

UNIVERSITE DE NANTES
FACULTE DE PHARMACIE

**MISE EN PLACE DE PROTOCOLES *IN VITRO* POUR LA
DÉTERMINATION DE L'EFFICACITÉ DES PRODUITS
SOLAIRES**

VALORISATION DE MOLÉCULES D'INTÉRÊT

THÈSE DE DOCTORAT

Ecole Doctorale VENAM
Discipline : Pharmacie Galénique
Spécialité : Cosmétologie

*Présentée
et soutenue publiquement par*

BENJAMIN CHOQUENET

le 28 Avril 2010, devant le Jury ci-dessous

Président : M. Joël Fleurence, Professeur

Rapporteurs : Mme Gilberte Marti-Mestres, Maître de Conférences (HDR)
M. Thierry Devers, Maître de Conférences (HDR)

Examineurs : Mme Muriel Hibon, Derma Développement
Mme Odile Chambin, Professeur
Mme Céline Couteau, Maître de Conférences (HDR)

Directeur de thèse : Mme Laurence Coiffard, Professeur

SOMMAIRE

INTRODUCTION	6
I. <u>Partie Bibliographique</u>	7
I.1. <u>Les effets du soleil sur la peau</u>	8
I.1.1. <u>Généralités concernant le rayonnement solaire</u>	8
I.1.1.1. <u>Le spectre solaire</u>	8
I.1.1.2. <u>Les rayonnements à la surface terrestre</u>	10
I.1.2. <u>Les effets biologiques des radiations solaires</u>	12
I.1.2.1. <u>Rappels de physiologie cutanée</u>	12
I.1.2.1.1. <u>Introduction</u>	12
I.1.2.1.2. <u>L'épiderme</u>	13
I.1.2.1.3. <u>Le derme</u>	15
I.1.2.1.4. <u>L'hypoderme</u>	15
I.1.2.1.5. <u>La photoprotection naturelle : le processus de la mélanogenèse</u>	16
I.1.2.1.5.1. <u>La synthèse des mélanines</u>	16
I.1.2.1.5.2. <u>Les propriétés des mélanines</u>	17
I.1.2.1.6. <u>Les différents phototypes</u>	18
I.1.2.2. <u>Quels sont les effets des radiations UV sur la peau ?</u>	19
I.1.2.2.1. <u>Introduction</u>	19
I.1.2.2.2. <u>Les effets bénéfiques des rayonnements UV</u>	20
I.1.2.2.2.1. <u>Rôle dans le métabolisme de la vitamine D</u>	20
I.1.2.2.2.2. <u>Effet bénéfique sur l'humeur</u>	23
I.1.2.2.2.3. <u>Le bronzage</u>	24
I.1.2.2.2.4. <u>Les effets thérapeutiques</u>	24
I.1.2.2.2.4.1. <u>Cas du psoriasis</u>	24
I.1.2.2.2.4.2. <u>Cas du lupus érythémateux cutané</u>	25
I.1.2.2.3. <u>Les effets néfastes des rayonnements UV</u>	26
I.1.2.2.3.1. <u>L'érythème actinique</u>	26
I.1.2.2.3.2. <u>Epaissement de la couche cornée</u>	27
I.1.2.2.3.3. <u>Photocarcinogenèse et photoimmunosuppression</u>	27
I.1.2.2.3.3.1. <u>Rôle des UV dans la photocarcinogenèse</u>	27
I.1.2.2.3.3.2. <u>Rôle des UV dans l'immunosuppression</u>	27
I.1.2.2.3.3.3. <u>ADN et immunosuppression</u>	28
I.1.2.2.3.3.4. <u>Les carcinomes</u>	30
I.1.2.2.3.3.5. <u>Les mélanomes</u>	31
I.1.2.2.3.3.6. <u>La photoimmunosuppression</u>	32
I.1.2.2.3.4. <u>La photosensibilisation</u>	32
I.1.2.2.3.4.1. <u>La phototoxicité</u>	32
I.1.2.2.3.4.1.1. <u>Les réactions photodynamiques</u>	33
I.1.2.2.3.4.1.2. <u>Les réactions non-photodynamiques</u>	33
I.1.2.2.3.4.1.3. <u>Les médicaments phototoxiques</u>	34
I.1.2.2.3.4.2. <u>La photoallergie</u>	34
I.1.2.2.3.5. <u>Le photovieillissement</u>	36
I.1.2.2.3.5.1. <u>Manifestations cliniques du photovieillissement</u>	37
I.1.2.2.3.5.2. <u>Mécanismes du photovieillissement</u>	38
I.2. <u>La photoprotection</u>	39
I.2.1. <u>Les différents modes de photoprotection</u>	39
I.2.1.1. <u>La photoprotection environnementale</u>	39
I.2.1.2. <u>La photoprotection vestimentaire</u>	40
I.2.1.3. <u>La photoprotection topique</u>	42
I.2.1.3.1. <u>Intérêt des produits solaires</u>	42
I.2.1.3.2. <u>Les ingrédients actifs</u>	42
I.2.1.3.2.1. <u>Rappels réglementaires</u>	42
I.2.1.3.2.2. <u>Mécanismes d'action des filtres UV</u>	45
I.2.1.3.2.2.1. <u>Les filtres inorganiques</u>	45
I.2.1.3.2.2.2. <u>Les filtres organiques</u>	46

I.2.1.3.2.2.2.1.	<u>Définition</u>	46
I.2.1.3.2.2.2.2.	<u>Mécanisme d'action</u>	46
I.2.1.3.2.2.2.3.	<u>Les différentes familles de filtres organiques</u>	48
I.2.1.3.2.2.2.3.1.	<u>Les filtres UVB</u>	48
I.2.1.3.2.2.2.3.2.	<u>Les filtres UVA</u>	59
I.2.1.3.2.2.2.3.3.	<u>Les filtres à spectre large</u>	68
I.2.1.3.2.2.3.	<u>Comparaison des filtres organiques et inorganiques</u>	72
I.2.1.3.2.3.	<u>Les propriétés du filtre idéal</u>	72
I.2.1.3.2.3.1.	<u>Photostabilité</u>	72
I.2.1.3.2.3.2.	<u>Substantivité</u>	73
I.2.1.3.2.3.3.	<u>Rémanence</u>	74
I.2.1.3.2.3.4.	<u>Largeur du spectre</u>	74
I.2.1.3.2.3.5.	<u>Absence d'effets toxiques</u>	74
I.2.1.3.2.3.5.1.	<u>Passage transdermique et toxicité</u>	75
I.2.1.3.2.3.5.2.	<u>Les effets systémiques</u>	79
I.2.1.3.2.3.5.3.	<u>Les effets locaux</u>	80
I.2.1.3.2.3.6.	<u>Aspect esthétique</u>	82
I.2.2.	<u>Détermination de l'efficacité des produits solaires</u>	83
I.2.2.1.	<u>Notion de SPF</u>	83
I.2.2.2.	<u>Mesure de la protection contre les UVA</u>	83
I.2.2.3.	<u>Les méthodes de mesure du SPF et du FP-UVA</u>	84
I.2.2.3.1.	<u>Les méthodes in vivo de mesure du SPF</u>	84
I.2.2.3.2.	<u>Les méthodes in vivo de mesure du FP-UVA</u>	86
I.2.2.3.2.1.	<u>Facteur de protection érythématogène et facteur de protection phototoxique</u>	86
I.2.2.3.2.2.	<u>Méthode IPD</u>	86
I.2.2.3.3.	<u>Les méthodes in vitro</u>	87
I.2.2.3.4.	<u>Mise au point d'un protocole de détermination in vitro du SPF</u>	90
I.2.2.3.4.1.	<u>La formule de base</u>	90
I.2.2.3.4.2.	<u>Protocole de mesure in vitro du SPF</u>	91
I.2.2.3.4.3.	<u>Détermination de la masse de produit à étaler</u>	91
I.2.2.3.5.	<u>Les différentes techniques de détermination de l'efficacité des produits solaires</u>	93
I.2.2.3.6.	<u>Etiquetage des produits solaires</u>	93
I.2.2.4.	<u>La photoprotection contre les infrarouges</u>	95
I.2.2.5.	<u>Utilité de l'emploi d'un produit solaire à haute valeur de SPF</u>	95
I.2.2.6.	<u>Efficacité des filtres solaires dans la prévention des différents effets néfastes des radiations ultraviolettes</u>	96
I.2.2.6.1.	<u>Produits solaires et cancers non-mélanocytaires</u>	96
I.2.2.6.2.	<u>Produits solaires et mélanomes</u>	96
I.2.2.7.	<u>Recommandations</u>	98
II.	<u>Partie expérimentale</u>	100
II.1.	<u>Mise au point de protocole in vitro</u>	101
II.1.1.	<u>Détermination de l'efficacité des produits solaires</u>	101
II.1.1.1.	<u>Elaboration des produits solaires sous forme d'émulsions et détermination des indicateurs d'efficacité</u>	102
II.1.1.1.1.	<u>Protocole de fabrication des émulsions</u>	102
II.1.1.1.2.	<u>Les différents filtres utilisés</u>	103
II.1.1.2.	<u>Protocoles de détermination du SPF et du FP-UVA in vitro</u>	104
II.1.1.2.1.	<u>Préparation de l'échantillon</u>	104
II.1.1.2.2.	<u>Principe du spectrophotomètre à sphère d'intégration</u>	106
II.1.1.2.2.1.	<u>Mesure de la transmittance</u>	106
II.1.1.2.2.2.	<u>La tête d'optique</u>	107
II.1.1.3.	<u>Etude de la photostabilité des produits solaires</u>	109
II.1.2.	<u>Adaptation du protocole aux formes galéniques anhydres</u>	110
II.1.2.1.	<u>Les sticks</u>	110
II.1.2.1.1.	<u>Matériel et méthode</u>	110
II.1.2.1.1.1.	<u>La formule de base</u>	110
II.1.2.1.1.2.	<u>Le protocole de fabrication</u>	111
II.1.2.1.1.3.	<u>Les produits testés</u>	112
II.1.2.1.2.	<u>Résultats expérimentaux</u>	112

II.1.2.1.2.1.	<u>Introduction</u>	112
II.1.2.1.2.2.	<u>Résultats obtenus avec les sticks du commerce en fonction de la masse résiduelle</u>	113
II.1.2.1.2.3.	<u>Résultats obtenus avec les sticks formulés au laboratoire</u>	117
II.1.2.2.	<u>Les poudres</u>	120
II.1.2.2.1.	<u>Matériel et méthode</u>	120
II.1.2.2.1.1.	<u>Formule de base</u>	120
II.1.2.2.1.2.	<u>Protocole de fabrication</u>	121
II.1.2.2.1.3.	<u>Les filtres et les produits testés</u>	122
II.1.2.2.2.	<u>Résultats expérimentaux</u>	123
II.1.2.2.2.1.	<u>Résultats obtenus avec les poudres formulées au laboratoire</u>	123
II.1.2.2.2.2.	<u>Résultats obtenus avec les poudres du commerce</u>	125
II.1.3.	<u>Mise au point du protocole in vitro de détermination de la résistance à l'eau</u>	127
II.1.3.1.	<u>Présentation de la méthode in vivo et de ses pré-requis</u>	128
II.1.3.1.1.	<u>Pré-requis</u>	128
II.1.3.1.2.	<u>Détermination du pourcentage de résistance à l'eau</u>	128
II.1.3.1.3.	<u>Notion d'étiquetage</u>	129
II.1.3.1.3.1.	<u>Appellation « résistant à l'eau »</u>	129
II.1.3.1.3.2.	<u>Appellation « très résistant à l'eau »</u>	129
II.1.3.2.	<u>Matériel et méthode</u>	129
II.1.3.2.1.	<u>Protocole expérimental</u>	129
II.1.3.2.2.	<u>Validation de la méthode à l'aide de crèmes de référence</u>	130
II.1.3.2.3.	<u>Comparaison de la résistance à l'eau d'émulsions contenant des filtres hydrosolubles et liposolubles</u>	130
II.1.3.2.4.	<u>Application de la méthode à des produits du commerce</u>	131
II.1.3.3.	<u>Résultats expérimentaux</u>	131
II.1.3.3.1.	<u>Choix du protocole expérimental</u>	131
II.1.3.3.2.	<u>Validation de la méthode avec les témoins positif et négatif</u>	133
II.1.3.3.3.	<u>Résultats obtenus avec les émulsions contenant des filtres lipo ou hydrosolubles</u>	133
II.1.3.3.4.	<u>Détermination de la résistance à l'eau de produits du commerce</u>	135
II.2.	<u>Mise au point de standards à haut SPF</u>	138
II.2.1.	<u>Introduction</u>	138
II.2.2.	<u>Matériel et méthode</u>	138
II.2.2.1.	<u>Formules réalisées à partir de l'émulsion L/H de référence du laboratoire</u>	138
II.2.2.1.1.	<u>Composition en filtres des différentes formules étudiées</u>	138
II.2.2.1.2.	<u>Caractéristiques des différentes formes commerciales de dioxyde de titane employées</u>	139
II.2.2.2.	<u>Détermination des caractéristiques physico-chimiques des émulsions formulées</u>	140
II.2.2.3.	<u>Détermination du SPF et du FP-UVA par des volontaires</u>	141
II.2.3.	<u>Résultats expérimentaux</u>	141
II.2.3.1.	<u>Etude de la thermostabilité des émulsions formulées</u>	141
II.2.3.1.1.	<u>Evolution des caractéristiques physico-chimiques</u>	141
II.2.3.1.2.	<u>Evolution du SPF</u>	143
II.2.3.1.3.	<u>Evolution du FP-UVA</u>	146
II.2.3.1.4.	<u>Evolution des critères de validité</u>	148
II.2.3.2.	<u>Etude de la photostabilité des émulsions formulées</u>	148
II.2.3.2.1.	<u>Evolution du SPF après irradiation</u>	149
II.2.3.2.2.	<u>Evolution du FP-UVA après irradiation</u>	150
II.2.3.2.3.	<u>Evolution de la longueur d'onde critique et du ratio SPF/FP-UVA</u>	151
II.2.3.3.	<u>Détermination du SPF et du FP-UVA par des manipulateurs inexpérimentés et un manipulateur expérimenté</u>	151
II.2.3.4.	<u>Conclusion</u>	152
II.3.	<u>Etude de molécules d'intérêt</u>	153
II.3.1.	<u>Introduction</u>	153
II.3.2.	<u>Matériel et méthode</u>	154
II.3.2.1.	<u>Présentation des différentes molécules testées</u>	154
II.3.2.1.1.	<u>Les flavonoïdes et les polyphénols testés</u>	154
II.3.2.1.2.	<u>Occurrence dans l'alimentation : généralités</u>	156
II.3.2.1.2.1.	<u>Les flavonols</u>	156
II.3.2.1.2.2.	<u>Les flavanones</u>	156

II.3.2.1.2.3.	<u>Les flavones</u>	157
II.3.2.1.2.4.	<u>Les isoflavones</u>	157
II.3.2.1.2.5.	<u>Quel flavonoïde trouve t'on en fonction des sources ?</u>	157
II.3.2.1.3.	<u>Caractéristiques des extraits et des molécules testées</u>	158
II.3.2.1.3.1.	<u>Les extraits végétaux testés</u>	158
II.3.2.1.3.2.	<u>Les polyphénols et les flavonoïdes testés</u>	158
II.3.2.2.	<u>Formulation des crèmes</u>	159
II.3.2.2.1.	<u>Incorporation des actifs seuls</u>	159
II.3.2.2.2.	<u>Les associations réalisées</u>	159
II.3.2.3.	<u>Détermination des capacités absorbantes des molécules testés</u>	160
II.3.3.	<u>Résultats expérimentaux</u>	160
II.3.3.1.	<u>Résultats concernant les extraits végétaux testés</u>	160
II.3.3.1.1.	<u>Détermination du niveau de photoprotection apporté par les extraits testés</u>	160
II.3.3.1.2.	<u>Détermination de la photostabilité des extraits testés</u>	164
II.3.3.1.3.	<u>Conclusion</u>	166
II.3.3.2.	<u>Résultats concernant l'éthylfêrulate et l'acide fêrulique</u>	166
II.3.3.2.1.	<u>Mesures spectrophotométriques</u>	166
II.3.3.2.2.	<u>Détermination in vitro des propriétés photoprotectrices</u>	168
II.3.3.2.3.	<u>Détermination de la photostabilité</u>	170
II.3.3.2.4.	<u>Conclusion</u>	171
II.3.3.3.	<u>Résultats concernant les flavonoïdes et les polyphénols testés</u>	172
II.3.3.3.1.	<u>Mesures spectrophotométriques</u>	172
II.3.3.3.2.	<u>Détermination des propriétés photoprotectrices in vitro</u>	173
II.3.3.3.2.1.	<u>Détermination du SPF</u>	173
II.3.3.3.2.2.	<u>Détermination du FP-UVA</u>	175
II.3.3.3.2.3.	<u>Détermination de la longueur d'onde critique et du ratio UVB/UVA</u>	177
II.3.3.3.3.	<u>Détermination de la photostabilité des flavonoïdes et des polyphénols</u>	178
II.3.3.3.3.1.	<u>Evolution du SPF</u>	178
II.3.3.3.3.2.	<u>Evolution du FP-UVA</u>	179
II.3.3.3.4.	<u>Conclusion</u>	179
II.3.3.4.	<u>Intérêts de l'association à des filtres solaires autorisés</u>	180
II.3.3.4.1.	<u>Association quercétine et avobenzone</u>	181
II.3.3.4.2.	<u>Intérêt de l'association quercétine, rutine, TiO₂ et ZnO</u>	181
II.3.3.5.	<u>Résultats concernant les extraits lichéniques</u>	182

<u>CONCLUSION</u>	184
--------------------------------	------------

<u>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	186
---	------------

INTRODUCTION

Le soleil a, de tout temps, tenu une place prépondérante pour l'humanité. Il rythme la société et permet à la vie de s'épanouir sur notre planète. Du dieu Apollon de la Grèce antique jusqu'à Louis XIV, le roi soleil, cet astre a été toujours été vénéré comme un symbole de puissance et de fécondité. C'est donc tout naturellement que l'on retrouve le soleil dans de nombreuses œuvres d'art, sous un aspect positif dans la peinture impressionniste, mais aussi comme source de souffrances dans *L'Etranger*, d'Albert Camus. De nombreux scientifiques célèbres se sont aussi penchés sur cette étoile, depuis Copernic qui le premier a émis la théorie que la Terre tournait autour du soleil, jusqu'à Einstein dont la fameuse équation $E = mc^2$ a permis de mieux comprendre le fonctionnement de l'astre. Le soleil a été, et demeure, une source de questionnements et de fascination. Revenir bronzé de vacances est devenu la norme. Dans tous les magazines, les publicités et les films, les acteurs ou les mannequins ont tous la peau dorée. Puisque ce teint hâlé est à la mode, nombreux sont ceux qui sont prêts à tout pour ressembler à leurs idoles. C'est ainsi que l'on voit fleurir dans les magasins quantité de produits autobronzants permettant d'avoir l'air « en bonne santé » tout au long de l'année. Pour les mêmes raisons, les cabines UV et autres solariums se sont multipliés, en dépit des dangers qu'ils peuvent représenter. Et, bien sûr, le bronzage en été est pratiqué par une immense majorité de vacanciers. Il suffit de constater à quel point les plages de la Côte d'Azur sont bondées lors de la haute saison pour s'en convaincre.

