter leur comparaison.

Nous avons déjà cité la norme ISO 24444:2010 relative aux tests SPF menés *in vivo*.

En 2011, a été établie la norme ISO 24442:2011 (*Cosmetics -- Sun protection test methods -- in vivo determination of sunscreen UVA protection*).

Aujourd'hui, la norme ISO 24445 (*in vitro determination of SPF*) est encore en discussion. La norme ISO 24443 (*Determination of sunscreen UVA photoprotection in vitro*) est en cours de développement et devra être complétée en 2012.

1.2.3.4.4. Evaluation de la résistance à l'eau d'un produit solaire

1.2.3.4.4.1. Méthode *in vivo*

La méthode, proposée par le COLIPA, repose sur la comparaison des SPF déterminés avant et après immersion des sujets dans un spa, un jacuzzi ou une baignoire à raison de 2 bains successifs de 20 minutes chacun (la température de l'eau étant fixée à $29 \pm 2^\circ\text{C}$) suivis d'une phase de séchage. Un produit est considéré comme résistant à l'eau, si la perte de SPF entre 2 bains successifs est inférieure à 50%. La notion de résistance à l'eau n'est pour l'instant définie que dans le domaine de la protection UVB (une quantification de la diminution de l'efficacité dans le domaine UVA n'étant pas mentionnée). Un standard de crème résistante à l'eau est proposé (tableau 39) [190].

Ingrédient	Nom INCI	% (m/m)
Phase 1	Lanolin	4,50
	Theobroma cacao	2,00
	Glyceryl stearate	3,00
	Stearic acid	2,00
	Octyl dimethyl PABA	7,00
	Benzophenone-3	3,00
Phase 2	Aqua	71,60
	Sorbitol	5,00
	Triethanolamine	1,00
	Methylparaben	0,30
	Propylparaben	0,10
Phase 3	Benzyl alcohol	0,50

Tableau 39 : Composition du standard résistant à l'eau [190]

La méthode COLIPA implique des pré-requis. Il est nécessaire de calculer un intervalle de confiance bilatéral (I_c) à 95 % du SPF_0 par la relation suivante :

$$I_c = m \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}}$$

avec I_c : l'intervalle de confiance à 95 % ;

m : la moyenne ;

s : l'écart type ;

n : le nombre de mesures ;

t : la valeur lue dans la table de Student pour $n-1$ degrés de liberté et $\alpha = 5\%$.

Le test sera considéré comme acceptable si cet intervalle de confiance à 95% est compris dans un intervalle dont les bornes supérieures et inférieures sont égales à la valeur du $SPF_0 \pm 17\%$. Cela signifie que le test sera acceptable si l'incertitude (soit $t \cdot s / n^{1/2}$, notée d) est inférieure à 17 % de la valeur du SPF_0 , soit :

$$\frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} \leq 0.17 \times SPF_0$$

La valeur du pourcentage individuel de résistance à l'eau est déterminée pour chaque mesure, selon la formule suivante :

$$\%WWR_i = \frac{(SPF_{40'} - 1)}{(SPF_0 - 1)} \times 100$$

avec $SPF_{40'}$: la valeur du SPF après 40 minutes d'immersion dans l'eau ;

SPF_0 : la valeur du SPF initial.

Le pourcentage moyen de résistance à l'eau (%WRR) est la moyenne arithmétique des n mesures effectuées sur un produit solaire. Afin de déterminer la confiance en la valeur du pourcentage moyen de résistance à l'eau, on calcule un intervalle de confiance unilatéral à 90 %. La limite inférieure de cet intervalle pour %WRR est :

$$mean\%WWE - d_1$$

avec d_1 , calculé ainsi :

$$d_1 = \frac{t_u \times s}{\sqrt{n}}$$

où s : l'écart type (pour le $SPF_{40'}$) ;

n : le nombre de mesures ;

t_u : la valeur lue dans la table de Student unilatérale pour $n-1$ degrés de liberté et $\alpha = 10\%$.

1.2.3.4.4.2. Méthodes *in vitro*

Pour les mêmes raisons d'éthique et de coût évoquées précédemment, les laboratoires se dirigent vers des méthodes *in vitro* pour la mise en évidence de la résistance à l'eau de leurs produits. Enfin, cela constitue un gain de temps notoire [191-194].

Ce test *in vitro* est particulièrement adapté au développement en milieu industriel.

Il n'y a pas de méthode proposée par le COLIPA. Différentes techniques sont proposées par différents laboratoires. Le principe reste le même ; ce sont juste les matériels utilisés qui changent.

Il s'agit toujours de comparer la valeur de l'absorption avant et après immersion.

Certains paramètres influencent les valeurs de résistance à l'eau : la composition du bain d'immersion [192] et les substrats utilisés. Il semblerait que l'eau distillée possède l'une des meilleures qualités pour ce type de test [193].

La méthode mise au point au LPiC utilise le standard de crème résistante à l'eau proposé par le COLIPA pour la détermination *in vivo*. Le matériel utilisé consiste en une cuve en polycarbonate (Cuve IKA® Werke EH4.1, Grosseron, St Herblain, France) munie d'un système d'agitation doux (5 L.mn^{-1}) et d'un thermoplongeur (IKA® Yellow line Basic ET) permettant de maintenir une température de $29^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ (figure 65).



Figure 65 : Système expérimental de détermination *in vitro* du caractère de résistance à l'eau d'un produit solaire utilisé au LPIC

La qualité de résistance à l'eau du standard COLIPA a bien été vérifiée ; *a contrario*, une émulsion L/H, donc lavable à l'eau et formulée par nos soins, s'est bien avérée non résistante à l'eau [193].

L'un des intérêts de ce protocole est la détermination simultanée du caractère de résistance à l'eau, aussi bien dans le domaine UVB (seul pris en compte par la méthode COLIPA) qu'UVA.

1.2.3.4.4.3. Règles d'étiquetage

Les fabricants peuvent spécifier sur les emballages que le produit est résistant à l'eau. Les allégations qu'il est possible de mettre en avant sont les suivantes : un produit est qualifié de « résistant à l'eau », si la perte de SPF entre 2 bains successifs de 20 minutes est inférieure à 50%. Il sera dit « très résistant à l'eau », si la perte de SPF après 80 minutes d'immersion est inférieure à 50% [190].

1.2.3.4.5. Résistance à la friction

De nouvelles revendications commencent à apparaître sur les emballages des produits solaires pour enfants. On citera, par exemple, les allégations « produit résistant à la friction de la serviette de bain » ou encore « produit résistant à la friction du sable ». Il n'y a pour le moment aucune réglementation européenne en la matière.

Différentes méthodes ont été publiées afin de prouver ces nouvelles revendications.

Stokes et Diffey, en 2000, ont mis au point une méthode *ex vivo* afin de tester la résistance à la friction exercée par du sable sur épiderme humain excisé. Il s'avère que les formules ayant la plus forte résistance démontrent une grande substantivité pour la « peau ». Toutefois, il est difficile de conclure, car la reproductibilité est très faible [195].

Une autre méthode a été proposée pour évaluer la résistance à la friction avec une serviette. Dans le protocole *in vitro* utilisé pour déterminer la résistance à l'eau, le séchage est réalisé avec une serviette en coton. Celle-ci est fixée sur un équipement qui permet d'essuyer le substrat enduit de crème solaire avec une pression contrôlée [196]. Cette méthode est plus réaliste que celle précédemment citée et permet une meilleure reproductibilité des résultats obtenus.

Aucune méthode pour le moment n'a été publiée pour évaluer la résistance à la sueur [197]. Certains pensent remplacer l'eau du bain d'immersion pour le test de résistance à l'eau *in vitro*, par de la sueur eccrine reconstituée. Différentes formules de sueur sont utilisées à l'heure actuelle pour tester, par exemple, les montres (norme ISO 3160-1 : 1998), la résistance de la couleur des objets de tous les jours mis en contact avec la sueur (DIN 53160-2 : 2010). Il serait donc possible d'utiliser celles-ci dans le domaine des produits solaires.

1.2.3.4.6. Evaluation de la photo-stabilité d'un produit solaire

Cette propriété est encore très peu prise en compte et ne fait l'objet d'aucune norme. Toutefois, c'est un caractère essentiel, puisqu'il conditionne l'assurance d'une protection efficace sur plusieurs heures [198].

Seule une méthode *in vitro* est proposée actuellement pour caractériser cet aspect. En effet, Couteau *et al.*, en 2007, ont mis au point une méthode *in vitro* d'étude de la photo-stabilité des produits solaires.

Les auteurs ont cherché à reproduire, par un protocole expérimental, les conditions d'irradiation d'un produit solaire. Pour ce faire, des plaques de PMMA enduites de produit solaire ont fait l'objet d'une première détermination du SPF à t_0 soit SPF_0 ; elles sont ensuite placées dans un simulateur solaire (Suntest CPS+, Atlas, Moussy le Neuf, France) équipé d'une lampe au xénon (1500 watts) et de filtres de façon à filtrer les radiations UVC. La température des échantillons est maintenue constante grâce à un système de refroidissement utilisant un circuit d'eau. L'émission est maintenue à 650 W/m^2 , valeur en accord avec la CIE. La mesure est réalisée en triple exemplaire. Le temps d'irradiation a été fixé à 2 heures en accord avec les conditions classiques d'utilisation des produits solaires. Le SPF est alors, à nouveau, déterminé (SPF_{2h}).

On considérera qu'un produit est photo-stable, s'il conserve plus de 90% de son efficacité, dans ces conditions expérimentales [199].

2. PARTIE EXPERIMENTALE

Notre travail de thèse s'inscrit dans la thématique « Peau et soleil » développée au LPiC depuis le début des années 2000.

On pourra distinguer deux axes principaux : la mise au point de protocoles expérimentaux permettant la mise en évidence de la résistance à l'eau de produits solaires, et le criblage de molécules d'intérêt dans le domaine de la photo-protection topique.

2.1. MISE AU POINT DE NOUVELLES METHODES POUR LA DETERMINATION DE LA RESISTANCE A L'EAU DES PRODUITS SOLAIRES

2.1.1. Comparaison de deux méthodes *in vitro* d'évaluation du caractère de résistance à l'eau des produits solaires

Comme nous l'avons vu précédemment, une méthode *in vitro* a été développée au LPiC pour évaluer la résistance à l'eau des produits solaires [193]. Un équipement spécifique est utilisé expérimentalement.

Le but de mon travail a été de démontrer qu'un matériel différent, très utilisé dans l'industrie pharmaceutique permettait d'obtenir des résultats équivalents. Quelle que soit la méthode *in vitro* utilisée, les résultats doivent être reproductibles et fiables.

2.1.1.1. MATERIEL ET METHODES

2.1.1.1.1. Produits solaires testés

Différentes formules ont été testées avec les deux équipements, selon le même protocole.

Le standard COLIPA (tableau 39) a servi de référence dans notre étude.
Les produits solaires testés sont présentés tableau 40.

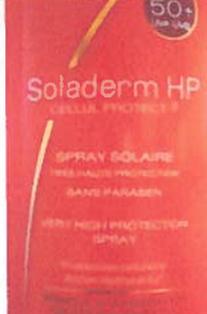
Produit	Emballage	Revendications	Composition en filtres UV
Nivea SPF50+			Octocrylene, Butylene Glycol Dicaprylate/Dicaprate (and) Titanium Dioxide (and) Silica (and) Polyglyceryl-2 Dipolyhydroxystearate, Butyl Methoxydibenzoylmethane, Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine, Homosalate, Sodium Phenylbenzimidazole Sulfonate, Diethylhexylbutamido Triazone, Ethylhexyl Methoxycinnamate
Uriage SPF50+			Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol, Octocrylene, Ethylhexyl Triazone, Butyl Methoxydibenzoylmethane
Vichy SPF50+ Kids Lait			Ethylhexyl Salicylate, Titanium Dioxide, Butyl Methoxydibenzoylmethane, Octocrylene, Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine, Terephthaliidene Dicamphor Sulfonic Acid, Ethylhexyl Triazone, Drometrizole Trisiloxane
Noreva SPF50+			Ethylhexyl Salicylate, Titanium Dioxide, Butyl Methoxydibenzoylmethane, Octocrylene, Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine, Terephthaliidene Dicamphor Sulfonic Acid, Ethylhexyl Triazone, Drometrizole Trisiloxane
Bioderma Photoderm SPF20			Homosalate, Octocrylene, Butyl Methoxydibenzoylmethane, Ethylhexyl Salicylate, Methylene Bis-Benzotriazolyl Tetramethylbutylphenol, Phenylbenzimidazole Sulfonic Acid, Bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine

Tableau 40 : Produits du commerce testés

Enfin, trois formules, préparées au laboratoire, ont été également évaluées. Elles sont présentées dans le tableau 41. Deux ingrédients de type polymères filmogènes hydrophobes, Cosmedia® DC et Antaron® V-220F, présentés par les fournisseurs comme permettant d'augmenter la résistance à l'eau des produits, ont été testés en les incorporant à la formule réalisée au laboratoire, à raison respectivement de 3 et 5% (m/m) conformément à leur fiche technique.

Phase	Ingrédient (nom INCI)	Fournisseur	Emulsion 1	Emulsion 2	Emulsion 3
			% (m/m)	% (m/m)	% (m/m)
A	Lanolin	Cooper	4,50	4,50	4,50
	Theobroma cacao	Sederma	2,00	2,00	2,00
	Glyceryl stearate	Gattefossé	3,00	3,00	3,00
	Stearic acid	Cooper	2,00	2,00	2,00
	Octocrylene	Merck	8,00	8,00	8,00
	Diethylaminohydroxybenzoyl hexylbenzoate	BASF	8,00	8,00	8,00
	Homosalate	Merck	4,00	4,00	4,00
	Octyl methoxycinnamate	BASF	8,00	8,00	8,00
	Hydrogenated dimer dilinoleyl/dimethylcarbonate copolymer	BASF	-	3,00	-
VP/eicosene copolymer	Ashland	-	-	5,00	
B	Sorbitol (70%)	Roquette	5,00	5,00	5,00
	Sodium propylparaben	Merck	0,10	0,10	0,10
	Sodium methylparaben	Cooper	0,30	0,30	0,30
	Triethanolamine	Cooper	1,00	1,00	1,00
	Aqua	-	qsp 100,00	qsp 100,00	qsp 100,00
C	Benzyl alcohol	Janssen Chemica	0,50	0,50	0,50

Tableau 41 : Formules réalisées au laboratoire

Le protocole de fabrication est détaillé ci-dessous :

- pesée des phases lipophile (A) et hydrophile (B) ;
- gélification de la phase hydrophile par agitation à la spatule ;
- chauffage des deux phases à 70°C ;
- émulsification à l'aide d'un agitateur à pales (IKA® Yellow line OST Basic, Staufen, Allemagne) à raison de 900 tr/min ;
- ajout de la phase C à 50°C ;
- conditionnement de l'émulsion, après retour à température ambiante.

2.1.1.1.2. Méthode

Les deux procédures mises en œuvre permettent de déterminer *in vitro* le pourcentage de résistance à l'eau des produits solaires, par comparaison du SPF avant et après immersion.

Le substrat utilisé durant les tests est une plaque de PMMA de 25 cm², d'une rugosité de 6 µm (Europlast, Aubervilliers, France). Les produits solaires seront appliqués à raison de 0,6 mg/cm².

Le premier système utilisé (figure 66) est celui qui a été utilisé lors de la mise au point de la méthode [193]. Les plaques de PMMA sont placées sur des supports en métal (haemolysis tube rack 12T 3x4, Grosseron, St Herblain, France). Ces supports sont ensuite plongés dans une cuve en polycarbonate (Cuve IKA® Werke EH4.1, Grosseron, St Herblain, France) remplie d'eau distillée, dont la température constante est réglée à l'aide d'un thermostat (IKA® Yellow Line Basic EH4 basic immersion thermostat, Grosseron, St Herblain, France [pump type : pressure pump / pump pressure max. (0 litres discharge flow) : 0,08 bar / pump pressure max. (0 bar back pressure) : 5L/min]).

Ce système permet de maintenir la température de l'eau à 29 ± 2°C, avec une agitation constante modérée.

Il sera désigné ultérieurement par le terme « bain marie » (BM).

Le deuxième système étudié est un équipement utilisé dans les tests de dissolution des comprimés dans le secteur pharmaceutique (figure 66). Il s'agit du Dissolutest - Sotax® AT 6, système dont la température est maintenue constante à 29 ± 2°C et dans lequel plongent plusieurs tubes en verre. Les plaques de PMMA enduites de produit solaire seront suspendues dans ces récipients remplis d'eau distillée. Chaque tube contient une pale qui tourne à une vitesse constante déterminée.

La vitesse n'ayant pas d'influence sur la résistance des produits solaires, nous avons décidé d'utiliser celle proposée par la Pharmacopée européenne pour le test de dissolution des comprimés, à savoir 75 tours/min [199].

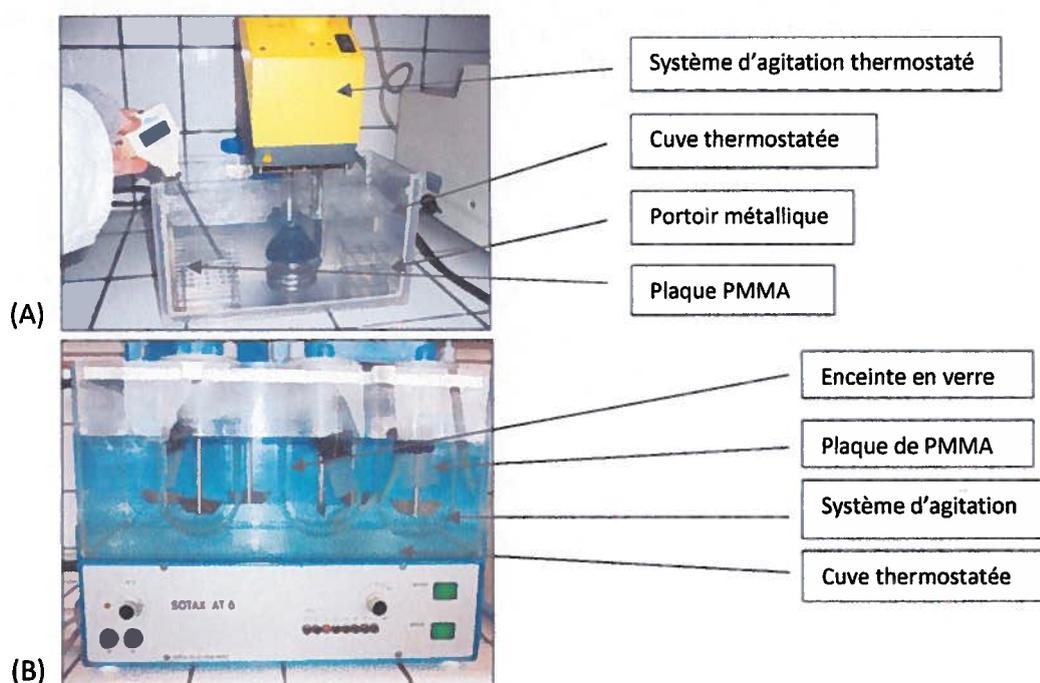


Figure 66 : Systèmes expérimentaux utilisés : bain-marie (A) et Sotax® (B)

2.1.1.1.2.1. Préparation de l'échantillon

Le produit à tester est étalé sur une plaque de PMMA. Pour chaque formule testée, trois plaques sont préparées. Dans un premier temps, la plaque est nettoyée à l'aide d'un mouchoir doux en ouate de cellulose imbibé d'éthanol, afin d'éliminer d'éventuelles impuretés.

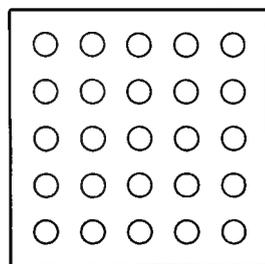
Un blanc est réalisé à l'aide d'une plaque de PMMA imprégnée de glycérine. Cette manipulation préliminaire permet d'obtenir un spectre de référence de transmission proche de 1 [4].

50 mg de produit de texture fluide sont déposés à l'aide d'une pipette Pasteur non stérile à usage unique d'une contenance de 1 mL (Grosseron, Saint Herblain, France) sur la plaque de PMMA tarée. La pesée s'effectue à l'aide d'une balance de précision (Sartorius® TE 2145 (d = 0,1 mg), Göttingen, Allemagne) (figure 67).



Figure 67 : Opération de pesée

On compte environ 20 points de dépôt par plaque, ce qui permet un étalement aisé (figure 68).



(A)



(B)

Figure 68 : Localisation des points de dépôt (A) et étalement (B)

La quantité initiale déposée sera à adapter en fonction de la texture du produit étudié [4]. Le produit est ensuite étalé à l'aide d'un doigtier en latex non poudré (Cooper, Melun, France) par effleurements, jusqu'à obtention d'un film homogène. L'objectif est d'atteindre une masse de $15,0 \pm 0,5$ mg, soit $0,6$ mg/cm². Cette valeur a été fixée après corrélation avec la méthode *in vivo* [4].

La masse finale pesée est notée. L'échantillon est ensuite placé à l'obscurité, à température ambiante, pendant 15 minutes.

2.1.1.1.2.2. Détermination de la résistance à l'eau des produits étudiés

Dans un premier temps, les valeurs de SPF et de FP-UVA sont obtenues en réalisant neuf points de mesure par plaque (figure 69).

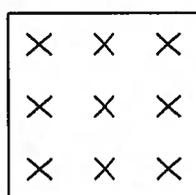


Figure 69 : Les neuf points de mesure sur la plaque de PMMA

La transmission est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre à sphère d'intégration (Labsphere® UV-1000S, St Nom-la-Bretèche, France).

Pour chaque SPF et FP-UVA, une moyenne et un écart type sont calculés à l'aide des vingt-sept valeurs générées.

Ensuite, les plaques sont immergées dans le bain de l'un ou de l'autre des deux équipements précédemment décrits. Le protocole utilisé est le même.

Pour cette étude, nous avons suivi les conditions expérimentales de détermination du caractère de résistance à l'eau établies par Choquet *et al.* [193]. Elles seront appliquées aux deux dispositifs étudiés.

La température du bain-marie et du Sotax® est fixée à 29 ± 2 °C. Une agitation constante est maintenue, à raison de 5 L.min⁻¹ pour le bain-marie, et 75 tr/min pour le Sotax®.

Une fois le produit appliqué sur les plaques et le SPF initial (SPF₀) mesuré, les plaques sont immergées dans les cuves remplies d'eau distillée, pendant 20 minutes (figure 66). Elles sont séchées entre les deux bains et le SPF₂₀ est déterminé. L'ensemble des opérations est renouvelé (trempage, séchage et mesure) et le SPF₄₀ du produit solaire alors déterminé. On peut ainsi calculer le pourcentage de résistance à l'eau (%WRR) de chaque produit solaire testé. %WTR sera déterminé après une immersion de 80 minutes. Il permet de conclure si le produit est très résistant à l'eau.

2.1.1.2. RESULTATS

Même si la notion de résistance à l'eau n'est définie par le COLIPA que dans le domaine UVB, il nous a paru important d'effectuer également des mesures dans le domaine UVA. Un produit solaire considéré comme résistant à l'eau doit conserver ses propriétés photoprotectrices vis-à-vis des UVB, mais aussi des UVA, après immersion.

Les résultats de résistance à l'eau (WRR et WTR) obtenus dans le domaine UVB pour chaque formule testée figurent dans le tableau 42, ceux dans le domaine UVA sont présentés dans le tableau 43.

Produit solaire testé	Equipement utilisé	SPF ₀ moyen ± écart type	SPF _{40'} moyen ± écart type	%WRR	SPF _{80'} moyen ± écart type	%WTR
Standard COLIPA	BM	12,95 ± 2,85	8,81 ± 1,95	65	7,79 ± 1,37	57
	Sotax	14,00 ± 1,51	9,96 ± 1,11	69	9,2 ± 0,85	63
Nivea SPF50 ⁺	BM	65,58 ± 7,39	57,76 ± 8,28	88	53,80 ± 8,44	82
	Sotax	61,88 ± 7,85	53,28 ± 11,75	86	50,13 ± 8,51	80
Uriage SPF50 ⁺	BM	74,26 ± 9,67	67,91 ± 14,81	91	69,22 ± 12,81	93
	Sotax	74,20 ± 7,95	68,34 ± 10,99	92	70,65 ± 13,63	95
Vichy SPF50 ⁺ Kids Lait	BM	72,69 ± 9,32	99,66 ± 17,65	138	79,82 ± 11,48	110
	Sotax	75,16 ± 12,62	96,44 ± 23,54	129	79,53 ± 17,48	106
Noreva SPF50 ⁺	BM	62,76 ± 4,88	60,33 ± 7,50	96	87,27 ± 18,65	140
	Sotax	65,85 ± 6,97	64,24 ± 10,82	98	86,68 ± 12,76	132
Bioderma Photoderm SPF20	BM	28,46 ± 4,18	30,96 ± 11,70	109	28,41 ± 6,91	100
	Sotax	27,14 ± 3,52	27,56 ± 3,95	102	23,26 ± 4,25	85
Emulsion 1	BM	64,91 ± 6,52	40,96 ± 6,90	63	40,63 ± 6,11	62
	Sotax	63,44 ± 8,15	40,18 ± 4,40	63	41,90 ± 4,71	66
Emulsion2	BM	56,54 ± 5,70	45,12 ± 5,01	79	46,03 ± 5,38	81
	Sotax	58,70 ± 7,22	42,83 ± 7,63	72	43,48 ± 8,18	74
Emulsion 3	BM	52,78 ± 4,83	29,15 ± 5,55	54	28,06 ± 5,13	52
	Sotax	56,96 ± 4,57	33,25 ± 3,60	58	33,52 ± 3,48	58

Tableau 42 : Résultats de résistance à l'eau dans le domaine UVB

Produit solaire testé	Equipement utilisé	SPF ₀ moyen ± écart type	SPF _{40'} moyen ± écart type	%WRR	SPF _{80'} moyen ± écart type	%WTR
Standard COLIPA	BM	3,64 ± 0,36	2,49 ± 0,25	56	2,21 ± 0,19	46
	Sotax	3,77 ± 0,20	2,72 ± 0,12	62	2,42 ± 0,09	51
Nivéa SPF50 ⁺	BM	32,57 ± 2,56	33,65 ± 3,61	103	32,02 ± 3,79	98
	Sotax	31,54 ± 3,11	31,57 ± 5,39	100	30,15 ± 4,11	95
Uriage SPF50 ⁺	BM	32,01 ± 3,75	29,22 ± 5,39	91	29,55 ± 4,76	92
	Sotax	32,19 ± 3,11	28,91 ± 3,71	89	30,11 ± 4,73	93
Vichy SPF50 ⁺ Kids Lait	BM	31,01 ± 2,93	37,32 ± 4,91	121	31,00 ± 3,41	100
	Sotax	31,58 ± 3,70	36,69 ± 6,2	117	32,15 ± 4,69	102
Noreva SPF50 ⁺	BM	31,55 ± 2,24	36,69 ± 3,81	117	48,73 ± 8,83	156
	Sotax	32,77 ± 3,19	37,23 ± 5,11	114	47,76 ± 5,78	147
Bioderma Photoderm SPF20	BM	22,49 ± 2,77	23,26 ± 6,96	104	22,38 ± 4,37	99
	Sotax	21,59 ± 2,33	21,60 ± 2,45	100	19,01 ± 2,88	87
Emulsion 1	BM	26,05 ± 2,26	17,94 ± 2,30	68	18,12 ± 1,84	68
	Sotax	24,02 ± 2,46	17,74 ± 1,22	73	18,37 ± 1,51	75
Emulsion2	BM	23,63 ± 1,66	20,00 ± 1,63	84	20,20 ± 1,78	85
	Sotax	22,68 ± 2,22	18,33 ± 2,46	80	18,57 ± 2,61	81
Emulsion 3	BM	21,66 ± 1,49	14,06 ± 1,96	63	13,98 ± 1,91	63
	Sotax	22,58 ± 1,49	15,33 ± 1,23	66	15,57 ± 1,26	68

Tableau 43 : Résultats de résistance à l'eau dans le domaine UVA

2.1.1.2.1. Résultats concernant l'efficacité des produits solaires testés

La première conclusion que nous pouvons tirer de cette étude est que les valeurs obtenues avec les produits du commerce sont en adéquation avec les valeurs affichées sur les emballages. Les résultats obtenus avec le standard COLIPA de résistance à l'eau sont également conformes à ce que prévoit cet organisme, à savoir un SPF compris entre 12 et 15.