On sait pourtant aujourd'hui à quel point le soleil peut être néfaste. Le mélanome est à l'heure actuelle la seconde cause de mortalité par cancer, et la fréquence des cas ne cesse d'augmenter. Même si la population a aujourd'hui pris conscience des méfaits du soleil, grâce aux efforts des professionnels de santé, il n'en reste pas moins que les mauvaises habitudes sont prises. Trop de plaisanciers utilisent des crèmes solaires dont l'indice de protection est inadapté, et le port de vêtements protecteurs en cas d'exposition est malheureusement trop rare. Les crèmes formulées avec des actifs photoprotecteurs sont pourtant présentes sur le marché depuis plus d'un demi-siècle. A l'origine, la protection apportée était faible et mal maîtrisée. En revanche, on dispose aujourd'hui, grâce aux progrès de la chimie, d'une large gamme de filtres solaires très efficaces. Les industriels du domaine cosmétique sont maintenant à la recherche de méthodes rapides et fiables de détermination des indices de protection des produits solaires. C'est ainsi que les méthodes de mesure *in vitro* se sont développées. Elles présentent de nombreux avantages par rapport aux méthodes *in vivo*, qui, nécessitant l'irradiation de volontaires sains, posent des problèmes éthiques. C'est dans ce contexte que j'ai effectué ce travail de Thèse au Laboratoire de Cosmétologie et de Pharmacie industrielle (EA 2160, MMS) de l'Université de Nantes, sous la tutelle industrielle de l'entreprise Derma Développement.

Dans la première partie de ce travail, nous rappellerons des généralités concernant les effets du soleil sur la peau. Nous passerons ensuite en revue les différents filtres solaires utilisés et nous ferons un état des lieux des différentes techniques de détermination des indices de protection. Puis, nous présenterons les différents protocoles *in vitro* mis au point, permettant la détermination de l'efficacité des produits solaires sous forme galénique anhydre d'une part, et la mesure de la résistance à l'eau d'autre part. Dans un troisième temps, nous nous attacherons à la formulation de standards à hauts indices pouvant servir *in vitro* et/ou *in vivo* de références pour l'étude des photoprotecteurs topiques. Enfin, nous présenterons différentes molécules naturelles d'intérêt pouvant remplacer les filtres organiques, sujets à controverses, dans la formulation de produits de protection solaire.

I. Partie Bibliographique
Généralités sur la photoprotection

I.1. Les effets du soleil sur la peau

I.1.1. Généralités concernant le rayonnement solaire

I.1.1.1. Le spectre solaire

On appelle spectre solaire l'éventail de longueurs d'ondes du rayonnement électromagnétique du Soleil, depuis les ondes radio jusqu'aux rayons X (figure 1). L'élément corpusculaire du rayonnement électromagnétique est le photon, une particule dépourvue de masse.

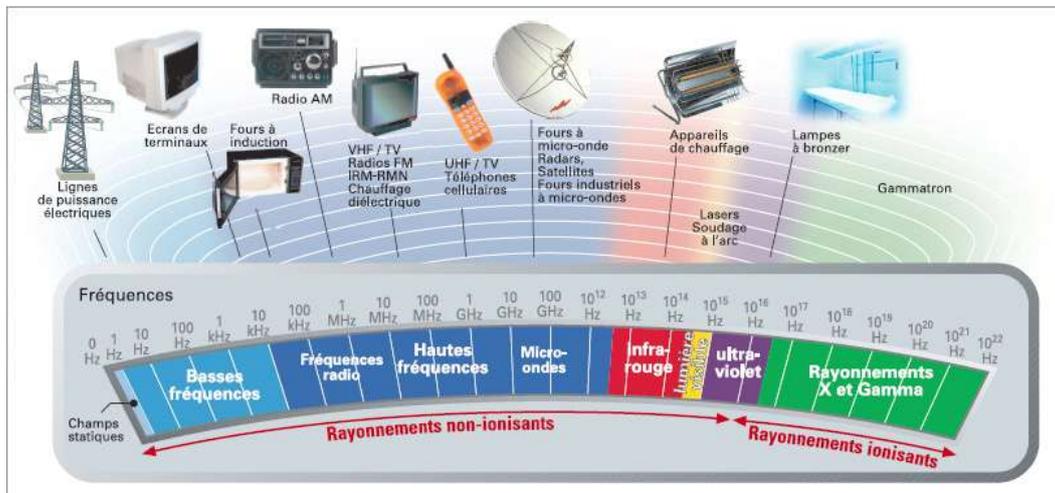


Figure 1: Spectre électromagnétique du soleil [1]

Les ondes électromagnétiques sont caractérisées par leur longueur d'onde (λ) ou leur fréquence (ν). La longueur d'onde est reliée à la fréquence par la relation $\lambda = c/\nu$, c étant la vitesse de la lumière, soit environ $300\,000\text{ km}\cdot\text{s}^{-1}$ dans le vide. La constante de Planck notée h , qui relie l'énergie du photon à sa fréquence, nous permet de constater que l'énergie des photons est inversement proportionnelle à la longueur d'onde de la radiation ($E = h\nu$) [2]. Plus la longueur d'onde d'une radiation est grande, plus l'énergie transportée par chaque photon est faible.

La plus grande partie des ondes électromagnétiques émises par le soleil n'est pas perceptible à l'œil. La lumière visible ne constitue, en effet, qu'une petite fraction du spectre électromagnétique du soleil. Les différents types de rayonnements sont classés suivant une gamme de fréquences (figure 1). Nous allons succinctement décrire les différents types de rayonnements constituant le spectre électromagnétique solaire, des moins énergétiques aux plus énergétiques (tableau 1).

Rayonnement	Longueurs d'onde (λ)	Applications
<i>Ondes basses fréquences</i>	$10 \text{ km} < \lambda < \infty$	Radiocommunications sous-marines, usages inductifs industriels.
<i>Ondes radio</i>	$10 \text{ cm} < \lambda < 10 \text{ km}$	Radiodiffusion, télédiffusion, radioastronomie, téléphonie, radiolocalisation.
<i>Micro-ondes</i>	$1 \text{ mm} < \lambda < 10 \text{ cm}$	Fours à micro-ondes, communications satellitaires, systèmes radar.
<i>Infrarouges</i>	$700 \text{ nm} < \lambda < 1 \text{ mm}$	Spectroscopie, téléguidage, chauffage industriel, thermographie infrarouge, commandes à distance.
<i>Visible</i>	$400 \text{ nm} < \lambda < 700 \text{ nm}$	Spectroscopie, astronomie.
<i>Ultraviolets</i>	$10 \text{ nm} < \lambda < 400 \text{ nm}$	Spectroscopie, Lampe à bronzage, Luminothérapie, photolithographie, stérilisation.
<i>Rayons X</i>	$5 \text{ pm} < \lambda < 10 \text{ nm}$	Imagerie médicale, télescopes à rayons X, radiocristallographie, fluorescence X.
<i>Rayons Gamma</i>	$\lambda < 5 \text{ pm}$	Astronomie gamma, réactions nucléaires.

Tableau 1: Les différents rayonnements du spectre électromagnétique solaire [3]

Les ondes les moins énergétiques sont les ondes basses fréquences, dont la longueur d'onde est supérieure à quelques dizaines de kilomètres. Ce sont principalement des ondes électromagnétiques naturelles émises par exemple lors d'orages solaires. A des fréquences de l'ordre de la dizaine de kHz, ces ondes trouvent une application dans les radiocommunications sous-marines.

Viennent ensuite les ondes radio, dont la longueur d'onde est comprise entre 10 cm et plusieurs kilomètres. Elles ont de nombreuses applications, depuis la radiodiffusion amateur jusqu'à la radioastronomie.

A des longueurs d'ondes plus basses on trouve les micro-ondes ($1 \text{ mm} < \lambda < 10 \text{ cm}$). Elles sont bien sûr utilisées dans les fours à micro-ondes, mais aussi dans les communications satellitaires et les systèmes radars par exemple.

Au-delà se situent les infrarouges, qui s'étendent de 700 nm à 1 mm. Les infrarouges permettent le transport de chaleur vers les surfaces exposées. Le rayonnement infrarouge met en vibration les atomes du corps qui les absorbe et donc élève sa température.

Puis on trouve la lumière visible, dont les longueurs d'onde sont comprises entre 400 et 700 nm. Le spectre visible va du violet, la couleur possédant la longueur d'onde la plus courte, au rouge, qui a la longueur d'onde la plus longue.

La gamme de rayonnements suivante est celle des ultraviolets, dont le nom signifie « au-delà du violet » (du latin *ultra* : « au-delà de »). Les ultraviolets peuvent être subdivisés en UV proches (400-200 nm de longueur d'onde) et ultraviolets extrêmes (200-10 nm). La gamme des rayons UV est couramment subdivisée en UV-A (400-320 nm), UV-B (320-290

nm) et UV-C (290-100 nm), la dernière partie du spectre ultraviolet entre 10 et 100 nm n'existant que dans le vide.

Les rayons X sont encore plus énergétiques. Leur longueur d'onde est comprise entre 5 pm et 10 nm. Il s'agit d'un rayonnement ionisant utilisé dans de nombreuses applications dont l'imagerie médicale et la cristallographie.

Les rayons gamma sont les rayonnements les plus énergétiques ($\lambda < 10^{-11}$ m). Ils sont produits lors des réactions nucléaires. La distinction entre rayons X et rayons gamma (qui sont de nature et d'énergie semblables) vient de leur mode de production : les rayons X correspondent à des photons produits par les électrons des atomes alors que dans le cas des rayons gamma, ils sont produits par les noyaux des atomes.

I.1.1.2. Les rayonnements à la surface terrestre

Le rayonnement solaire arrive à la limite de l'atmosphère terrestre avec une valeur énergétique comprise entre 1365 et 1370 $W.m^{-2}$. Cette valeur fluctue légèrement mais en pratique on peut la considérer comme une quasi-constante. Avant d'atteindre le sol, le rayonnement est modifié en traversant l'atmosphère [3]. Deux mécanismes gouvernent cette modification :

- la réflexion par les nuages (puis par le sol lui-même). On appelle albédo la fraction d'énergie réfléchiée par rapport à l'énergie incidente. L'albédo moyen de la Terre est d'environ 30 à 35 % (majoritairement dû à l'atmosphère, le sol ne réfléchissant que 4 % de l'énergie incidente). L'albédo moyen des nuages est de 50 à 60 % mais varie avec leur forme et leur épaisseur [3].

- la diffusion et l'absorption. Les molécules d'oxygène, d'azote et d'eau, et les poussières, diffusent en tous sens certaines parties du rayonnement solaire et absorbent sélectivement des pourcentages élevés de certaines radiations (figure 2). Elles diffusent d'avantage les radiations de courtes longueurs d'onde, d'où la teinte bleue du ciel, caractéristique de notre planète [4].

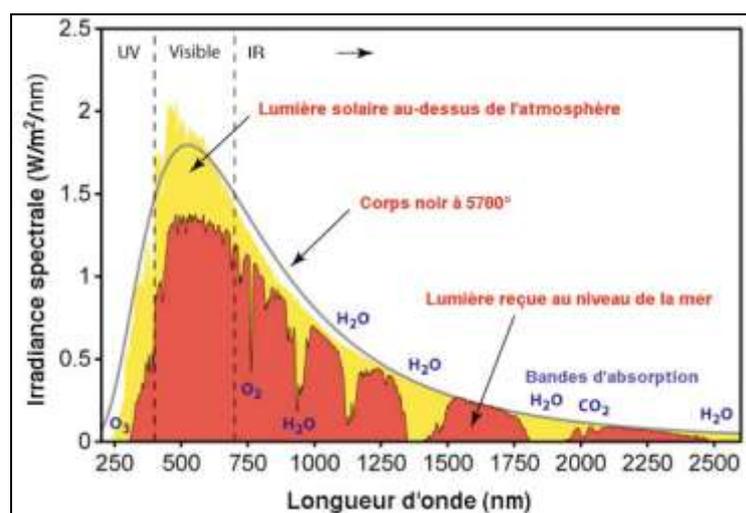


Figure 2 : Rayonnement solaire à la surface terrestre [5]

Le rayonnement solaire arrivant à la surface de la Terre est composé de trois grands types de radiations caractérisées par leurs longueurs d'onde : les ultraviolets, la lumière visible et les infrarouges (figure 2).

Certaines gammes de longueurs d'onde ne subissent presque pas de modification au travers de l'atmosphère terrestre : de 300 nm à 2 μm pour la lumière du soleil et de 8 à 11 μm pour les infrarouges terrestres [3].

D'autres gammes en revanche sont très absorbées. Les radiations de longueurs d'onde inférieures à 200 nm sont totalement absorbées par le protoxyde d'azote (N_2O), l'ozone (O_3) et l'oxygène moléculaire. Les radiations ultraviolettes de longueurs d'onde comprises entre 200 et 300 nm sont presque totalement absorbées par la couche d'ozone stratosphérique. Au fur et à mesure que la longueur d'onde des UV augmente, la capacité d'absorption de l'ozone diminue [4]. Au-delà de 800 nm, le rayonnement infrarouge est principalement absorbé par la vapeur d'eau (H_2O) et le dioxyde de carbone (CO_2) de l'atmosphère terrestre. Par cet intermédiaire, ces gaz se réchauffent et rayonnent vers la surface [3].

Au niveau de la terre, ce rayonnement se compose de 56% d'infrarouges, de 39% de lumière visible et de 5% de radiations ultraviolettes (UV) [6]. Ces proportions peuvent varier en fonction de différents facteurs parmi lesquelles la saison, la latitude, l'altitude, l'heure, la nébulosité, la réflexion, la diffusion et la teneur en ozone.

Les radiations ultraviolettes se subdivisent elles-mêmes en trois groupes : les UVA, les UVB et les UVC.

Les UVA ont des longueurs d'onde comprises entre 320 et 400 nm. Ils se subdivisent en deux groupes : les UVA1 ($340 \text{ nm} < \lambda < 400 \text{ nm}$) et les UVA2 ($320 \text{ nm} < \lambda < 340 \text{ nm}$).

Les UVB ont des longueurs d'onde comprises entre 290 et 320 nm.

Les UVC ont des longueurs d'onde comprises entre 200 et 290 nm. Ils sont arrêtés par la couche d'ozone et n'atteignent donc pas la surface de la terre.

Comme nous l'avons déjà vu, l'énergie des radiations est inversement proportionnelle à leur longueur d'onde [2]. De ce fait, les radiations les plus énergétiques sont les UVC suivis des UVB puis des UVA. Il est à noter que la proportion des rayonnements UVA et UVB varie en fonction de l'heure de la journée. C'est à midi que la quantité tant d'UVA que d'UVB est maximale à la surface de la Terre (figure 3).

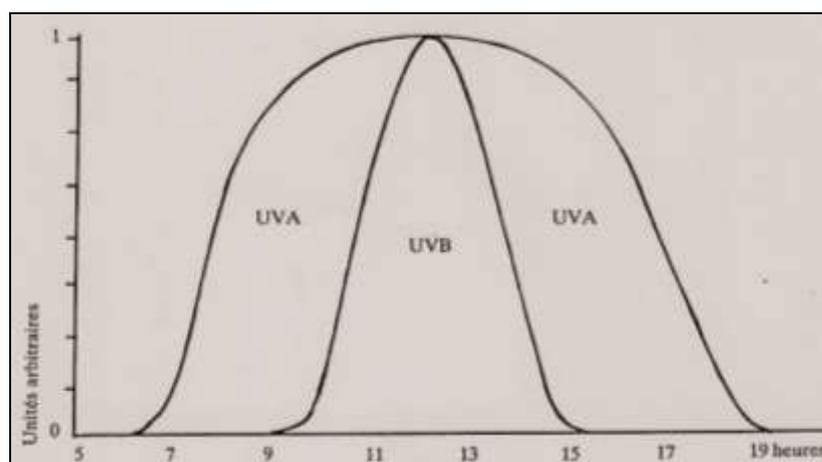


Figure 3 : Variation du flux des UVA et des UVB aux différentes heures de la journée un 21 Juin (50° Nord de latitude) [2]

Les radiations ultraviolettes atteignant la surface de la Terre sont représentées par 1 à 5 % d'UVB (290-320 nm) et 95 à 99 % d'UVA (320-400 nm) [7].

Un certain nombre de critères sont également à prendre en compte telle que la longueur du trajet parcouru par le rayonnement dans l'atmosphère. L'ozone (O₃), une molécule photoabsorbante présente principalement dans la stratosphère, absorbe une grande quantité d'UVB et d'UVC, mais peu d'UVA. Ainsi, plus le trajet est court à travers l'atmosphère, plus il y aura d'UVB à la surface terrestre. C'est ce qui explique que la quantité d'UVB augmente de 4% tous les 300 mètres en montagne. A contrario, la mer morte qui est le point le plus bas du globe (- 417 mètres) ne reçoit quasiment pas d'UVB [8]. Sous les tropiques, la richesse en UVB se justifie par le fait que le rayonnement soit vertical, et par l'amincissement de la couche d'ozone. Pour la même raison, on notera l'influence des saisons sur l'intensité du rayonnement UV. En été, le soleil est plus haut dans le ciel et le rayonnement solaire parcourt un trajet plus court dans l'atmosphère : l'intensité des UVB est donc plus importante [9]. Par ailleurs, en moyenne, l'intensité des radiations UVB augmente de 3% par degré de latitude [8].

I.1.2. Les effets biologiques des radiations solaires

I.1.2.1. Rappels de physiologie cutanée

I.1.2.1.1. Introduction

La structure cutanée est une structure hétérogène composée de trois couches superposées : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (figure 4). Elle est le siège d'annexes cutanées regroupant les phanères (structures kératinisées tels que le poil et l'ongle), les glandes sébacées (productrices de sébum) et sudoripares (productrices de sueur) [10].

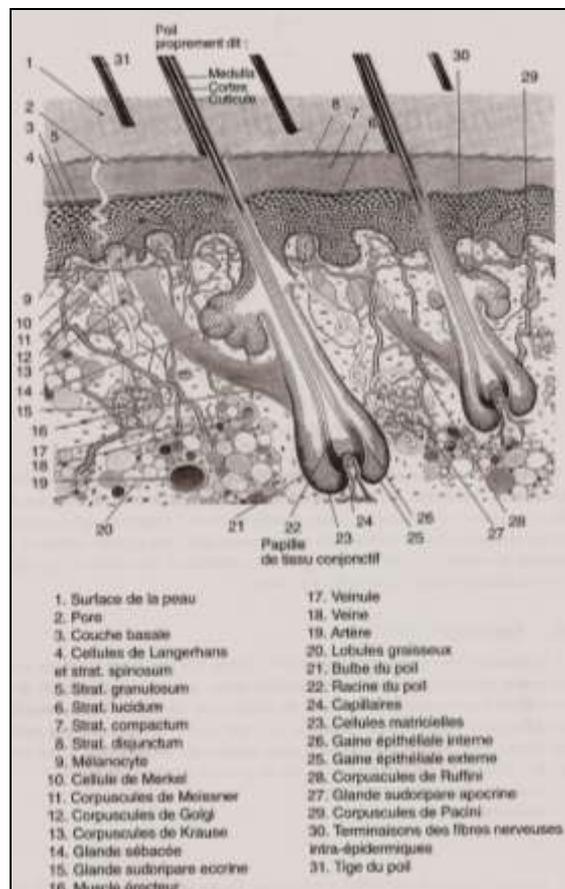


Figure 4 : Structure schématique de la peau [10]

1.1.2.1.2. L'épiderme

L'épiderme est la partie la plus superficielle de la peau. Il a une épaisseur moyenne d'environ 100 μm . Il est constitué de plusieurs populations cellulaires vivant en symbiose : les kératinocytes, les mélanocytes, les cellules de Langerhans et les cellules de Merkel (figure 5).

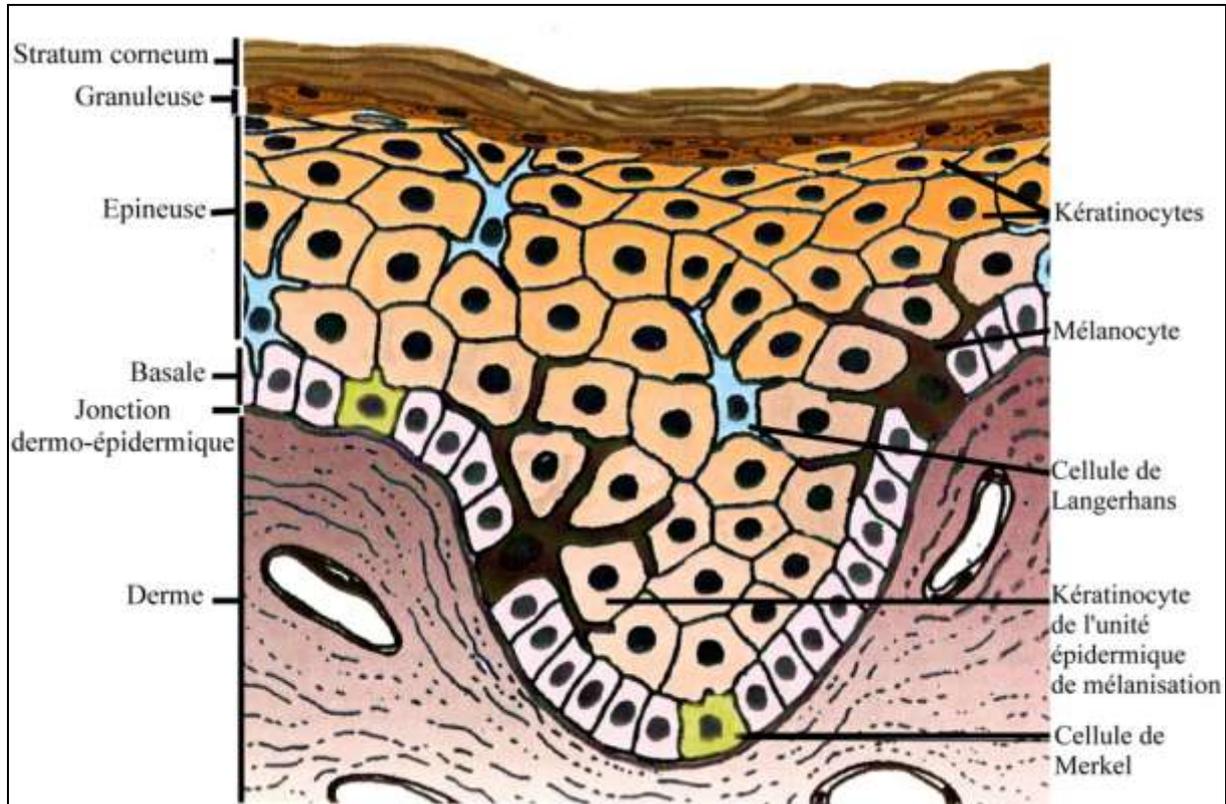


Figure 5 : Structure de l'épiderme [11]

Les kératinocytes sont les cellules les plus présentes dans l'épiderme : elles représentent 80% des cellules épidermiques. Leur fonction essentielle est la production de kératine, une substance très résistante qui donne à la peau sa dureté. Ils migrent de la profondeur vers la surface en subissant différentes modifications, ce qui donne à l'épiderme sa morphologie. La cohésion des kératinocytes est assurée grâce au système tonofilament-desmosome. Par ailleurs, les kératinocytes interviennent dans le phénomène de photoprotection naturelle de la peau par le biais des mélanosomes (organites riches en mélanine, un filtre naturel) phagocytés et présents dans le cytoplasme.

Les mélanocytes constituent la deuxième grande population cellulaire de l'épiderme (13% des cellules épidermiques). Ils proviennent des crêtes neurales et colonisent secondairement l'épiderme d'abord formé par les kératinocytes.

On compte généralement un mélanocyte pour 36 kératinocytes et l'ensemble constitue une Unité Epidermique de Mélanisation (UEM) (figure 6).

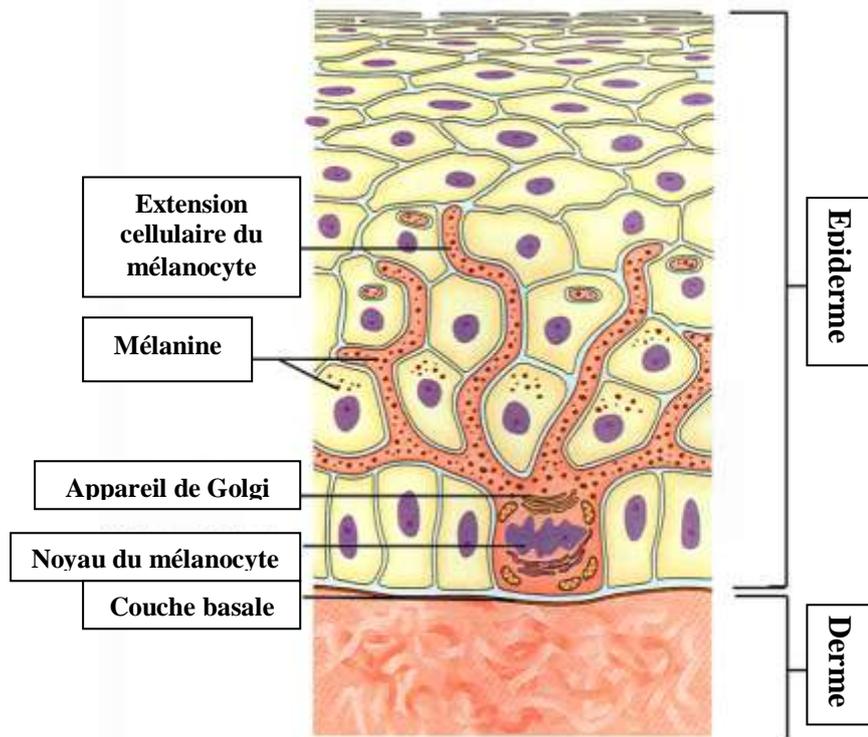


Figure 6 : Unité épidermique de mélanisation [11]

Les mélanocytes sont présents dans la peau et les follicules pileux mais aussi dans certains organes sensoriels tels que l'œil, au niveau de la rétine, ou l'oreille interne et dans le système nerveux central. Dans la peau, ces cellules sont situées dans la couche basale de l'épiderme ou dans les follicules pileux. Les mélanocytes sont responsables de la synthèse de deux types de mélanines, les phaeomélanines (pigments clairs) et les eumélanines (pigments sombres). Cette synthèse se produit dans des organites spécialisés, les mélanosomes, qui sont ensuite transférés aux kératinocytes adjacents afin de jouer leur rôle physiologique. Cette distribution est rendue possible par la morphologie dendritique des mélanocytes. Les mélanocytes sont responsables de la pigmentation de la peau [12]. La figure 7 illustre le transfert des mélanosomes depuis les mélanocytes vers les kératinocytes.

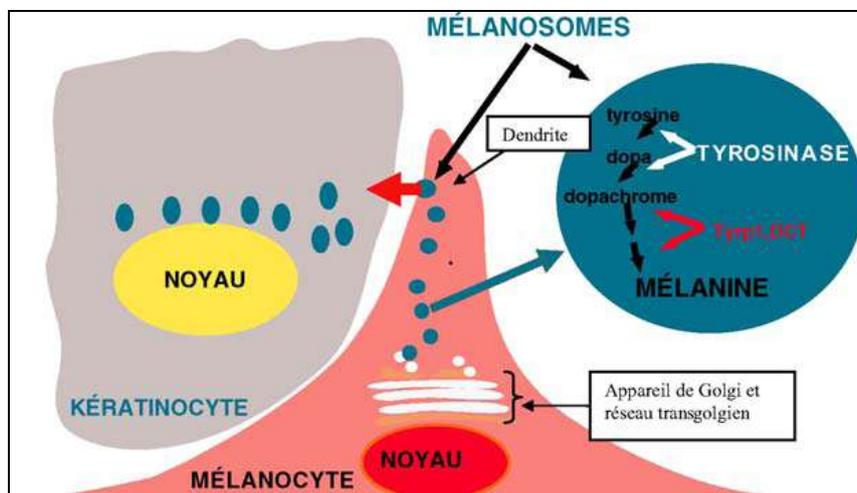


Figure 7 : Du mélanocyte au kératinocyte [12]

Les cellules de Langerhans épidermiques constituent la troisième population cellulaire de l'épiderme. Ce sont des cellules dendritiques d'origine médullaire, qui représentent 1 à 3% des cellules épidermiques. Ce sont les cellules présentatrices d'antigènes de l'épiderme qui jouent un rôle important dans l'immunosurveillance des épithéliums de revêtement vis-à-vis de nombreux agents exogènes. Ces cellules captent les éléments étrangers à l'organisme ayant pénétrés dans l'épiderme, puis migrent dans les ganglions lymphatiques où elles présentent les antigènes aux lymphocytes T. Ainsi, les cellules de Langerhans protègent-elles l'organisme en initiant une réponse immunitaire à médiation cellulaire [13].

Les cellules de Merkel, la quatrième population cellulaire de l'épiderme, sont peu nombreuses : elles ne représentent que 1% des cellules épidermiques. Ce sont des cellules neuro-épithéliales : elles produisent neuromédiateurs et hormones tout en exprimant des cytokératines, ou l'antigène de membrane épithéliale. Ce sont les mécanorécepteurs du sens du toucher. Ces cellules sont irrégulièrement réparties à la surface du corps. Elles sont particulièrement abondantes au niveau des lèvres, de la paume des mains, de la pulpe des doigts et de la plante des pieds [10].

1.1.2.1.3. Le derme

Le derme est un tissu de type conjonctif. Selon les zones corporelles, son épaisseur varie de 500 µm (par exemple au niveau des articulations) à 2 mm (au niveau du crâne, de la paume des mains et de la plante des pieds). Il varie aussi suivant les individus ou l'âge. On distingue généralement le derme papillaire, le plus proche de la jonction épidermique et le derme réticulaire, plus profond, qui représente environ 80% de l'épaisseur totale du derme. Le derme est constitué par un gel macromoléculaire au sein duquel se développent diverses cellules dont les fibroblastes (qui synthétisent protéines et protéoglycanes) et les cellules du système immunitaire (macrophages, lymphocytes, mastocytes).

Les macromolécules de type protéique sont synthétisées par les fibroblastes. Parmi ces protéines, on distingue en particulier le collagène, une macromolécule assemblée en fibres conférant à la peau sa résistance, et l'élastine, une macromolécule organisée en faisceaux, essentiellement localisée dans les couches superficielles du derme (couche papillaire) et responsable de l'élasticité de la peau.

Ces macromolécules sont noyées dans un gel formé de glycosaminoglycanes, des molécules hygroscopiques capables de retenir les molécules d'eau dans le derme. Elles constituent ainsi un réservoir d'eau pour la peau.

Le derme est vascularisé, et prend en charge la nutrition de l'épiderme par phénomène de diffusion. Ses fibres protéiques lui permettent d'assurer le maintien des propriétés mécaniques de la peau. De plus, le derme sert de réservoir d'eau par l'intermédiaire du gel de protéoglycanes qui le constitue. En outre, il joue également un rôle capital dans la thermorégulation et dans la cicatrisation, ainsi que dans l'élimination des toxines [14].