Pour les produits formulés au laboratoire, on constate que l'excipient influence le SPF obtenu. Pour un même mélange filtrant, on aura, en effet, un SPF qui pourra varier de 53 à 65. Ceci aura des conséquences importantes sur la catégorie dans laquelle on classera le produit. Une valeur déterminée de 53 permettra un affichage de 50 (produit de haute protection) alors qu'une valeur de 65 permettra de faire figurer la mention 50⁺ (produit de très haute protection).

2.1.1.2.2. Résultats concernant la résistance à l'eau

Par ces différentes mesures, nous avons mis en évidence que, statistiquement, les valeurs de résistance à l'eau obtenues avec l'un ou l'autre des équipements ne sont pas différentes. Les figures 70 et 71 résument les données obtenues, respectivement dans le domaine des UVB et des UVA.

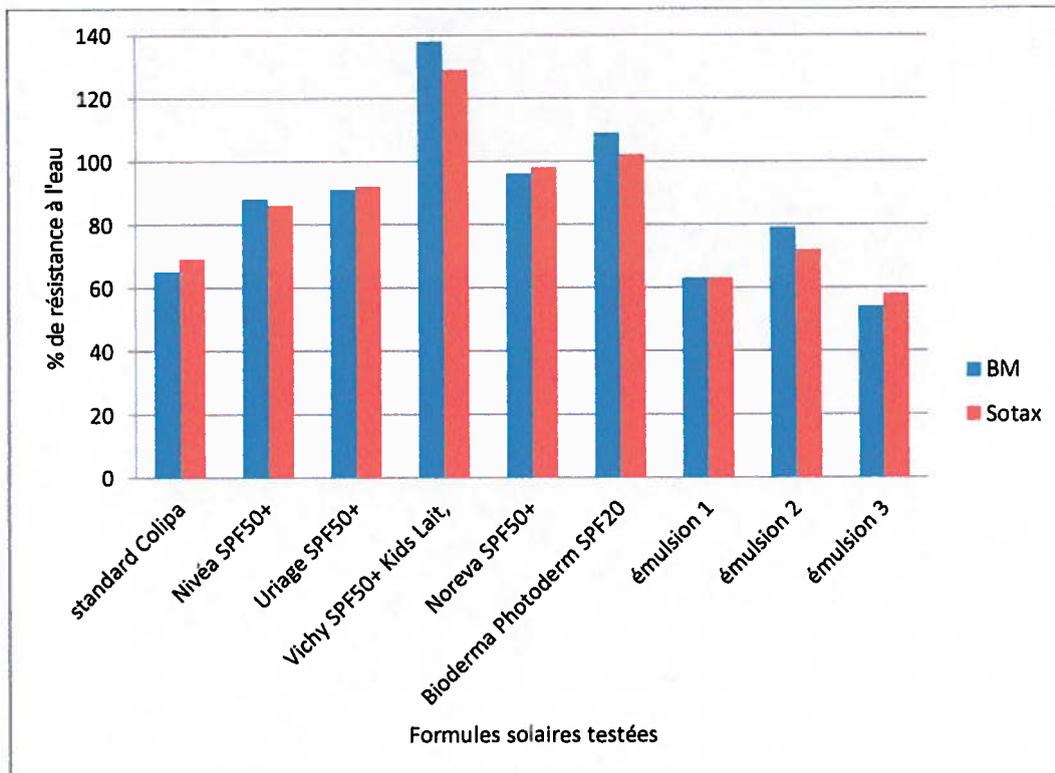


Figure 70 : Pourcentage de résistance à l'eau dans le domaine UVB, après 40 minutes d'immersion

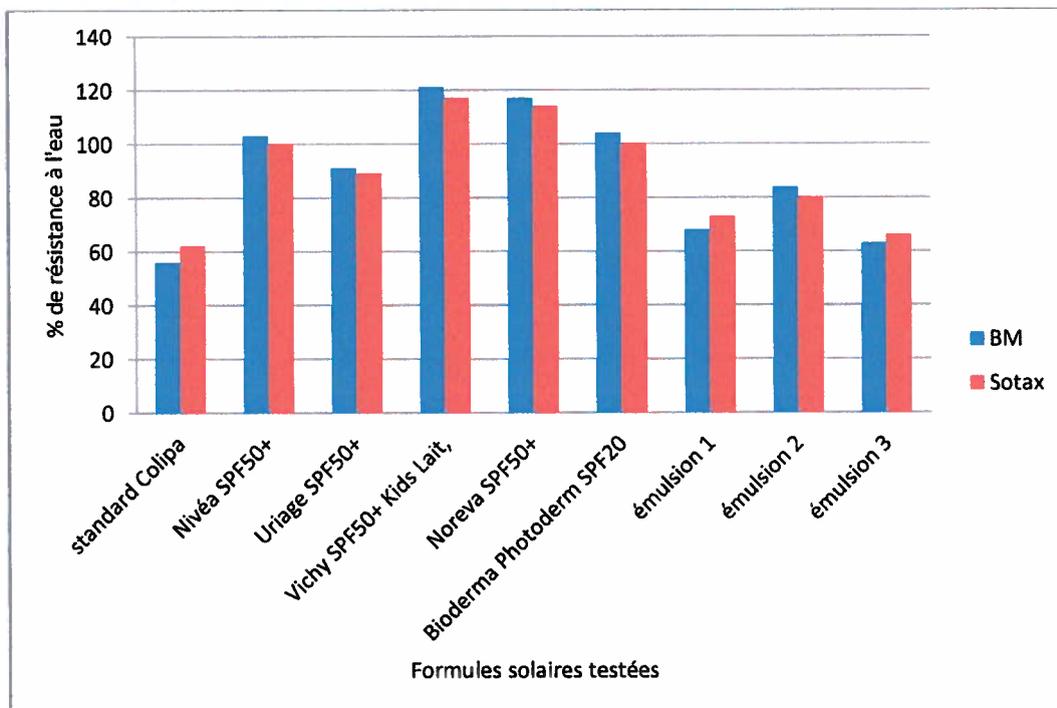


Figure 71 : Pourcentage de résistance à l'eau dans le domaine UVA, après 40 minutes d'immersion

On peut donc conclure à la corrélation des deux méthodes utilisées.

Dans l'industrie, sont de plus en plus recherchées des méthodes alternatives pour déterminer l'efficacité et la résistance à l'eau des produits solaires. Pour la résistance à l'eau, différentes méthodes ont été proposées par adaptation de la méthode *in vivo*. Il s'avère que certains paramètres sont essentiels : le temps d'immersion et l'agitation au sein du bain. Par ailleurs, la température doit être constante et identique à celle requise pour le protocole *in vivo* [101].

Ce travail nous a permis de corréler l'utilisation du Dissolutest - Sotax® à une méthode préalablement mise au point.

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue *Die Pharmazie* (Annexe 1).

2.1.2. Mise au point d'une méthode rapide de détermination de la résistance à l'eau des produits solaires

La mise au point des produits solaires est longue du fait de l'étape de formulation qui requiert du temps, mais aussi à cause des tests à réaliser pour prouver leur efficacité. De plus en plus, les laboratoires se tournent vers les méthodes *in vitro* pour les aider dans leur recherche. Les résultats obtenus seront confirmés par des tests menés *in vivo* pour les formules retenues.

La méthode *in vitro* de résistance à l'eau est relativement longue. Elle nécessite un minimum de 40 minutes d'immersion en plus de la préparation des plaques à tester, ainsi que la détermination du SPF initial.

Nous avons cherché à raccourcir la durée de la manipulation et à voir s'il était possible d'extrapoler les résultats obtenus à ceux d'une étude complète.

2.1.2.1. MATERIEL

Plusieurs formules ont été étudiées.

Dans un premier temps, onze émulsions ont été réalisées à partir d'une formule de base résistante à l'eau (tableau 44), en faisant varier la composition de la phase lipophile.

Ingrédient (nom INCI)	% (m/m)	Fournisseur
Oil	4,50	-
Theobroma cacao	2,00	Sederma
Glyceryl stearate	3,00	Cooper
Stearic acid	2,00	Cooper
Octyldimethyl PABA	7,00	Symrise
Benzophenone-3	3,00	Symrise
Sorbitol (70%)	5,00	Roquette
Sodium propylparaben	0,10	Merck
Sodium methylparaben	0,30	Merck
Triethanolamine	1,00	Cooper
Benzyl alcohol	0,50	Janssen Chemica
Aqua	qsp 100,00	-

Tableau 44 : Composition de l'émulsion étudiée

Les huiles incorporées sont d'origines végétale, minérale et synthétique. Il s'agit des huiles de ricin, d'argan, de noyaux d'abricot, de colza, de babassu et d'olive, de myristate d'isopropyle, de diméthicone, d'octyldodécanol et de paraffine liquide.

Les émulsions ont été préparées selon le protocole habituel : les phases hydrophile et lipophile sont chauffées séparément à 78-82°C. Sous agitation, la phase grasse est ajoutée à la phase aqueuse afin de créer l'émulsion. Une fois l'émulsion obtenue, l'étape de refroidissement peut commencer.

Dans un deuxième temps, ont été testés différents mélanges de tensioactifs (tableau 45) permettant d'obtenir différentes émulsions L/H.

Composition en tensioactifs (Nom INCI)	HLB
Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%) + Oleth-2 (11,60%)	8,00
Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%) + Oleth-2 (3,00%) + Glyceryl stearate (3,40%)	9,00
Ceteareth-20 (0,60%) + Ceteareth-12 (3,00%) + PEG-8 beeswax (20,00%)	10,00
Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%) + PEG-8 beeswax (20,00%)	10,46
Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%) + Oleth-2 (3,00%)	10,96
Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%) + PEG-8 beeswax (8,00%)	11,40
Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%) + Oleth-2 (1,70%)	12,00
Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%) + Oleth-2 (0,62%)	13,15
Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%)	14,00

Tableau 45 : Composition en tensioactifs des émulsions testées

Enfin, des produits du commerce (tableau 46) ont également été testés.

Produit du commerce	SPF revendiqué	Revendication de résistance à l'eau
Nivéa Spray protecteur hydratant	SPF50 ⁺	résistant à l'eau
Eucerin Kids sun spray	SPF50 ⁺	très résistant à l'eau
La Roche Posay Lait intolérances solaires	SPF50 ⁺	résistant à l'eau
Noreva Soladerm HP spray solaire	SPF50 ⁺	résistant à la transpiration
Skinceuticals Advances UV defense	SPF30	-
Boots Solei Spray solare	SPF15	résistant à l'eau
Klorane Polysianes Lait fondant hydratant	SPF30	-
Carrefour discount Lait solaire visage et corps	SPF30	résistant à l'eau
Hawaiian Tropic Sensitive face sun lotion	SPF30	-
Baïdoia Sun Lait solaire hydratant	SPF15	-
Soleil Biafine Lait spray solaire	SPF30	résistant à l'eau
Daylong ultra lotion solaire aux liposomes	SPF25	extra résistant à l'eau
Piz Buin Sun lotion	SPF30	résistant à l'eau et à la transpiration
Biotherm Anti-rides solaires multi-protection	SPF15	résistant à l'eau

Tableau 46 : Produits du commerce testés

2.1.2.2. METHODE

Le substrat utilisé est toujours une plaque de PMMA de 25 cm² et d'une rugosité de 6 µm (Europlast, Aubervilliers, France). Les produits solaires seront appliqués à raison de 0,6 mg/cm².

Le système utilisé pour immerger les produits appliqués sur les plaques est celui mis au point au LPiC, par B. Choquet au cours de ses travaux de Thèse [193]. Le principe est le même que celui détaillé précédemment. Les plaques sont placées sur des supports métalliques, qui seront ensuite plongées dans une cuve remplie d'eau distillée. La température et l'agitation sont contrôlées et constantes (29 ± 2°C / 5 L.min⁻¹).

Nous déterminerons *in vitro* le pourcentage de résistance à l'eau des produits solaires testés en déterminant le SPF avant et après des bains successifs. Le SPF sera déterminé pour certaines formules testées toutes les 20 minutes, de t₀ à t₄₀ et pour d'autres toutes les 5 minutes de t₀ à t₂₀.

2.1.2.3. RESULTATS

2.1.2.3.1. Résultats obtenus avec les formules réalisées au laboratoire

Dans un premier temps, nous avons testé les émulsions formulées au LPiC avec différentes huiles, après une période d'immersion totale de 40 minutes. La formule de base (tableau 44) utilisée présente un caractère de résistance à l'eau.

Les SPF ont été déterminés à t_0 , t_{20} et t_{40} . Les résultats de résistance à l'eau (WRR) dans le domaine UVB obtenus pour cette première partie d'étude figurent dans le tableau 47.

Huile testée	% WRR (20 minutes)	% WRR (40 minutes)
Ricinus communis oil	79	73
Argani spinosa oil	72	66
Prunus armeniaca kernel oil	77	69
Brassica napus oil	74	70
Prunus amygdalus dulcis oil	76	71
Olea europea oil	71	69
Orbignya barbosiana oil	75	68
Isopropyl myristate	79	71
Dimethicone	80	69
Octyldodecanol	78	76
Paraffinum liquidum	75	71

Tableau 47 : Résultats concernant le caractère de résistance à l'eau des produits formulés au laboratoire avec les différentes huiles

On constate que les résultats de résistance à l'eau obtenus au bout de 20 minutes sont systématiquement supérieurs à ceux obtenus au bout de 40 minutes (figure 72).

Tout produit résistant à l'eau au bout de 20 minutes l'est encore au bout de 40 minutes.

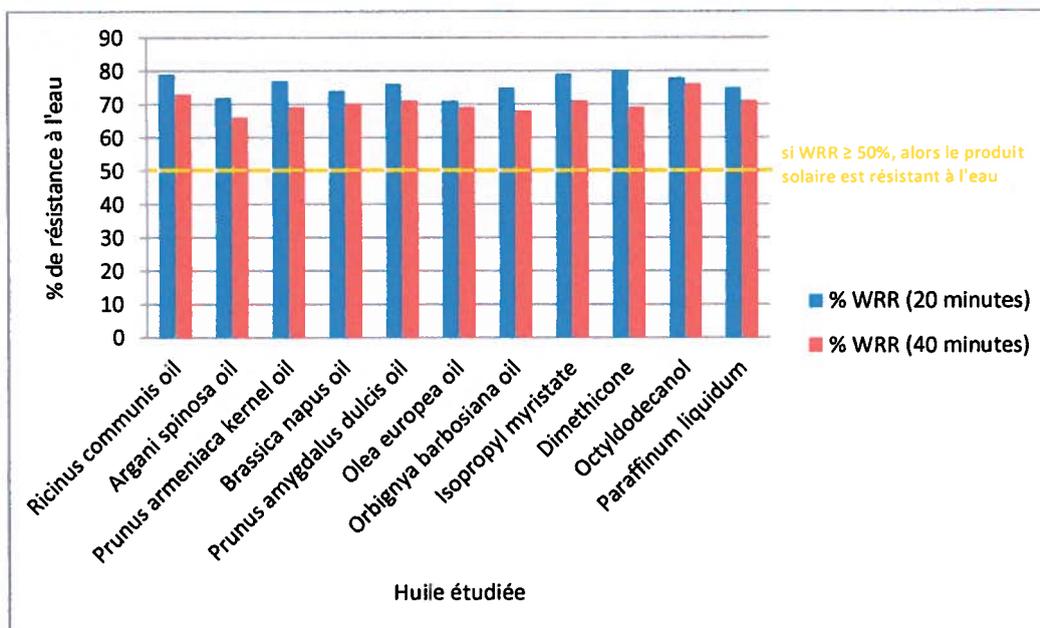


Figure 72 : Influence du temps d'immersion sur les résultats de résistance à l'eau

De plus, il est à noter que la nature de l'huile incorporée n'influence que peu le résultat obtenu.

2.1.2.3.2. Résultats obtenus avec les formules réalisées au laboratoire contenant différentes associations de tensioactifs

Pour les produits formulés au laboratoire et ne présentant pas de caractère de résistance à l'eau, on constate que la perte de résistance à l'eau est observable dès 20 minutes (figure 73).

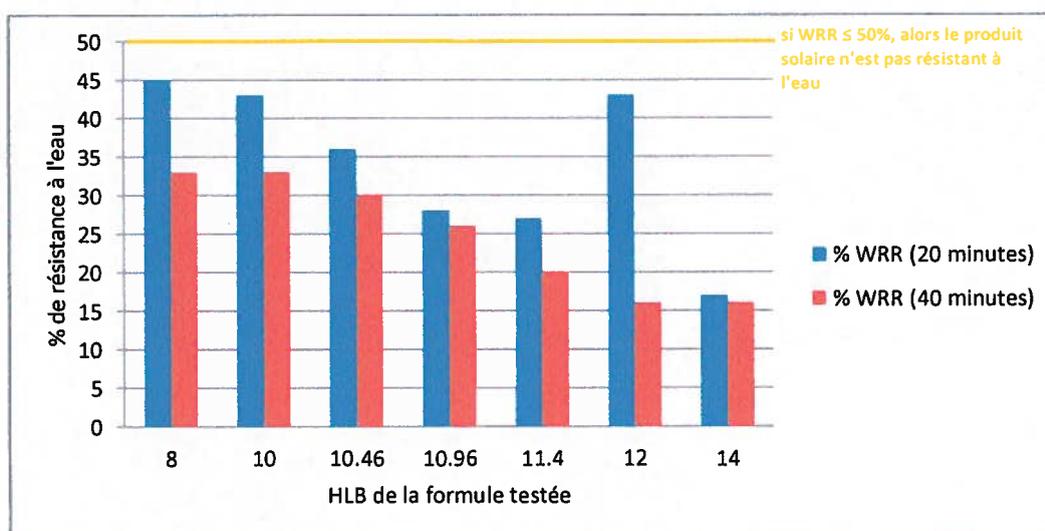


Figure 73 : Intérêt d'une période de 20 minutes pour la détermination rapide du caractère de résistance à l'eau d'un produit solaire

Cela confirme que le HLB a une influence sur cette propriété.

Nous pouvons ainsi établir que les vingt premières minutes du protocole sont suffisamment discriminantes. Suite à ces résultats préliminaires, nous avons poursuivi nos investigations et étudié le comportement de produits du commerce, afin de confirmer nos conclusions.

2.1.2.3.3. Résultats obtenus avec les produits du commerce

Dans un premier temps, nous avons voulu vérifier l'efficacité dans le domaine UVB des produits du commerce choisis (tableau 48).

Produit du commerce	SPF ₀ ± écart type
Nivéa Spray protecteur hydratant SPF50 ⁺ - résistant à l'eau	66,79 ± 8,00
Eucerin Kids sun spray SPF50 ⁺ - très résistant à l'eau	63,97 ± 8,91
La Roche Posay Lait intolérances solaires SPF50 ⁺ - résistant à l'eau	41,81 ± 4,93
Noreva Soladerm HP spray solaire SPF50 ⁺ - résistant à la transpiration	54,58 ± 6,16
Skinceuticals Advances UV defense SPF30	37,71 ± 5,07
Boots Solei Spray solaire SPF15 - résistant à l'eau	19,07 ± 1,80
Klorane Polysianes Lait fondant hydratant SPF30	54,48 ± 9,68
Carrefour discount Lait solaire visage et corps SPF30 - résistant à l'eau	43,26 ± 6,17
Hawaiian Tropic Sensitive face sun lotion SPF30	27,60 ± 3,66
Baidoa Sun Lait solaire hydratant SPF15	28,64 ± 1,62
Soleil Biafine Lait spray solaire SPF30 - résistant à l'eau	31,04 ± 5,83
Daylong ultra lotion solaire aux liposomes SPF25 - extra résistant à l'eau	48,68 ± 5,49
Piz Buin Sun lotion SPF30 - résistant à l'eau et à la transpiration	20,12 ± 2,40
Biotherm Anti-rides solaires multi-protection SPF15 - résistant à l'eau	14,77 ± 2,41

Tableau 48 : SPF₀ des produits du commerce testés

Il est à noter que pour la majorité des produits testés, les résultats obtenus sont en concordance avec les valeurs affichées. Seuls 2 produits présentent des SPF déterminés très inférieurs au SPF affiché.

Les résultats concernant leur caractère de résistance à l'eau sont présentés tableau 49.

Produit du commerce	% WRR ₅	% WRR ₁₀	% WRR ₁₅	% WRR ₂₀	% WRR ₄₀
Nivéa SPF50 ⁺	101	79	78	77	77
Eucerin SPF50 ⁺	88	82	74	72	71
La Roche Posay SPF50 ⁺	53	52	45	47	43
Noreva SPF50 ⁺	98	92	90	90	90
Skinceuticals SPF30	71	72	67	67	60
Boots SPF15	86	79	76	74	67
Klorane SPF30	95	92	91	89	88
Carrefour discount SPF30	41	36	32	30	28
Hawaiian Tropic SPF30	56	53	45	36	31
Baidoa Sun SPF15	99	96	95	89	83
Soleil Biafine SPF30	62	60	57	56	52
Daylong SPF25	99	90	88	85	80
Piz Buin SPF30	98	90	79	77	70
Biotherm SPF15	77	70	67	65	62

Tableau 49 : Evaluation du caractère de résistance à l'eau des produits du commerce en fonction du temps d'immersion (en minutes)

Les produits Skinceuticals[®] et Polysianes[®] sont résistants à l'eau, bien que ce caractère ne soit pas revendiqué. En revanche, les produits Carrefour discount[®] et La Roche Posay[®] qui affichent ce caractère perdent plus de 50% de leur efficacité respectivement dès 5 et 10 minutes. Le produit Hawaiian[®] est non résistant à l'eau, il n'était d'ailleurs pas fait mention de ce caractère sur l'emballage.

2.1.2.3.4. Conclusion

On distinguera donc 2 catégories de produits : ceux qui conservent plus de 70% de leur efficacité après 5 minutes d'immersion dans l'eau et ceux qui perdent environ 50% dans le même temps.

Une durée d'immersion de 5 minutes permet donc très précocement d'apprécier la qualité d'un produit en termes de résistance à l'eau.

Un produit qui après seulement 5 minutes d'immersion ne permet de conserver que 50% du SPF initial est un produit qui mérite d'être modifié du point de vue de sa composition. S'il est conforme d'un point de vue réglementaire, il est loin d'être satisfaisant d'un point de vue de sa sécurité d'emploi.

Il est tout à fait possible pour le formulateur de prévoir le caractère de résistance à l'eau des produits réalisés. Ceci dépendra du choix des tensioactifs incorporés. Cette première estimation pourra être confirmée par le test rapide mis au point dans notre étude.

En ce qui concerne les produits du commerce, la simple lecture de la composition permet très difficilement de statuer sur le caractère de résistance à l'eau. Là encore le test présenté ici s'avère très utile car il renseigne très rapidement sur le comportement du produit.

Enfin, pour effectuer le screening d'ingrédients à caractère « booster » de résistance à l'eau, ce test ne nécessitant que 5 minutes pourra être envisagé afin de multiplier les essais.

Ce travail est actuellement soumis pour publication dans la revue *Die Pharmazie* (Annexe 2).

2.2. CRIBLAGE DE MOLECULES D'INTERET EN TERMES DE PHOTO-PROTECTION TOPIQUE

Dans cette étude, nous avons recherché des ingrédients permettant d'améliorer les qualités des produits solaires en termes de résistance à l'eau et d'efficacité.

2.2.1. Ingrédients visant à augmenter l'efficacité en termes de résistance à l'eau

2.2.1.1. ETUDE DE L'INFLUENCE DE L'EXCIPIENT SUR LE CARACTERE RESISTANT A L'EAU DES PRODUITS SOLAIRES

Outre leur efficacité directement liée à leur composition filtrante [169], les produits solaires doivent être résistants à l'eau, afin de ne pas être éliminés trop rapidement par l'eau de la sueur ou du bain. Ils doivent conserver leur efficacité dans le temps. Il est primordial de mettre au point des formules résistantes à l'eau.

2.2.1.1.1. Matériel

Nous avons souhaité étudier l'influence de l'excipient sur ce paramètre. Pour ce faire, nous avons testé par méthode *in vitro* une émulsion H/L, résistante à l'eau, dans laquelle nous avons incorporé différents ingrédients afin d'en évaluer l'effet.

Les 21 ingrédients testés (tableau 50) sont présentés par les fournisseurs comme susceptibles d'augmenter le caractère de résistance à l'eau des produits solaires.

Nom INCI	Formule	Fournisseur	% m/m	Solubilité
Lanolin	1	Cooper	4,5	huile
Butyrospermum parkii	2	Cooper	4,5	huile
Coconut oil	3	Cooper	4,5	huile
Paraffinum	4	Cooper	4,5	huile
Glyceryl stearate, behenyl alcohol, palmitic acid, stearic acid, lecithin, lauryl alcohol, cetyl alcohol	5	ISP	5,0	huile
Hydrogenated vegetable oil	6	Cognis	4,5	huile
Hydrogenated vegetable oil	7	Cognis	4,5	huile
Polyester-5	8	Unipex	2,0	eau
VP/eicosene copolymer	9	ISP	5,0	huile
Hydrogenated dimer dilinoyl/dimethylcarbonate copolymer	10	Cognis	3,0	huile
Polyisobutene	11	Evonik	10,0	huile
Acrylates/C12-22 alkylmethacrylate copolymer	12	ISP	2,0	eau
VP/dimethiconylacrylate/polycarbamyl/polyglycol ester	13	Corneilus group	8,0	huile
Polyethylene	14	Honeywell international	2,0	huile
Microcrystalline cellulose, cellulose gum	15	Adina	10,0	eau
Squalane, ethylene/propylene copolymer	16	Créations couleurs	5,0	huile
Acrylic acid/VP crosspolymer	17	ISP	1,0	eau
Ethylenediamine/hydrogenated dimer dilinoleate copolymer bis-di C14-18 alkyl amide	18	Jan Dekker	30,0	huile
Polyamide-3	19	Jan Dekker	4,0	eau
Dicaprylyl carbonate, stearalkonium hectorite, propylene carbonate	20	Cognis	10,0	huile
Limnanthes alba (meadowfoam) seed oil, disteardimonium hectorite, propylene carbonate	21	Créations couleurs	20,0	huile

Tableau 50 : Les 21 ingrédients testés

Majoritairement, deux catégories d'ingrédients ont été testés : des corps gras (formules 1 à 7) et des polymères de natures diverses et revendiqués comme des *film-former* (formules 8 à 19). Les ingrédients permettant de réaliser les formules 20 et 21 sont des dispersions d'argile dans de l'huile.