1.1.2.1.4. L'hypoderme

L'hypoderme est la couche la plus profonde de la peau. C'est un tissu conjonctif lâche, richement vascularisé, qui possède la même structure que le derme même si on y trouve surtout du collagène et un gel de protéoglycanes. Il est particulièrement riche en cellules

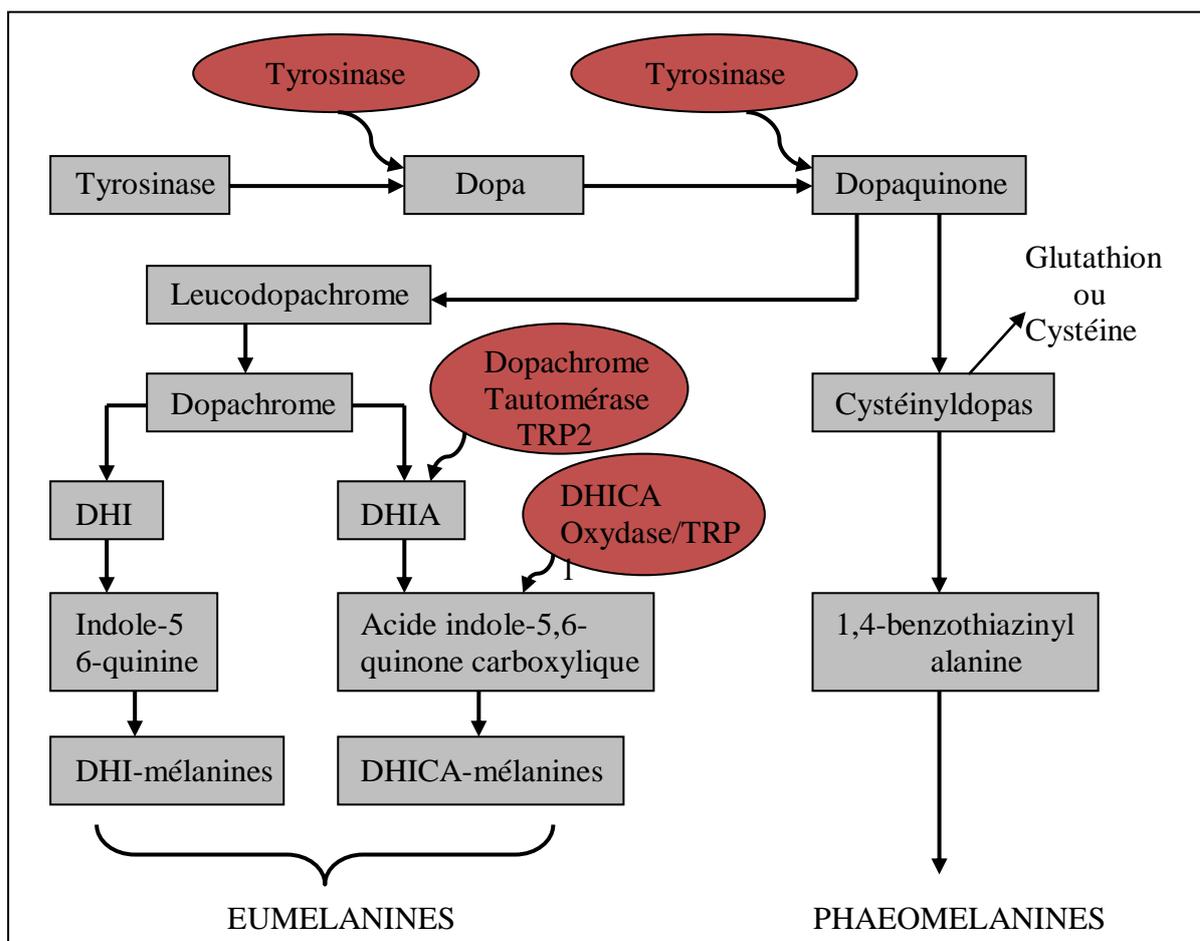
graisseuses (les adipocytes) qui stockent les triglycérides. Les cellules adipeuses confèrent à l'hypoderme un pouvoir isolant et constituent une réserve d'énergie pour l'organisme [10].

L'hypoderme sert d'interface entre le derme et les structures mobiles situées en dessous de lui comme les muscles et les tendons. Il protège également l'organisme des chocs physiques et des variations de température. Il a une épaisseur variable selon les localisations : mince au niveau du front (quelques millimètres) et épais au niveau des zones devant supporter un impact comme les fesses ou les talons (quelques centimètres). Notons qu'il représente 15 à 30% du poids corporel [14].

I.1.2.1.5. La photoprotection naturelle : le processus de la mélanogénèse

I.1.2.1.5.1. La synthèse des mélanines

Les mélanines proviennent de la transformation enzymatique de la tyrosine en dihydroxyphénylalanine (dopa), puis en dopaquinone sous l'action de la tyrosinase (figure 8). Ensuite, les voies de synthèse divergent, impliquant soit les enzymes *tyrosinase-related protein* TRP 1 et TRP 2 dans l'eumélanogénèse, soit l'incorporation de dérivés soufrés pour la phaeomélanogénèse [12]. Il faut noter que les DHI-mélanines (mélanines noires) et les DHICA-mélanines (mélanines brunes) sont des molécules intermédiaires dans la synthèse des eumélanines.



Dopa : dihydroxyphénylalanine ; DHI : 5,6-dihydroxyindole ; DHICA : 5,6-dihydroxyindole-2 carboxylique ; TRP : tyrosinase-related protein

Figure 8 : Voie de synthèse des mélanines [12]

Lors d'une irradiation, les mélanosomes se rassemblent au-dessus du noyau de la cellule et protègent ainsi le matériel génétique des kératinocytes (figure 9) [15].

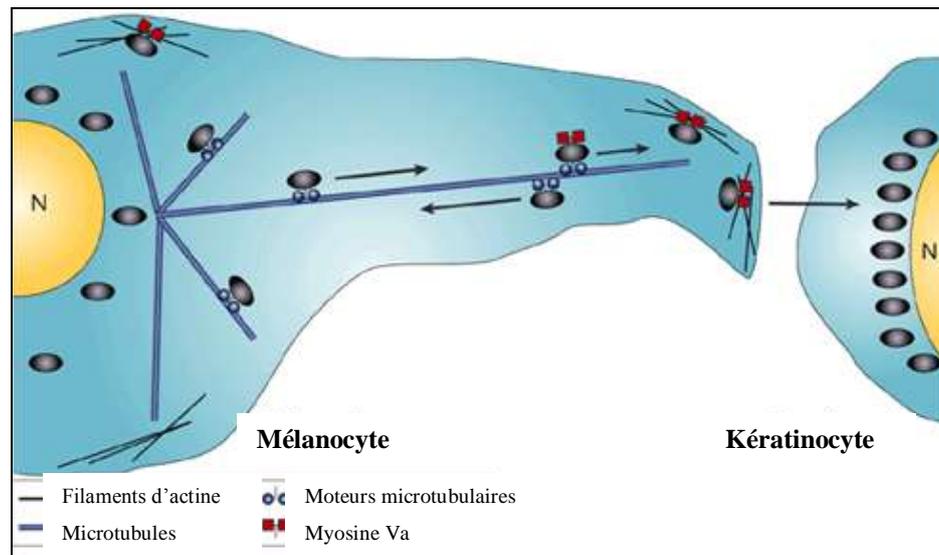


Figure 9 : Migration des mélanocytes [15]

Sous l'effet des UV, la synthèse de mélanines augmente et leur distribution aux kératinocytes est accélérée. La production de mélanines constitue donc une réponse adaptative de l'organisme à une exposition aux radiations UV. Ainsi, après stimulation par les rayons UV, les mélanocytes produisent-ils une pigmentation facultative appelée communément bronzage, qui est le mécanisme naturel de protection de la peau.

La pigmentation mélanique est le système photoprotecteur le plus important. Malgré les processus d'absorption, environ 15% des UVB parviennent jusqu'à la couche basale de l'épiderme et 50% des UVA atteignent le derme [12].

I.1.2.1.5.2. Les propriétés des mélanines

Les mélanines produites sont de deux types : les eumélanines et les phaeomélanines. La pigmentation de la peau humaine résulte en général d'un mélange de ces deux pigments présents en différentes proportions.

Les eumélanines sont des mélanines de couleur brune ou noire, à haut poids moléculaire et insolubles dans la plupart des solvants. Formées par la polymérisation de plusieurs centaines de radicaux phénols oxydés en fonction quinone, elles se cyclisent pour former un corps chimique absorbant presque totalement la lumière, ce qui explique leur couleur brune ou foncée. Les phaeomélanines sont caractérisées, quant à elles, par leur couleur jaune-orangée. Elles sont solubles dans les bases. Ces mélanines renferment des atomes de soufre et d'azote, et proviennent de la polymérisation oxydative des cystéinyldopa. Les eumélanines ont un pouvoir photoprotecteur environ mille fois supérieur à celui des phaeomélanines [12]. Cela explique pourquoi les sujets à peau mate ou noire présentent une bien meilleure protection vis-à-vis des UV que les sujets à peau plus claire. Elles sont aussi capables d'absorber les radicaux libres générés dans les cellules par les radiations UV, empêchant ainsi que leur ADN ne soit endommagé.

Les phaeomélanines sont, au contraire, photosensibilisantes. Il semblerait de plus que ces mélanines soient à l'origine de certains cancers cutanés.

1.1.2.1.6. Les différents phototypes

Les effets du soleil sur la peau dépendent en grande partie du phototype de l'individu. Le tableau 2 présente les différents phototypes selon la classification de Fitzpatrick [16].

Phototype	Réactions au soleil	IPD	Bronzage	Type
0	- Ne peut pas bronzer. - Brûle souvent gravement au soleil.	Aucun (-)	Aucun (-)	Albinos et bébés.
I	- Ne bronze pas. - Attrape systématiquement des coups de soleil.	Aucun (-)	Aucun (-)	Peau très claire, taches de rousseur, cheveux blonds ou roux.
II	- Bronze difficilement. - Attrape souvent des coups de soleil.	Faible (±)	Faible à minimal (±)	Peau très claire, cheveux blonds ou châains, yeux clairs.
III	- Bronze modérément et uniformément. - Attrape parfois des coups de soleil.	Net (+)	Faible (+)	Peau claire, cheveux blonds ou châains, yeux clairs.
IV	- Bronze modérément et facilement. - Attrape peu de coups de soleil.	Modéré (++)	Modéré (++)	Peau mate, cheveux châains ou bruns, yeux foncés.
V	- Bronze abondamment. - Attrape rarement de coups de soleil.	Intense (+++)	Fort, brun intense (+++)	Peaux et yeux foncés : Asiatiques, Méditerranéens et Métis.
VI	- Bronze abondamment. - N'attrape jamais de coups de soleil.	Intense (+++)	Fort, brun intense (+++)	Peau noire ou brun foncé.

Tableau 2 : Les différents phototypes selon Fitzpatrick, avec IPD : Immediate Pigment Darkening, pigmentation immédiate de la peau due aux UVA [16]

I.1.2.2. Quels sont les effets des radiations UV sur la peau ?

I.1.2.2.1. Introduction

Les UV provoquent une grande variété de dommages cutanés. Les effets exercés sur la peau par les radiations solaires dépendent de plusieurs facteurs :

- la quantité d'énergie absorbée ;
- la profondeur de la pénétration, qui est proportionnelle à la longueur d'onde. Les IR pénètrent au-delà de l'hypoderme, les UVA jusqu'au milieu du derme et les UVB jusqu'à la jonction dermo-épidermique (figure 10).

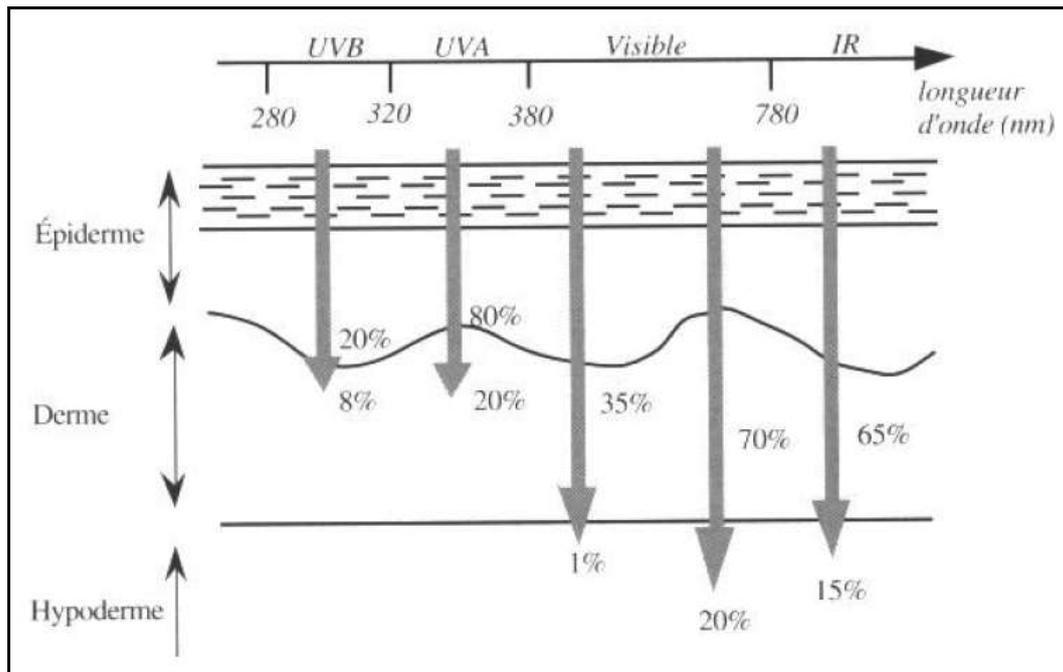


Figure 10 : Pénétration des rayonnements solaires en fonction de la longueur d'onde [10]

Les effets des radiations sur la peau s'exercent à court, moyen et long termes. Ils résultent de l'absorption des photons qui excitent les molécules biologiques. On distingue :

- des réactions rapides qui dépendent de l'énergie reçue. Ce sont alors principalement des réactions d'oxydoréduction qui font intervenir la formation de radicaux libres. Ces réactions se développent en premier lieu au dépend des lipides constituant les membranes cellulaires. La dénaturation de ces membranes par peroxydation entraîne une libération des médiateurs de l'inflammation (histamine, sérotonine et prostaglandines). La vasodilatation des capillaires qui s'ensuit provoque l'apparition d'érythèmes ou d'œdèmes. Ces réactions sont principalement induites par les UVB (tableau 3).

- des réactions à long terme affectant les protéines et les acides nucléiques. Ces réactions, induites par les UVA, sont de différents types. On observe une réticulation du collagène et un changement de la configuration des molécules d'élastine conduisant à l'élastose solaire. De plus, on constate une modification du tissu conjonctif aboutissant à une peau prématurément sénile [10].

Le tableau 3 rappelle les principaux effets des radiations UV sur la peau humaine.

Radiations ultraviolettes	Effets aigus	Effets chroniques
UVB : 290-320 nm	<ul style="list-style-type: none"> - Erythèmes - Œdèmes - Bronzage - Épaississement de l'épiderme - Synthèse de vitamine D - Photoimmunosuppression 	<ul style="list-style-type: none"> - Photocarcinogénèse - Photovieillissement
UVA : 320-400 nm	<ul style="list-style-type: none"> - Assombrissement immédiat de la peau (disparaît en 2h) : hâle du soir - Photoimmunosuppression 	<ul style="list-style-type: none"> - Photovieillissement - Photocarcinogénèse

Tableau 3 : Radiations ultraviolettes et effets sur la peau humaine [17]

I.1.2.2.2. Les effets bénéfiques des rayonnements UV

I.1.2.2.2.1. Rôle dans le métabolisme de la vitamine D

Les vitamines D sont des stérols présents chez les animaux, les végétaux et les bactéries. Ce sont des vitamines liposolubles synthétisées à partir d'un dérivé du cholestérol sous l'action des rayonnements UV. Elles existent sous deux formes : la vitamine D₂ (ergocalciférol) et la vitamine D₃ (cholécalfiérol) (figure 11).

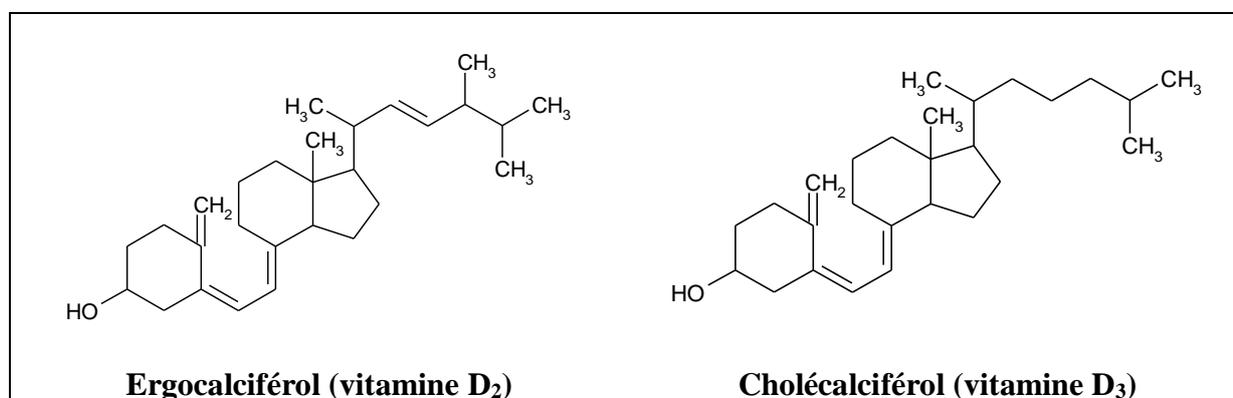


Figure 11 : Les vitamines D₂ et D₃ [18]

La vitamine D₂ ou ergocalciférol est un composé retrouvé dans l'ergot, un champignon parasite du seigle. Il est possible de la préparer industriellement. La vitamine D₃ ou cholécalfiérol est une vitamine naturelle : elle est fabriquée par le foie de certains animaux marins (morue, flétan, saumon). La différence de structure de la chaîne latérale des vitamines D₂ et D₃ (c'est-à-dire un méthyle et une double liaison supplémentaire dans le cas de la vitamine D₂) n'a pas d'influence sur leur activité biologique [18].

La vitamine D se forme suite à une exposition solaire. Selon les saisons, le climat, la latitude, la pigmentation de la peau, le mode d'habillement ou le niveau de pollution atmosphérique, la durée d'exposition nécessaire à la synthèse d'une quantité de vitamine D optimale pourra varier [19].

Au niveau de la peau (derme et épiderme), les rayons ultraviolets permettent la formation de vitamine D₃ à partir de dérivés du cholestérol présents normalement dans l'organisme (figure 12).

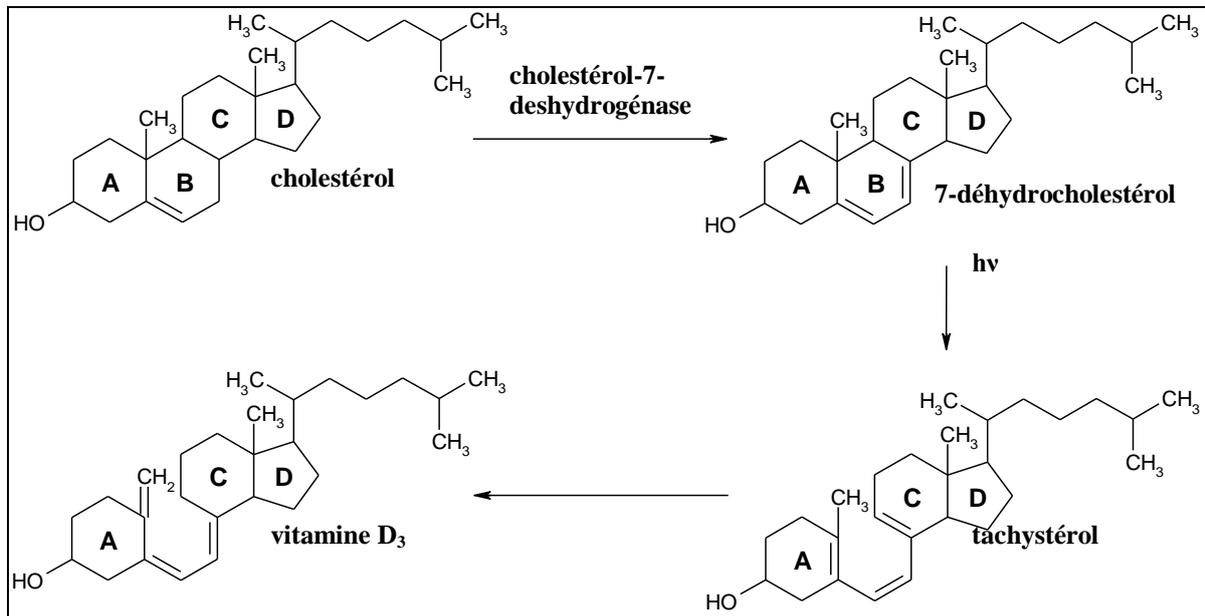


Figure 12 : Formation de la vitamine D₃ à partir du cholestérol [18]

La mélanine, de part ses capacités photoprotectrices, influe grandement sur la synthèse de la vitamine D. Cela explique pourquoi les sujets à peau noire ou mate sont plus susceptibles de développer des carences en vitamine D [20].

Le cholestérol est d'abord transformé en 7-déhydrocholestérol par une déshydrogénase spécifique. Les rayons UV provoquent l'ouverture du cycle B du 7-déhydrocholestérol, faisant apparaître la structure active de la vitamine D. Le tachystérol est ensuite rapidement isomérisé en vitamine D₃ [20]. Les vitamines D sont transportées dans le plasma sanguin par une protéine appelée DBP (*vitamine-D binding protein*). Elles se répartissent alors dans tous les organes qui les utilisent et sont mises en réserve dans le foie [18].

Les vitamines D₂ et D₃ sont ensuite transformées, par des réactions d'hydroxylation, en hormones agissant sur le métabolisme du calcium (figure 13).

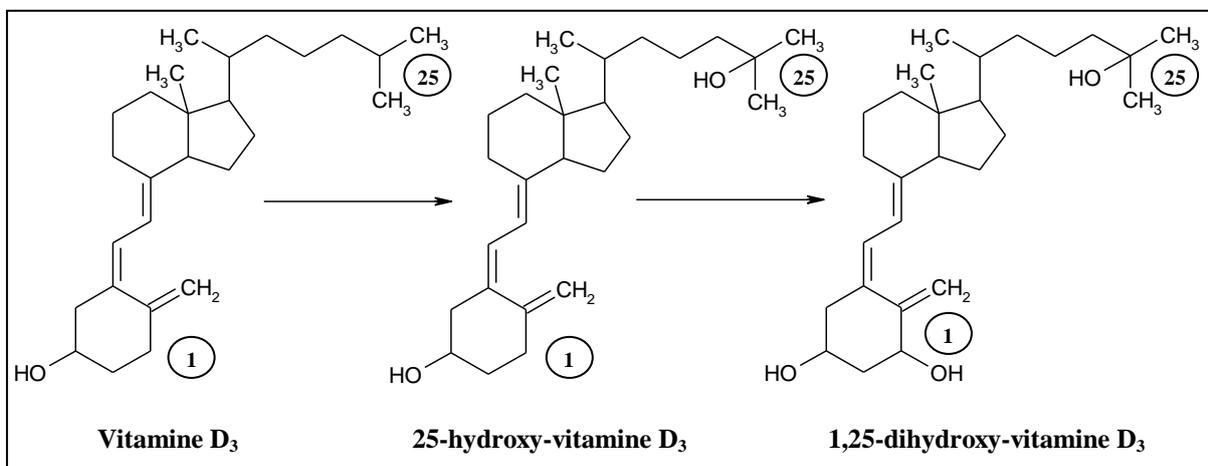


Figure 13 : Formation des dérivés hydroxylés de la vitamine D₃ [18]

La vitamine D₃ est d'abord hydroxylée dans le foie par l'enzyme 25-hydroxylase, qui fixe un groupement hydroxyle à la place de l'hydrogène porté par le carbone 25, formant la 25-hydroxy-vitamine D₃ ou calcidiol. Cette dernière quitte le foie par voie sanguine, fixée à la protéine DBP, et gagne le rein et les cartilages. Là, une autre hydroxylase (la 25-OH-vitamine-D₃-1-hydroxylase) fixe un groupement hydroxyle en position 1 α formant ainsi la 1,25-dihydroxy-vitamine D₃ (ou calcitriol) [18]. Le calcitriol est la forme biologiquement active de la vitamine D. C'est une hormone liposoluble qui favorise le transport du calcium dans la circulation sanguine, et sa fixation sur les os [20]. Par la suite, le terme vitamine D se référera aux vitamines D₂ et D₃, ainsi qu'à leurs dérivés hydroxylés.

Le rôle principal de la vitamine D est l'augmentation du taux de calcium dans le flux sanguin en intervenant dans l'absorption du calcium et du phosphore par les intestins, ainsi que dans la réabsorption du calcium par les reins. Ces phénomènes permettent une minéralisation normale du squelette.

La vitamine D joue aussi d'autres rôles dans l'organisme. On peut citer l'inhibition de la sécrétion de calcitonine par la glande thyroïdienne. La calcitonine est une hormone hypocalcémisante qui diminue la résorption osseuse et augmente l'excrétion du calcium par les reins. La vitamine D module aussi les fonctions neuromusculaires et immunitaires [19].

Une quantité suffisante de vitamine D est particulièrement nécessaire pendant la petite enfance afin d'éviter le rachitisme. Chez l'adulte, une carence en vitamine D provoque l'ostéomalacie. Ces deux maladies se signalent par le ramollissement des os, qui se déforment et perdent leur solidité [18]. Des carences en vitamine D peuvent aussi provoquer chez l'adulte l'ostéopénie (une diminution de la densité osseuse) ainsi que des faiblesses et des douleurs musculaires [19]. Enfin, ces carences constituent un problème particulièrement important chez les personnes âgées, à la fin de l'hiver. Elles entraînent une augmentation du risque de fracture fémorale [21].

Par ailleurs, la vitamine D joue un rôle particulièrement important dans la prévention de la décalcification osseuse survenant après la ménopause en cas d'ostéoporose. Il a été montré que pour maintenir une absorption de vitamine D suffisante afin de réduire l'ostéoporose, il suffisait d'exposer 15% du corps (c'est-à-dire le visage, les bras et les mains) chaque jour à un tiers de la dose érythématogène minimale (DEM) [6].

Différentes études ont suggéré qu'il pourrait exister un lien entre un déficit en vitamine D et le développement de différentes formes de cancer (colon, sein, prostate, mélanome ...) [22, 23]. Il a aussi été observé qu'un taux normal en vitamine D est un bon facteur de diminution de la croissance des cellules tumorales [24].

Néanmoins, des recherches cliniques ont montré que l'utilisation à long terme de produits solaires n'a pas (ou peu) d'effets sur les taux de vitamine D [19]. Des études *in vitro* suggèrent que la forme active de la vitamine D possède des propriétés photoprotectrices [25]. Une hypothèse suggère que la production cutanée de vitamine D induite par les UVB constituerait un mécanisme naturel de photoprotection.

La plus grande partie (entre 90 et 95 %) de la vitamine D indispensable à l'organisme est formée dans la peau sous l'action des radiations ultraviolettes. De fait, de faibles temps d'exposition aux radiations UV sont nécessaires pour éviter des carences en vitamine D. Une exposition des mains, des bras et du visage 2 ou 3 fois par semaine à raison de 15 minutes par

jour au printemps, en été et en automne semble suffisante. Il est important de noter qu'une exposition trop importante aux UV ne peut pas provoquer d'intoxication à la vitamine D, dans la mesure où les radiations UV détruisent l'excès de vitamine D produite [19].

Toutefois, même s'il peut sembler aisé de s'exposer aussi peu de temps, de nombreux auteurs s'inquiètent de l'augmentation du nombre de cas de personnes carencées en vitamine D. On considère qu'à l'heure actuelle, plus de 80 % des enfants vivant dans les cités industrialisées d'Europe du Nord et du Nord Est des Etats Unis souffrent d'une forme plus ou moins grave de rachitisme [20]. Il est recommandé de combler ce manque par apport alimentaire. Etant donné que très peu d'aliments contiennent naturellement cette vitamine (les poissons gras comme le saumon sont considérés comme l'une des meilleures sources [21]), il est recommandé de consommer des produits enrichis en vitamine D (produits laitiers, céréales ...) [19]. La quantité généralement recommandée est de 1000 UI (soit 25 µg) par jour, pour les adultes et les enfants de plus d'un an [21].

Les intoxications chroniques à la vitamine D, provoquées par une ingestion massive pendant une longue période, sont extrêmement rares. Elles sont le plus souvent liées à des erreurs de prescription médicale. Elles peuvent entraîner une hypercalcémie ou des troubles de la fonction rénale. Les cas d'intoxications étant exceptionnels, il ne faudra pas hésiter à consommer des aliments riches (ou enrichis), en vitamine D [26].

I.1.2.2.2. Effet bénéfique sur l'humeur

Le soleil peut être bénéfique pour le moral. Toutefois, ce phénomène n'est pas lié à l'exposition de la peau aux UV. C'est la lumière visible reçue par les yeux qui permet dans certains cas de lutter contre la dépression saisonnière [9]. Cette maladie, nommée trouble affectif saisonnier (TAS) a été décrite pour la première fois dans les années 80 et est aujourd'hui bien connue. Ce syndrome survient en automne/hiver pour disparaître au printemps ou en été [27].

La lumière visible du rayonnement solaire joue un rôle dans la production de mélatonine (figure 14), une hormone qui intervient sur le rythme biologique et sur l'humeur. La mélatonine est synthétisée dans la glande pinéale. L'information lumineuse est captée par les récepteurs rétiniens, puis transmise à la glande pinéale par voie nerveuse [28].

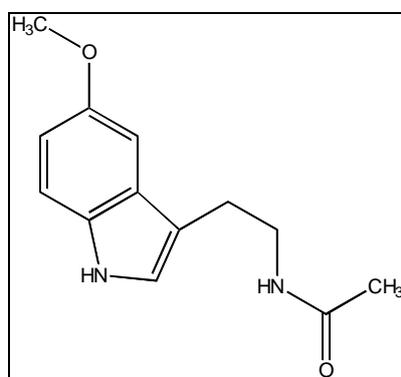


Figure 14 : Structure de la mélatonine [28]

La sécrétion de la mélatonine est provoquée par l'alternance jour/nuit. Le rôle de la mélatonine est celui d'un synchroniseur des cycles circadiens. Elle permet en particulier la régulation de la température corporelle et des cycles veille-sommeil [29]. Des anomalies du

rythme circadien sont décrites dans les troubles de l'humeur, comme la dépression ou le trouble affectif saisonnier. La luminothérapie (ou luxthérapie) est un traitement de choix pour traiter ce trouble. Cette thérapie va permettre de réguler la sécrétion de mélatonine, en resynchronisant les rythmes par une exposition matinale à une lumière intense [30].

I.1.2.2.2.3. Le bronzage

L'exposition solaire provoque deux types de pigmentation.

La pigmentation directe induite par les UVA est appelée phénomène de Meirowski, ou « hâle du soir ». Cette pigmentation est fugace : elle apparaît en quelques minutes et disparaît en 6 heures environ. Elle est due à une augmentation de la photo-oxydation de la DOPA. Cette pigmentation est susceptible de se développer lorsque la peau est restée exposée pendant un temps suffisant derrière une vitre (comme un pare-brise de voiture, par exemple).

La pigmentation indirecte ou retardée, elle, est due aux UVB. Elle apparaît en 48 heures et fait suite à l'érythème. Les mélanocytes, sous l'action des UV, vont produire de la mélanine qui va se placer au-dessus du noyau des kératinocytes. Les kératinocytes chargés de mélanine migrent vers la surface de la peau pour lui donner sa couleur caractéristique : c'est le bronzage, un mécanisme naturel de défense de la peau face aux radiations UV. La mélanine absorbe efficacement les UVB et prévient les érythèmes. Toutefois, le bronzage constitue une protection médiocre vis-à-vis des UVA [10].

I.1.2.2.2.4. Les effets thérapeutiques

L'exposition aux UV peut être prescrite pour traiter certaines pathologies cutanées comme le psoriasis, le vitiligo, l'eczéma ou le prurit, par exemple. Deux cas seront traités ici à titre d'exemple, à savoir le psoriasis et le lupus érythémateux cutané.

I.1.2.2.2.4.1. Cas du psoriasis

Le psoriasis est une maladie inflammatoire de la peau, fréquente et chronique, qui évolue par poussées. Elle touche non seulement la peau mais également les ongles et les articulations (on parle alors de psoriasis inversé) (figure 15).



(a) : Lésion érythémato-squaméuse typique d'un psoriasis vulgaire ; (b) : Onycholyse distale; (c) : Psoriasis inversé.

Figure 15 : Différentes manifestations du psoriasis [31]

Cette affection est caractérisée par la présence de papules érythémateuses bien délimitées et de plaques recouvertes de squames blanchâtres (figure 15). Ces symptômes apparaissent le plus souvent sur la face externe des articulations, sur le cuir chevelu ou dans la

région ombilicale. Dans le cas du psoriasis inversé, les zones touchées sont les plis de flexion, les paumes de main et les plantes de pied [31].

Différents traitements pourront être instaurés. On pourra utiliser des principes actifs incorporés dans des excipients pâteux afin d'exercer une action locale. C'est le cas avec les analogues de vitamine D (calcipotriol, tacalcitol ou calcitriol) qui peuvent être utilisés seuls ou bien en association avec des corticoïdes telle que la bétaméthasone [31]. On pourra également avoir recours, dans le cas des formes sévères, à la voie systémique. On administrera alors des rétinoïdes (acitrétine), des antinéoplasiques (méthotrexate) ou bien un immunosuppresseur comme la ciclosporine [32].

La photothérapie constitue également un traitement de choix. Trois modes d'irradiation sont utilisés : la photothérapie UVB à spectre étroit ($\lambda = 311 \text{ nm}$), qui est particulièrement efficace en association avec l'application topique d'analogues de la vitamine D₃, la photothérapie UVB à spectre large ($290 < \lambda < 320 \text{ nm}$) et enfin la PUVAthérapie, qui combine l'irradiation dans l'UVA ($320 < \lambda < 400 \text{ nm}$) et la prise orale de psoralène. Cette dernière fait toutefois figure de second choix en raison de l'utilisation de psoralènes, substances photosensibilisantes non dénuées d'effets indésirables (développement de carcinomes spinocellulaires par exemple). Notons qu'il est possible de réduire la dose d'UV administrée en utilisant de l'acitrétine [31].

I.1.2.2.4.2. Cas du lupus érythémateux cutané

Le lupus érythémateux est une maladie auto-immune. De nombreux facteurs exogènes peuvent déclencher une réponse inflammatoire chez des individus génétiquement prédisposés. Les premières manifestations de cette affection sont le plus souvent cutanées. On voit alors apparaître des papules érythémateuses sur les joues et le nez (en masque de loup, en aile de papillon, en vespertilio), qui peuvent s'étendre au reste du visage, au cou et dans la zone du décolleté [33]. La figure 16 présente les manifestations courantes du lupus sur le visage.



Figure 16 : Manifestations cutanées du lupus érythémateux

Les radiations UV sont connues pour induire les manifestations cutanées du lupus érythémateux et peuvent même provoquer d'autres symptômes de la maladie (douleurs articulaires et fatigue, par exemple) [34].

Les UV peuvent être responsables de l'apparition de ces symptômes mais ils peuvent aussi être utilisés comme agents thérapeutiques. La photothérapie UVA1 est employée comme traitement immunomodulateur chez des patients atteints de lupus érythémateux cutané. Ce type de photothérapie agit en provoquant l'apoptose des lymphocytes T [35].