Chaque ingrédient a été incorporé dans une formule de base (tableau 51) au pourcentage préconisé par le fournisseur, selon le protocole habituel.

Ingrédient (nom INCI)	% (m/m)	Fournisseur
Theobroma cacao	2,00	Sederma
Glyceryl stearate	3,00	Gattefossé
Stearic acid	2,00	Cooper
Octyldimethyl PABA	7,00	Symrise
Benzophenone-3	3,00	Symrise
Sorbitol (70%)	5,00	Roquette
Sodium propylparaben	0,10	Merck
Sodium methylparaben	0,30	Merck
Triethanolamine	1,00	Cooper
Benzyl alcohol	0,50	Janssen Chemica
Aqua	qsp 100,00	-

Tableau 51 : Composition de l'émulsion de base

Le substrat utilisé pour la détermination du SPF est toujours le même : il s'agit d'une plaque de PMMA de 25 cm², d'une rugosité de 6 µm (Europlast, Aubervilliers, France). Les produits seront appliqués à raison de 0,6 mg/cm².

2.2.1.1.2. Méthode

Le système utilisé pour immerger les plaques imprégnées de produit est le système bain-marie [193]. Le principe est le même que celui décrit précédemment. Les plaques sont placées sur des supports métalliques, qui seront ensuite plongées dans une cuve remplie d'eau distillée. La température et l'agitation sont contrôlées et constantes (29 ± 2°C / 5 L.min⁻¹).

Nous déterminerons *in vitro* le pourcentage de résistance à l'eau des produits formulés par nos soins en déterminant le SPF et le FP-UVA avant et après des bains successifs, toutes les 20 minutes, de t₀ à t₄₀.

2.2.1.1.3. Résultats

La formule de base, servant de contrôle, présente un SPF₀ de 20,91 ± 1,09 et un FP-UVA₀ de 5,52 ± 0,32.

Le tableau 52 présente les résultats de SPF et de FP-UVA à t₀ et au bout de 40 minutes d'immersion dans l'eau, des 21 produits formulés par nos soins.

Formule	SPF ₀ ± écart type	FP-UVA ₀ ± écart type	SPF ₄₀ ± écart type	FP-UVA ₄₀ ± écart type
1	21,16 ± 1,05	5,04 ± 0,19	13,86 ± 0,96	3,29 ± 0,15
2	22,25 ± 1,69	5,08 ± 0,23	15,97 ± 1,31	3,54 ± 0,18
3	21,31 ± 1,29	5,00 ± 0,21	17,00 ± 0,88	3,70 ± 0,10
4	20,30 ± 1,68	4,83 ± 0,25	15,38 ± 1,46	3,35 ± 0,23
5	17,79 ± 1,48	4,71 ± 0,26	12,31 ± 1,15	3,21 ± 0,18
6	19,39 ± 1,46	4,80 ± 0,29	10,06 ± 0,62	2,73 ± 0,1
7	22,01 ± 1,31	4,88 ± 0,98	12,41 ± 0,86	3,20 ± 0,13
8	19,87 ± 1,89	5,23 ± 0,27	14,20 ± 1,77	3,48 ± 0,22
9	22,15 ± 1,97	5,04 ± 0,32	13,24 ± 1,30	3,14 ± 0,17
10	19,13 ± 2,55	4,94 ± 0,30	15,38 ± 1,74	3,55 ± 0,21
11	29,12 ± 3,61	5,86 ± 0,56	19,39 ± 2,71	3,84 ± 0,44
12	12,43 ± 2,24	4,16 ± 0,45	11,79 ± 2,27	3,15 ± 0,30
13	18,83 ± 1,90	5,31 ± 0,52	19,17 ± 2,00	4,10 ± 0,32
14	18,84 ± 1,23	4,94 ± 0,18	17,55 ± 1,31	3,92 ± 0,26
15	14,05 ± 1,13	4,50 ± 0,22	4,34 ± 0,33	2,11 ± 0,10
16	18,75 ± 2,00	4,49 ± 0,33	13,61 ± 2,07	3,13 ± 0,35
17	13,93 ± 0,71	4,05 ± 0,08	5,69 ± 0,42	2,24 ± 0,06
18	17,28 ± 1,22	3,60 ± 0,19	13,00 ± 0,97	2,54 ± 0,15
19	20,42 ± 1,07	4,36 ± 0,15	3,44 ± 0,22	1,95 ± 0,08
20	20,71 ± 1,68	4,35 ± 0,19	17,24 ± 1,19	3,42 ± 0,15
21	16,62 ± 1,17	3,54 ± 0,15	12,96 ± 0,85	2,72 ± 0,12

Tableau 52 : Détermination de l'efficacité des crèmes formulées avant et après 40 minutes d'immersion

On constate que l'excipient a une faible influence sur l'efficacité du produit fini. On obtient majoritairement des produits de même catégorie que la formule standard, à savoir de protection moyenne.

La formule 11 pourrait afficher une valeur de 25. Pour neuf autres produits, un SPF 20 peut être revendiqué (formules 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 19 et 20), comme la formule standard.

Certaines formules présentent des SPF plus faibles, comme les formules 5, 6, 8, 13, 14, 16, 18, 21 pour lesquelles on afficherait 15. Enfin, les trois dernières n'afficheraient qu'une valeur de 10 (formules 12, 15 et F17). Ces dernières formules, les moins intéressantes du point de vue efficacité, sont celles réalisées à partir de gélifiant, à savoir de carbomère et de dérivés de cellulose. Ces ingrédients ne favorisent pas la solubilisation des filtres. Il a été démontré que pour augmenter le SPF, il était nécessaire d'incorporer des ingrédients polaires qui facilitent la solubilisation des filtres UV [201].

La formule de base présente un pourcentage de résistance à l'eau de 70% dans le domaine UVB et de 61% dans le domaine UVA.

Le pourcentage de résistance à l'eau de chaque produit a ensuite été calculé (tableau 53).

Formule	% WRR (domaine UVB)	% WRR (domaine UVA)
1	64	57
2	70	62
3	79	68
4	75	61
5	67	60
6	49	46
7	54	57
8	70	59
9	58	53
10	79	65
11	65	58
12	95	68
13	102	72
14	93	74
15	26	32
16	71	61
17	36	41
18	74	59
19	13	28
20	82	72
21	77	68

Tableau 53 : Caractère de résistance à l'eau dans les domaines UVB et UVA au bout de 40 minutes

Dans tous les cas, les pré-requis en matière de test de résistance à l'eau sont vérifiés. En effet, l'incertitude sur la mesure est systématiquement inférieure à 17% du SPF, les écart-types mesurés étant toujours faibles.

Environ la moitié des ingrédients testés permettent d'obtenir des formules équivalentes ou supérieures à la formule de base, en termes de résistance à l'eau (tableau 50). Des polymères (Pecogel® dans la formule 13, et Asensa® dans la formule 14) s'avèrent particulièrement efficaces avec des pourcentages de résistance à l'eau observés proches de 100%. Dans les 2 cas, il s'agit d'ingrédients *film-former* connus pour avoir un grand intérêt dans le domaine des produits solaires [203, 204].

Toutefois, ces ingrédients du fait de leurs propriétés occlusives favorisent le passage transdermique des filtres contenus dans la formule [205]. Il conviendra donc de rechercher un bon compromis entre le caractère occlusif de la préparation et son caractère de résistance à l'eau. En revanche, quatre ingrédients (une huile hydrogénée, un dérivé de cellulose, un carbomère et le polyamide-3) ne présentent aucun intérêt dans le domaine de la résistance à l'eau.

On peut constater que la composition de la phase lipophile est importante, puisque certains ingrédients lipophiles couramment utilisés dans l'industrie cosmétique comme l'huile de coco s'avèrent très efficaces en termes de résistance à l'eau.

De nombreux axes de recherche sont explorés par différents laboratoires cosmétiques. Le recours de polymères filmogènes au sein des formules solaires apparaît comme l'une des solutions les plus simples [206, 207]. Le challenge du formulateur est de s'assurer que les propriétés organoleptiques et sensorielles du produit solaire contenant le polymère ne soient pas compromises [207]. C'est la raison pour laquelle, les silicones sont une bonne alternative : elles augmentent la résistance à l'eau du produit, tout en conservant l'aspect agréable de la formule sur la peau [208, 209].

Ce travail a été soumis pour publication dans la revue *Cosmetics & Toiletries* (Annexe 3).

2.2.1.2. INFLUENCE DE LA BALANCE HYDROPHILE LIPOPHILE (HLB) SUR LE CARACTERE DE RESISTANCE A L'EAU D'EMULSIONS SOLAIRES

Nous avons vu précédemment que pour augmenter la propriété de résistance à l'eau, il est possible d'incorporer certains ingrédients.

Une autre voie de formulation est de jouer sur le caractère hydrophile ou lipophile de la formule.

Le but, ici, est de formuler un produit substantif, résistant à l'eau. Si un environnement hydrophobe est créé, cela sera défavorable à un lavage par l'eau. C'est pour cette raison que l'émulsion H/L est considérée comme le vecteur de choix des filtres UV [202].

La notion de HLB a été introduite pour la première fois par Griffin en 1949, afin de qualifier les tensioactifs non ioniques en fonction de leur plus ou moins grande lipo- ou hydrophilie [210]. Les tensioactifs de faible HLB (3 à 8) permettent d'obtenir des émulsions H/L et les tensioactifs de HLB plus élevés (9 à 12) permettent d'obtenir des émulsions L/H [211]. Griffin ayant démontré que les HLB étaient additifs et de nombreux auteurs recommandant l'association de tensioactifs, il est possible de prévoir la proportion de chaque tensioactif à incorporer au sein d'un mélange afin de réaliser une forme stable.

Le caractère de résistance à l'eau des émulsions anti-solaires étant lié majoritairement à l'excipient utilisé, il est intéressant de déterminer un HLB limite, au-dessus duquel un caractère de résistance à l'eau ne pourra plus être obtenu.

2.2.1.2.1. Matériel

Pour cette étude, partant d'une formule de base (tableau 54), nous avons testé par méthode *in vitro* une série d'émulsions, pour lesquelles nous avons fait varier la composition en tensioactifs.

Ingrédient (nom INCI)	% (m/m)	Fournisseur
Paraffinum liquidum	4,50	Cooper
Theobroma cacao	2,00	Sederma
Tensioactif	qs	-
Cera alba	2,00	Cooper
Octyldimethyl PABA	7,00	Symrise
Benzophenone-3	3,00	Symrise
Sorbitol (70%)	5,00	Roquette
Sodium propylparaben	0,10	Merck
Sodium methylparaben	0,30	Merck
Aqua	qsp 100,00	-

Tableau 54 : Formule de base de l'émulsion testée

Les tensioactifs incorporés dans cette formule, préparée selon le protocole habituel, sont présentés dans le tableau 55.

Nom INCI	Nom commercial	Fournisseur	HLB
Ceteareth-20	Eumulgin B2	Cognis	15,0
Ceteareth-12	Eumulgin B1	Cognis	13,0
Oleth-2	Brij 92V	Quimasso	4,9
Glyceryl stearate	Geleol	Gattefossé	3,9
PEG-8 beeswax	Apifil	Gattefossé	9,4

Tableau 55 : Tensioactifs testés

Différentes associations de tensioactifs ont été réalisées afin d'obtenir des émulsions de HLB allant de 4 à 14 (tableau 56).

Formule	Association de tensioactifs	HLB
1	Glyceryl stearate (3,00%) + Oleth-2 (3,00%)	4,35
2	Glyceryl stearate (3,00%) + Ceteareth-12 (0,45%)	5,00
3	Glyceryl stearate (3,02%) + Ceteareth-12 (0,96%)	6,02
4	Glyceryl stearate (3,00%) + Ceteareth-12 (1,64%)	7,05
5	Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%) + Oleth-2 (11,60%)	8,00
6	Ceteareth-20 (0,60%) + Ceteareth-12 (3,00%) + PEG-8 beeswax (20,00%)	10,00
7	Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%) + Oleth-2 (1,70%)	12,00
8	Ceteareth-20 (3,00%) + Ceteareth-12 (3,00%)	14,00

Tableau 56 : HLB obtenu en fonction de l'association de tensioactifs réalisée

Comme précédemment, le substrat, sur lequel le produit sera appliqué à raison de 0.6 mg/cm², est une plaque de PMMA de 25 cm² et d'une rugosité de 6 µm (Europlast, Aubervilliers, France)

2.2.1.2.2. Méthode

Le système utilisé pour immerger les produits appliqués sur les plaques est le système bain-marie, selon le protocole précédemment décrit.

Nous déterminerons *in vitro* le pourcentage de résistance à l'eau des produits formulés en déterminant le SPF et le FP-UVA avant et après des bains successifs, soit à t₀, puis toutes les 20 minutes, à concurrence de 40 minutes.

2.2.1.2.3. Résultats

Il est à noter que pour un même mélange filtrant, l'efficacité varie assez peu en fonction des tensioactifs choisis. Les émulsions testées présentent, à t₀, un SPF compris entre 16 et 22 (tableau 57) ce qui les inscrit toutes dans la catégorie des produits de « protection moyenne ».

Formule	SPF ± écart type	FP-UVA ± écart type
1	21,93 ± 1,25	4,70 ± 0,17
2	16,32 ± 1,13	4,04 ± 0,20
3	18,88 ± 1,05	4,32 ± 0,15
4	17,42 ± 1,24	4,01 ± 0,18
5	20,76 ± 1,52	4,23 ± 0,21
6	20,27 ± 1,09	4,09 ± 0,17
7	20,17 ± 1,52	4,33 ± 0,20
8	18,03 ± 1,49	4,07 ± 0,22

Tableau 57 : Efficacité à t₀ des émulsions testées

Dans tous les cas, les pré-requis sont vérifiés. En effet, l'incertitude sur la mesure est systématiquement inférieure à 17% du SPF, les écart-types mesurés étant toujours faibles.

L'influence du HLB sur la résistance à l'eau est présentée figure 74.

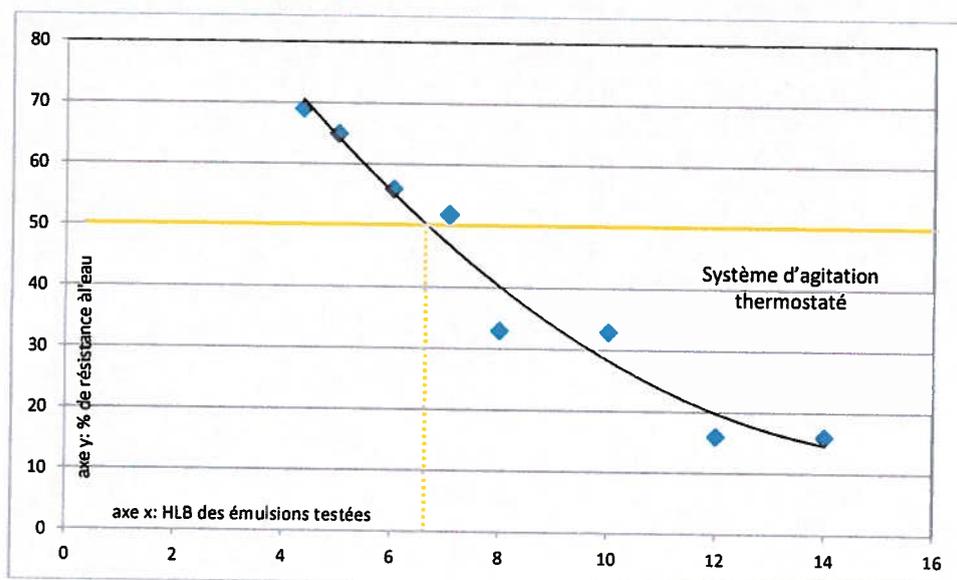


Figure 74 : Influence de la valeur du HLB sur le caractère de résistance à l'eau

Il apparaît clairement qu'une valeur de HLB inférieure à 7 est nécessaire pour réaliser un produit résistant à l'eau. Les émulsions H/L sont donc des vecteurs de choix pour formuler des produits résistants à l'eau.

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue *Drug Development and Industrial Pharmacy* (Annexe 4).

2.2.2. Efficacité en termes de photo-protection

L'un des moyens mis en œuvre pour se protéger des effets néfastes du soleil sur la peau est la photo-protection topique qui consiste en l'utilisation de crèmes formulées à l'aide de filtres organiques et/ou inorganiques, comme vu précédemment. Si leur efficacité est avérée, on se rend compte qu'ils ne sont pas exempts d'effets indésirables pour l'homme (ils peuvent être allergisants, perturbateurs endocriniens...) ou l'environnement (blanchiment du corail, par exemple). Dans ce contexte, il paraît pertinent de rechercher des alternatives. Les organismes végétaux particulièrement exposés au rayonnement solaire produisent des métabolites secondaires dans le but de protéger leur matériel génétique et certains apparaissent déjà comme des sources intéressantes de nouvelles molécules filtrantes pouvant être valorisées dans le domaine des topiques photoprotecteurs.

Pour notre part, nous nous sommes intéressés à la silymarine, constituant de *Silybum marianum*, aux propriétés antioxydantes bien connues [212].

2.2.2.1. MATERIEL

La Silymarine (figure 75) testée a été fournie par la société Bioserae (Bram, France). Son taux de pureté de 80% est exprimé en flavonolignanes dosés par HPLC.

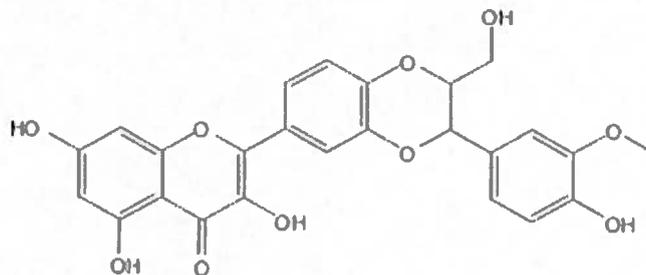


Figure 75 : Structure de la silymarine

2.2.2.2. METHODE

2.2.2.2.1. Formules réalisées à base de silymarine

Des émulsions L/H ont été préparées au LPIC en ajoutant des quantités connues de silymarine dans une formule de base mise au point au laboratoire pour le criblage d'ingrédients [213]. Par ailleurs, des associations ont été réalisées avec de l'oxyde de zinc et du dioxyde de titane à 10% (m/m). La concentration en silymarine est fixée elle aussi à 10% (m/m) dans ce cas.

Pour déterminer l'efficacité photoprotectrice, le substrat utilisé est une plaque de PMMA de 25 cm² et d'une rugosité de 6 µm (Europlast, Aubervilliers, France) sur laquelle les émulsions ainsi réalisées sont appliquées à raison de 0,6 mg/cm².

2.2.2.2.2. Détermination du spectre d'absorption UV de la silymarine

Des solutions aqueuses de silymarine (2.10⁻⁴ M) ont été scannées à toutes les longueurs d'onde du spectre UVB et UVA (de 200 à 400 nm). Pour cela, nous avons utilisé un spectrophotomètre à double faisceau (Hitachi UV-visible, model U-2000). L'eau nous a servi de témoin. Les cuves utilisées ont un trajet optique de 1 cm.

2.2.2.2.3. Etude de la photo-stabilité des crèmes solaires formulées

Les plaques de PMMA enduites des formules à tester sont irradiées pendant 2 heures dans un simulateur solaire (Suntest® CPS+; Atlas, Moussy le Neuf, France). Cet appareil est équipé d'une lampe xénon (1500 W) et de filtres empêchant la transmission de la lumière de longueur d'onde inférieure à 290 nm. La source de lumière est maintenue à 650 watts/m² en accord avec l'irradiance spectrale globale solaire [169]. SPF et FP-UVA de chaque crème ont été déterminés *in vitro*, avant et après irradiation.

2.2.2.3. RESULTATS

Le spectre de la silymarine obtenu lors de cette étude est présenté figure 76.

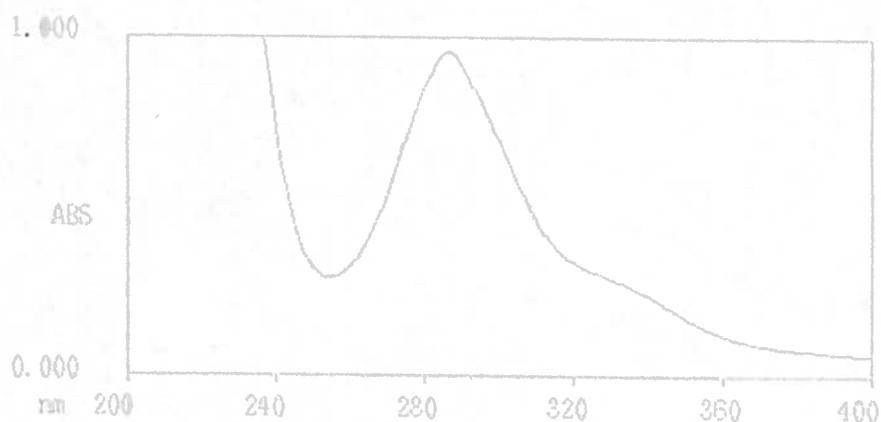


Figure 76 : Spectre d'absorption UV de la silymarine à 2.10^{-4} M en solution aqueuse

Il présente un maximum d'absorption à 286 nm.

Etant donné ce résultat, nous avons décidé de poursuivre notre investigation. Nous avons alors étudié l'influence de la concentration en silymarine sur l'efficacité photoprotectrice dans les domaines UVB et UVA. Les résultats obtenus en termes d'efficacité sont extrêmement prometteurs, puisque qu'une concentration de 10% (m/m) permet d'obtenir un SPF proche de 9 (figure 77). Cette valeur place la silymarine comme un filtre comparable à l'octylméthoxycinnamate [213], filtre très efficace et pour cette raison, très employé en Europe.

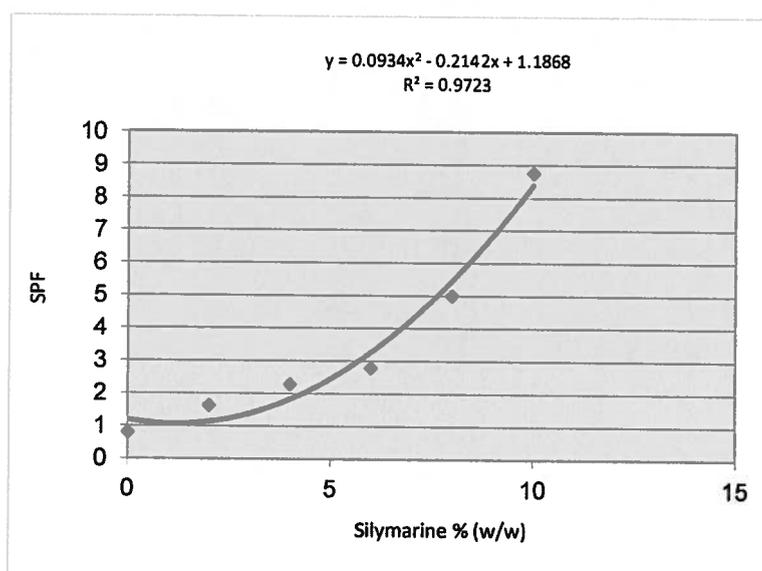


Figure 77 : Efficacité de la silymarine dans le domaine UVB

La silymarine se positionne donc comme un filtre UVB potentiel.

Son efficacité est moindre dans le domaine UVA (figure 78). Ceci est en accord avec le spectre obtenu en solution aqueuse diluée.

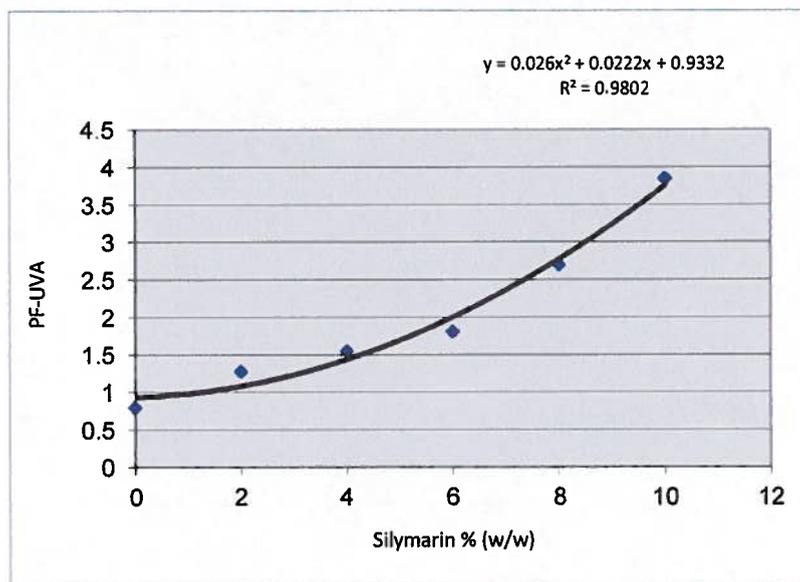


Figure 78 : Efficacité de la silymarine dans le domaine UVA

Les associations avec l'oxyde de zinc et le dioxyde de titane se sont également révélées intéressantes, permettant d'obtenir des préparations, formulées sans filtres au regard de la réglementation en vigueur, de SPF supérieurs à 10 (tableau 58).

Ingrédient associé avec la silymarine à 10% (m/m)	SPF ₀ ± écart type	PF-UVA ₀ ± écart type	SPF _{2h} ± écart type	PF-UVA _{2h} ± écart type
Z-Cote max (10% m/m)	12,37 ± 4,39	7,32 ± 2,34	11,84 ± 3,84	7,18 ± 2,06
Eusolex T-Oléo (10% m/m)	16,30 ± 2,98	7,61 ± 0,97	16,49 ± 2,95	17,00 ± 1,39

Tableau 58 : Intérêt de l'association de la silymarine avec des filtres inorganiques, avant et après irradiation durant 2 heures à 650 Watts/min

Après 2 heures d'irradiation à 650 watts/m², l'association prouve qu'elle est photo-stable, car elle conserve plus de 90% de son efficacité. La silymarine associée à ZnO ou TiO₂ montre donc une photo-stabilité supérieure à celle de nombreux filtres organiques actuellement sur le marché [169].

D'autres études avaient déjà mis en évidence l'intérêt de cette molécule dans la prévention des phénomènes de photo-carcinogenèse [214]. Son efficacité, sa photostabilité et les autres propriétés déjà mises en évidence font de la silymarine un ingrédient à valoriser dans le domaine de la photo-protection topique.

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans la revue *Natural Product Research* (Annexe 5).

Conclusion

La photo-protection est un sujet d'actualité. Même si le nombre de personnes se protégeant contre les effets néfastes du soleil reste faible et ce malgré les campagnes d'information successives, certains consommateurs commencent timidement à changer leurs habitudes. Les fruits des différentes campagnes de mise en garde initiées dans les années 90 ne se verront que dans quelques années.

Il faut que les mentalités changent car les moyens de protection sont faciles à mettre en œuvre et aisément accessibles à tous. Comme nous l'avons vu, une protection vestimentaire efficace, l'éviction de certains horaires d'exposition et l'utilisation de produits solaires adaptés permettent de se protéger contre les dangers du soleil.