Une étude récente fait état de la notion d'accoutumance aux UVB chez des patients atteints de lupus érythémateux cutané. On constate que l'exposition de la peau à des doses

croissantes d'UV pendant plusieurs semaines (ou mois) aboutit à une réduction de la sensibilité aux radiations UV environnementales. Ce que l'on peut appeler le photo-endurcissement a permis ici d'améliorer significativement la tolérance aux UV, et même de diminuer chez certains patients les manifestations cutanées du lupus érythémateux [33].

Il est important de noter que l'accoutumance aux UV est utilisée pour traiter différentes dermatoses photosensibles comme les lucites ou l'urticaire solaire. Différents modes d'irradiation sont employés parmi lesquels on peut citer les UVB (à spectre étroit ou large), les UVA associés à la prise de psoralène, et une combinaison d'UVA et d'UVB. La photothérapie permet dans ces cas de diminuer l'hypersensibilité aux UV [33, 35].

I.1.2.2.3. Les effets néfastes des rayonnements UV

I.1.2.2.3.1. L'érythème actinique

Aussi appelée « coup de soleil », cette réaction de la peau est un signe de surexposition aux radiations ultraviolettes (UVB et UVA). Au-delà d'un certain seuil d'UV reçus (qui dépend essentiellement du phototype du sujet), le système de défense est débordé et les vaisseaux sanguins se dilatent, ce qui provoque rougeur et douleur. Notons qu'il faut 1000 fois plus d'UVA que d'UVB pour provoquer un coup de soleil (figure 17).



Figure 17 : Exemple d'érythème actinique [9]

Il existe différents niveaux d'érythème actinique :

- quelques minutes d'exposition au soleil (ce temps varie grandement selon la dose d'UV reçue et le phototype du sujet) peuvent suffire pour entraîner une brûlure du premier degré avec un érythème rouge qui apparaît 6 à 24 heures après exposition. Cette rougeur de la peau est suivie d'une desquamation qui laisse apparaître une peau peu bronzée.
- une brûlure du second degré est caractérisée par l'apparition d'une coloration rouge vif de la peau, 2 à 12 heures après exposition, par une grande sensibilité (au point de ne pas pouvoir supporter le contact avec un tissu) et par une sensation de chaleur.
- une brûlure du troisième degré peut être grave et avoir des conséquences à long terme. Dans ce cas, la peau prend une teinte rouge violacée 2 à 6 heures après l'exposition. Elle est gonflée, douloureuse et prompte à peler. Le phénomène peut s'accompagner de brûlures du second degré, avec formation de phlyctènes et risque de surinfection. Ce type d'érythème endommage les cellules basales de la peau : la peau risque de ne plus bronzer uniformément par la suite [10].

I.1.2.2.3.2. Épaississement de la couche cornée

L'irradiation UVB induit une augmentation du nombre et de l'épaisseur des différentes couches de kératinocytes dans l'épiderme vivant et un épaississement de la couche cornée (kératinisation accrue). On note également l'apparition de *sunburn cells* dans les couches profondes de l'épiderme irradié. Ce sont des kératinocytes en apoptose, de forme ronde et n'ayant plus de connexion avec les kératinocytes voisins.

Dans les trois premiers jours suivant l'irradiation, l'épiderme devient kératosique, caractérisé par une couche cornée avec des cellules nucléées. Cet effet ne s'installe que lentement. La couche cornée ne redevient normale qu'après 10 à 14 jours. Les irradiations UVA répétées conduisent également à un épaississement de la couche cornée mais sans formation de *sunburn cells* [10].

I.1.2.2.3.3. Photocarcinogénèse et photoimmunosuppression

Les cancers cutanés sont les cancers les plus fréquents : plus de 100 000 cas sont diagnostiqués annuellement en France. Ce chiffre est en progression constante et augmente de 7% environ annuellement. Les radiations ultraviolettes sont l'élément étiologique majeur. Leur agressivité dépend essentiellement de la forme histologique [36]. Les cancers de la peau les plus fréquents et les moins graves sont les carcinomes baso-cellulaires et spino-cellulaires (ou épidermoïdes). Ces carcinomes cutanés touchent généralement des sujets à peau blanche après l'âge de 40 ans mais ils peuvent s'observer chez des sujets plus jeunes. Les mélanomes sont des cancers cutanés plus rares (4000 à 5000 nouveaux cas par an en France) mais plus dangereux. Ils peuvent s'avérer de bon pronostic si le traitement est mis en œuvre précocément [37].

I.1.2.2.3.3.1. Rôle des UV dans la photocarcinogénèse

La photocarcinogénèse se définit comme l'ensemble des phénomènes provoqués par le soleil ou par des sources lumineuses artificielles, aboutissant à la survenue de tumeurs cutanées. C'est un processus à étapes multiples qui fait intervenir des altérations de l'ADN cutané, la production de radicaux libres, des facteurs locaux provenant du stroma des tumeurs et des facteurs immunologiques liés à l'hôte.

Les UV ont un rôle double dans le développement des cancers cutanés. Ils ont d'abord une action cancérogène directe. De plus, ils provoquent une immunosuppression qui est elle-même un facteur de promotion tumorale [13]. Ainsi, l'absorption directe d'UVB génère-t-elle des lésions de l'ADN qui induisent diverses mutations, comme celle de gènes suppresseurs de tumeurs (P53). Les UVA sont responsables de réactions photo-oxydatives. Ils peuvent entraîner une peroxydation des lipides membranaires et activer des facteurs nucléaires de transcription.

I.1.2.2.3.3.2. Rôle des UV dans l'immunosuppression

De nombreuses études démontrent que les ultraviolets, en particulier les UVB, ont un effet immunosuppresseur [37]. Les mécanismes impliqués dans la photoimmunosuppression sont complexes et font intervenir [13] :

- les cellules de Langerhans : les UV peuvent agir directement sur ces cellules, mais également en activant la production de certaines cytokines par les kératinocytes ;

- l'isomérisation d'un photorécepteur de la couche cornée, l'acide urocanique (UCA) (qui passe de la forme trans à la forme dérivé cis), qui pourrait être impliqué dans les mécanismes de l'immunosuppression ;
- la production et la libération de cytokines par les cellules épidermiques. Les cytokines sont des substances de communication solubles synthétisées par les cellules du système immunitaire ou par d'autres cellules et/ou tissus. Elles agissent à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction ;
- des cellules monocytaires qui se forment dans l'épiderme après une forte irradiation ultraviolette.

L'irradiation de la peau par les UVB pourrait être responsable d'une altération des fonctions des cellules de Langerhans, ce qui aboutirait à l'impossibilité pour ces cellules de stimuler certains types de lymphocytes. De plus, *in vitro*, les UVB exercent une action directe sur les cellules de Langerhans épidermiques et inhibent leur fonction de présentation antigénique [13]. La compétence de ces cellules est donc fortement diminuée.

L'action des UV sur le système immunitaire peut aussi être indirecte. Ainsi, la photo-isomérisation de l'acide urocanique conduit-elle à la formation d'un isomère cis dont les propriétés immunosuppressives sont assez proches de celles induites par une irradiation UVB. L'importance réelle de ce médiateur est encore débattue et certains résultats tendent à prouver que le dérivé cis ne serait pas impliqué dans toutes les formes d'immunosuppression induite par les radiations ultraviolettes [38].

L'irradiation des kératinocytes par les UVB provoque la libération de diverses substances comme le *Tumor Necrosis Factor* (TNF) et des interleukines (IL-10 notamment). Le TNF agirait en modifiant la morphologie, les capacités de migration et de présentation des cellules de Langerhans. De plus, cette cytokine est capable de déclencher la mort cellulaire programmée. Elle joue certainement un rôle majeur, *in vivo*, dans la formation des kératinocytes apoptotiques UV-induits ou *sunburn cells*. L'IL-10 est actuellement considérée comme l'un des principaux médiateurs de l'immunosuppression induite par les UVB. Elle peut être produite par les kératinocytes irradiés et les macrophages épidermiques UV induits. Sa propriété principale est l'inhibition de la fonction de présentation antigénique des cellules de Langerhans [13].

I.1.2.2.3.3.3. ADN et immunosuppression

De nombreux travaux ont mis l'accent sur le rôle de l'ADN en tant que cible moléculaire des UV. Les dégâts engendrés par ces radiations sur l'ADN peuvent provoquer des effets immunosuppresseurs. L'ADN cellulaire est en effet la première cible des radiations ultraviolettes. L'action des ultraviolets sur les gènes peut être directe ou résulter de l'effet délétère des radicaux libres. Les UVB peuvent également modifier la peroxydation des lipides membranaires et agir sur certains gènes. Il a été montré que la cytotoxicité des radiations solaires était due pour 40% aux UVB et 60% aux UVA [36].

La formation de dimères de pyrimidine au niveau des molécules d'ADN est l'une des altérations les plus fréquemment observées après exposition de la peau aux UVB. Ces dimères jouent un rôle important dans les mécanismes de l'immunosuppression UV-induite. Les UVA induisent préférentiellement, par l'intermédiaire des espèces réactives de l'oxygène (radicaux hydroxylés, anions superoxyde et oxygène singulet), des ruptures de brins d'ADN. Le rendement est toutefois beaucoup plus faible qu'avec les UVB.

Les altérations de l'ADN résultant de l'exposition aux ultraviolets pourraient, de plus, provoquer la production de cytokines immunosuppressives comme l'IL-10 et moduler l'activité de certains gènes impliqués dans la réponse immunitaire (P53) [13]. Le gène P53, dans sa forme non mutée, agit comme un suppresseur, tandis que les allèles mutés sont promoteurs. Ce gène régule la réparation de l'ADN car il commande le déclenchement de la mitose après réparation. La protéine P53 provoque également l'apoptose cellulaire. La production de cette protéine est induite par les radiations ultraviolettes, et sa liaison avec l'ADN permet à la cellule de procéder aux réparations nécessaires avant d'entreprendre la réplication (figure 18). Il faut noter que le gène P53 est modifié dans sa structure dans 50% des cancers en général, et dans 90% des cancers cutanés en particulier [36].

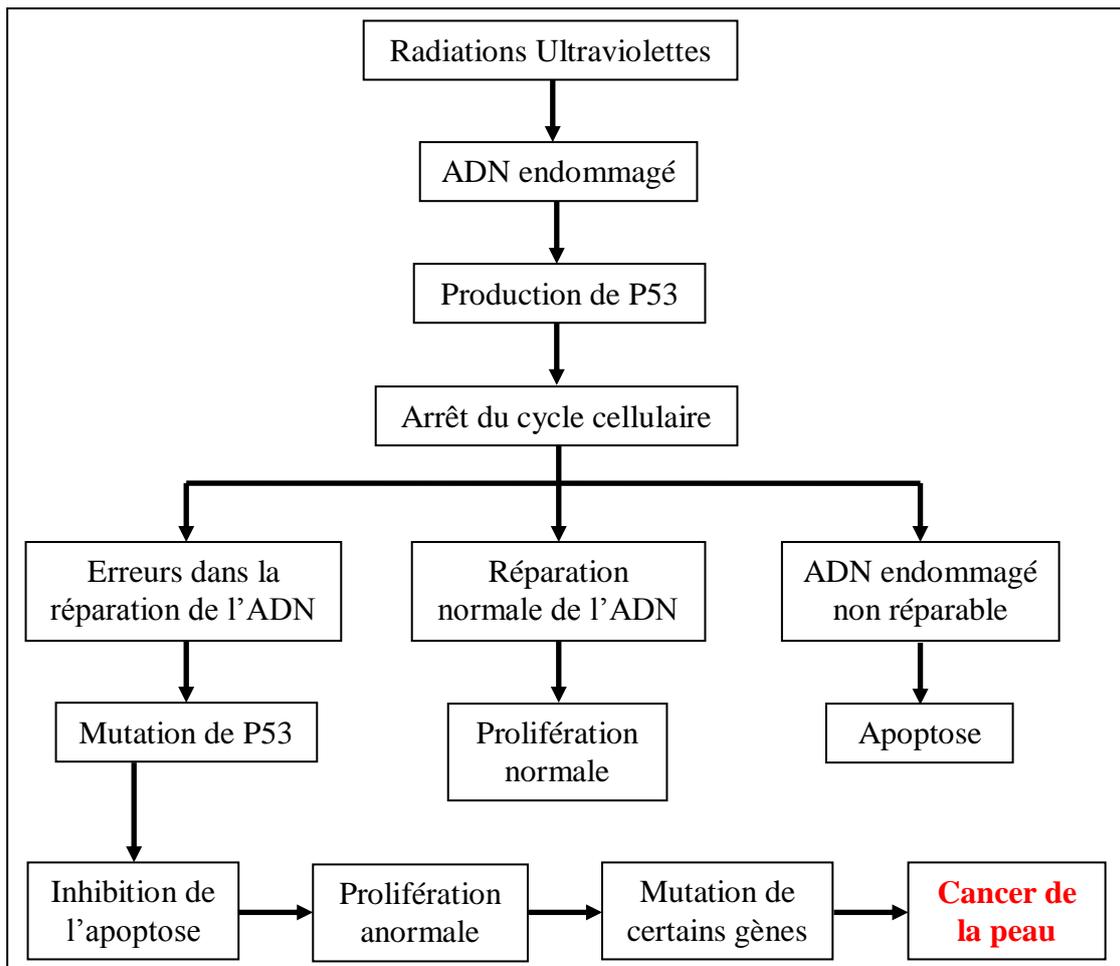


Figure 18 : Mécanismes de l'immunosuppression [39]

L'immunosuppression, à court terme ou chronique, n'est pas seulement causée par une irradiation par les UVB, mais aussi par une irradiation par les UVA. La pathologie chronique la plus grave due à une irradiation UV est la photocarcinogenèse. De fait, en fonction des longueurs d'onde, différents types de lésions sont causées à l'ADN. Les UVB induisent la formation de dimères thymidine, la mutation typique due aux UV. Les UVA provoquent un stress oxydatif indirect sur les bases constitutives de l'ADN, avec la formation d'espèces oxygénées réactives [39].

I.1.2.2.3.3.4. Les carcinomes

Ils représentent plus de 90% des cancers cutanés. Il existe deux types de carcinomes : les carcinomes baso-cellulaires (figure 19) ne donnant pas de métastases et les carcinomes spino-cellulaires ou épidermoïdes (figure 20) qui se propagent très lentement. Il faut noter que les carcinomes baso-cellulaires sont quatre fois plus nombreux que les spino-cellulaires. Ces cancers se développent à partir des cellules de l'épiderme, et plus particulièrement des kératinocytes. Il a été clairement établi que les UV sont les facteurs de risque essentiels des carcinomes, mais il existe aussi d'autres facteurs environnementaux comme l'exposition à certaines radiations ionisantes (rayons X), à des produits chimiques (goudron, arsenic) ou à certains virus (*Papilloma virus* humain) [40]. Les cicatrices de brûlures ou des plaies persistantes représentent aussi un facteur de risque pour le développement de ces tumeurs.



Figure 19 : Carcinome basocellulaire pagétoïde [40]



Figure 20 : Carcinome spinocellulaire [40]

On note comme facteurs prédisposant à la survenue de cancers cutanés le phototype (les sujets à peau claire étant qualifiés de mélanocompromis [36]) et le mode de vie (les expositions solaires fréquentes et en particulier durant l'enfance sont à prendre en compte, de même que le recours abusif à des séances de solarium). Par ailleurs, de nombreux arguments plaident en faveur d'une susceptibilité génétique au développement des cancers cutanés [13].

Les carcinomes baso-cellulaires sont le plus souvent localisés au niveau des zones exposées et apparaissent entre 45 et 60 ans. Dans 85% des cas, ils siègent au niveau de la tête et du cou, mais ils peuvent se localiser sur d'autres parties du corps. Ils prennent l'aspect d'un bouton en relief de couleur rouge ou rosée, d'une petite tache rouge ou blanche avec une bordure surélevée, ou alors d'une plaie qui ne cicatrise pas [41].

Les carcinomes spino-cellulaires apparaissent généralement après l'âge de soixante ans et se situent souvent au niveau des zones exposées au soleil mais peuvent parfois toucher d'autres zones. Sur la peau exposée au soleil, ils débutent souvent comme une croûte blanche qui s'épaissit progressivement et s'ulcère pour former une plaie irrégulière à bordure surélevée. Leur évolution est essentiellement locale mais peut aboutir, en l'absence de traitement, à une dissémination métastatique lymphatique ou viscérale [40].

Leur nombre (entre 2 et 3 millions de nouveaux cas dans le monde chaque année, selon le Programme des Nations Unies pour l'Environnement -PNUE- [42]) représente un coût financier très important. En France, on dénombre plus de 50 000 personnes par an présentant un cancer de ce type. Les carcinomes basocellulaires et épidermoïdes traités précocement (par ablation chirurgicale) guérissent dans plus de 90% des cas. Après traitement, une surveillance au long cours est nécessaire pour éviter une récurrence et s'assurer qu'il n'y a pas d'autres lésions suspectes [40].

I.1.2.2.3.3.5. Les mélanomes

Les mélanomes sont bien plus rares que les carcinomes, mais néanmoins bien plus dangereux. Différentes études épidémiologiques montrent que les expositions épisodiques et de courte durée mais se répétant annuellement dans le cas de vacances où la quantité d'UV reçue est importante augmentent considérablement le risque de mélanome. Ce type d'exposition est, en effet, susceptible d'engendrer des coups de soleil. Ce risque est particulièrement important chez les personnes ayant été exposées pendant l'enfance, ou ayant une peau claire. Les mélanomes se développent aux dépens des mélanocytes, situés dans les couches profondes de l'épiderme [43].