Rappelons que les produits solaires se présentent sous différentes formes galéniques (émulsions, huiles, sticks...) offrant des indices de protection pouvant aller de 6 à 50⁺. Etant donné la faible quantité de produit solaire appliquée par le consommateur en regard de la quantité utilisée lors du test d'efficacité mené *in vivo*, il est recommandé d'utiliser plutôt les indices élevés.

Depuis quelques années, les fabricants de produits solaires proposent des formules permettant non seulement une protection dans le domaine UVB mais aussi UVA, suivant en cela les recommandations européennes. La protection dans le domaine UVA est devenue indispensable quand on a fait le lien entre ce type de radiations et le risque de survenue d'un mélanome. Par ailleurs, certains ingrédients spécifiques sont utilisés afin d'augmenter la substantivité de la préparation. Cette qualité permet de conserver l'efficacité en cas de bain, de transpiration ou de friction.

On peut se poser la question de la pertinence des méthodes utilisées par l'industrie pour quantifier l'efficacité des produits solaires ? A l'heure actuelle, ce sont les méthodes *in vivo* qui restent plébiscitées par l'industrie. Mais le problème majeur soulevé par leur mise en œuvre est d'ordre éthique, car le protocole comporte obligatoirement une étape d'irradiation des sujets. C'est pour cette raison que le Conseil de l'Europe en 2006 a rappelé l'importance des alternatives *in vitro*. Ces dernières présentent en outre de nombreux avantages : elles sont rapides, peu onéreuses et très reproductibles. De plus, elles constituent un atout de choix pour le formulateur puisqu'elles permettent rapidement d'évaluer la capacité photo-protectrice d'un produit, ainsi que de sa résistance à l'eau.

Notre travail de Thèse s'est inscrit dans la thématique « Photo-protection topique » développé au LPiC depuis le début des années 2000. Un certain nombre de méthodes avaient déjà été mises au point, afin d'étudier *in vitro* différents aspects relatifs à l'efficacité des produits solaires : détermination du SPF, du FP-UVA, de la résistance à l'eau et de la photo-stabilité.

Pour notre part, nous avons pu démontrer grâce à nos travaux, que l'évaluation de la résistance à l'eau des produits solaires peut s'effectuer avec différents types d'équipement, tout en conservant un protocole similaire. Il est cependant nécessaire de respecter les

paramètres-clés, que sont la nature de l'eau du bain d'immersion, la température, la vitesse d'agitation, et, bien entendu, le temps d'immersion.

Il est aussi possible de raccourcir la durée du processus d'évaluation de la résistance à l'eau. Nous avons clairement établi que si le produit, après 5 minutes d'immersion, ne permet de conserver que 50% de son SPF initial, il mérite d'être modifié du point de vue de sa composition. S'il est conforme d'un point de vue réglementaire, il est loin d'être satisfaisant d'un point de vue sécurité d'emploi. Nous avons pu prouver qu'il était possible, à partir d'une étude courte, d'extrapoler les résultats à une étude plus longue. Ces techniques *in vitro* devraient être appréciées du milieu industriel, du fait de leur simplicité de mise en œuvre et du gain de temps procuré, par rapport à la méthode COLIPA. En effet, plus les outils mis à disposition des fabricants de produits solaires seront simples et les méthodes clairement établies, plus les processus *in vitro* seront utilisés.

Afin de s'assurer de l'efficacité des produits solaires, les méthodes de détermination permettant de les qualifier sont particulièrement importantes mais il faut, aussi, s'attacher à utiliser des ingrédients permettant d'atteindre les objectifs fixés.

Non seulement l'utilisation de filtres UV est nécessaire, mais il faut être sûr qu'ils restent à la surface de la peau le plus longtemps possible. Plusieurs pistes s'offrent au formateur. D'une part, il peut jouer sur la galénique du produit et faire en sorte que les émulsions formulées aient un HLB inférieur à 7, comme nous l'avons démontré, ce qui permet d'assurer une résistance au lavage. D'autre part, il peut s'adresser à des ingrédients de nature lipophile ou à des polymères, tels que les *film formers*.

Un dernier challenge est à relever depuis quelques années. Il s'avère que certains des filtres UV très souvent retrouvés dans les formules du commerce seraient potentiellement nocifs pour l'homme et/ou l'environnement. Quelques filtres organiques sont notamment connus pour être responsables de phénomènes photo-allergiques. De plus, un débat sur les effets endocriniens potentiels de certains divise à l'heure actuelle la communauté scientifique. Afin de garantir la totale innocuité des crèmes solaires, il pourrait devenir nécessaire de remplacer les filtres organiques par des matières premières ne présentant aucune toxicité chez l'homme. Il est ainsi possible de se tourner vers des molécules naturelles, extraites de végétaux, par exemple.

Pour notre part, nous nous sommes intéressées à la silymarine, extraite de Chardon-Marie, plante réputée comme hépato-protectrice. Les résultats obtenus sont très prometteurs. Incorporée avec du dioxyde de titane ou de l'oxyde de zinc, elle présente une photo-stabilité que possèdent peu de filtres UV actuellement sur le marché. A 10% (m/m), elle permet d'obtenir un SPF proche de 9, valeur comparable à celle que peut générer un filtre UVB fréquemment utilisé, l'octylméthoxycinnamate. Par ailleurs, d'autres études avaient mis en évidence l'intérêt de cette molécule dans la prévention des phénomènes de photo-carcinogénèse, ce qui renforce son intérêt.

Annexe 1

Comparison of two *in vitro* methods to evaluate the water resistance of sunscreens

LPiC, MMS, EA2160¹, Laboratoire de Pharmacie galénique², Faculty of Pharmacy, Université de Nantes, France

Comparison of two *in vitro* methods to evaluate the water resistance of sunscreens

C. CHEIGNON¹, C. COUTEAU¹, A. BILLON-CHABAUD², E. MARQUES DA SILVA¹, E. PAPARIS¹, L. J. M. COIFFARD¹

Received April 1, 2011, accepted May 6, 2011

L. J. M. Coiffard, Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, LPiC, MMS, EA2160, Faculty of Pharmacy, 1 rue G. Veil – BP 53508, Nantes, F-44000 France
celine.couteau@univ-nantes.fr

Pharmazie 67: 116–119 (2012)

doi: 10.1691/ph.2012.1048

For a long time, the water resistance of sunscreens has been determined *in vivo*, according to Colipa's (Comité de Liaison des Industries de la Parfumerie) procedure. This method is not so ethical as healthy volunteers are irradiated, and can be replaced by an *in vitro* method which is easy and quick to perform. The objective of this work was to correlate the experimental device proposed by Choquet *et al.* and the dissolutes (Sotax[®] AT6). This equipment is used in the pharmaceutical industry to control the tablets. The experimental conditions have been fixed to correlate the results obtained with both methods. The stirring speed for the dissolutes was fixed at 75 rpm, which is the speed value recommended by the European Pharmacopoeia to study the dissolution over time of tablets.

1. Introduction

To stay as long as possible on the surface of the skin, a sun-care product should be water resistant, in order to resist bathing as well as sweat (Leroy and Deschamps 1986; Moloney *et al.* 2002; Poh Agin 2006). It is good to remember that sweat is 99% water in composition (Saga 2002). Currently, the method used predominantly to determine the water resistance is the one proposed by the Colipa. It is an *in vivo* method which can raise ethical issues as the subjects are exposed to irradiation. A certain number of *in vitro* procedures have been put in place to avoid volunteers' irradiation; additionally costs are decreasing with reducing the duration of the test. Another important point to take into account is that this *in vitro* method can be used during the development of a sunscreen (Stokes *et al.* 1998; Pissavini *et al.* 2007; Ahn *et al.* 2008).

We compared the previous established procedure (Choquet *et al.* 2008) with an experimental method using a common device of the pharmaceutical industry, the dissolutes.

2. Investigations and results

2.1. Results concerning the efficacy

The sun protection factor data and critical wavelengths (λ_c) obtained before immersion are presented in Table 1. The data obtained for the benchmarks tested matched the values claimed on the packaging. For the water resistance standard formulation Colipa, the results were identical to the Colipa requirement, namely a SPF between 12 and 15.

Concerning the sunscreens formulated in the laboratory, we observed that the excipient influenced the SPF obtained. With the same combination of sun filters, the SPF measured could vary from 53 to 65. The consequences will be important: it will determine the category of the sun products tested. If the SPF

Table 1: Efficacy measured of the formulations tested

Products	Bioblock IK mixer		Sotax	
	SPF ₀ ± SD	λ_c (nm)	SPF ₀ ± SD	λ_c (nm)
Colipa standard	12.95 ± 2.85	353	14.00 ± 1.51	353
Nivea SPF 50 +	65.58 ± 7.39	381	61.88 ± 7.85	380
Uriage SPF 50 +	74.26 ± 9.67	381	74.16 ± 7.95	381
Vichy SPF 50 +	72.69 ± 9.32	377	75.16 ± 12.62	377
Noreva SPF 50 +	62.76 ± 4.88	381	65.85 ± 6.97	381
Bioderma SPF 20	28.46 ± 4.18	380	27.14 ± 3.52	380
Emulsion 1	64.91 ± 6.52	375	63.44 ± 8.15	375
Emulsion 2	56.54 ± 5.7	375	58.71 ± 7.22	374
Emulsion 3	56.97 ± 4.83	374	52.79 ± 4.57	375

measured is 53, the value claimed would be 50 (high protection); in case of 65, it would give a SPF 50 + (very high protection).

2.2. Results concerning water resistance

In each case, the prerequisites have been verified. In fact, the measurement uncertainty was systematically below 17% of the SPF, and the standards deviations measured were small.

The water resistance data after 40 min are presented in Table 2, in percentage. We can conclude that the two methods correlate, as the percentages of the water resistance obtained are very similar. Not all the raw materials claiming a water resistance property were found to have it (Table 2). The Antaron[®] V-220 does not present any interest in the formulations of sunscreens as its efficacy in terms of water resistance has not been demonstrated; moreover it is potentially allergenic (Gallo *et al.* 2004). Only Cosmedia[®] DC can increase the water resistance of the formulations by 25%.

ORIGINAL ARTICLES

Table 2: Results of water resistance

Products	Bioblock IKA mixer	Sotax
	WRR ₄₀ (%)	WRR ₄₀ (%)
Colipa standard	65	69
Nivea SPF 50 +	88	86
Uriage SPF 50 +	91	92
Vichy SPF 50 +	138	129
Noreva SPF 50 +	96	98
Bioderma SPF 20	109	102
Emulsion 1	63	63
Emulsion 2	79	72
Emulsion 3	54	58

3. Discussion

In the cosmetic industry people are looking more and more at alternative methods to measure the efficacy and the water resistance of sun care products. Concerning the water resistance, different procedures have been proposed to correlate with the *in vivo* method. Certain parameters are essential: the immersion time and the stirring inside the bath vessel (Gupta and Zatz 1999), and the temperature should be constant and identical as the one requested in the *in vivo* procedure (Stokes and Diffey 1999).

This work allowed us to correlate the use of the dissolutes with an established method.

4. Experimental

4.1. Chemicals

The composition on sun filters of the benchmarks is presented in Table 3. The formulation proposed by the Colipa as a standard for the water resistance test and the emulsions prepared in the laboratory are described in Table 4 and Table 5 respectively. Two film former hydrophobic polymers, Cosmedia[®] DC and Antaron[®] V-220F (Table 6), claiming to increase the water resistance of sunscreens, have been incorporated in the formulation developed in the

Table 3: Composition of the sunscreens tested

Trade name	Sun filters used
Nivea SPF 50 +	Octocrylene, butylene glycol dicaprylate/dicaprate (and) titanium dioxide (and) silica (and) polyglyceryl-2 dipolyhydroxystearate, butyl methoxydibenzoylmethane, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, homosalate, sodium phenylbenzimidazole sulfonate, dDiethylhexylbutamido triazone, ethylhexyl methoxycinnamate
Uriage SPF 50 +	Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol, octocrylene, ethylhexyl triazone, butyl methoxydibenzoylmethane
Vichy SPF 50 + Kids Lait (very water resistant)	Ethylhexyl salicylate, titanium dioxide, butyl methoxydibenzoylmethane, octocrylene, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, terephthalylidene dicamphor sulfonic acid, ethylhexyl triazone, drometrizole trisiloxane
Noreva 50 + Spray (water resistant)	Ethylhexyl salicylate, titanium dioxide, butyl methoxydibenzoylmethane, octocrylene, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine, terephthalylidene dicamphor sulfonic acid, ethylhexyl triazone, drometrizole trisiloxane
Bioderma Photoderm SPF 20 (water resistant)	Homosalate, octocrylene, butyl methoxydibenzoylmethane, ethylhexyl salicylate, methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol, phenylbenzimidazole sulfonic acid, bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine

Table 4: Colipa's water resistant reference sun product

Ingredients (INCI name)	% (m/m)	Suppliers
Lanolin	4.50	Cooper
Theobroma Cacao	2.00	Sederma
Glyceryl Stearate	3.00	Gattefossé
Stearic Acid	2.00	Cooper
Octyldimethyl PABA	7.00	Symrise
Benzophenone-3	3.00	Symrise
Sorbitol (70%)	5.00	Roquette
Sodium Propylparaben	0.10	Merck
Sodium Methylparaben	0.30	Cooper
Triethanolamine	1.00	Cooper
Benzyl alcohol	0.50	Janssen Chemica
Aqua	qsp 100.00	

laboratory, at 3 and 5% (m/m) respectively as recommended by the suppliers, and tested.

4.2. Water resistance determination

The emulsions developed in the laboratory were prepared as described: the lipophilic and hydrophilic phases were heated separately in a waterbath (Mémert, Grosseron, St Herblain, France). When both phases are at the same temperature, they are mixed together under a stirrer (Bioblock IKA Yellow Line OST Basic Overhead stirrer), under 800 rpm speed. The filters and polymers are incorporated inside the oil phase.

To measure the water resistance, all the products tested are applied on a 25 cm² polymethylmethacrylate plate (Europlast, Aubervilliers, France), with a roughness of 6 microns, at the rate of 0.6 mg.cm⁻², as described previously (Couteau et al. 2007). Whatever stirring devices used, the plates are immersed inside a waterbath with a controlled temperature of 29 ± 2 °C 2 times, during 20 min, with a drying phase in between.

Two different stirring devices have been tested (Fig.). The first one is a polycarbonate bath (Cuve IKA[®] Werke EH4.1, Grosseron, St Herblain, France) equipped with an immersion thermostat (IKA[®] Yellow Line Basic EH4 basic immersion thermostat, Grosseron, St Herblain, France | pump type: pressure pump/pump pressure max. (0 litres discharge flow): 0.08 bar/pump pressure max. (0 bar back pressure): 5 L/min)) (Choquet et al. 2008). The second equipment is commonly in the pharmaceutical industry to test the dissolution of tablets (Sotax AT 6, Sotax AG, Switzerland).

Table 6: Raw materials for water resistance

Trade name	Ingredients (INCI name)	Use level (%)	Suppliers
Cosmedia DC	Hydrogenated Dimer Dilinoleyl/Dimethylcarbonate Copolymer	3.00	Cognis
Antaron V-220F	VP/Eicosene Copolymer	5.00	ISP



(A)



(B)

Fig.: Experimental devices used (a) Bath vessel IKA, (b) Sotax AT6

Before the immersion, and then every 20 min, *in vitro* SPF (Sun Protection Factor) measurements have been done. Three plates were prepared for each product to be tested and 9 measures were performed on each plate. Transmission measurements between 290 and 400 nm were carried out using a spectrophotometer equipped with an integrating sphere (UV Transmittance Analyzer UV1000S, Labsphere, North Sutton, US). The calculations for either term use the same relationship:

$$SPF = \frac{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} \Delta_{\lambda}}{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} T_{\lambda} \Delta_{\lambda}} \quad (1)$$

where E_{λ} is CIE erythral spectral effectiveness, S_{λ} is solar spectral irradiance and T_{λ} is spectral transmittance of the sample (Diffey and Robson 1989).

Table 5: Sunscreen formulated in the laboratory

Ingredients (INCI name)	% (w/w)	Suppliers
Lanolin	4.50	Cooper
Theobroma Cacao	2.00	Sederma
Glyceryl Stearate	3.00	Gattefossé
Stearic Acid	2.00	Cooper
Octocrylene	8.00	Merck
Diethylaminohydroxybenzoyl Hexylbenzoate	8.00	BASF
Homosalate	4.00	Merck
Octylmethoxycinnamate	8.00	BASF
Sorbitol (70%)	5.00	Roquette
Sodium	0.10	Merck
Propylparaben		
Sodium	0.30	Cooper
Methylparaben		
Triethanolamine	1.00	Cooper
Benzyl alcohol	0.50	Janssen Chemica
Aqua	qsp 100.00	

According to Colipa method, the test will be considered acceptable if the 95% confidence interval on the mean SPF_0 is within $\pm 17\%$ of the mean SPF_0 that is so say with d equal to:

$$\frac{t.s}{\sqrt{n}} \leq 0.17 \times SPF_0 \quad (2)$$

where t is the value from the Student-t distribution table with $n-1$ degrees of freedom at a probability level $P=0.95$.

The percentage Water Resistance Retention (%WRR) value for each plate should be calculated according to the formula below:

$$\%WRR = \frac{(SPF_{40} - 1)}{(SPF_0 - 1)} \cdot 100 \quad (3)$$

where SPF_{40} is SPF after 40 min water immersion and SPF_0 is SPF initially measured. According to Colipa, a product will be considered water resistant if the value is greater than or equal to 50% after 40 min of immersion.

References

- Ahn S, Yang H, Lee H, Moon S, Chang I (2008) Alternative evaluation method *in vitro* for the water-resistant effect of sunscreen products. *Skin Res Technol* 14: 187-91.
- Choquet B, Couteau C, Papis E, Coiffard LJM (2008) Development of an *in vitro* test to determine the water-resistance of sunscreens. *Pharmazie* 63: 525-527.
- Colipa (2005) Guidelines for Evaluating Sun Product Water Resistance.
- Couteau C, Pommier M, Papis E, Coiffard LJM (2007) Study of the efficacy of 18 sun filters authorized in European Union tested *in vitro*. *Pharmazie* 62: 449-452.
- Diffey BL, Robson J (1989) Sun Protection Factor *in vitro*. *J Soc Cosmet Chem* 40: 127-132.
- European Pharmacopoeia 7.0 - 2.09.01 - Monograph Disintegration of tablets and capsules.
- Gallo R, Sacco DD, Ghigliotti G (2004) Allergic contact dermatitis from VP eicosene copolymer (Ganex V-220) in an emollient cream. *Contact Dermatitis* 50: 261.
- Gupta VK, Zatz JL (1999) *In vitro* method for modelling water resistance of sunscreen formulations. *J Cosmetic Sci* 50: 79-90.
- Leroy D, Deschamps P (1986) Influence of formulation on sunscreen water resistance. *Photodermatol* 3: 52-53.

ORIGINAL ARTICLES

- Moloney FJ, Collins S, Murphy GM (2002) Sunscreens: safety, efficacy and appropriate use. *Am J Clin Dermatol* 3: 185–191.
- Poh Agin P (2006) Water resistance and extended wear sunscreens. *Dermatol Clin* 24: 75–79.
- Pissavini M, Alard V, Heinrich U, Jenni K, Perier V, Tournier V, Lutz D, Meloni M, Kockott D, Ferrero L, Gonzalez B, Zastrow L, Tronnier H (2007) *In vitro* assessment of water resistance of sun care products: a reproducible and optimized *in vitro* test method. *Int J Cosmetic Sci* 29: 451–460.
- Saga K (2002) Structure and function of human sweat glands studied with histochemistry and cytochemistry. *Progr Histochem Cytochem* 37: 323–386.
- Stokes RP, Diffey BL, Dawson LC, Barton SP (1998) A novel *in vitro* technique for measuring the water resistance of sunscreens. *Int J Cosmetic Sci* 20: 235–240.
- Stokes RP, Diffey BL (1999) The water resistance of sunscreen and day-care products. *Br J Dermatol* 140: 259–263.

Annexe 2

Development of a quick method to determine the water resistance of sun care products

Development of a quick method to determine the water resistance of suncare products

C. Couteau, C. Cheignon, A. Demé, L.J.M. Coiffard*

**Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, LPiC, MMS, EA2160, Faculty
of Pharmacy, 9 rue Bias - Nantes, F-44000 France.**

Tel. + 33 2 53 48 43 17

E-mail address: laurence.coiffard@univ-nantes.fr

*Corresponding author: Tel.: + 33 2 53 48 43 17, E-mail address:
laurence.coiffard@univ-nantes.fr

Abstract

The water resistance characteristic of sunscreens is an important element to take into account when this type of products is formulated. To get the maximum efficacy of a sunscreen in the best conditions, the product should resist bathing or sweating. The actual procedures used *in vivo* and *in vitro* are long to put in place, as they need two immersions of 20 minutes each. We tried to reduce the time of the experiment to help to get an interpretation of the final results quicker.

Keywords: Water resistance; *in vitro* method; Sunscreens; Flash determination

1. Introduction

The increase of the cutaneous cancers for Caucasian types (Crane et al., 1999, Lautenschlager et al. 2007) and the well established link with repetitive exposures (Hall et al. 2001) explain the consciousness-raising campaign put in place (Robinson et al. 2000). For a lot of authors, the mode of photoprotection to favour is the clothing way (Ambalard, 2000; Marguery, 2007; Lacour and Béani, 2007). Indeed, the protection factors reached can exceed 500 (Ghazi et al. 2010; Ghazi et al. 2011), values which will never be achieved with suncare products. However, some activities, such as swimming, exclude the use of covering clothes. In that case, water resistant products will be used to protect the skin which is not covered. The procedures used to evaluate the water resistance of sunscreens used now (Choquenot et al. 2008; Cheignon et al. *in press*) need long waiting period (40 minutes). It seemed interesting to study the water resistance property of formulated sunscreens in the lab and branded ones versus the time, to find a way to reduce the experiment time.

2. Investigations, results and discussion

For the sunscreens formulated in the lab, the results obtained after 20 minutes are systematically superior from the one obtained after 40 minutes (Table 1), but a product water resistant at 20 minutes is still after 40 minutes. It is importance to notice that the nature of the lipophilic ingredient incorporated has no influence on the result obtained.

For the formulations carried out in the lab which are not water resistant (Table 2), we notice that the loss of water resistance is observed from 20 minutes.

For the branded products, the results concerning their efficacy are presented in Table 3. We can notice that for the majority of the products tested, the results obtained are correlating with the values claimed. Only 3 products have SPF measured inferior than SPF claimed. The results obtained for the water resistance are presented in Table 4. We observed that Skinceuticals® and Polysianes® products are water resistant even if this characteristic is not claimed. In the other hand, Carrefour discount® product which claims it, loses more than 50% of its efficacy after the 5 first minutes. Hawaiian® product is as well non water resistant, it was not mentioned on its packaging. We can distinguish 2 categories of products : the one which keep more than 70% of their efficacy after the first 5 minutes and the one which lose 50% for the same time. The 5 minutes duration of immersion permits to appreciate the quality of a product in terms of water resistance. Indeed, a product which can keep just about 50% of its initial SPF after 5 minutes of immersion is a product which deserves to get its formulation modified. If it is complying with the regulation, it is not satisfactory in terms of security of use. S'il est en règle d'un point de vue réglementaire, il est loin d'être satisfaisant d'un point de vue de sa sécurité d'emploi. To screen ingredients which can boost the water resistant, a 5 minutes test can be performed.

3. Experimental

Eleven emulsions have been formulated from a water resistant product base (Table 5) by varying the composition of the lipophilic phase. The oils incorporated are

vegetal, mineral or synthetic. We demonstrated in a previous study that an emulsion should have a HLB less than 7 to develop a water resistant property (Cheignon et al. *in press*). To study the behaviour of non water resistant emulsions, we formulated final products with HLBc above 7. From the basic formulation already referenced and by modifying the composition of the emulsifiers, we obtained a range of emulsions with HLB between 8 and 14 (Table 6).

The emulsions have been formulated in accordance with a protocol described before (Couteau et al., 2007).

Moreover, fourteen products from the market have been tested as well (Table 7).

30 mg of product exactly weighed were spread on PMMA plates over the whole surface (25 cm²) using a finger cot. Polymethylmethacrylate (PMMA) plates were purchased from Europlast (Aubervilliers, France). 15 mg remains on the finger cot. The SPF and the PF-UVA of the creams was measured *in vitro*. Three plates were prepared for each product to be tested and 9 measures were performed on each plate (Choquet et al. 2008). Transmission measurements between 290 and 400 nm or 320 and 400 nm were carried out using a spectrophotometer equipped with an integrating sphere (UV Transmittance Analyzer UV1000S, Labsphere, North Sutton, US). The standard used was the 8% homosalate standard mandated by the US Food and Drug Administration Sunscreen Monograph. The calculations for either term use the same relationship:

$$SPF = \frac{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} d_{\lambda}}{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} T_{\lambda} d_{\lambda}} \quad (\text{equation 1})$$

$$PF-UVA = \frac{\sum_{320}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} d_{\lambda}}{\sum_{320}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} T_{\lambda} d_{\lambda}} \quad (\text{equation 2})$$

where E_{λ} is CIE erythemal spectral effectiveness, S_{λ} is solar spectral irradiance and T_{λ} is spectral transmittance of the sample (Diffey & Robson, 1989).

In order to determine the water resistance, the plates are immersed inside a waterbath with a controlled temperature of $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$, during 2 times 20 minutes, with a drying phase in between. The stirring device is a polycarbonate bath (Cuve IKA® Werke EH4.1, Grosseron, St Herblain, France) equipped with an immersion thermostat (IKA® Yellow Line Basic EH4 basic immersion thermostat, Grosseron, St Herblain, France [pump type: pressure pump / pump pressure max. (0 litres discharge flow): 0.08 bar / pump pressure max. (0 bar back pressure): 5L/min]). Before the immersion, and then every 20 minutes, *in vitro* SPF (Sun Protection Factor) measurements have been done. Transmission measurements between 290 and 400 nm were carried out using a spectrophotometer equipped with an integrating sphere (UV Transmittance Analyzer UV1000S, Labsphere, North Sutton, US).

According to the Colipa method, the test will be considered acceptable if the 95% confidence interval on the mean SPF_0 is within $\pm 17\%$ of the mean SPF_0 that is so say with d equal to:

$$\frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} \leq 0,17 \times SPF_0$$

where t is the value from the Student-t distribution table with n-1 degrees of freedom at a probability level $P = 0.95$.

The percentage Water Resistance Retention (%WRR) value for each plate should be calculated according to the formula below:

$$\%WRR = \frac{(SPF_{40} - 1)}{(SPF_0 - 1)} .100$$

where SPF_{40} is SPF after 40 minutes water immersion and SPF_0 is SPF initially measured. According to the Colipa, a product will be considered water resistant if the value is greater than or equal to 50% after 40 minutes of immersion.

For the branded products, the study of the water resistance property has been realized in a closest way, every 5 minutes from t_0 to t_{20} .

References

Amblard P. (2000) Photoprotection. *J Pédiatr Puéricult* 13: 390.