Le mélanome peut survenir brusquement sur une peau qui était auparavant normale. Au départ, il s'agit d'une tache colorée de quelques millimètres qui comporte plusieurs nuances de brun et de noir (figure 21). Cette tache est souvent asymétrique et comporte des bordures irrégulières. Le mélanome évolue ensuite et subit des modifications assez rapides dans sa taille, sa forme, ses contours et sa coloration. Il se propage très vite à d'autres organes, en quelques semaines ou mois. Détecté de manière très précoce, une simple intervention chirurgicale (exérèse large de la lésion) suffit à la guérison. Dans le cas contraire, les traitements sont plus lourds, à savoir : chimiothérapie, radiothérapie, immunothérapie ou biothérapie [44].



Figure 21 : Mélanome malin [44]

Le diagnostic du mélanome se fait sur la base de 5 critères sémiologiques principaux, dont les noms débutent par les cinq premières lettres de l'alphabet. Ce sont les critères ABCDE dont les caractéristiques figurent dans le tableau 4 [44].

Critères	Définition
<i>Asymétrie</i>	Une lésion bénigne sera habituellement symétrique alors qu'un mélanome est plus souvent asymétrique par rapport à ses deux axes.
<i>Bords irréguliers</i>	Une lésion bénigne a des bords bien nettement tracés et aux contours harmonieux. Un mélanome aura des limites plus floues et des contours plus déchiquetés.
<i>Couleur inhomogène</i>	Une lésion bénigne est généralement d'une seule couleur alors que dans un mélanome coexistent des plages brun foncé, des plages brun clair, des plages noire, des plages rougeâtre ou chamois et parfois des plages blanche.
<i>Diamètre</i>	Supérieur à 6 mm.
<i>Extensivité</i>	Alors que la taille d'une lésion bénigne est habituellement stable, le mélanome se caractérise par une augmentation progressive de sa surface.

Tableau 4 : « L'abécédaire du mélanome » ou les cinq critères de diagnostic précoce [44]

Ce cancer touche plus de 130 000 personnes par an dans le monde (selon le PNUE, [42]) et son incidence ne cesse de progresser. Chaque année en France, 7000 nouveaux cas sont diagnostiqués. Il faut noter que l'incidence des mélanomes a augmenté de manière alarmante ces dernières années. Entre 1969 et 1997, la mortalité par mélanome a été multipliée par 2,7 chez la femme et par 2,9 chez l'homme. En 2000, 1 364 décès étaient attribués au mélanome [45].

I.1.2.2.3.6. La photoimmunosuppression

Un des facteurs provoquant l'immunosuppression est la production d'acide urocanique (figure 22). Cette molécule est une composante de la sueur. Elle est produite sous sa forme trans à partir de l'histidine sous l'action d'une histidinase. Elle est capable d'absorber les UV avec un maximum d'absorption situé à 285 nm et constitue donc en théorie un filtre [10].

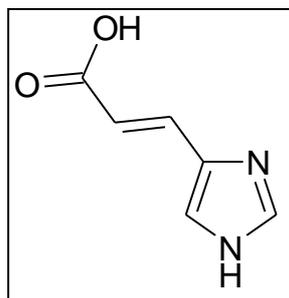


Figure 22 : Structure chimique de l'acide urocanique

L'acide urocanique a longtemps été considéré comme participant à la photoprotection naturelle. Actuellement, au contraire, on sait qu'il intervient dans le phénomène d'immunosuppression induit par les UVB par suite de sa transformation en isomère cis.

I.1.2.2.3.4. La photosensibilisation

La photosensibilisation est une réaction de la peau associant une irradiation UV et présence cutanée d'une ou de plusieurs substances réagissant sous l'action des UV. Ces chromophores peuvent avoir différentes origines : médicaments, cosmétiques, végétaux, certaines hormones (par exemple chez la femme enceinte). Les réactions de photosensibilisation se classent en deux catégories : les réactions de phototoxicité et de photoallergie.

I.1.2.2.3.4.1. La phototoxicité

La phototoxicité (ou photo-irritation) est une réaction chimique pouvant survenir chez n'importe quel individu dès lors que la peau se trouve en contact avec suffisamment de substance photoréactive. Les réactions phototoxiques se traduisent par un érythème et/ou un œdème douloureux. L'érythème apparaît généralement quelques heures après l'exposition et atteint un pic au bout de quelques jours. Ce phénomène est suivi d'une desquamation et d'une hyperpigmentation. Notons que l'humidité et le vent peuvent aggraver les réactions phototoxiques [46].

La figure 23 présente un exemple de réaction phototoxique à la bergamote.



Figure 23 : Exemple de réaction phototoxique à la bergamote [47]

Les molécules les plus phototoxiques sont la mousse de chêne, la 6-méthylcoumarine, certains composants du baume du Pérou et l'huile essentielle de bergamote [47]. L'huile essentielle de bergamote, utilisée comme parfum, contient des furocoumarines (bergaptène, citroptène, bergamotène ...) qui sont des molécules photosensibilisantes très connues [48]. Parmi les molécules photosensibilisantes courantes, on peut aussi citer les quinolones qui sont des agents antibactériens employés en thérapeutique [49].

En règle générale, deux types de réactions phototoxiques peuvent survenir. Elles peuvent être photodynamiques (qui dépendent de l'oxygène) ou non-photodynamiques (qui ne dépendent pas de l'oxygène) [46].

I.1.2.2.3.4.1.1. Les réactions photodynamiques

Les substances photosensibilisantes, lorsqu'elles sont dans un état triplet excité, réagissent avec l'oxygène pour former des oxygènes singulets ou des anions superoxydes. Ces espèces réactives peuvent endommager les composants des membranes cellulaires tels que les acides nucléiques, les lipides et les protéines.

Les réactions photodynamiques sont induites par les porphyrines, les hydrocarbures polycycliques, le goudron de houille, l'anthracène et de nombreux colorants [46].

I.1.2.2.3.4.1.2. Les réactions non-photodynamiques

Les psoralènes, comme le 8-méthoxypsoralène (figure 24), sont un exemple classique de substances exogènes photosensibilisantes non-photodynamiques. Ces molécules s'intercalent dans l'hélice ADN. Une photoactivation par des UVA va générer une destruction de l'ADN. Ce type de réaction est mis à profit en PUVAthérapie [46].

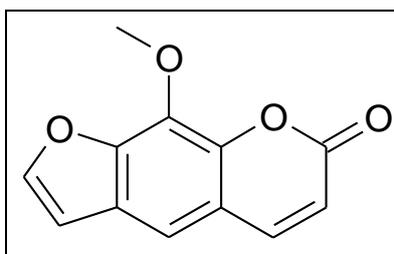


Figure 24 : Structure du 8-méthoxypsoralène

I.1.2.2.3.4.1.3. Les médicaments phototoxiques

Les médicaments phototoxiques topiques les plus courants sont les psoralènes, les goudrons et les phénothiazines.

Par voie générale, la liste de ces substances va des psoralènes (très photosensibilisants) à certains antihistaminiques (photosensibilisants faibles). On peut également citer parmi les plus communs les sulfamides (antibactériens), les sulfonurées (sulfamides hypoglycémiantes), les thiazidiques (diurétiques), les tétracyclines (antibiotiques), de nombreux anti-inflammatoires (kétoprofène), ainsi que l'amiodarone (antiarythmique) [46].

I.1.2.2.3.4.2. La photoallergie

La réaction photoallergique est une hypersensibilité cellulaire. Elle comprend une phase préalable induite par les ultraviolets. Au cours de cette phase, le chromophore (prohaptène) irradié donne naissance à une forme radicalaire électrophile. Les protéines possédant des groupements nucléophiles (-NH₂, -SH) sont des cibles privilégiées. Ces groupements réagissent avec le prohaptène pour donner naissance à un haptène qui est pris en charge par les cellules de Langerhans [50].

L'aspect des lésions est celui d'un eczéma de contact allergique caractérisé par une éruption érythémateuse, avec une surface légèrement granitée et vésiculeuse (figure 25).



Figure 25 : Photoallergie de contact [50]

En cas de photoallergie systémique (provoquée par des médicaments par exemple), toutes les zones suffisamment exposées seront concernées. Pour les photoallergies de contact, la disposition des lésions peut être moins typique, car les topiques sont appliqués sur des zones limitées de peau. On peut citer par exemple les chéilites par photoallergie à des filtres solaires contenus dans les sticks à lèvres [50].

Le soleil n'est pas la seule source lumineuse en cause puisque les sources artificielles d'UV (solarium, soudure à l'arc, lampes de Wood utilisées pour le contrôle des pièces métalliques ...) peuvent elles aussi induire des photoallergies. Il faut noter que les photoallergies sont le plus souvent déclenchées par les UVA [50].

Il existe deux types de photoallergies. Lorsque les haptènes sont clairement identifiés, on parle de photoallergies exogènes. Dans ce cas, l'activation du photosensibilisant suite à

l'absorption lumineuse permet sa liaison, par des mécanismes variés, à des protéines, telle que l'albumine pour former un composé immunologiquement actif alors que la molécule non activée par la lumière n'est pas elle-même antigénique. Lorsque les molécules photosensibilisantes sont inconnues, on parle alors de lucites (ou photodermatoses) idiopathiques [51].

Il existe de nombreuses photoallergies idiopathiques. La lucite polymorphe et la lucite estivale bénigne sont les plus communes. Il existe aussi des pathologies graves. L'urticaire solaire est une affection grave touchant avec prédilection la femme jeune. L'*hydroa vacciniforme* est une photodermatose débutant dans l'enfance (habituellement avant l'âge de dix ans) et disparaissant à l'adolescence. Elle est considérée comme grave à cause des cicatrices qu'elle peut laisser. Enfin, on peut citer la dermatite actinique chronique, photodermatose peu fréquente atteignant surtout les hommes d'âge moyen, et qui se manifeste par un érythème persistant du visage avec une photosensibilité très nette. Les travailleurs en extérieur, surtout les jardiniers, sont les plus atteints [51].

La photodermatose la plus fréquente est la lucite estivale bénigne. Dans ce type de réaction, l'agent photosensibilisant n'est pas identifié. C'est une affection de la femme jeune, dont l'âge est compris entre 20 et 30 ans. Elle survient en été après une exposition intense et étendue. Une éruption très prurigineuse apparaît en moins de douze heures, siégeant au niveau du décolleté, des épaules, des avant-bras et des mains (figure 26). Cette photoallergie évolue favorablement en une quinzaine de jours sans laisser de cicatrices [50].



Figure 26 : Lucite estivale bénigne [50]

Les sources d'allergènes sont variées (médicaments, cosmétiques, environnement ...) Les antiseptiques (tétrachlorosalicylamide, hexachlorophène ...) ont longtemps été les photoallergènes les plus incriminés. Bon nombre de photoallergies ont aussi été imputées aux anti-inflammatoires non stéroïdiens, comme le kétoprofène ou le piroxicam [50]. Enfin, un autre médicament du groupe des quinolones, la sparflouxacine a été jugée responsable d'un certain nombre de photosensibilisations [52].

Le cas du kétoprofène est un cas intéressant, dans la mesure où il est à l'origine de réactions croisées. A la suite de l'absorption photonique, il subit une dégradation par décarboxylation donnant naissance à un dérivé diphénylcétone. Ce dérivé va se lier avec des molécules biologiques pour former un haptène responsable de réactions de photoallergie. Cette implication du radical diphénylcétone explique les réactions croisées avec l'acide tiaprofénique, le fénofibrate et l'oxybenzone [53]. Cette situation est à l'origine de la suspension d'AMM des gels à base de kétoprofène.

De nombreux ingrédients cosmétiques sont aussi sources de photoallergies. On peut citer les parfums et certaines huiles essentielles. Les filtres solaires sont aujourd'hui souvent mis en cause. Le PABA (acide para-aminobenzoïque), premier filtre UVB synthétisé, était responsable de nombreuses allergies de contact, d'où son interdiction fin 2008. L'oxybenzone est un autre filtre solaire qui a fait l'objet de nombreuses publications l'impliquant dans la survenue d'allergies [54]. Les filtres peuvent être des « photoallergènes cachés » lorsqu'ils sont incorporés à des cosmétiques qui ne sont pas censés en contenir, tels que des crèmes de jour ou des rouges à lèvres [50].

Le tableau 5 compare phototoxicité et photoallergie.

	Phototoxicité	Photoallergie
<i>Fréquence</i>	Collective	Individuelle
<i>Survenue</i>	Possible dès la première exposition	Après une phase de sensibilisation
<i>Aspect</i>	« Coup de soleil » ou pigmentation résiduelle	Eczéma, éruption lichénoïde, urticaire
<i>Topographie</i>	Exclusivement sur les zones exposées	Atteinte pouvant déborder partiellement sur les zones non exposées
<i>Histologie</i>	Œdème du derme, présence de cellules dyskératosiques épidermiques	Infiltrat lymphoplasmocytaire dermique à prédominance périvasculaire
<i>Phototests</i>	Réaction irritative (brûlure)	Réaction allergique (eczéma)
<i>Concentration nécessaire</i>	Forte	Faible
<i>Evolution</i>	Courte, pigmentation résiduelle	Plus longue, parfois rémanence

Tableau 5 : Phototoxicité et photoallergie [50]

I.1.2.2.3.5. Le photovieillissement

Les radiations ultraviolettes (et à un moindre degré les infrarouges) sont des facteurs environnementaux exogènes capables d'influencer le vieillissement cutané. Chez l'homme, les zones fréquemment exposées aux UV sont souvent le siège d'un vieillissement cutané prématuré (héliodermie) qui a des caractéristiques particulières, distinctes de celui qui affecte des zones photo-protégées. Il faut noter que le photovieillissement et le vieillissement chronologique sont étroitement intriqués et ne peuvent être dissociés [55].

De nombreux facteurs (endogènes ou exogènes) autres que les UV influencent le vieillissement cutané. Le tabagisme, les modifications hormonales lors de la ménopause, la pollution atmosphérique, le vent et certains polluants chimiques peuvent entraîner un vieillissement prématuré. La peau devient alors rugueuse, ridée et irrégulièrement pigmentée. Elle perd de son élasticité [56]. La ménopause et le tabagisme seraient des facteurs aggravants du photovieillissement [55].

I.1.2.2.3.5.1. Manifestations cliniques du photovieillissement

Les manifestations cutanées liées au photovieillissement siègent sur les zones exposées au soleil et atteignent surtout le visage et le dos des mains (figure 27) [55].



Figure 27 : Rides, lentigos actiniques et kératoses séborrhéiques chez une patiente de 76 ans [57]

Les taches pigmentées, les rides et les télangiectasies sont les premières manifestations de l'exposition solaire chronique. La peau apparaît flasque et distendue : on parle alors d'élastose solaire. La peau devient épaisse, jaunâtre et plus sèche. Les rides se creusent et une pigmentation irrégulière apparaît. La peau peut présenter des taches hyperpigmentées (lentigos séniles) ou bien hypopigmentées (hypomélanose en gouttes). En cas d'exposition chronique, on observera des lésions précancéreuses, les kératoses actiniques [55].

Le photovieillissement cutané touche indifféremment les deux sexes et s'intensifie avec l'âge. Il est vraisemblable que le phototype du sujet influence le phénotype du vieillissement cutané. Ainsi, les lentigos solaires touchent-ils préférentiellement les phénotypes foncés [58]. Les phototypes clairs sont plus susceptibles de développer des rides ou des télangiectasies [59].

Un signe clinique particulier rencontré fréquemment est la nuque rhomboïdale (figure 28). Elle est souvent observée chez les agriculteurs et les jardiniers. La peau est épaissie et marquée par des rides profondes pouvant former des rhomboèdres [55].



Figure 28 : Exemple de nuque rhomboïdale [17]

I.1.2.2.3.5.2. Mécanismes du photovieillissement

La réduction du nombre de cellules de Langerhans observée au cours du vieillissement cutané est plus marquée au niveau des zones photo-exposées. Cette réduction avoisinerait les 50% et jouerait un rôle important dans la photocarcinogenèse et la diminution de l'immunosurveillance. De plus, les UV induisent des lésions de l'ADN, directement ou indirectement *via* la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO). Ces mutations photo-induites de l'ADN sont associées aux signes cliniques du photovieillissement [55].

Enfin, un déséquilibre entre production et élimination des ERO est observé au cours de la sénescence et pourrait être favorisé dans la peau par l'exposition solaire. Le stress oxydant peut induire des dommages de l'ADN, la dénaturation des protéines, la perte d'intégrité des membranes et une altération de la fonction mitochondriale. Les UV induisent une production cutanée d'ERO et diminuent l'activité des systèmes antioxydants [55].

Les vitamines A, C et E, le squalène et le coenzyme Q-10 sont des antioxydants produits par la peau, qui, du fait de leur nature électrophile, vont neutraliser les ERO. Ces antioxydants naturels vont disparaître avec l'âge et l'exposition aux UV [56].

Deux antioxydants sont particulièrement importants pour la protection de la peau : ce sont les vitamines E (α -tocophérol) et C (acide ascorbique) (figure 29).