Cheignon C., Couteau C., Billon-Chabaud A., Paparis E., Coiffard LJM. Comparison of two *in vitro* methods to evaluate the water resistance of sunscreens. *Pharmazie* (*in press*)

Choquenot B., Couteau C., Paparis E., Coiffard LJM (2008) Development of an *in vitro* test to determine the water-resistance of sunscreens. *Pharmazie* 63: 525.

Colipa Guidelines for Evaluating Sun Product Water Resistance. 2005.

Couteau C, Pommier M, Paparis E, Coiffard LJM (2007) Study of the efficacy of 18 sun filters authorized in European Union tested *in vitro*. *Pharmazie* 62: 449.

Couteau C., Demé A., Cheignon C., Coiffard LJM. Influence of the Hydrophilic Lipophilic Balance of sunscreen on their water resistance property. *Drug dev ind pharm* (*in press*)

Crane LA, Schneider LS, Yohn JJ, Morelli JG, Katherine D, Plomer KD (1999) "Block the sun, not the fun": evaluation of a skin cancer prevention program for child care centers. *Am J Prevent Med* 17: 31.

Diffey BL, Robson J (1989) Sun Protection Factor in vitro. *J Soc Cosmet Chem* 40: 127.

Ghazi S, Couteau CD, Coiffard LJM (2010) What level of protection can be obtained using sun protective clothing ? Determining effectiveness using an in vitro method. *Int J Pharm* 397:144.

Ghazi S, Couteau CD, Coiffard LJM (2011) How to guarantee adequate sun protection for a young sportsperson? *JDDG*, 9: 1.

Hall HI, McDavid K, Jorgensen CM, Kraft JM (2001) Factors associated with sunburn in white children aged 6 months to 11 years. *Am J Prevent Med* 20: 9.

Lacour JP, Béani JC (2007) Photoprotection naturelle, photoprotection externe (topique et vestimentaire). *Ann Dermatol Vénéréol* 134 : 18.

Lautenschlager S, Wulf HC, Pittelkow MR (2007) Photoprotection. *Lancet*, 370: 528.

Marguery MC (2007) Dermatite actinique chronique et photoprotection. *Rev Fr Allergol Immunol Clin* 47: S36.

Robinson JK, Rigel DS, Amonette RA (2000) Summertime sun protection used by adults for their children. *J Am Acad Dermatol* 42: 746.

Table 1 : Results obtained for the water resistance of the final products formulated in the lab

Oil incorporated	WRR (20 minutes)	WRR (40 minutes)
Ricinus oil	79%	73%
Argan oil	72%	66%
Apricot Seed oil	77%	69%
Colza oil	74%	70%
Sweet Almond oil	76%	71%
Olive oil	71%	69%
Babassu oil	75%	68%
Isopropyl Myristate	79%	71%
Dimethicone (Abil 350)	80%	69%
Octyldodecanol	78%	76%
(Eutanol G)		
Paraffin oil	75%	71%

Table 2 : Results for the products which are not water resistant prepared in the lab

HLB of the formulations tested	WRR (%) (20 minutes)	WRR (%) (40 minutes)
8	45	33
10	43	33
10.46	36	30
10.96	28	26
11.4	27	20
12	43	16
14	17	16

Table 3 : Results obtained for the products of the market

	SPF ₀	±	SPF ₅	±	SPF ₁₀ ± DS	±	SPF ₁₅ ± DS	±	SPF ₂₀ ± DS	±	SPF ₄₀ ± DS
Nivéa 50+	66.79	±	61.33	±	48.51	±	47.75	±	47.02	±	46.90 ±
	8.00		23.67		7.20		8.60		9.62		9.17
Eucerin Kids	63.97	±	56.59	±	52.48	±	47.47	±	46.55	±	45.82 ±
50+	8.91		8.14		7.07		7.56		7.41		7.67
La Roche	41.81	±	22.83	±	22.15	±	19.43	±	20.02	±	18.52 ±
Posay 50+	4.93		2.85		3.47		2.53		2.31		2.22
Noreva 50+	64.58	±	64.09	±	60.43	±	59.04	±	59.11	±	59.17 ±
	6.16		6.71		5.36		6.00		5.19		5.66
Skinceuticals	37.71	±	27.01	±	27.40	±	25.47	±	25.42	±	22.99 ±
advanced	5.07		3009		4.38		4.14		3.77		3.43
UV defense											
30											
Solei SPF 15	19.07	±	16.59	±	15.27	±	14.81	±	14.46	±	13.07 ±
	1.80		3.66		3.27		3.09		3.48		3.13
Polysianes	54.48	±	51.53	±	50.42	±	49.61	±	48.75	±	48.24 ±
SPF 30	9.68		5.00		4.30		± 4.58		6.56		4.89
Carrefour	43.26	±	18.20	±	16.11	±	14.34	±	13.86	±	13.03 ±
discount	6.17		3.44		2.53		2.41		2.36		1.95
FPS 30											

Hawaiian	27.60	± 15.79	± 15.09	± 12.89	± 10.65	± 9.20	±
Tropic	3.66	2.82	2.41	1.94	2.20	1.49	
SPF 30							
Baidoa SPF	28.64	± 28.39	± 27.64	± 27.23	± 25.52	± 23.87	±
15	1.62	3.70	2.00	2.24	1.45	1.46	
Biafine SPF	31.04	± 19.76	± 19.16	± 18.15	± 17.76	± 16.70	±
30	5.83	3.74	3.97	4.50	4.25	3.00	
Daylong SPF	48.68	± 48.22	± 44.08	± 42.91	± 41.41	± 39.27	±
25	5.49	7.89	7.70	8.22	7.41	6.64	
Piz buin sun	20.12	± 19.73	± 18.29	± 16.20	± 15.74	± 14.29	±
lotion SPF	2.40	3.44	3.88	2.46	3.03	3.31	
30							
Biotherm	14.77	± 11.65	± 10.69	± 10.26 ± 1.57	9.93 ± 1.66	9.51	±
SPF 15	2.41	2.60	1.51			1.38	

Table 4 : Water resistant property of the branded products

	WRR ₅ (%)	WRR ₁₀ (%)	WRR ₁₅ (%)	WRR ₂₀ (%)	WRR ₄₀ (%)
Nivéa 50+	101	79	78	77	77
Eucerin Kids 50+	88	82	74	72	71
La Roche Posay 50+	53	52	45	47	43
Noreva 50+	98	92	90	90	90
Skinceuticals advanced UV defense 30	71	72	67	67	60
Solei SPF 15	86	79	76	74	67
Polysianes SPF 30	95	92	91	89	88
Carrefour discount FPS 30	41	36	32	30	28
Hawaiian Tropic SPF 30	56	53	45	36	31
Baidoa SPF 15	99	96	95	89	83
Biafine SPF 30	62	60	57	56	52
Daylong SPF 25	99	90	88	85	80
Piz Buin	98	90	79	77	70
Biotherm SPF 15	77	70	67	65	62

Table 5: Composition of the emulsion formulated in the lab

Ingredients (INCI name)	% (w/w)	Suppliers
Oil	4.50	
Theobroma cacao	2.00	Sederma
Glyceryl stearate	3.00	
Stearic acid	2.00	Cooper
Octyldimethyl PABA	7.00	Symrise
Benzophenon-3	3.00	Symrise
Sorbitol (70%)	5.00	Roquette
Sodium propylparaben	0.10	Merck
Sodium methylparaben	0.30	Cooper
Triethanolamine	1.00	
Distilled water (Aqua)	qsp 100.00	

Table 6: Composition in terms of emulsifiers for the emulsions non water resistant

Emulsifiers composition	HLBc
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) + Oleth-2 (11,6%)	8.00
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) + Oleth-2 (3%) + Glyceryl stearate (3,4%)	9.00
Ceteareth-20 (0.6%) + Ceteareth-12 (3%) + PEG-8 beeswax (20%)	10.00
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) + PEG-8 beeswax (20%)	10.46
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) + Oleth-2 (3%)	10.96
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) + PEG-8 beeswax (8%)	11.40
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) + Oleth-2 (1.7%)	12.00
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) + Oleth-2 (0.62%)	13.15
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%)	14.00

Table 7 : Branded products tested

Brand name	SPF claimed	Claims
Nivéa spray protecteur hydratant	50+	Water resistant
Eucerin Kids Sun spray	50+	Very water resistant
La Roche Posay lait intolérances solaires	50+	Water resistant
Noreva Soladerm HP spray solaire	50+	Sweat resistant
Skinceuticals advanced UV defense	30	/
Solei Spray solaire Boots	15	Water resistant
Polysianes Klorane Lait fondant hydratant	30	/
Carrefour discount lait solaire visage et corps	30	Water resistant
Hawaiian Tropic sensitive face sun lotion	30	/
Baidoa sun lait solaire hydratant	15	/
Soleil Biafine lait spray solaire	30	Water resistant
Daylong ultra lotion	25	Extra water resistant

solaire aux liposomes

Piz buin in sun lotion

30

Water and Sweat resistant

Biotherm anti-rides

15

Water resistant

solaires multi-protection

Annexe 3

Study of the excipient influence on the water resistance property of sunscreens

Study of the excipient influence on the water resistance property of sunscreens

C. CHEIGNON, C. COUTEAU, E. PAPARIS, L.J.M. COIFFARD*

**Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, LPiC, MMS, EA2160, Faculty
of Pharmacy, 1 rue G. Veil - BP 53508, Nantes, F-44000 France.**

Tel. + 33 2 40 41 28 73; fax + 33 2 40 41 29 87

***Corresponding author**

KEY WORDS ingredients, water resistance, *in vitro* method, sunscreens

ABSTRACT

Knowing the serious impact of skin cancers and the connection between their development and the excessive sun exposure, it is advisable to put in place ways to prevent them. The easiest way to achieve this is by sun products and photoprotection by clothing. The sunscreens should keep their efficacy during a period of time as well as during a bath or in case of high sweat. For this study, we tested by an *in vitro* method 21 raw materials capable of increasing the water resistance of a sunscreen. Depending on the ingredients used, the results obtained in terms of efficacy were different. The formulations obtained with 18 ingredients tested out of 21 claim a water resistance. Opposite, 3 of the raw materials tested make the formulation washable.

The sun care products should stay on the surface of the skin as long as possible to be efficient. The reason to use a sun protection is to prevent the appearance of skin cancers¹, which affects different populations randomly, dependant on their phototypes. The Caucasians are the most affected (20 to 30% of the cancers developed by those people are skin cancers), then come the Asians (2 to 4%) and the Blacks (1 to 2%)². Besides the sunscreens efficacy is directly linked to their composition in sun filters³, the products must be as well water resistant in order not to be washed off too quick by water from bath or sweat. It is already known that the quantity of sweat produced during exercises such as sport increases. Some sports generate a high level of sweat, like for example rowing, which can produce a loss of 2 litres of sweat per hour under high temperature (30°C). In the same way, football practice at temperatures around 20 – 25°C can create a litre and a half of sweat⁴. In that context, it is essential to formulate water resistant products. We studied the influence of an excipient on this parameter. For this, we used a water resistant W/O emulsion where various ingredients have been incorporated to evaluate their performance.

Materials and methods

The reference formulation tested is presented in Table I. The raw materials incorporated inside the formulation are listed in Table II. Two categories of ingredients have been tested: fats (Formulations 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7) and polymers (Formulations 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, and 19). The raw materials mixed in the formulas 20 and 21 are clay dispersed in oil. The nature of the polymers is various and they claim film-forming properties. The use levels used are the one advised by the suppliers. The emulsions have been formulated following the protocol previously described³. 30 mg of product exactly weighed were spread on PMMA

plates over the whole surface (25 cm²) using a finger coat. Polymethylmethacrylate (PMMA) plates were purchased from Helioscience (Creil, France). 15 mg remains on the finger coat. The SPF and the PF-UVA of the emulsions were measured *in vitro*. Three plates were prepared for each product to be tested and 9 measures were performed on each plate. The transmission measurements between 290 and 400 nm, and 320 and 400 nm were carried out using a spectrophotometer equipped with an integrating sphere (UV Transmittance Analyzer UV1000S, Labsphere, North Sutton, US). The standard used was the 8% homosalate standard mandated by the US Food and Drug Administration Sunscreen Monograph. The calculations for either term use the same relationship:

$$\text{SPF} = \frac{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} d_{\lambda}}{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} T_{\lambda} d_{\lambda}} \quad (\text{equation 1})$$

$$\text{PF-UVA} = \frac{\sum_{320}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} d_{\lambda}}{\sum_{320}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} T_{\lambda} d_{\lambda}} \quad (\text{equation 2})$$

where E_λ is CIE erythema spectral effectiveness, S_λ is solar spectral irradiance and T_λ is spectral transmittance of the sample⁵.

In order to determine the water resistance, the plates are immersed inside a waterbath with a controlled temperature of 29 ± 2°C, during 2 times 20 minutes, with a drying phase in between. The stirring device is a polycarbonate bath (Cuve IKA® Werke EH4.1, Grosseron, St Herblain, France) equipped with an immersion thermostat (IKA® Yellow Line Basic EH4 basic immersion thermostat, Grosseron, St Herblain, France [pump type: pressure pump / pump pressure max. (0 litres

discharge flow): 0.08 bar / pump pressure max. (0 bar back pressure): 5L/min]). Before the immersion, and then every 20 minutes, the *in vitro* SPF (Sun Protection Factor) measurements have been performed. According to the Colipa method, the test will be considered acceptable if the 95% confidence interval on the mean SPF_0 is within $\pm 17\%$ of the mean SPF_0 that is so say with d equal to:

$$\frac{t.s}{\sqrt{n}} \leq 0,17 \times SPF_0$$

where t is the value from the Student-t distribution table with n-1 degrees of freedom at a probability level $P = 0.95$.

The percentage Water Resistance Retention (%WRR) value for each plate should be calculated according to the formula below:

$$\%WRR = \frac{(SPF_{40} - 1)}{(SPF_0 - 1)} .100$$

where SPF_{40} is SPF after 40 minutes water immersion and SPF_0 is SPF initially measured. According to the Colipa, a product will be considered water resistant if the value is greater than or equal to 50% after 40 minutes of immersion⁶.

Results

The reference formulation has a SPF of 20.91 ± 1.09 and a FP-UVA of 5.52 ± 0.32 . The values of SPF, FP-UVA and critical wavelengths obtained for each emulsions are presented in Table III. We can notice a small influence of the excipient on the product efficacy. The level of protection measured for the products is mostly the same: medium protection. For the formula 11, a SPF 25 can be claimed, for 9 of them a SPF 20 (F1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 19 et 20), 8 of the sunscreens can claim SPF 15 (F5, 6, 8, 13, 14, 16, 18, 21), and finally, the last 3 have a SPF 10 (F12, 15 et F17). The 3 products which are less interesting in terms of efficacy are the one formulated with

gelling agents, like the carbomer and the cellulose derivatives. Those ingredients do not help the solubilisation of the UV filters.

In each case, the prerequisite have been verified. In fact, the uncertainty on the measurement is systematically below to 17% of the SPF, and the standard deviations obtained are low as well. The water resistance in percentage in UVB and UVA domains after 40 minutes immersion are presented in Table IV.

We used as a start a W/O formulation. This type of emulsion is known to be the best water resistant excipient⁷. Actually, the water resistance measured in UVB range is 70% and in UVA 61%.

Most of the ingredients tested allow obtaining water resistant formulations (Table IV). Some polymers (like Pecogel® and Asensa®) prove an efficacy close to 100%. Both of them are film-formers known and recognised for their water resistant property in sunscreen range^{8, 9}. However, those raw materials as they are occlusive promote the transdermal pathway of UV filters contained in the formulation¹⁰. The advice would be to find a compromise between the occlusive property of the formulation and its water resistance. Four raw materials (hydrogenated oil, a cellulose derivative, a carbomer and the polyamide-3) do not present any interest in terms of water resistance. We can observe that the composition of the lipophilic phase is important as some lipophilic ingredients commonly used in the cosmetic industry such as coconut oil are very efficient in terms of water resistance.

References

1. S Forestier, Rationale for sunscreen development. *J Am Acad Dermatol* 58, 5, S133-S138 (2008)
2. M Hugh, Gloster, Jr., N Kenneth, Skin cancer in skin of color. *J Am Acad Dermatol* 55, 5, 741-760 (2006)
3. C Couteau, M Pommier, E Papis, LJM Coiffard, Study of the efficacy of 18 sun filters authorized in European Union tested *in vitro*. *Pharmazie* 62, 449-452 (2007)
4. K Saga, Structure and function of human sweat glands studied with histochemistry and cytochemistry. *Progr Histochem Cytochem* 37, 4, 323-386 (2002)
5. C Couteau, R Chammas, S Alami, B Choquenot, E Papis, LJM Coiffard, Combination of UVA-filters and UVB-filters or inorganic UV-filters - Influence on the Sun Protection Factor (SPF) and the PF-UVA determined by *in vitro* method. *J Dermatol Sci* 50 (2) 159-162 (2008)
6. B Choquenot, C Couteau, E Papis, LJM Coiffard, Adaptation of the protocol for determining *in vitro* the sun protection factor of anti-solar sticks. *Int J Cosm Sci* 30, 361-365 (2008)
7. D Leroy, P Deschamps, Influence of formulation on sunscreen water resistance. *Photodermatol* 3 (1), 52-53 (1986)

8. D Petersen, Film-forming polymer improves water resistance. Household and Personal Care, 3, 30 -32 (2009)

9. A Hunter, M Trevino, Film-former enhance water resistance and SPF in sun care products. Cosm Toil 119 (7) 51-56 (2004)

10. JT Beverley, CF Barrie, The transdermal revolution. Drug Discovery Today 9, 16, 697-703 (2004)

Table I W/O formulations tested

Ingredients	% w/w	Supplier
Theobroma cacao	2.00	Sederma
Glyceryl stearate	3.00	Gattefossé
Stearic acid	2.00	Cooper
Octyldimethyl PABA	7.00	Symrise
Benzophenone-3	3.00	Symrise
Sorbitol (70%)	5.00	Roquette
Sodium propylparaben	0.10	Merck
Sodium methylparaben	0.30	Cooper
Triethanolamine	1.00	Cooper
Benzyl alcohol	0.50	Janssen Chemica
Distilled water	qsp 100.00	

Table II Ingredients tested

INCI name (Trade name)	Reference of formulation	Supplier	Use level (% w/w)	Solubility
Lanolin (Lanoline)	1	Cooper	4,5	Oil phase
Butyrospermum parkii (Beurre de karate)	2	Cooper	4,5	Oil phase
Coconut oil (Huile de coco)	3	Cooper	4,5	Oil phase
Paraffinum (Vaseline)	4	Cooper	4,5	Oil phase
Glyceryl stearate, behenyl alcohol, palmitic acid, stearic acid, lecithin, lauryl alcohol, myristyl alcohol, cetyl alcohol (Prolipid 141)	5	ISP	5,0	Oil phase
Hydrogenated vegetable oil (Cegesoft HF 52)	6	Cognis	4,5	Oil phase
Hydrogenated vegetable oil (Cegesoft HF 62)	7	Cognis	4,5	Oil phase
Polyester-5 (Eastman AQ 38S)	8	Unipex	2,0	Water phase
VP/Eicosene copolymer (Antaron V-220 F)	9	ISP	5,0	Oil phase
Hydrogenated dimer dilinoyl/dimethylcarbonate copolymer (Cosmedia DC)	10	Cognis	3,0	Oil phase
Polyisobutene (Rewopal PIB 1000)	11	Evonik	10,0	Oil phase

Acrylates/C12-22 alkylmethacrylate copolymer (Allianz OPT)	12	ISP	2,0	At the end of the emulsion
VP/dimethiconylacrylate/polycar bamyl/polyglycol ester (Pecogel S 1120)	13	Corneilus group	8,0	Oil phase
Polyethylene (Asensa PR 200)	14	Honeywell internation al	2,0	Oil phase
Microcrystalline cellulose, cellulose gum (Natpure cellgum)	15	Adina	10,0	Water phase (predisp ersed in sorbitol)
Squalane, ethylene/propylene copolymer (Creagel crystal VS)	16	Créations couleurs	5,0	Oil phase
Acrylic acid/VP crosspolymer (Ultra-thix P-100)	17	ISP	1,0	Neutralis ation by TEA necessary
Ethylenediamine/hydrogenated dimer dilinoleate copolymer bis- di C14-18 alkyl amide (Sylvaclear A 2614V)	18	Jan Dekker	30,0	Oil phase
Polyamide-3 (Sylvaclear PA 1200V)	19	Jan Dekker	4,0	Water phase

				(predispe rsed in sorbitol)
Dicaprylyl carbonate, stearalkonium hectorite, propylene carbonate (Cosmedia gel CC)	20	Cognis	10,0	Oil phase
Limnanthes alba (meadowfoam) seed oil, disteardimonium hectorite, propylene carbonate (Hectone LA)	21	Créations couleurs	20,0	Oil phase

Table III Efficacy of the emulsions tested

	SPF ₀ ± DS	FP-UVA ₀ ± DS	λ _{c0} (nm)	SPF ₄₀ ± DS	FP-UVA ₄₀ ± DS	λ _{c40} (nm)
F1	21.16 ± 1.05	5.04 ± 0.19	354	13.86 ± 0.96	3.29 ± 0.15	347
F2	22.25 ± 1.69	5.08 ± 0.23	353	15.97 ± 1.31	3.54 ± 0.18	348
F3	21.31 ± 1.29	5.00 ± 0.21	353	17.00 ± 0.88	3.70 ± 0.10	348
F4	20.30 ± 1.68	4.83 ± 0.25	354	15.38 ± 1.46	3.35 ± 0.23	346
F5	17.79 ± 1.48	4.71 ± 0.26	356	12.31 ± 1.15	3.21 ± 0.18	350
F6	19.39 ± 1.46	4.80 ± 0.29	355	10.06 ± 0.62	2.73 ± 0.1	345
F7	22.01 ± 1.31	4.88 ± 0.98	355	12.41 ± 0.86	3.20 ± 0.13	349
F8	19.87 ± 1.89	5.23 ± 0.27	356	14.20 ± 1.77	3.48 ± 0.22	349
F9	22.15 ± 1.97	5.04 ± 0.32	355	13.24 ± 1.30	3.14 ± 0.17	347
F10	19.13 ± 2.55	4.94 ± 0.30	355	15.38 ± 1.74	3.55 ± 0.21	348
F11	29.12 ± 3.61	5.86 ± 0.56	354	19.39 ± 2.71	3.84 ± 0.44	348
F12	12.43 ± 2.24	4.16 ± 0.45	359	11.79 ± 2.27	3.15 ± 0.30	351
F13	18.83 ± 1.9	5.31 ± 0.52	356	19.17 ± 2.00	4.10 ± 0.32	350
F14	18.84 ± 1.23	4.94 ± 0.18	356	17.55 ± 1.31	3.92 ± 0.26	352
F15	14.05 ± 1.13	4.50 ± 0.22	358	4.34 ± 0.33	2.11 ± 0.10	360
F16	18.75 ± 2.00	4.49 ± 0.33	352	13.61 ± 2.07	3.13 ± 0.35	344
F17	13.93 ± 0.71	4.05 ± 0.08	353	5.69 ± 0.42	2.24 ± 0.06	350
F18	17.28 ± 1.22	3.60 ± 0.19	347	13.00 ± 0.97	2.54 ± 0.15	335
F19	20.42 ± 1.07	4.36 ± 0.15	349	3.44 ± 0.22	1.95 ± 0.08	370
F20	20.71 ± 1.68	4.35 ± 0.19	349	17.24 ± 1.19	3.42 ± 0.15	344
F21	16.62 ± 1.17	3.54 ± 0.15	346	12.96 ± 0.85	2.72 ± 0.12	340

Table IV WRR in the UVB and UVA domains

	WRR (UVB domain)	WRR (UVA domain)
F1	64%	57%
F2	70%	62%
F3	79%	68%
F4	75%	61%
F5	67%	60%
F6	49%	46%
F7	54%	57%
F8	70%	59%
F9	58%	53%
F10	79%	65%
F11	65%	58%
F12	95%	68%
F13	102%	72%
F14	93%	74%
F15	26%	32%
F16	71%	61%
F17	36%	41%
F18	74%	59%
F19	13%	28%
F20	82%	72%
F21	77%	68%

Annexe 4

Influence of the hydrophilic-lipophilic balance of sunscreen emulsions on their water resistance property

RESEARCH ARTICLE

Influence of the hydrophilic–lipophilic balance of sunscreen emulsions on their water resistance property

Céline Couteau, Alexandre Demé, Clotilde Cheignon, and Laurence J.M. Coiffard

Faculty of Pharmacy, Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, Nantes, France

Abstract

The use of sunscreens with sun protective cloths is the photoprotection way mostly used by Occidentals. During sweating or a bath, those products should be still efficient. As the emulsion is the mostly used type of product format, it is essential that the scientist knows how to formulate an emulsion which will be water resistant. The HLB (hydrophilic–lipophilic balance) of a formulation has high influence on this characteristic.

Keywords: HLB, water resistance, *in vitro*, sunscreens

Introduction

Sunscreens substantivity is a very important feature to take into account for topical photoprotection. It is their ability to resist rubbing and watering and/or sweating^{1–3}. The ingredients of sun care products can influence the substantivity at two levels: on the one hand, by interacting with keratinized structures of the *Stratum corneum* and establishing chemical bonds⁴, on the other hand, by creating a hydrophobic environment unfavorable to be washed by water. It is the reason why a W/O emulsion would be considered as the best choice as a carrier for UV filters⁵. The idea of HLB (hydrophilic–lipophilic balance) has been introduced for the first time by Griffin in 1949 to describe emulsifiers according to their lipophilic or hydrophilic degree⁶. Emulsifiers with low HLB (3–8) help to obtain W/O emulsions. The O/W emulsions can be obtained with high HLB (9–12) emulsifiers^{7,8}. As Griffin demonstrated that HLB are additive and many authors recommended to use them in combination, it is possible to predict the use level of each emulsifier to incorporate in a formulation to make it stable. As the water resistance feature of sunscreens is mainly linked to the excipient used, it would be interesting to determine what would be the maximum HLB above which the water resistance characteristic would not be obtained. Indeed, nobody has established this value.

Materials and methods

Batteries of emulsions have been prepared with different range of emulsifiers, where the water phase is still the highest concentration. Table 1 gives the standard formulation of the emulsion tested. The emulsifiers incorporated at different use levels are presented in Table 2.

The emulsions have been prepared following the method described previously⁹. A 30.0±1.0 mg of product exactly weighed was spread on polymethylmethacrylate (PMMA) plates over the whole surface (25 cm²) using a finger coat. PMMA plates were purchased from Europlast (Aubervilliers, France). A 15.0±0.5 mg remains on the finger coat. The SPF (sun protection factor) and the PF-UVA (protection factor UVA) of the creams were measured by *in vitro* method. Three plates were prepared for each product to be tested and nine measures were performed on each plate. Transmission measurements between 290 and 400 nm and 320 and 400 nm were carried out using a spectrophotometer equipped with an integrating sphere (UV Transmittance Analyzer UV1000S; Labsphere, North Sutton, New Hampshire, USA). The standard used was the 8% homosalate standard mandated by the US Food and Drug Administration

Address for Correspondence: Laurence J.M. Coiffard, Faculty of Pharmacy, Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, LPiC, MMS, EA2160, 1 rue G. Veil—BP 53508, Nantes F-44000, France. E-mail: laurence.coiffard@univ-nantes.fr

(Received 09 September 2011; revised 03 November 2011; accepted 21 December 2011)

Sunscreen Monograph¹³. The calculations for either term use the same relationship:

$$\text{SPF} = \frac{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} d_{\lambda}}{\sum_{290}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} T_{\lambda} d_{\lambda}} \quad (1)$$

$$\text{PF-UVA} = \frac{\sum_{320}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} d_{\lambda}}{\sum_{320}^{400} E_{\lambda} S_{\lambda} T_{\lambda} d_{\lambda}} \quad (2)$$

where E_{λ} is International Commission on Illumination erythral spectral effectiveness, S_{λ} is solar spectral irradiance, T_{λ} is spectral transmittance of the sample, and λ is the wavelength¹⁰.

In order to determine the water resistance, the plates are immersed inside a water bath with a controlled temperature of $29 \pm 2^{\circ}\text{C}$, twice for 20 min each, with a drying phase during 30 s in between. The stirring device is a polycarbonate bath (Cuve IKA[®] Werke EH4.1; Grosseron, St Herblain, France) equipped with an immersion

Table 1 Standard formulation of the tested emulsion.

Ingredients (INCI name)	% (m/m)	Suppliers
Paraffinum liquidum	4.50	Cooper
Theobroma cacao	2.00	Sederma
Emulsifier	qs	
Cera alba	2.00	Cooper
Octyldimethyl PABA	7.00	Symrise
Benzophenone-3	3.00	Symrise
Sorbitol (70%)	5.00	Roquette
Sodium propylparaben	0.10	Merck
Sodium methylparaben	0.30	Cooper
Distilled water (Aqua)	qsp 100.00	

qs, *quantum satis*; qsp, *quantum satis per*.

Table 2 Emulsifiers tested.

Trade name	INCI name	Supplier	HLB
Eumulgin B2	Ceteareth-20	Cognis	15
Eumulgin B1	Ceteareth-12	Cognis	13
Brij 92V	Oleth-2	Quimasso	4.9
Geleol	Glyceryl stearate	Gattefossé	3.8
Apifil	PEG-8 beeswax	Gattefossé	9.4

Table 3 Efficacy of the tested emulsions.

Emulsifiers used (HLB)	SPF	PF-UVA	λ_c (nm)
Glyceryl stearate (3%) + Oleth-2 (3%) (HLB=4.35)	21.93 ± 1.25	4.70 ± 0.17	352
Glyceryl stearate (3%) + Ceteareth-12 (0.45%) (HLB=5)	16.32 ± 1.13	4.04 ± 0.20	352
Glyceryl stearate (3.02%) + Ceteareth-12 (0.96%) (HLB=6.02)	18.88 ± 1.05	4.32 ± 0.15	352
Glyceryl stearate (3%) + Ceteareth-12 (1.64%) (HLB=7.05)	17.42 ± 1.24	4.01 ± 0.18	351
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) + Brij 93 (11.6%) (HLB=8)	20.76 ± 1.52	4.23 ± 0.21	349
Ceteareth-20 (0.6%) + Ceteareth-12 (3%) + PEG-8 beeswax (20%) (HLB=10)	20.27 ± 1.09	4.09 ± 0.17	349
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) + Brij 93 (1.7%) (HLB=12)	20.17 ± 1.52	4.33 ± 0.20	350
Ceteareth-20 (3%) + Ceteareth-12 (3%) (HLB=14)	18.03 ± 1.49	4.07 ± 0.22	350

thermostat (IKA[®] Yellow Line Basic EH4 basic immersion thermostat; Grosseron, St Herblain, France [pump type: pressure pump/pump pressure max. (0 L discharge flow): 0.08 bar/pump pressure max. (0 bar back pressure): 5 L/min]). Before the immersion, and then every 20 min, *in vitro* SPF measurements were carried out. Transmission measurements between 290 and 400 nm were carried out using the Labsphere UV1000S¹¹. According to the Colipa method, the test will be considered acceptable if the 95% confidence interval on the mean SPF_0 is within $\pm 17\%$ of the mean SPF_0 that is so say with d equal to:

$$\frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} \leq 0.17 \times \text{SEF}_0$$

where t is the value from the Student's t -distribution table with $n-1$ degrees of freedom at a probability level $p=0.95$.

The percentage water resistance retention (%WRR) value for each plate should be calculated according to the formula below:

$$\% \text{WRR} = \frac{(\text{SPF}_{40} - 1)}{(\text{SPF}_0 - 1)} \times 100$$

where SPF_{40} is SPF after 40 min water immersion and SPF_0 is SPF initially measured. According to the Colipa, a product will be considered water resistant if the value is greater than or equal to 50% after 40 min of immersion¹².

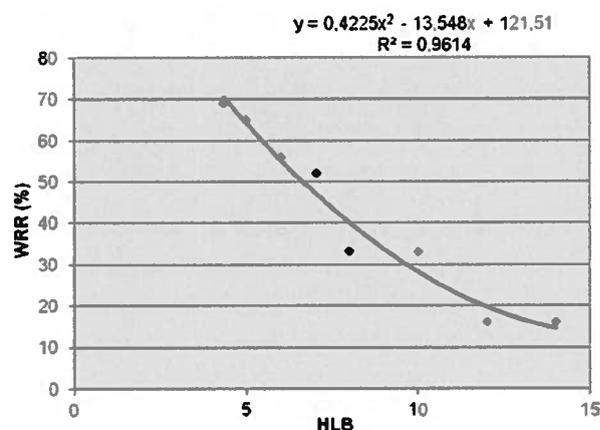


Figure 1 HLB versus water resistance.

Results and discussion

The results regarding the suncreening efficacy of the emulsions are presented in Table 3. For the same mixture of sun filters, we can notice that the efficiency will not vary so much according to the emulsifiers chosen. The emulsions have an SPF between 16 and 22; they can claim a "medium protection" according to the Colipa recommendation. In each case, the prerequisite has been verified. Indeed, the uncertainty of the measurement is systematically lower than 17% of the SPF, as well as the standard deviations are low.

The HLB influence on the water resistance is presented on Figure 1. It is clearly shown that a minimum HLB value of 7 is necessary to formulate a water-resistant product. Therefore, W/O emulsions are the best choices to achieve water-resistant formulations.

Declaration of interest

The authors declared no conflict of interest.

References

- Hagedorn-Leweke UH, Lippold BC. (1998). Accumulation of sunscreens and other compounds in keratinous substrates. *Eur J Pharm Biopharm*, 46:215-221.
- Diffey B. (2001). Sunscreen isn't enough. *J Photochem Photobiol B, Biol*, 64:105-108.
- Poh Agin P. (2006). Water resistance and extended wear sunscreens. *Dermatol Clin*, 24:75-79.
- Koshy JC, Sharabi SE, Jerkins D, Cox J, Cronin SP, Hollter LH Jr. (2010). Sunscreens: evolving aspects of sun protection. *J Pediatr Health Care*, 24:343-346.
- Leroy D, Deschamps P. (1986). Influence of formulation on sunscreen water resistance. *Photodermatol*, 3:52-53.
- Boyd J, Parkinson C, Sherman P. 1972. Factors affecting emulsion stability, and the HLB concept. *J Col Interface Sci*, 41:359-370.
- Verdinelli V, Messina PV, Schulz PC, Vuano B. (2008). Hydrophilic-lipophile balance (HLB) of n-alkane phosphonic acids and their salts. *Col Surfaces A*, 316:131-135.
- Schmidts T, Dobler D, Guldan AC, Paulus N, Runkel F. (2010). Multiple W/O/W emulsions—using the required HLB for emulsifier evaluation. *Col Surfaces A*, 372:48-54.
- Couteau C, Pommier M, Papis E, Coiffard LJ. (2007). Study of the efficacy of 18 sun filters authorized in European Union tested in vitro. *Pharmazie*, 62:449-452.
- Diffey BL, Robson J. (1989). Sun protection factor in vitro. *J Soc Cosmet Chem*, 40:127-132.
- Choquet B, Couteau C, Papis E, Coiffard LJ. (2008). Development of an in vitro test to determine the water-resistance of sunscreens. *pharmazie*, 63:S25-S27.
- Colipa Guidelines for Evaluating Sun Product Water Resistance, 2005.
- Food and Drug Administration. Title 21—Food and drugs. Chapter I—Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Part 352—Sunscreen Drug Products for Over-The-Counter Human Use. 352.70—Standard sunscreen.

Annexe 5

Silymarin, a molecule of interest for topical photoprotection

PROOF COVER SHEET

Author: Laurence J.M. Coiffard

Article title: Silymarin, a molecule of interest for topical photoprotection

Article no: GNPL-637219

Enclosures: 1) Query sheet
2) Article proofs

Dear Author,

1. Please check these proofs carefully. It is the responsibility of the corresponding author to check these and approve or amend them. A second proof is not normally provided. Taylor & Francis cannot be held responsible for uncorrected errors, even if introduced during the production process. Once your corrections have been added to the article, it will be considered ready for publication.

For detailed guidance on how to check your proofs, please see <http://journalauthors.tandf.co.uk/production/checkingproofs.asp>.

2. Please review the table of contributors below and confirm that the first and last names are structured correctly and that the authors are listed in the correct order of contribution. This check is to ensure that your name will appear correctly online and when the article is indexed.

Sequence	Prefix	Given name(s)	Surname	Suffix
1		Celine	Couteau	
2		Clotilde	Cheignon	
3		Eva	Paparis	
4		Laurence J.M.	Coiffard	

Queries are marked in the margins of the proofs. Unless advised otherwise, submit all corrections and answers to the queries using the CATS online correction form, and then press the "Submit All Corrections" button.

AUTHOR QUERIES

General query: You have warranted that you have secured the necessary written permission from the appropriate copyright owner for the reproduction of any text, illustration, or other material in your article. (Please see <http://journalauthors.tandf.co.uk/preparation/permission.asp>.) Please check that any required acknowledgements have been included to reflect this.

- <AQ1/> Please check "complimentary" has been changed to "complementary" in sentence "There are different ways ...complimentary".
- <AQ2/> Please provide "Conclusion" section.
- <AQ3/> Please check reference "Diffey & Robson. (1989)" is listed, but not cited in the text.

How to make corrections to your proofs using Adobe Acrobat

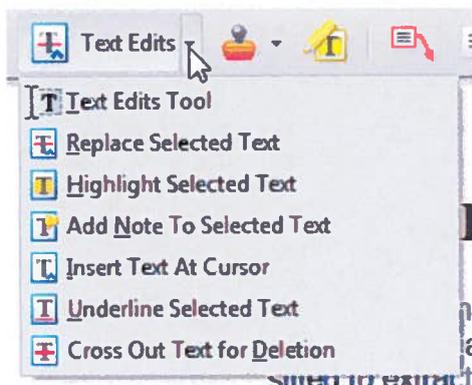
Taylor & Francis now offer you a choice of options to help you make corrections to your proofs. Your PDF proof file has been enabled so that you can edit the proof directly. This is the simplest and best way for you to ensure that your corrections will be incorporated. To do this, please follow these instructions:

1. Check which version of Adobe Acrobat you have on your computer. You can do this by clicking on the “Help” tab, and then “About”.

If Adobe Reader is not installed, you can get the latest version free from <http://get.adobe.com/reader/>.

- If you have Adobe Reader 8 (or a later version), go to “Tools”/ “Comments & Markup”/ “Show Comments & Markup”.
- If you have Acrobat Professional 7, go to “Tools”/ “Commenting”/ “Show Commenting Toolbar”.

2. Click “Text Edits”. You can then select any text and delete it, replace it, or insert new text as you need to. It is also possible to highlight text and add a note or comment.



3. Make sure that you save the file when you close the document before uploading it to CATS. A full list of the comments and edits you have made can be viewed by clicking on the “Comments” tab in the bottom left-hand corner of the PDF.

If you prefer, you can make your corrections using the CATS online correction form.

Silymarin, a molecule of interest for topical photoprotection

Celine Couteau, Clotilde Cheignon, Eva Papis and Laurence J.M. Coiffard*

Faculty of Pharmacy, Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, LPiC, MMS, EA2160,
1 rue G. Veil – BP 53508, Nantes, F-44000 France

5 (Received 6 July 2011; final version received 29 August 2011)

10 Some UV-filters have side effects. For example, oestrogenic effect was demon-
strated for 4-methylbenzylidene camphor. Given that secondary metabolites are
known for their UVB photoprotective properties in plants that contain them, we
chose to study silymarin as an agent which could potentially be used in sun
products. This determination is based on the physical determination of the
reduction of the energy in the UV range, through a film of product which has
previously been spread on an adequate substrate. About 15 mg of O/W emulsion
containing silymarin at various concentrations was applied on roughened
PMMA plates and the transmission measurements are carried out using a
15 spectrophotometer equipped with integrating sphere. Incorporated in O/W
creams, at a concentration of 10% (w/w), silymarin gives a Sun Protection Factor
similar to that of octylmethoxycinnamate, which is why it is predominantly used
in Europe. Overall, these results demonstrate that silymarin is a promising new
sunscreen agent.

20 **Keywords:** silymarin; SPF; PF-UVA; *in vitro* method

1. Introduction

1 There are different ways of protecting the skin against the negative effects of the sun and
they are complementary. These complementary ways are the photoprotection coming from
clothes and the topical formulations (Ghazi, Couteau, & Coiffard, 2010, 2011).

25 Topical products are formulated with organic and/or inorganic sun filters. Their
efficacy is known, but they can lead to unwanted effects on humans and/or on the
environment (Danovaro et al., 2008; Knobler et al., 1989; Schlumpf, Jarry, Wuttke, Ma, &
Lichtensteiger, 2004; Soeborg, Ganderup, Kristensen, Bjerregaad, & Pedersen, 2006).
In this context, finding alternatives would be relevant. Plants exposed to sunlight produce
30 secondary metabolites to protect their genome. Some already appear as interesting sources
of new photoprotective molecules for topical application. For example, boldine, which is
an alkaloid coming from the boldo tree, is well known for its antioxidant properties
(Hidalgo, Farah, Carrasco, & Fernández, 2005; O'Brien, Carrasco-Pozo, & Speisky, 2006).
Aromatic compounds from certain lichens (1'-chloropannarine, epiphorelic acids I and II,
35 calicine) demonstrate, *in vitro*, a comparable efficacy as the octylmethoxycinnamate, the
UVB filter which is mostly used within Europe (Couteau, Faure, Fortin, Papis, &
Coiffard, 2007a; Couteau, Pommier, Papis, & Coiffard, 2007b). The flavonoids, natural
colourants of plants, are also an interesting family, in particular chlorogenic acid, baicalin,

*Corresponding author. Email: laurence.coiffard@univ-nantes.fr

2 C. Couteau et al.

40 luteolin, apigenin and puerarin (Choquet, Couteau, Papis, & Coiffard, 2009). From the marine environment, mycosporins such as amino acids would provide a photoprotection in the UVA range (Conde, Churio, & Previtali, 2000; Vaid & Katiyar, 2010; Zhang & Wu, 2007). We took particular interest in the silymarin, coming from the *Silybum marianum*, known for its antioxidant properties (Gazak, Svobodova, & Psotova, 2004; Katiyar, 2005).

45 **2. Results and discussion**

The silymarin spectrum presents a peak of absorption at 286 nm. The influence of different concentrations of silymarin on the efficacy in the UVB and UVA ranges was studied. The results obtained in terms of efficiency are extremely promising, as the use level of 10% (w/w) of silymarin allows a Sun Protection Factor (SPF) close to 9 (Figure 1). Thanks to this value measured, the silymarin can be compared to a UV filter such as the octylmethoxycinnamate (Couteau et al., 2007a), which is a very efficient sun filter and the reason why it is predominantly used in Europe. The silymarin positions itself as a UVB filter. It is less efficient in the UVA range (Figure 1), as confirmed by the spectrum measured with the aqueous solution. The combinations with the zinc oxide and the titanium dioxide give interesting results. The measured SPF values of the preparations, formulated with filters according to their respective regulations, are higher than 10 (Table 1). After 2 h of irradiation at 650 W m⁻², the silymarin proved to be photostable. Indeed, in the case of a silymarin-based sun product, more than 90% efficacy is kept. Therefore, the silymarin shows a photostability higher than most of the organic UV filters

b/w in print, colour online

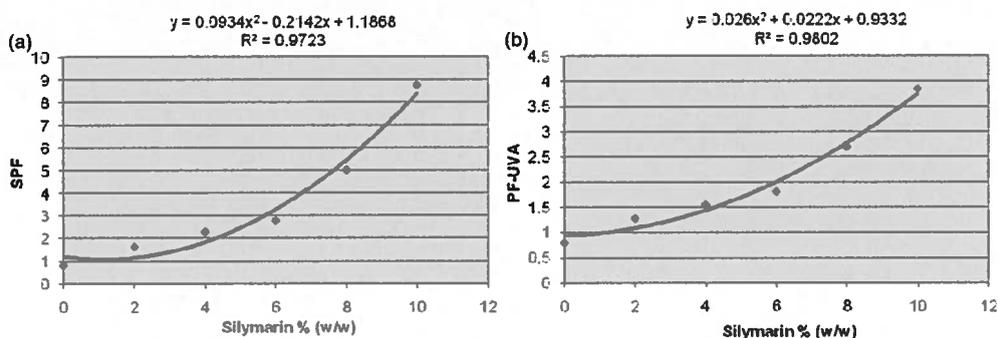


Figure 1. Efficacy of silymarin in UVB (1) and UVA (2) ranges.

Table 1. Data concerning the combination between silymarin and inorganic sun filters, before and after irradiation during 2 h at 650 W/min.

Product associated with silymarin	SPF ₀ ± SD	PF-UVA ₀ ± SD	λ _{c0} (nm)	SPF _{2h} ± SD	PF-UVA _{2h} ± SD	λ _{c2h} (nm)
10% (w/w)						
Z-Cote max (10% w/w)	12.37 ± 4.39	7.32 ± 2.34	378	11.84 ± 3.84	7.18 ± 2.06	378
Eusolex T-Oléo (10% w/w)	16.30 ± 2.98	7.61 ± 0.97	377	16.49 ± 2.95	17.00 ± 1.39	378

60 sold on the market at the moment (Couteau et al., 2007b). Other studies have already
demonstrated that the silymarin would be interesting in the prevention of photocarcino-
65 genesis phenomena (Jiang, Wang, Onodera, & Ikejima, 2009; Nichols & Katiyar, 2010;
Rancan et al., 2002; Zudaire & Roy, 2001). By its efficacy, its photostability and the other
properties already displayed, the silymarin is an ingredient to consider and to emphasise in
the topical photoprotection domain.

3. Experimental

3.1. Materials

70 Silymarin, with a purity of 80% as total flavonolignans determined by HPLC, was
obtained from Bioserae (Bram, France). Cetiol® HE, stearic acid, glycerin, parabens and
triethanolamine (TEA) were purchased from Cooper (Melun, France). Xanthan gum
(Keltrol® BT) was obtained from Kelco (Lille Skensved, Denmark). Zinc oxide (Z-Cote
Max®) was obtained from BASF (Ludwigshafen, Germany). Titanium dioxide (Eusolex®
T-aqua) was obtained from Merck (Damstadt, Germany). Polymethylmethacrylate
(PMMA) plates were purchased from Europlast (Aubervilliers, France).

75 3.2. Methods

Aqueous solutions were scanned at wavelengths between 200 and 400 nm using a
spectrophotometer double-beam (Hitachi UV-visible, model U-2000). The spectra were
measured against a pure water sample in quartz cells with a 1-cm optical path length.

80 An O/W emulsion was prepared in the laboratory by adding known concentrations of
silymarin into the formulation components. A detailed description of the protocol is
described in a previously published paper (Couteau et al., 2007b). The plates were
irradiated for 2 h with a solar simulator (Suntest CPS+; Atlas, Moussy le Neuf, France)
device equipped with a xenon arc lamp (1500 W) and special glass filters restricting the
transmission of light below 290 nm. The light source emission was maintained at
85 650 W m^{-2} in accordance to the global solar spectral irradiance (Couteau et al., 2007a).
Before and after irradiation, the SPF and the PF-UVA of the creams were measured
2 *in vitro*.

References

- 90 Choquenot, B., Couteau, C., Paparis, E., & Coiffard, L.J.M. (2009). Flavonoids and polyphenols, molecular
families with sunscreen potential: Determining effectiveness with an *in vitro* method. *Natural Products
Communications*, 4, 227–230.
- Conde, F.R., Churio, M.S., & Previtali, C.M. (2000). The photoprotector mechanism of mycosporine-like amino
acids. Excited-state properties and photostability of porphyra-334 in aqueous solution. *Journal of
Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 56, 139–144.
- 95 Couteau, C., Faure, A., Fortin, J., Paparis, E., & Coiffard, L.J.M. (2007a). The photoprotector mechanism of
mycosporine-like amino acids. Excited-state properties and photostability of porphyra-334 in aqueous
solution. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44, 270.
- Couteau, C., Pommier, M., Paparis, E., & Coiffard, L.J.M. (2007b). Study of the efficacy of 18 sun filters
authorized in European Union tested *in vitro*. *Pharmazie*, 62, 449–452.
- 100 Danovaro, R., Bongiorno, L., Corinaldesi, C., Giovannelli, D., Damiani, E., Astolfi, P., . . . , Pusceddu, A. (2008).
Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. *Environmental Health Perspective*, 116,
441–447.
- Diffey, B.L., & Robson, J. (1989). A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the
ultraviolet spectrum. *Journal of Society of Cosmetic Chemists*, 40, 127–133.
- 105 Gazak, R., Svobodova, A., & Psotova, A. (2004). Oxidised derivatives of silybin and their antiradical and
antioxidant activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 12, 5677–5687.

4 C. Couteau et al.

- Ghazi, S., Couteau, C., & Coiffard, L.J.M. (2010). What level of protection can be obtained using sun protective clothing? Determining effectiveness using an *in vitro* method. *International Journal of Pharmacy*, 397, 144–147.
- 110 Ghazi, S., Couteau, C., & Coiffard, L.J.M. (2011). How to guarantee adequate sun protection for a young sportsperson. *Journal der Deutschen Dermatologischen*, 9, 470–474.
- Hidalgo, M.E., Farah, M., Carrasco, L., & Fernández, E. (2005). Photostability and photoprotection factor of boldine and glaucine. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 80, 65–69.
- 115 Jiang, Y.Y., Wang, H.J., Onodera, S., & Ikejima, T. (2009). The protective effect of silibinin against mitomycin C-induced intrinsic apoptosis in human melanoma A375-S2 cells. *Journal of Pharmacologic Sciences*, 11, 137–146.
- Katiyar, S. (2005). Silymarin and skin cancer prevention anti-inflammatory antioxidant and immunomodulatory effects review. *International Journal of Oncology*, 26, 169–176.
- 120 Knobler, E., Almeida, L., Ruzkowski, A.M., Held, J., Harber, L., & DeLeo, V. (1989). Photoallergy to benzophenone. *Archives of Dermatology*, 125, 801–804.
- Nichols, J.A., & Katiyar, S.K. (2010). Skin photoprotection by natural polyphenols: Anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Archives of Dermatology Research*, 302, 71–83.
- O'Brien, P., Carrasco-Pozo, C., & Speisky, H. (2006). Boldine and its antioxidant or health-promoting properties. *Chemico-Biological Interactions*, 159, 1–17.
- 125 Rancan, F., Rosan, S., Boehm, K., Fernández, E., Hidalgo, M.E., Quihot, W., & Oltmanns, U. (2002). Protection against UVB irradiation by natural filters extracted from lichens. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 68, 133–139.
- Schlumpf, M., Jarry, H., Wuttke, W., Ma, R., & Lichtensteiger, W. (2004). Estrogenic activity and estrogen receptor beta binding of the UV filter 3-benzylidene camphor. *Comparison with 4-methylbenzylidene camphor*. *Toxicology*, 199, 109–120.
- 130 Soeborg, T., Ganderup, N.C., Kristensen, J.K., Bjerregaard, P., & Pedersen, K.L. (2006). Distribution of the UV filter 3-benzylidene camphor in rat following topical application. *Journal of Chromatography B*, 834, 117–121.
- Vaid, M., & Katiyar, S.K. (2010). Molecular mechanisms of inhibition of photocarcinogenesis by silymarin, a phytochemical from milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) (Review). *International Journal of Oncology*, 36, 1053–1060.
- Zhang, L., Li, L., & Wu, Q. (2007). Protective effects of mycosporine-like amino acids of *Synechocystis* sp. PCC 6803 and their partial characterization. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 86, 240–245.
- 140 Zudaire, L., & Roy, S. (2001). Photoprotection and long-term acclimation to UV radiation in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 62, 26–34.

Liste des figures

Figure 1: Spectre électromagnétique [5]	13
Figure 2 : Spectre solaire et niveau de pénétration cutanée [7]	14
Figure 3 : Couches cutanées atteintes par les UV [11]	15
Figure 4 : Coupe histologique de peau [14]	16
Figure 5 : Migration des kératinocytes à travers les différentes couches de l'épiderme [17]	16
Figure 6 : Géographie des cellules de l'épiderme [18]	17
Figure 7 : Le processus de kératinisation [20]	18
Figure 8 : Mélanocytes en co-culture avec des kératinocytes [23]	18
Figure 9 : L'Unité Epidermique de Mélanisation [24]	19
Figure 10 : Cellules de Langerhans [26]	20
Figure 11 : Cellule de Merkel [29]	20
Figure 12 : Principales étapes de la biosynthèse des mélanines [33]	22
Figure 13 : Schéma simplifié de la biogenèse des deux types de mélanosomes [35]	23
Figure 14 : Production et transfert de la mélanine dans la peau [37]	23
Figure 15 : Kératinocytes, mélanocytes, jonction dermo-épidermique et derme papillaire en microscopie électronique à faible (A) et fort (B, C) grossissements [38]	24
Figure 16 : Spectre d'absorption de la mélanine [43]	25
Figure 17 : Modélisation du transfert des mélanosomes des mélanocytes aux kératinocytes au sein de l'épiderme [4]	26
Figure 18 : Agrégat de mélanosomes autour du noyau d'un kératinocyte [20]	26
Figure 19 : Quantification de la pénétration des UV dans la peau [44]	26
Figure 20 : Spectres d'absorption des chromophores cutanés	28
Figure 21 : Exemple d'érythème actinique [56]	29
Figure 22 : Elastose solaire et érythrose des faces latérales des joues [58]	31
Figure 23 : Rides et taches actiniques [58]	31
Figure 24 : Mélanome superficiel [62]	31
Figure 25 : Lunettes et chapeau, des moyens efficaces de photoprotection externe [74]	34
Figure 26 : Cis-isomérisation de l'OMC [92]	38
Figure 27 : Photo-stabilité de différents filtres seuls ou en association, en solution dans le Miglyol® [95]	39
Figure 28 : Voies de dissémination des filtres UV dans l'environnement [108]	43
Figure 29 : Etapes du processus de blanchiment du corail [124]	45
Figure 30 : Coexistence de coraux vivant et mort [124]	45
Figure 31 : Dioxyde de titane en microscopie électronique en transmission [132]	48
Figure 32 : Spectres d'absorption dans le domaine ultraviolet du TiO ₂ (A) et du ZnO (B) [81]	49
Figure 33 : Spectre d'un produit solaire contenant du ZnO avant (bleu) et après irradiation (rouge) [142]	50
Figure 34 : Exemple du groupement ester en ortho et para [79]	51
Figure 35 : Schéma du mécanisme d'action des filtres organiques [4]	51
Figure 36 : Spectre UV du 4-MBC [82]	53
Figure 37 : Comparaison de la photo-stabilité de différents filtres UV [146]	55
Figure 38 : Spectre UV de l'éthylhexyl méthoxycinnamate [82]	56
Figure 39 : Spectre UV de l'octocrylène [82]	56
Figure 40 : Spectre UV de l'acide phénylbenzimidazole sulfonique [82]	58

Figure 41 : Effet synergique de la polysilicone-15 en association avec d'autres filtres UV [152]	60
Figure 42 : Spectre UV de la polysilicone-15 [82]	60
Figure 43 : Comparaison des caractéristiques à l'application de crèmes solaires avec et sans	61
Figure 44 : Spectre UV de l'éthylhexyl diméthyl PABA [82]	62
Figure 45 : Spectre UV du PEG-25 PABA [82]	63
Figure 46 : Spectre UV de l'éthylhexylsalicylate (noir) et de l'homosalate (jaune) [82]	64
Figure 47 : Spectre UV de la diéthylhexyl butamido triazone [82]	65
Figure 48 : Spectre UV de l'éthylhexyl triazone [82]	66
Figure 49 : Spectre UV du Mexoryl® SX [82]	68
Figure 50 : Spectre UV de l'avobenzone [82]	69
Figure 51 : Spectre UV du phényl dibenzylimidazole tétrasulfonate de sodium [82]	70
Figure 52 : Spectre UV de la benzophénone-3 [82]	73
Figure 53 : Spectre UV de la benzophénone-4 [82]	74
Figure 54 : Spectre UV de la benzophénone-5 [82]	74
Figure 55 : Spectre UV du drométrizole trisiloxane [82]	76
Figure 56 : Spectre UV du méthylène bis-benzotriazolyl tétraméthylbutylphénol [82]	76
Figure 57 : Comparaison du pouvoir d'absorption du Mexoryl® XL avec celui du Tinosorb® M [165]	77
Figure 58 : Spectre UV de la Bis-éthylhexyloxyphénol méthoxypéhyll triazine [82]	78
Figure 59 : Comparaison de la photo-stabilité de différents filtres UV en solution dans l'éthanol [90]	79
Figure 60 : Efficacité d'extraits de thé sur l'érythème photo-induit [176]	81
Figure 61 : Détermination <i>in vivo</i> du SPF	84
Figure 62 : Comparaison de l'état de surface d'une plaque de PMMA (rugosité de 6µm) (A) et de celui de la peau (B) [183]	86
Figure 63 : Détermination <i>in vitro</i> du niveau de protection UVA selon le protocole du COLIPA	89
Figure 64 : Logo UVA proposé par le COLIPA	90
Figure 65 : Système expérimental de détermination <i>in vitro</i> du caractère de résistance à l'eau d'un produit solaire utilisé au LPiC	94
Figure 66 : Systèmes expérimentaux utilisés : bain-marie (A) et Sotax® (B)	100
Figure 67 : Opération de pesée	101
Figure 68 : Localisation des points de dépôt (A) et étalement (B)	101
Figure 69 : Les neuf points de mesure sur la plaque de PMMA	102
Figure 70 : Pourcentage de résistance à l'eau dans le domaine UVB, après 40 minutes d'immersion	105
Figure 71 : Pourcentage de résistance à l'eau dans le domaine UVA, après 40 minutes d'immersion	105
Figure 72 : Influence du temps d'immersion sur les résultats de résistance à l'eau	109
Figure 73 : Intérêt d'une période de 20 minutes pour la détermination rapide du caractère de résistance à l'eau d'un produit solaire	110
Figure 74 : Influence de la valeur du HLB sur le caractère de résistance à l'eau	121
Figure 75 : Structure de la silymarine	122
Figure 76 : Spectre d'absorption UV de la silymarine à $2 \cdot 10^{-4}$ M en solution aqueuse	123
Figure 77 : Efficacité de la silymarine dans le domaine UVB	123

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition du rayonnement solaire atteignant la surface de la terre [6]	13
Tableau 2 : Adaptation de la classification de Fitzpatrick [30]	27
Tableau 3 : Principaux effets du soleil sur la peau [14]	32
Tableau 4 : Liste des filtres UV de la liste positive européenne [65,82]	35
Tableau 5 : Classification des filtres UV par familles chimiques [82]	36
Tableau 6 : Pourcentage de dégradation de certains filtres UV dans différents solvants (à 200 ppm, après 5 MED) [82]	40
Tableau 7 : Liste des ingrédients toxiques à éviter, selon Dingle [127]	47
Tableau 8 : Liste des filtres UV appartenant à la famille des dérivés du camphre [65, 81, 82, 144]	52
Tableau 9 : Longueurs d'onde maximale et structure chimique des filtres de la famille des dérivés du camphre [82]	54
Tableau 10 : Liste des filtres UV appartenant à la famille des cinnamates [65, 81, 82, 144]	55
Tableau 11 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des cinnamates [82]	57
Tableau 12 : Filtre UV de la famille des imidazolés [65, 81, 82, 144]	58
Tableau 13 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique de l'acide phénylbenzimidazole sulfonique [82]	58
Tableau 14 : Caractéristiques de la polysilicone-15 [65, 81, 82, 144]	59
Tableau 15 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique de la polysilicone-15 [82]	59
Tableau 16 : Caractéristiques des filtres UV, dérivés du PABA [65, 81, 82, 144]	61
Tableau 17 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des dérivés du PABA [82]	62
Tableau 18 : Filtres UV appartenant à la famille des salicylates [65, 81, 82, 144]	63
Tableau 19 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des salicylates [82]	64
Tableau 20 : Filtres UV appartenant à la famille des triazones [65, 81, 82, 144]	65
Tableau 21 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des triazones [82]	66
Tableau 22 : Caractéristiques du Mexoryl® SX [65, 81, 82, 144]	67
Tableau 23 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique du Mexoryl® SX [82]	67
Tableau 24 : Caractéristiques du butylméthoxydibenzoylméthane [65, 81, 82, 144]	68
Tableau 25 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique du BMDBM [82]	69
Tableau 26 : Filtre UV appartenant à la famille des Imidazolés [65, 81, 82, 144]	70
Tableau 27 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique du phényl dibenzylimidazole tétrasulfonate de sodium [82]	70
Tableau 28 : Caractéristiques du diéthylaminohydroxybenzoylhexylbenzoate [65, 81, 82, 144]	71
Tableau 29 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique du diéthylaminohydroxybenzoylhexylbenzoate [82]	71
Tableau 30 : Caractéristiques des diphénylcétones à spectre large [65, 81, 82, 144]	72

Tableau 31 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des benzophérones-3, -4 et -5 [82]	73
Tableau 32 : Filtres UV appartenant à la famille des benzotriazoles [65, 81, 82, 144]	75
Tableau 33 : Longueurs d'onde maximales d'absorption et structure chimique des benzotriazoles [82]	75
Tableau 34 : Filtre UV appartenant à la famille des phényl triazines [65, 81, 82, 144]	78
Tableau 35 : Longueur d'onde maximale d'absorption et structure chimique de l'anisotriazine [82]	78
Tableau 36 : Liste des végétaux présents dans les produits solaires étudiés [177]	82
Tableau 37 : Evaluation de l'efficacité des produits solaires contenant les extraits végétaux pré-cités [177]	83
Tableau 38 : Catégories de SPF devant figurer sur l'emballage [185]	87
Tableau 39 : Composition du standard résistant à l'eau [190]	92
Tableau 40 : Produits du commerce testés	98
Tableau 41 : Formules réalisées au laboratoire	99
Tableau 42 : Résultats de résistance à l'eau dans le domaine UVB	103
Tableau 43 : Résultats de résistance à l'eau dans le domaine UVA	104
Tableau 44 : Composition de l'émulsion étudiée	107
Tableau 45 : Composition en tensioactifs des émulsions testées	107
Tableau 46 : Produits du commerce testés	108
Tableau 47 : Résultats concernant le caractère de résistance à l'eau des produits formulés au laboratoire avec les différentes huiles	109
Tableau 48 : SPF ₀ des produits du commerce testés	111
Tableau 49 : Evaluation du caractère de résistance à l'eau des produits du commerce en fonction du temps d'immersion (en minutes)	111
Tableau 50 : Les 21 ingrédients testés	114
Tableau 51 : Composition de l'émulsion de base	115
Tableau 52 : Détermination de l'efficacité des crèmes formulées avant et après 40 minutes d'immersion	116
Tableau 53 : Caractère de résistance à l'eau dans les domaines UVB et UVA au bout de 40 minutes	117
Tableau 54 : Formule de base de l'émulsion testée	119
Tableau 55 : Tensioactifs testés	119
Tableau 56 : HLB obtenu en fonction de l'association de tensioactifs réalisée	119
Tableau 57 : Efficacité à t ₀ des émulsions testées	120
Tableau 58 : Intérêt de l'association de la silymarine avec des filtres inorganiques, avant et après irradiation durant 2 heures à 650 Watts/min	124

Références bibliographiques

1. L. Dubertret, Peau et environnement, Life Sciences **323** 629–632, 2000
2. S. Ghazi, C. Couteau, L.J.M. Coiffard, What level of protection can be obtained using sun protective clothing? Determining effectiveness using an in vitro method, Int J Pharm **397** 144-146, 2010
3. L. Le Grand, Entretiens, Enseignants de Sciences Economiques et Sociales – Entreprises, « Les entreprises, acteurs de la recherche et de l'innovation », Produits solaires : de la cosmétique à la santé publique, L'Oréal, Lundi et Mardi 29 et 20 août 2005
4. B. Choquenot, Mise en place de protocoles *in vitro* pour la détermination de l'efficacité des produits solaires, Valorisation de molécules d'intérêt, Thèse de Doctorat, Université de Nantes, 2010
5. ClimAtscope, Fiche d'information pour les enseignants, 26 pages, 2008
6. R. Dummera, T. Maiera, P. H. Blochb, G. Burga, Photoprotection, Protection contre les lésions UV cutanées aiguës et chroniques, Forum Med Suisse **14** 364-368, 2001
7. M.C. Martini, Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie, Tec&Doc, 2003
8. R. Franz, Infrared Radiation May Protect Skin against Aging and Damage, Dermatol Nurs, 1-4, 1999
9. M.-S. Kim, Y. Kyung Kim, K. Hyun Cho, J. Ho Chung, Regulation of type I procollagen and MMP-1 expression after single or repeated exposure to infrared radiation in human skin, Elsevier **127** 875-882, 2006
10. D. P. Fleming, Quantification of the environmental solar ultraviolet radiation field at the human eye and the investigation of peripherally focused rays, Thèse de Doctorat, Dublin Institute of Technology, 2008
11. http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doschim/decouv/peau/voir_chimie_cosm.html
(consulté le 10.09.2009)
12. http://www.dermatology.ucsf.edu/skincancer/General/prevention/UV_Radiation.aspx
(consulté le 10.09.2009)
13. M. Janet Barger-Lux, R. P. Heaney, Effects of Above Average Summer Sun Exposure on Serum 25-Hydroxyvitamin D and calcium Absorption, J Clin Endocrinol Metab **87** 4952-4956, 2002
14. A. Mélissopoulos, C. Levacher, La Peau – Structure et Physiologie, Editions Tec & Doc, 152 pages, 1998

15. C. Ferraris, Synthèse - Biologie cellulaire, La peau reconstruite, Pour la Science **333** 102 pages, 2005
16. H.-V. Tran, F.-Charleux, A.-Ehrlacher, M.-C. Ho Ba Tho, Propriétés mécaniques multicouches de la peau humaine *in vivo*, Modèle numérique anatomique, Colloque National en Calcul des Structures, 2005
17. G. Bernard, Étude de substituts et de lipides cutanés par spectroscopies RMN à l'état solide, infrarouge et Raman, Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval (Québec), 2007
18. http://dermato-info.fr/article/Un_organe_multifonction (consulté le 28.12.2009)
19. M.-A. Le Bitoux, M. Haftek, Physiologie cutanée : kératinisation épidermique, EMC Podologie, 38 pages, 2008
20. R.M. Lavker, A.G. Matoltsy, Formation of horny cells: the fate of cell organelles and differentiation products in ruminal epithelium, J Cell Biol **44** 501-12, 1970
21. K. Van Den Bossche, J.-M. Naeyaert, J. Lambert, The Quest for the Mechanism of Melanin Transfer, Traffic Blackwell Munksgaard **7** 769-778, 2006
22. W. L. Morison, What Is the Function of Melanin? Arch Dermatol **121** (9), 1160-1163, 1985
23. R. Halaban, R. Langdon, N. Birchall, C. Cuono, A. Baird, G. Scott, G. Moellmann, J. McGuire, Basic Fibroblast Growth Factor from Human Keratinocytes Is a Natural Mitogen for Melanocytes, J Cell Biol, **107** 1611-1619, 1988
24. B. Gendron, Ce que doit savoir le pharmacien d'officine dans le domaine peau-soleil, Thèse pour le Diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, Université de Nantes, 2005
25. P. S. Friedmann, B. A. Gilchrest, Ultraviolet radiation directly induces pigment production by cultured human melanocytes, J Cell Physiol **133** (1), 88-94, 1987
26. V. Flacher, C. H. Tripp, P. Stoitzner, B. Haid, S. Ebner, B. Del Frari, F. Koch, C. Gyu Park, R. M. Steinman, J. Idoyaga, N. Romani, Epidermal Langerhans Cells Rapidly Capture and Present Antigens from C-Type Lectin-Targeting Antibodies Deposited in the Dermis, J Invest Dermatol **130** 755-762, 2010
27. J. Valladeau, Les cellules de Langerhans, Médecine/Science **22** (2), 144-148, 2006
28. R. S. Alonso, I. Lahbabi, M. B. Hassel, P. Boisselier, N. Chaari, T. Lesimple, S. Chevrier, R. de Crevoisier, Carcinome à cellules de Merkel : prise en charge et place de la radiothérapie, Cancer/Radiothérapie **12** 352-359, 2008
29. <http://www.vetopsy.fr/sens/soma/tact/images/merkel.gif> (consulté le 29.01.2010)

30. P. Agache et al., Physiologie de la peau et explorations fonctionnelles cutanées, E.M. inter., Tec & Doc, 2000
31. G. Peyrefitte, Biologie de la peau, Cahiers d'esthétique – cosmétique, 3^{ème} édition, SIMEP, 135 pages, 1993
32. T. Passeron, R. Ballotti, J.-P. Ortonne, Mélanogénèse, EMC-Dermatologie Cosmétologie **2** 204-216, 2005
33. G. Prota, Recent Advances in Chemistry of Melanogenesis in Mammals, J Invest Dermatol, **75** 122-127, 1980
34. C. J. Carsberg, H. M. Warenus, P. S. Friedmann, Ultraviolet radiation-induced melanogenesis in human melanocytes, Effects of modulating protein kinase C, J Cell Sci **107** 2591-2597, 1994
35. R. Aquaron, L'Albinisme Humain : Aspects cliniques, génétiques, cellulaires, biochimiques et moléculaires, Med Trop **60** 331-341, 2000
36. G. Peyrefitte, M.-C. Martini, J. Camponovo, G. Petit, Esthétique Cosmétique CAP BP/Bac Pro, Masson, 377 pages, 10.09.2008
37. Alain Gallien, Banque de schémas SVT, Académie de Dijon, 23 décembre 2007
38. C. Prost-Squarcioni, Histologie de la peau et des follicules pileux, Medecine/Sciences **22** 131-137, 2006
39. N. Tsumura, N. Ojima, K. Sato, M. Shiraishi, H. Shimizu, H. Nabeshima, S. Akazaki, K. Hori, Y. Miyake, Image-based skin color and texture analysis/synthesis by extracting hemoglobin and melanin information in the skin, ACM Transactions on Graphics **22** (3), 770-779, 2003
40. R. Pugashetti, H. I. Maibach, Variations in Pigmentation and Ultrastructural Skin Differences Among Ethnic Groups, Cosmetics & Toiletries, 6 pages, 2010
41. N. G. Jablonski, G. Chaplin, The evolution of human skin coloration, Journal of Human Evolution **39** 57-106, 2000
42. M. Brenner, V. J. Hearing, The Protective Role of Melanin Against UV Damage in Human Skin, Photochem Photobiol **84** (3), 539–549, 2008
43. <http://www.clinuvel.com/dermatology/melanin/function-skin-pigment> (consulté le 29.01.2010)
44. G. E. Piérard, Le diagnostic précoce des cancers de la peau est primordial! Meda et la collaboration d'Avène, Bioderma, et La Roche Posay, 7 pages, 2009

45. N. G. Jablonski, G. Chaplin, Human skin pigmentation as an adaptation to UV radiation, *PNAS* **107** (2), 8962-8968, 2010
46. S. Sachdeva, Fitzpatrick skin typing: Applications in dermatology, *Indian J Dermatol Venereol Leprol* **75** (1) 93-96, 2009
47. http://en.wikipedia.org/wiki/Fitzpatrick_scale (consulté le 09.03.2010)
48. F. J. González, M. Martínez-Escanamé, R. I. Muñoz, B. Torres-Alvarez, B. Moncada, Diffuse reflectance spectrophotometry for skin phototype determination, *Skin Res Technol* **16** (4), 1-4, 2010
49. World Health Organization, Health Effects of UV Radiation, <http://www.who.int/uv/health/en/> (consulté le 09.03.2010)
50. C. Routaboul, A. Denis, A. Vinche, Immediate pigment darkening: description, kinetic and biological function, *Eur J Dermatol* **9** (2), 95-9, 1999
51. M. Hernandez, M. M. Mercier-Fresnel, *Le Nouveau Précis d'esthétique cosmétique*, 6^{ème} édition, Editions Vigot, 357 pages, 2003
52. P. Lips, Review Vitamin D physiology, Elsevier, *Progress Biophys Mol Biol* **92** 4-8, 2006
53. M. Norval, H.C. Wulf, Does Chronic Sunscreen Use Reduce Vitamin D Production to Insufficient Levels? *Br J Dermatol* **161** (4), 732-736, 2009
54. M. J. Barger-Lux, R. P. Heaney, Effects of Above Average Summer Sun Exposure on Serum 25-Hydroxyvitamin D and Calcium Absorption, *J Clin Endocrinol Met* **87** (11), 4952-4956, 2002
55. M. Vidailhet, *Vitamine D chez l'enfant*, Editions Scientifiques et Medicales Elsevier, Encyclopédie Médico-Chirurgicale 4-008-A-20, 2001
56. C. Bedane, *Photodermatologie : photobiologie cutanée, photoprotection et photothérapie*, 2^{ème} édition, Arnette, 2008
57. G. K. Steigleder, *Atlas de dermatologie pratique*, Masson, 2^{ème} édition, 1984, 1992
58. CEDEF, *Abrégés, Connaissances et pratiques, Dermatologie*, Masson, 2^{ème} édition, 373 pages, 2003
59. N. Dayan, *Skin Aging Handbook*, William Andrew Inc., 494 pages, 2008
60. A. Morita, Tobacco smoke causes premature skin aging, *Elsevier, J Dermatol Sci* **48** 169-175, 2007

61. H. Rexbye, I. Petersen, M. Johansen, L. Klitkou, B. Jeune, K. Christensen, Influence of environmental factors on facial ageing, Oxford University Press, Age and Ageing, **35** 110-115, 2006
62. E. L. Rager, E. P. Bridgeford, D. W. Ollila, Cutaneous Melanoma: Update on Prevention, Screening, Diagnosis, and Treatment, Am Fam Physician **72** (2), 269-276, 2005
63. S. H. Park, S.-K. Hann, Y.-K. Park, Ten-Year Experience of Phototherapy in Yonsei Medical Center, Yonsei Med J **37** (6), 392-396, 1996
64. J.C. Beani, Les photoallergies graves, Rev fr allergol immunolo clin **48** 325-330, 2008
65. N. A. Shaath, Sunscreens, Regulations and Commercial Development, Third Edition, Cosmetic Science and Technology Series, **28** 954 pages, 2005
66. A. Svobodová and J. Vostálová, Solar radiation induced skin damage: Review of protective and preventive options, Int J Radiat Biol **86** (12), 999-1030, 2010
67. E. R. Gonzaga, Role of UV Light in Photodamage, Skin Aging, and Skin Cancer, Importance of Photoprotection, Am J Clin Dermatol **10** (1), 19-24, 2009
68. T. Yagura, K. Makita, H. Yamamoto, C. F.M. Menck, and A. P. Schuch, Biological Sensors for Solar Ultraviolet Radiation, Sensors **11** 4277-4294, 12.04.2011
69. L. Meunier, Photoprotection (interne et externe), EMC Dermatol 98-944-A-10, 14 pages, 2008
70. Australian Radiation Protection and Nuclear Safety Agency (ARPANSA), Ultraviolet Protection Factor (UPF) Testing, 1990
71. E. D. Baron, E. B. Kirkland, D. Santo Domingo, Advances in Photoprotection, Dermatol Nurs **20** (4), 265-272, 2008
72. T. Gambichler, J. Laperre, K. Hoffmann, The European standard for sun-protective clothing: EN 13758, J Eur Acad Dermatol Venereol **20** (2), 125-30, 2006
73. S. Ghazi, C. Couteau, E. Papis, L. J. M. Coiffard, Interest of external photoprotection by means of clothing and sunscreen products in young children, J Eur Acad Dermatol Venereol **25** (12), 2011
74. Les bons conseils pour les enfants face aux dangers du soleil, www.lepoint.fr, 15 Juillet 2008
75. M. Berneburg and C. Surber, Children and sun protection, Br J Dermatol **161** (3), 33-39, 2009

76. S. Kristjánsson, Skin cancer prevention: Readiness to change sun-related behaviours, Department of Oncology-Pathology, 23-Apr-2004
77. N.A. Kasparian, J.K. McLoone, B. Meiser, Skin cancer-related prevention and screening behaviours: a review of the literature, *J Behav Me.* **32** (5), 406-28, 2009
78. P. Autier, J.-F. Doré, S. Négrier, D. Liénard, R. Panizzon, F. J. Lejeune, D. Guggisberg, A. M. M. Eggermont, Sunscreen Use and Duration of Sun Exposure: a Double-Blind, Randomized Trial, *J Nat Cancer Institute* **91** (15), 1304-1309, 1999
79. V. J. Bykov, J. A. Marcusson, and K. Hemminki, Ultraviolet B-induced DNA Damage in Human Skin and Its Modulation by a Sunscreen, *Cancer Res* **58** 2961-2964, 1998
80. S.Q. Wang and S.W. Dusza, Assessment of sunscreen knowledge: a pilot survey, *Br J Dermatol* **161** (3), 28-32, 2009
81. <http://www.legilux.public.lu/leg/directives/archives/2002/2002D0034.html> (consulté le 13.05.2010)
82. N. A. Shaath, *The Encyclopedia of Ultraviolet Filters*, Allured Publishing Corporation, 221 pages, 2007
83. F. Henry, C. Piérard-Franchimont, G. E. Piérard, Photoprotection Cutanée, *Rev Med Liege* **60** (1), 103-108, 2005
84. M. V. Robles Velasco, F. Daud Sarruf, I. M. Nunes Salgado-Santos, C. A. Haroutiounian-Filho, T. M. Kaneko, A. Rolim Baby, Broad spectrum bioactive sunscreens, *Int J Pharm* **363** 50-57, 2008
85. *Sun Science: Formulating for Protection, Cosmetics & Toiletries*, Allured books, 461 pages, 2009
86. S. Scalia, M. Mezzena and A. Bianchi, Comparative evaluation of different substrates for the in vitro determination of sunscreen photostability: spectrophotometric and HPLC analyses, *Int J Cosmetic Sci* **32** 55-64, 2010
87. L.R. Gaspar, P.M.B.G. Maia Campos, Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen, *Int J Pharm* **307**, 123-128, 2006
88. L. Marrot, J.P. Belaïdi, F. Lejeune, J .R. Meunier, D. Asselineau and F. Bernerd, Photostability of sunscreen products influences the efficiency of protection with regard to UV-induced genotoxic or photoageing-related endpoints, *Br J Dermatol* **151** 1234-1244, 2004
89. H. Gonzalez, N. Tarras-Wahlberg, B. Strömdahl, A. Juzeniene, J. Moan, O. Larkö, A. Rosén and A.-M. Wennberg, Photostability of commercial sunscreens upon sun exposure and irradiation by ultraviolet lamps, *BMC Dermatology* **7** 1-9, 2007

90. B. Herzog, M. Wehrle, K. Quass, Photostability of UV Absorber Systems in Sunscreens, *Photochem Photobiol* **85** 869-878, 2009
91. E. Damiani, W. Baschong, L. Greci, UV-Filter combinations under UV-A exposure: Concomitant quantification of over-all spectral stability and molecular integrity, *J Photochem Photobiol B: Biology* **87** 95-104, 2007
92. L. Durand, N. Habran, V. Henschel and K. Amighi, Encapsulation of ethylhexyl methoxycinnamate, a light-sensitive UV filter, in lipid nanoparticles, *J Microencap* **27** (8), 714-725, 2010
93. C. Paris, V. Lhiaubet-Vallet, O. Jiménez, C. Trullas and M. Ángel Miranda, A Blocked Diketo Form of Avobenzene: Photostability, Photosensitizing Properties and Triplet Quenching by a Triazine-derived UVB-filter, *Photochem Photobiol* **85** 178-184, 2009
94. S. Scalia and M. Mezzena, Incorporation in Lipid Microparticles of the UVA Filter, Butyl Methoxydibenzoylmethane Combined with the UVB Filter, Octocrylene: Effect on Photostability, *AAPS PharmSciTech* **10** (2), 384-390, 2009
95. V. Lhiaubet-Vallet, M. Marin, O. Jimenez, O. Gorchs, C. Trullas and M. Angel Miranda, Filter-filter interactions. Photostabilization, triplet quenching and reactivity with singlet oxygen, *Photochem Photobiol Sci* **9** 552-558, 2010
96. S. Scalia and M. Mezzena, Photostabilization Effect of Quercetin on the UV Filter Combination, Butyl Methoxydibenzoylmethane-Octyl Methoxycinnamate, *Photochem Photobiol* **86** 273-278, 2010
97. C. G. Benevenuto, M. A. S. Di Matteo, P. M. B. G. Maia Campos, L. R. Gaspar, Influence of the Photostabilizer in the Photoprotective Effects of a Formulation Containing UV-Filters and Vitamin A, *Photochem Photobiol* **86** (6), 1390-1396, 2010
98. G. J. Mturi, B. S. Martincigh, Photostability of the sunscreens agent 4-*tert*-butyl-4-methoxydibenzoylmethane (avobenzene) in solvents of different polarity and proticity, *J Photochem Photobiol A* **200** 410-420, 2008
99. I. Lacatusu, N. Badea, A. Murariu, D. Bojin and A. Meghea, Effect of UV Sunscreens Loaded in Solid Lipid Nanoparticles: A Combined SPF Assay and Photostability, *Mol. Cryst Liq Cryst* **523** 247-259, 2010
100. N. J. Lowe, N. A. Shaath, M. A. Pathak, Sunscreens, Development, Evaluation and Regulatory Aspects, Second Edition, Revised and Expanded, *Cosmetic Science and Technology, Series/Volume 15*, Marcel Dekker Inc., 792 pages, 1997
101. R. P. Stokes and B. L. Diffey, The water resistance of sunscreen and day-care products, *Br J Dermatol* **140** 259-263, 1999

102. J. Davis, Consumer Needs In Water-Resistant Sunscreens, *Happi Magazine*, 62-65, January 2008
103. E. Jungman and H. I. Maibach, Enhancing sunscreen efficacy in the 'real' world? *J Dermatol Treat* **21** 261–266, 2010
104. G. A. Neudahl, J. Zhang, Formulating sun protection products that people will use designing broad-spectrum, photostabilized sunscreens with favourable aesthetics, *Household and Personal Care* **3** 4 pages 2010
105. A. Figueiredo, M. Cravo, Sun protection. The facts and the burning controversies, *FMUC Medicina - Artigos em Revistas Nacionais, Radioprotecção* **2** 112-117, 2006
106. S. B. Levy, D. M. Elston, M. Garmyn, R. P. Vinson, J. P. Callen, C. M. Quirk, Sunscreens and Photoprotection, *Medscape Reference, Drugs, Diseases and Procedures*, 7 pages, Jan. 26, 2011
107. S. González, M. Fernández-Lorente, Y. Gilaberte-Calzada, The latest on skin photoprotection, *Clin Dermatol* **26** 614-626, 2008
108. D. L. Giokas, A. Salvador, A. Chisvert, UV filters: From sunscreens to human body and the environment, *Trends Anal Chem* **26** (5), 360-374, 2007
109. L. M. Martorano, C. J. Stork and Y. V. Li, UV irradiation-induced zinc dissociation from commercial zinc oxide sunscreen and its action in human epidermal keratinocytes, *J Cosmetic Dermatol* **9** 276-286, 2010
110. R. Rai, Photoprotection, *Ind J Dermatol Venereol Leprol* **73** (2), 73-79, 2007
111. A. Kerr and J. Ferguson, Photoallergic contact dermatitis, *Photodermatol, Photoimmunol Photomed* **26** 56-65, 2010
112. B. A. Gilchrest, In This Issue — If It's Not the Hamburgers, It's the Sunscreens, *J Invest Dermatol* **123** (1), 11-12, 2004
113. P. D. Darbre, Environmental oestrogens, cosmetics and breast cancer, *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **20** (1), 121–143, 2006
114. M. Heneweer, M. Muusse, M. van den Berg, J. T. Sanderson, Additive estrogenic effects of mixtures of frequently used UV filters on pS2-gene transcription in MCF-7 cells, *Toxicol Appl Pharmacol* **208** 170-177, 2005
115. M. A. Liñán-Cabello, L. A. Flores-Ramírez, J. F. Cobo-Díaz, T. Zenteno-Savin, N. O. Olgún-Monroy, A. Olivos-Ortiz and A. Tintos-Gómez, Response to short term ultraviolet stress in the reef-building coral *Pocillopora capitata* (Anthozoa: Scleractinia), *Rev. Bid. Trof* **58** (1), 103-118, March 2010

116. H.-R. Buser, M. E. Balmer, P. Schmid and M. Kohler, Occurrence of UV Filters 4-Methylbenzylidene Camphor and Octocrylene in Fish from Various Swiss Rivers with Inputs from Wastewater Treatment Plants, *Environ Sci Technol*, **40** (5), 1427-1431, 2006
117. T. Poiger, H.-R. Buser, M. E. Balmer, P.-A. Bergqvist, M. D. Müller, Occurrence of UV filter compounds from sunscreens in surface waters: regional mass balance in two Swiss lakes, *Chemosphere* **55** 951-963, 2004
118. R.H. Waring, R.M. Harris, Endocrine disruptors: A human risk? *Mol Cell Endocrinol* **244** 2-9, 2005
119. P. Y. Kunz, T. Gries and K. Fent, The Ultraviolet Filter 3-Benzylidene Camphor Adversely Affects Reproduction in Fathead Minnow (*Pimephales promelas*), *Toxicol Sci* **93** (2), 311-321, 2006
120. R. Schreurs, P. Lanser, W. Seinen, B. van der Burg, Estrogenic activity of UV filters determined by an in vitro reporter gene assay and an in vivo transgenic zebrafish assay, *Arch Toxicol* **76** 257-261, 2002
121. S. Dearing, Common sunscreen ingredient 'feminizes' male fish, www.digitaljournal.com, May 28, 2009 (consulté le 20.07.2011)
122. M. Coronado, H. De Haro, X. Deng, M. A. Rempel, R. Lavado, D. Schlenk, Estrogenic activity and reproductive effects of the UV-filter Oxybenzone (2-hydroxy-4-methoxyphenyl-methanone) in fish, *Aquatic Toxicol* **90** 182-187, 2008
123. P. Y. Kunz, H. F. Galicia and K. Fent, Comparison of In Vitro and In Vivo Estrogenic Activity of UV Filters in Fish, *Toxicol Sci* **90** (2), 349-361, 2006
124. C. W. Schmidt, In Hot Water Global Warming Takes a Toll on Coral Reefs, *Environ Health Perspect* **116** (7), 292-299, 2008
125. R. Danovaro, L. Bongiorni, C. Corinaldesi, D. Giovannelli, E. Damiani, P. Astolfi, L. Greci and Antonio Pusceddu, Sunscreens Cause Coral Bleaching by Promoting Viral Infections, *Environ Health Perspect*, **116** (4), 441-447, 2008
126. D. Charter, Sun lotions help to kill coral reefs, *The Times* (United Kingdom), Overseas news 56, 24 May 2008
127. P. Dingle, How Toxic Is Your Sunscreen? *ACNEM Journal* **28** (2), 10-15, 2009
128. C. Schmitt, M. Oetken, O. Dittberner, M. Wagner, J. Oehlmann, Endocrine modulation and toxic effects of two commonly used UV screens on the aquatic invertebrates *Potamopyrgus antipodarum* and *Lumbriculus variegatus*, *Environ Pollution* **152** 322-329, 2008

129. S. W. Y. Wong, P. T. Y. Leung, A. B. Djurišić and K. M. Y. Leung, Toxicities of nano zinc oxide to five marine organisms: influences of aggregate size and ion solubility, *Anal Bioanal Chem* **396** 609-618, 2010
130. O. V. Dueva-Koganov and N. A. Shaath, Comparative Evaluation of Commercial SPF 100+, Sunscreen Products, <http://www.happi.com/articles/2010/12/comparative-evaluation-of-commercial-spf-100-sunsc>, Dec. 2010
131. E. Gontier, M.-D. Ynsa, T. Bíró, J. Hunyadi, B. Kiss, K. Gáspár, T. Pinheiro, J.-N. Silva, P. Filipe, J. Stachura, W. Dabros, T. Reinert, T. Butz, P. Moretto, J.-E. Surlève-Bazeille, Is there penetration of titania nanoparticles in sunscreens through skin? A comparative electron and ion microscopy study, *Nanotoxicol* **2** (4), 218-231, 2008
132. B. Herzog, Influence of Particles on the Performance of Sunscreens, Sun Protection Conference – The UVA Challenge, London, Paper 14, 8-9 June 2011
133. N. A. Monteiro-Riviere, K. Wiench, R. Landsiedel, S. Schulte, A. O. Inman, and J. E. Riviere, Safety Evaluation of Sunscreen Formulations Containing Titanium Dioxide and Zinc Oxide Nanoparticles in UVB Sunburned Skin: An In Vitro and In Vivo Study, *Toxicol Sci* **123** (1), 264-280, 2011
134. S. Chahal, I. Tooley, R. Sayer, P. Staniland, Meeting the challenge of baby sun protection, *Personal Care*, 39-42, June 2011
135. J. Schulz, H. Hohenberg, F. Pflücker, E. Gärtner, T. Will, S. Pfeiffer, R. Wepf, V. Wendel, H. Gers-Barlag, K.-P. Wittern, Distribution of sunscreens on skin, *Adv Drug Deliv* **54** (1), S157-S163, 2002
136. K. Repinski, Sunscreens under fire, *Prevention* **62** (6), 2 pages, 2010
137. S. R. Pinnell, D. Fairhurst, R. Gillies, M. A. Mitchnick and N. Kollias, Microfine Zinc Oxide is a Superior Sunscreen Ingredient to Microfine Titanium Dioxide, *Dermatol Surg* **26** 309-314, 2000
138. N. Sadrieh, A. M. Wokovich, N. V. Gopee, J. Zheng, D. Haines, D. Parmiter, P. H. Siitonen, C. R. Cozart, A. K. Patri, S. E. McNeil, P. C. Howard, W. H. Doub and L. F. Buhse, Lack of Significant Dermal Penetration of Titanium Dioxide from Sunscreen Formulations Containing Nano- and Submicron-Size TiO₂ Particles, *Toxicol Sci* **115** (1), 156-166, 2010
139. Z. A. Lewicka, A. F. Benedetto, D. N. Benoit, W. W. Yu, J. D. Fortner, V. L. Colvin, The structure, composition, and dimensions of TiO₂ and ZnO nanomaterials in commercial sunscreens, *J Nanopart Res* **13** 3607-3617, 2011
140. G. J. Nohynek, J. Lademann, C. Ribaud, M. S. Roberts, Grey Goo on the Skin? Nanotechnology, Cosmetic and Sunscreen Safety, *Crit Rev Toxicol* **37** 251-277, 2007

141. L. Cheng-Chin and L. Wen-Jen, Sun Protection Factor Analysis of Sunscreens Containing Titanium Dioxide Nanoparticles, *J Food Drug Anal* **19** (1), 1-8, 2011
142. J. Staton, C. Dennyson, Zinc Oxide – Can it survive new sunscreen test protocols alone?, Sun Protection Conference – The UVA Challenge, London, Paper 15, 8-9 June 2011
143. D. G. Beasley and T. A. Meyer, Characterization of the UVA Protection Provided by Avobenzone, Zinc Oxide, and Titanium Dioxide in Broad-Spectrum Sunscreen Products, *Am J Clin Dermatol* **11** (6), 413-421, 2010
144. P. Wolf, UV-Filter, State of the Art, *Der Hautarzt* **4** (60), 285-293, 2009
145. M. Schlumpf, S. Durrer, O. Faass, C. Ehnes, M. Fuetsch, C. Gaille, M. Henseler, L. Hofkamp, K. Maerkel, S. Reolon, B. Timms, J. A. F. Tresguerres and W. Lichtensteiger, Developmental toxicity of UV filters and environmental exposure: a review, *International Journal of Andrology* **31** 144-151, 2008
146. R. Rodil, M. Moeder, R. Altenburger and M. Schmitt-Jansen, Photostability and phytotoxicity of selected sunscreen agents and their degradation mixtures in water, *Anal Bioanal Chem* **395** 1513-1524, 2009
147. L.R. Gaspar, P.M.B.G. Maia Campos, Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen, *Int J Pharm* **307** 123-128, 2006
148. C. Puglia, F. Bonina, L. Rizza, P. Blasi, A. Schoubben, R. Perrotta, M. S. Tarico, E. Damiani, Lipid Nanoparticles as Carrier for Octyl-Methoxycinnamate: In Vitro Percutaneous Absorption and Photostability Studies, *Journal of Pharmaceutical Sciences* **101** (1), 301-311, January 2012
149. M. K. Ghazavi and G. A. Johnston, Photo-allergic contact dermatitis caused by isoamyl *p*-methoxycinnamate in an 'organic' sunscreen, *Contact Dermatitis* **64** 110–120, 2011
150. Z. León, A. Balaguer, A. Chisvert, A. Salvador, M. Herráez and O. Díez, A reversed-phase ion-interaction chromatographic method for in-vitro estimation of the percutaneous absorption of water-soluble UV filters, *Anal Bioanal Chem* **391** 859-866, 2008
151. L. Perioli, V. Ambrogi, C. Rossi, L. Latterini, M. Nocchetti, U. Costantino, Use of anionic clays for photoprotection and sunscreen photostability: Hydrotalcites and phenylbenzimidazole sulfonic acid, *Journal of Physics and Chemistry of Solids* **67** 1079-1083, 2006
152. K. Berg-Schultz, Ch. Mendrok, F. Sit, R. Jermann, Formulating High SPF Sun Care Products with a Liquid-Mineral UV Filter, *International Journal for Applied Science, SÖFW-Journal* **131**, 8 pages, 2005
153. A. J. Waters, D. R. Sandhu, G. Lowe and J. Ferguson, Photocontact allergy to PABA in sunscreens: the need for continued vigilance, *Contact Dermatitis* **60** 172-173, 2009

154. N. A. Shaath, SPF Boosters & Photostability Of Ultraviolet Filters, *Happi Magazine*, 77-83, October 2007
155. A. C. Kerr, B. Niklasson, R. S. Dawe, A.-M. Escoffier, M. Krasteva, B. Sanderson and J. Fergusson , A double-blind, randomized assessment of the irritant potential of sunscreen chemical dilutions used in photopatch testing , *Contact Dermatitis* **60** 203-209, 2009
156. M. D. Palm and M. N. O'Donoghue, Update on photoprotection, *Dermatologic Therapy* **20** 360-376, 2007
157. H. Lakhdar, K. Zouhair, K. Khadir, A. Essari, A. Richard, S. Seit , A. Rougier, Evaluation of the effectiveness of a broad-spectrum sunscreen in the prevention of chloasma in pregnant women, *Journal compilation, European Academy of Dermatology and Venereology* **21** 738-742, 2007
158. D. Moyal, Prevention of ultraviolet-induced skin pigmentation, *Photodermatol Photoimmunol Photomed* **20** 243-247, 2004
159. C. Couteau, S. El-Boury, E. Papis, V. Sebille-Rivain, and L. J. M. Coiffard, In vitro UV-A protection factor (PF-UVA) of organic and inorganic sunscreens, *Pharmaceutical Development and Technology* **14** (4), 369-372, 2009
160. M. D. Toski -Radoj i , M. D. Pavlovi , A. Kova evi , and I. Milosavljevi , Recrystallization in different sunscreen formulations after cutaneous Application, *Journal of Cosmetic Dermatology* **3** 126-130, 2004
161. A. Darvay, I. R. White, R. J. G. Rycroft, A. B. Jones, J. L. M. Hawk and J. P. McFadden, Photoallergic contact dermatitis is uncommon, *British Journal of Dermatology* **145** 597-601, 2001
162. L. Durand, N. Habran, V. Henschel and K. Amighi, In vitro evaluation of the cutaneous penetration of sprayable sunscreen emulsions with high concentrations of UV filters, *International Journal of Cosmetic Science* **31** 279-292, 2009
163. T. M. Hughes, J. A. Martin, V. J. Lewis and N. M. Stone, Allergic contact dermatitis to drometrizole trisiloxane in a sunscreen with concomitant sensitivities to other sun screens, *Contact Dermatitis* **52** 226-234, 2005
164. P. D. Pigatto, G. Guzzi, D. Schena, M. Guarrera, C. Foti, S. Francalanci, A. Cristaudo, F. Ayala and C. Vincenzi, Photopatch tests: an Italian multicentre study from 2004 to 2006, *Contact Dermatitis* **59** 103-108, 2008
165. P. Thomas, A. Bonneville, Evaluation des filtres et  crans solaires, *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*, 50-200-A-10, 7 pages, 2010

166. A. Fourtanier, F. Bernerd, C. Bouillon, L. Marrot, D. Moyal, S. Seit , Protection of skin biological targets by different types of sunscreens, *Photodermatol Photoimmunol Photomed* **22** 22-32, 2006
167. J. R. Villalobos-Hernández and C. C. M ller-Goymann, Artificial Sun Protection: Sunscreens and Their Carrier Systems, *Current Drug Delivery* **3** 405-415, 2006
168. C. Adlhart and W. Baschong, Surface distribution and depths profiling of particles organic UV absorbers by Raman imaging and tape stripping, *International Journal of Cosmetic Science* **33** 527-534, 2011
169. C. Couteau, A. Faure, J. Fortin, E. Papis, L. J.M. Coiffard, Study of the photostability of 18 sunscreens in creams by measuring the SPF *in vitro*, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **44** 270-273, 2007
170. E. Chatelain and B. Gabard, Photostabilization of Butyl methoxydibenzoylmethane (Avobenzone) and Ethylhexyl methoxycinnamate by Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine (Tinosorb S), a New UV Broadband Filter, *Photochemistry and Photobiology* **74** (3), 401-406, 2001
171. C. Thevenin, Cosmétique bio et naturelle, les défis de la formulation, *Parfums Cosmetiques Actualites* **209** 36-38, Oct/Nov 2009
172. R. Rivais, Faut-il craindre les crèmes solaires bio ? : Des dermatologues critiquent leur efficacité, pas l'Agence française de sécurité sanitaire., *Le Monde*, p. 23, 07/01/2009
173. A. K. Mishra, A. Mishra and P. Chattopadhyay, Herbal Cosmeceuticals for photoprotection from Ultraviolet B Radiation: A Review, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* **10** (3), 351-360, June 2011
174. S. Kale, A. Sonawane, A. Ansari, P. Ghoge, A. Waje, Formulation and *in-vitro* Determination of Sun Protection Factor of *Ocimum basilicum*, Linn. Leaf Oils Sunscreen Cream, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* **2** (4), 147-149, 2010
175. H. Tabrizi, S. A. Mortazavi and M. Kamalinejad, An *in vitro* evaluation of various *Rosa damascena* flower extracts as a natural antisolar agent, *International Journal of Cosmetic Science* **25** 259-265, 2003
176. M. T rkođlu, T. Uđurlu, G. Gedik, A. M. Yilmaz, A. S. Yal ın, *In vivo* evaluation of black and green tea dermal products against UV radiation, *Drug Discoveries & Therapeutics* **4** (5), 362-367, 2010
177. Kapoor Shweta, Saraf Swarnlata, Efficacy Study of Sunscreens Containing Various Herbs for Protecting Skin from UVA and UVB Sunrays, *Pharmacognosy Magazine* **4** (19), 238-248, Jul-Sep, 2009

178. B. Choquenot, C. Couteau, E. Papis, and L. J. M. Coiffard, Quercetin and Rutin as Potential Sunscreen Agents: Determination of Efficacy by an *in Vitro* Method, *Journal of Natural Products* **71** (6), 1117-1118, 2008
179. J. Gardiner, P. Bailey, T. Makino, B. Heerink, International Sun Protection Factor (SPF) Test Method, COLIPA Guidelines, 45 pages, May 2006
180. S. Schalka, V. M. Silva dos Reis and L. C. Cucé, The influence of the amount of sunscreen applied and its sun protection factor (SPF): evaluation of two sunscreens including the same ingredients at different concentrations, *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* **25** 175-180, 2009
181. H. Bendová, J. Akerman, A. Krejčí, L. Kubáč, D. Jírová, K. Kejlová, H. Kolářová, M. Brabec, M. Malý, In vitro approaches to evaluation of Sun Protection Factor, *Toxicology in Vitro* **21** 1268-1275, 2007
182. B. L. Diffey and J. Robson, A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum, *J. Soc. Cosmet. Chem.* **40** 127-133, May/June 1989
183. L. Ferrero, M. Pissavini and O. Doucet, How a calculated model of sunscreen film geometry can explain *in vitro* and *in vivo* SPF variation, *Photochemical & Photobiological Sciences* **9** 540-551, 2010
184. L. Fageon, D. Moyal, J. Coutet and D. Candau, Importance of sunscreen products spreading protocol and substrate roughness for *in vitro* sun protection factor assessment, *International Journal of Cosmetic Science* **31** (6), 13 pages, 2009
185. G. Verheugen, Commission Recommendation of 22 September 2006 on the efficacy of sunscreen products and the claims made relating thereto, *Official Journal of the European Union* **L 265** 39-43, 26.09.2006
186. D. Moyal, A. Chardon and N. Kollias, Determination of UVA protection factors using the persistent pigment darkening (PPD) as the end point (Part 1), Calibration of the method, *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* **16** (6), 245-249, 2000
187. D. Moyal, A. Chardon and N. Kollias, UVA protection efficacy of sunscreens can be determined by the persistent pigment darkening (PPD) method (Part 2), *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* **16** (6), 250-255, 2000
188. COLIPA Guidelines, Method for *in vitro* determination of UVA protection, 29 pages, March 2011
189. L. Ferrero, M. Pissavini, S. Marguerie and L. Zastrow, Sunscreen *in vitro* spectroscopy: application to UVA, protection assessment and correlation with *in vivo* persistent pigment darkening, *International Journal of Cosmetic Science* **24** 63-70, 2002

190. COLIPA Guidelines, Guidelines for Evaluating Sun Product Water Resistance, 15 pages, December 2005
191. S. Ahn, H. Yang, H. Lee, S. Moon and I. Chang, Alternative evaluation method *in vitro* for the water-resistant effect of sunscreen products, *Skin Research and Technology* **14** 187-191, 2008
192. M. Pissavini, V. Alard, U. Heinrich, K. Jenni, V. Perier, V. Tournier, D. Lutz, M. Meloni, D. Kockott, L. Ferrero, B. Gonzalez, L. Zastrow and H. Tronnier, In vitro assessment of water resistance of sun care products: a reproducible and optimized *in vitro* test method, *International Journal of Cosmetic Science*, **29** 451-460, 2007
193. B. Choquet, C. Couteau, E. Paparis and L. Coiffard, Development of an *in vitro* test to determine the water-resistance of sunscreens, *Die Pharmazie* **63** (7), 525-527, 2008
194. B. Markovic, D. Laura and M. Rerek, A Laboratory Method for Measuring the Water Resistance of Sunscreens, *Cosmetics & Toiletries* **116** (9), 6 pages, September 2001
195. R. P. Stokes and B. L. Diffey, A novel *ex vivo* technique to assess the sand/rub resistance of sunscreen products, *International Journal of Cosmetic Science* **22** 329-334, 2000
196. C. Monro, T. Ross, P. Antonopoulos, Abrasion vs. Water Resistance In Sunscreen Polymers, *Happi Magazine*, 110-113, March 2008
197. E. Jungman and H. I. Maibach, Enhancing sunscreen efficacy in the 'real' world?, *Journal of Dermatological Treatment*. **21** 261-266, 2010
198. N. Serpone, A. Salinaro, A. V. Emeline, S. Horikoshi, H. Hidaka and J. Zhao, An *in vitro* systematic spectroscopic examination of the photostabilities of a random set of commercial sunscreen lotions and their *chemical* UVB/UVA active agents, *Photochem. Photobiol. Sci.* **1** 970-981, 2002
199. European Pharmacopeia 7.0, Monograph Disintegration of tablets and capsules, 02.09.01
200. C. Couteau, A. Demé, C. Cheignon., L.J.M. Coiffard, Influence of the Hydrophilic Lipophilic Balance of sunscreen on their water resistance property, *Drug dev ind pharm*, *in press*
201. T. O'Lenick, D. Lott, The Effects of Solvents on Sunscreens: A New Ester to Improve Efficiency, *Cosmetics & Toiletries* **126** (6), 430-436, June 2011
202. D. Leroy and P. Deschamps, Influence of formulation on sunscreen water resistance, *Photodermatol* **3** (1), 52-53, 1986
203. D. Petersen, Film-forming polymer improves water resistance. *Household and Personal Care* **3** 30-32, 2009

204. A. Hunter, M. Trevino, Film-former enhance water resistance and SPF in sun care products, *Cosmetics & Toiletries* **119** (7), 51-56, 2004
205. J. T. Beverley, C. F. Barrie, The transdermal revolution, *Drug Discovery Today* **9** (16), 697-703, 2004
206. O. V. Dueva-Koganov and S. Carbone, Importance of Polymers in the Development of Effective Water Resistant Sunscreens, In-Cosmetics, Munich, 32 slides, April 22, 2009
207. D. Maiz, Polymers: Performance agents, *Parfums Cosmétiques Actualités* **200** 140-150, Avril/Mai 2008
208. D. T. Floyd, B. J. Sarnecki, Optimizing the sun protection and consumer acceptance of sunscreens, *DCI* **159** (6), 14 pages, December 1996
209. V. Caprasse and I. Van Reeth, Sunscreen Comes Unglued, *Global Report Sun Care*, GCI, 40-46, November 2004
210. J. Boyd, C. Parkinson, P. Sherman, Factors affecting emulsion stability, and the HLB concept, *J Col Interface Sci* **41** 359-370, 1972
211. V. Verdinelli, P. V. Messina, P. C. Schulz, B. Vuano, Hydrophile–lipophile balance (HLB) of n-alkane phosphonic acids and theirs salts, *Col Surfaces A* **316** 131-135, 2008
212. S. Katiyar, Silymarin and skin cancer prevention: anti-inflammatory, antioxidant and immunomodulatory effects (review), *Int J Oncol* **26** 169-182, 2005
213. C. Couteau., M. Pommier, E. Papis, L. J. M. Coiffard, Study of the efficacy of 18 sun filters authorized in European Union tested *in vitro* *Pharmazie* **62** 449-452, 2007
214. M. Vaid, S. K. Katiyar, Molecular mechanisms of inhibition of photocarcinogenesis by silymarin, a phytochemical from milk thistle (*Silybum marianum* L.) Gaertn, *Int J Oncol* **36** 1053-1060, 2010

Titre en Français

Les produits solaires : des pistes pour améliorer leur efficacité

Mise au point de méthodes *in vitro* d'évaluation – Criblage de molécules d'intérêt

Résumé

Après des rappels bibliographiques concernant la physiologie cutanée et les actifs utilisés dans les produits solaires, nous nous sommes attachés à développer des méthodes d'évaluation de la résistance à l'eau. Nous avons voulu démontrer qu'il était possible d'utiliser un autre type d'équipement que celui habituellement recommandé pour ce type d'études.

Afin d'aider le formulateur lors de l'étape de développement des produits solaires, travail long et fastidieux, nous avons mis au point un processus rapide afin de qualifier le produit en termes de résistance à l'eau. La méthode *in vitro* de résistance à l'eau est, en effet, assez longue, un minimum de 40 minutes d'immersion étant requis, avec deux bains successifs séparés par des étapes de séchage. Notre travail a consisté à raccourcir la durée de cette manipulation. On a pu constater qu'un produit non résistant à l'eau perd rapidement de son efficacité (dès 5 minutes d'immersion) ce qui est très discriminant.

Enfin, nous avons évalué un certain nombre de molécules d'intérêt pour augmenter la résistance à l'eau des crèmes solaires, mais aussi pour accroître leur activité en termes de filtration dans le domaine UVB et/ou UVA. Pour ce faire, nous avons eu recours au monde végétal.

Mots-clés

Résistance à l'eau – Produits solaires – HLB – Excipients – Polymères – Silymarine

Title in English

Sunscreen products: ways to improve their efficacy

Development of *in vitro* evaluation methods - Screening of molecules of interest

Abstract

After bibliographic reminders on skin physiology and the active ingredients used in sunscreen products, we focused on developing methods for evaluating the water resistance. We wanted to demonstrate that it is possible to use another type of equipment that usually recommended for such studies.

To assist the formulator in the different steps of the development of sunscreens, tedious job, we have developed a quick process to qualify the product in terms of water resistance. *in vitro* method for water resistance is indeed quite long, at least 40 minutes of immersion are required, with two successive baths separated by drying stages. Our job was to shorten the duration of this manipulation. It was found that a non water resistant product is rapidly losing its effectiveness (from 5 minutes of immersion) which is very telling.

Finally, we evaluated a number of molecules of interest to increase the water resistance of sunscreens, but also to increase their activity in terms of filtration in the UVB and / or UVA. To do this, we used the plant world.

Key words

Water resistance – Sunscreens – HLB – Excipients – Polymers - Silymarin