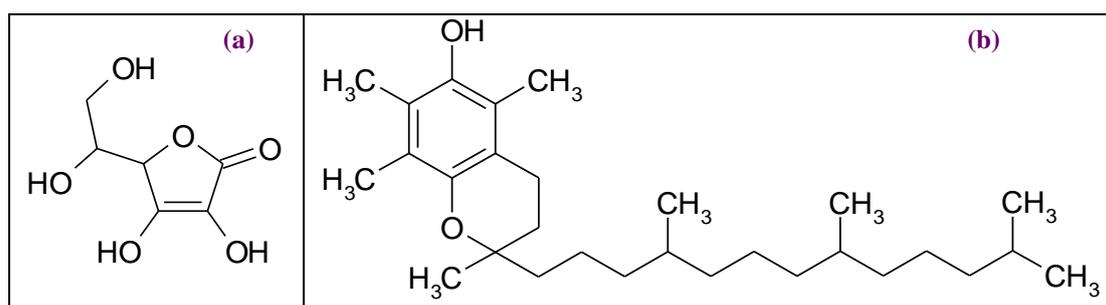


Figure 29 : Structure des vitamines C (a) et E (α -tocophérol) (b) [60]

La vitamine E est considérée comme l'agent antioxydant lipophile le plus important circulant dans le plasma. Elle a une action inhibitrice de la peroxydation des lipides.

La vitamine C est un agent antioxydant hydrophile qui a un fort potentiel réducteur. Cette vitamine semble avoir un potentiel antioxydant supérieur à celui de la vitamine E. De plus, dans la peau humaine, elle semble régénérer l' α -tocophérol à partir des radicaux tocophéroxy. Elle a une action synergique de celle de la vitamine E [61].

I.2. La photoprotection

I.2.1. Les différents modes de photoprotection

I.2.1.1. La photoprotection environnementale

L'ozone (O₃) est une molécule photoabsorbante présente dans la stratosphère (entre 15 et 50 km au-dessus de la surface du globe) et la troposphère (à moins de 15 km de la surface terrestre). Au niveau de la stratosphère, l'ozone absorbe la totalité des UVC, une grande quantité des UVB, mais peu d'UVA. La concentration en ozone dans la stratosphère varie naturellement selon la température, le climat, la latitude et l'altitude. Des températures plus basses favorisent la production d'ozone plutôt que son érosion [17]. Dans la troposphère, l'ozone est l'un des polluants les plus oxydants et c'est le composant majoritaire des « smogs » ou « brouillards urbains photo-induits » [61].

La pollution atmosphérique joue aussi un rôle important dans l'intensité des radiations ultraviolettes atteignant le sol. En particulier, les substances qui diminuent la couche d'ozone (comme les chlorofluorocarbones, utilisés comme gaz pulseurs des aérosols) constituent un véritable danger. Bien que les taux d'ozone stratosphérique varient de façon saisonnière, on constate que ceux-ci ont diminué de façon continue depuis les années 70, particulièrement dans l'Antarctique. Ces taux ne se sont stabilisés que récemment [62]. On estime qu'une diminution de 1% du taux d'ozone stratosphérique provoque une augmentation de 1 à 2% du taux de mortalité par mélanome [63].

Toutefois, dans la troposphère, l'ozone est un polluant particulièrement nocif. La production d'ozone est générée par l'irradiation des molécules d'oxyde d'azote (monoxyde et dioxyde d'azote) et les hydrocarbures de gaz d'échappement des véhicules automobiles. A haute concentration, l'ozone a un effet délétère sur l'homme, en affectant directement ses fonctions respiratoires. C'est probablement le composé le plus réactif auquel la peau est quotidiennement confrontée [61].

Un des effets majeurs de l'agression par l'ozone est la peroxydation des lipides membranaires. L'intégrité des lipides est essentielle pour le maintien de la fonction barrière cutanée. L'ozone réagit avec les acides gras pour former des radicaux libres et divers produits secondaires dont le malondialdéhyde dans l'épiderme [61].

L'exposition à l'ozone induit également diverses réactions secondaires, *via* entre autres les radicaux libres. Ainsi, un environnement pollué pro-oxydant favorise-t-il la formation de groupements carbonyles secondairement incorporés dans les acides aminés. L'ozone oxyde aussi les enzymes du *Stratum corneum*. Enfin, l'ozone engendre une déplétion en vitamines E et C [61].

Le brouillard, la brume, les nuages et les polluants atmosphériques peuvent réduire l'intensité des radiations ultraviolettes de 10 à 90 % [17]. De plus, la nature du sol joue aussi un rôle important. Ainsi, la neige et les métaux ont-ils un grand pouvoir de réflexion : ils sont susceptibles de réfléchir plus de 90% des radiations UV. Par exemple, le sable réfléchit 17% de ces radiations et l'herbe seulement 3%. De plus, les terrains cimentés, les terrasses blanches et les toits d'usines réfléchissent au moins 50% des radiations UV. L'eau de mer peut réfléchir plus de 15% d'ultraviolets, tandis que l'eau douce (l'eau de piscine par exemple) n'en réfléchit que 5%. De plus, les nageurs sont potentiellement exposés à un taux

important de radiations ultraviolettes, dans la mesure où les UV conservent leur nocivité jusqu'à une profondeur d'un mètre dans l'eau [17].

L'ombre, quant à elle, réduit l'intensité des radiations solaires de 50 à 95%. Toutefois, la protection apportée varie considérablement suivant le type d'ombre. Un parasol de plage offre une faible protection, tandis qu'un feuillage dense atténue presque totalement l'intensité des radiations [17].

I.2.1.2. La photoprotection vestimentaire

Au cours des deux dernières décennies, il a été reconnu que les textiles sont un des moyens les plus fiables pour se protéger des effets délétères du soleil. Néanmoins, certaines études ont montré que, contrairement à l'opinion admise, certains textiles n'apportent qu'une protection limitée vis-à-vis des UV. Il a été prouvé que la protection apportée par un T-shirt en coton de couleur claire est équivalente à un SPF de 10 [64]. Un tiers des vêtements d'été possèdent un SPF inférieur à 15. Un autre problème pour le grand public est que, même s'il existe au niveau mondial quantité de méthodes et de standards pour classer les textiles selon le niveau de protection apporté, les fabricants n'ont pas l'obligation légale de produire des vêtements photoprotecteurs.

Des tests menés sur la transmission ultraviolette à travers les tissus ont montré qu'un grand nombre de facteurs affectent cette transmission (tableau 6). Il y a, par exemple, par ordre décroissant d'effet, la porosité du tissu, sa nature (laine, coton, synthétique ...), sa couleur, sa densité et son épaisseur [17].

	Facteurs augmentant la protection	Facteurs diminuant la protection
<i>Mode de tissage</i>	Serré	Lâche
<i>Épaisseur du tissu</i>	Épais	Fin
<i>Nature du textile</i>	Denim (jean) Laine Synthétique	Coton Lin Acétate Rayonne
<i>Taux d'humidité</i>	Sec	Humide
<i>Lavage</i>	Rétrécissement après lavage	Lavage à l'eau
<i>Type de vêtements</i>	Ample	Moulant
<i>Couleur</i>	Sombre	Clair
<i>Traitement</i>	Avec un absorbeur UV à spectre large	Tissus non traités

Tableau 6 : Facteurs modifiant la protection des vêtements vis-à-vis des UV [17]

Pour bénéficier d'une protection optimale contre les radiations ultraviolettes, il est recommandé d'utiliser des vêtements spécialement traités pour protéger contre les UV, surtout lors d'activités au cours desquelles l'exposition est importante (randonnée, plage ...). Notons que depuis peu, certains fabricants de lessive songent à ajouter des filtres UV dans les poudres de lavage [65].

De nombreux résultats suggèrent que les vêtements les plus épais (jean, pull, chemise...) sont protecteurs, alors que les vêtements légers portés sur la plage offrent une

protection minimale. C'est un fait regrettable dans la mesure où c'est précisément sur la plage que l'exposition aux UV est la plus importante.

L'Australie est le premier pays à avoir introduit un standard permettant d'évaluer la protection solaire apportée par les vêtements [66]. Ce standard utilise la notion d'*Ultraviolet Protection Factor* (UPF) pour quantifier le niveau de protection UV offert par les vêtements. Cette notion permet aussi de classer les vêtements suivant leur catégorie de protection (tableau 7).

Catégorie de protection	UPF	% d'UV bloqués
<i>Excellente protection</i>	40, 45, 50, 50+	plus de 97,5
<i>Très bonne protection</i>	25, 30, 35	de 95,9 à 97,4
<i>Bonne protection</i>	15, 20	de 93,3 à 95,8

Tableau 7 : Catégories de protection des vêtements selon leurs UPF [65]

L'UPF d'un matériau peut être déterminé en plaçant ce dernier sous une lampe UV et en mesurant la quantité d'UV transmise au travers du tissu. A partir du taux d'UV transmis, il est possible de calculer l'UPF. L'*Australian Radiation Protection and Nuclear Safety Agency* (ARPANSA) propose de mesurer l'UPF et peut fournir des logos à apposer afin de renseigner le consommateur sur le niveau de protection apportée par les vêtements (figure 30).



Figure 30 : Logo proposé par l'ARPANSA pour indiquer l'UPF d'un vêtement

Dans un souci de prévention des cancers cutanés, l'Union Européenne a décidé de mettre en place une norme sur les vêtements offrant une protection solaire [67]. La première étape du développement de cette norme a été de concevoir un test unique et standardisé de mesure de protection vis-à-vis du rayonnement solaire. A partir de cette technique de mesure (décrite dans le standard européen), le critère choisi pour une protection minimale, a été le suivant : tout vêtement de protection solaire ne doit pas transmettre plus de 5% des rayonnements UVB à travers ses fibres, quel que soit l'état du textile (mouillé, étiré, etc..). Cette recommandation correspond au facteur de protection solaire 40. Il est désormais demandé à l'industrie textile de suivre cette norme EN-13758-2 pour la production de vêtements présentés comme assurant une protection solaire.

En France, différentes sociétés proposent des vêtements spécialement conçus pour être photoprotecteurs. On peut citer par exemple la société Mayo Parasol[®] qui propose une gamme de maillots de bains et de vêtements de plage pour enfants spécialement conçue pour la protection solaire, grâce à un tissu composé à 80% de polyamide et à 20% d'élasthanne. Citons aussi la marque Decathlon[®] qui propose différents vêtements (combinaisons, maillots, tee-shirts ...) apportant une protection vis-à-vis des radiations UV.

I.2.1.3. La photoprotection topique

I.2.1.3.1. Intérêt des produits solaires

Plusieurs études font état d'une réduction du nombre de kératoses actiniques et de carcinomes spino-cellulaires chez les utilisateurs réguliers de produits de protection solaire. Toutefois, l'emploi de tels produits semble être sans effets sur le développement des carcinomes baso-cellulaires [68, 69]. Une étude récente [70] a montré que l'utilisation de produits solaires permet d'atténuer la formation de nævus sur les parties du corps exposées au soleil, particulièrement chez les enfants porteurs d'éphélides. De plus, il a été prouvé que l'utilisation de produits de protection solaire permettait de prévenir les effets aigus de l'exposition aux UV (comme les coups de soleil, l'immunosuppression, l'altération de l'ADN cutané...) et les effets chroniques comme le photovieillessement [71]. Toutefois, une analyse systématique récente n'a pas pu prouver que les produits solaires permettaient de prévenir l'apparition du mélanome [72].

I.2.1.3.2. Les ingrédients actifs

I.2.1.3.2.1. Rappels réglementaires

Les ingrédients actifs utilisés pour la fabrication des produits solaires diffèrent considérablement à travers le monde. Selon la réglementation en vigueur, la liste des filtres UV pouvant entrer dans la composition des produits solaires sera différente. En Europe, la Directive 76/768/CE modifiée [73] établit une liste de 26 filtres que peuvent contenir les produits de protection solaire et fixe les concentrations maximales autorisées et les conditions d'emploi pour chacun d'entre eux. Dans l'Union Européenne, les produits solaires sont considérés comme des produits cosmétiques.

En termes de réglementation au niveau international, des différences existent suivant les continents (tableaux 8 et 9). Elles portent sur le type, le nombre de filtres autorisés, les concentrations maximales autorisées et le statut des produits les contenant. Aux Etats-Unis, les produits solaires sont considérés par la FDA comme des médicaments *Over The Counter* (OTC), c'est-à-dire des médicaments en vente libre. Il y a 16 substances répertoriées dans la dernière monographie éditée par la FDA [17]. Depuis 1978, la FDA a autorisé seulement l'addition de l'avobenzone, de l'oxyde de zinc et de l'ecamsule (un dérivé du camphre, le Mexoryl SX[®] breveté par L'Oréal[®], autorisé en 2006). Cela peut s'expliquer par le fait que les autorités européennes considèrent les produits solaires comme des produits cosmétiques, pour lesquels le processus d'acceptation est plus rapide. Vingt-huit filtres sont approuvés par la législation australienne, et 4 sont en cours de validation.

Filtres	Synonymes et abréviations	Concentration maximale	Autorisé en
<i>Dérivés du PABA</i>			
4-Aminobenzoic Acid	PABA	5% ¹ , 15% ³	EU, Aus
Padimate O	2-Ethylhexyl 4-diméthylaminobenzoate, octyldiméthyl PABA	8%	UE, EU, Aus
Ethoxylated ethyl 4-benzoic acid	PEG-PABA	10%	UE, Aus
2,4,6-Trianiino-(p-carbo-2'-ethylhexyl-1'-oxy)-1,3,5-triazine	Octyl triazone, ethylhexyl triazone	5%	UE, Aus
<i>Cinnamates</i>			
Ethylhexyl methoxycinnamate	Octyl methoxycinnamate, OMC	7,5% ² -10% ^{1,3}	UE, EU, Aus
Cinoxate	2-Ethoxyethyl p-methoxycinnamate	3% ¹ -6% ³	EU, Aus
Isopentenyl-4-methoxycinnamate	Isoamyl 4-methoxycinnamate, IMC,	10%	UE, Aus
<i>Salicylates</i>			
2-Ethylhexyl salicylate	Octyl salicylate, Octisalate	5%	UE, EU, Aus
Homosalate	Homomenthyl salicylate, HMS	10% ¹ -15% ^{2,3}	UE, EU, Aus
Trolamine salicylate	Triethanolamine salicylate	12%	EU, Aus
<i>Dérivés du camphre</i>			
Benzylidene camphor sulfonic acid	BCSA	6%	UE
Polymer of N-[(2 and 4)-(2-oxoborn-3-ylidene) methyl] benzyl] acrylamide	Polyacrylamidométhyl benzylidène camphor, PCB	6%	UE
N,N,N-Triméthyl-4-(2-oxoborn-3-ylideneméthyl) anilinium méthyl sulphate	Camphor benzylkonium méthosulfate, CBM	6%	UE, Aus
3-(4'-Méthylbenzylidène)-d-1 camphor	4-Méthylbenzylidène camphor, MBC	4%	UE, Aus
3-Benzylidène camphor	3-Benzylidène camphor, BC,	2%	UE
<i>Autres</i>			
2-cyano-3,3-diphényl acrylic acid	2-ethyl hexyl ester, octocrylene, 2-ethylhexyl-2-cyano-3,3 diphénylacrylate	10%	UE, EU, Aus
2-Phénylbenzimidazole-5-sulfonic acid and ist potassium, sodium and triethanolamine salts	Phénylbenzimidazole sulfonic acid, PBSA, ensulizole	4% ^{2,3} -8% ¹	UE, EU, Aus
¹ : Filtres UV autorisés par la directive du conseil de l'UE [73], ² : Filtres UV autorisés listés dans la monographie de la FDA [74], ³ : Filtres UV autorisés listés dans l'ARGOM par la « Therapeutic Goods Administration » [75].			

Tableau 8 : Filtres UVB autorisés en Australie (Aus) [75], dans l'Union Européenne (UE) [73] et aux Etats-Unis (EU, monographie de la FDA [74])

Filtres	Synonymes et abréviations	Concentration maximale	Autorisé en
Filtres UVA			
<i>Benzophénones</i>			
Benzophenone-3	Oxybenzone, Bp-3	6% ² -10% ^{1,3}	UE, EU, Aus
2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone-5-sulfonic acid	Sulisobenzone, Bp-4	5% ¹ -10% ^{2,3}	UE, EU, Aus
2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone-5-sulfonic sodium salt	Benzophenone-5, Bp-5, Sulisobenzone sodium	5% ¹ -10% ^{2,3}	UE, EU, Aus
Dioxybenzone	Benzophenone-8, Bp-8	3%	EU, Aus
<i>Autres</i>			
Methyl anthranilate	Methyl-2-aminobenzoate, meradimate	5%	EU, Aus
1-(4-tert-butylphenyl)-3(4-methoxyphenyl)propane-1,3-dione	Butyl methoxy dibenzoylméthane, avobenzone, BMDBM	3% ² -5% ^{1,3}	UE, EU, Aus
2,2'-Methylene-bis-6-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-(teramethylbutyl)-1,1,3,3-phenol	Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol, MBBT	10%	UE, Aus
Phenol,2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-methyl-6[2-methyl-3[1,3,3,3-tetramethyl-1-[(trimethylsilyl)oxy]disiloxanyl]propyl	Drometrizole trisiloxane, DTS	15%	UE, Aus
2,2'-(1,4-Phenylene)bis-(1-H-benzimidazole-4,6-disulfonic acid, monosodium salt	Disodium phenyl dibenzimidazole tetrasulfonate, bisimidazylate, DPDT	10%	UE, Aus
Terephthalylidene dicamphor sulfonic acid	Ecamsule, TDSA	10%	UE, EU, Aus
4,4-((6-(((1,1-dimethylethyl)amino)carbonyl)phenyl)amino)-1,3,5-triazine-2,4-diyl)diimino)bis-,bis(2-ethylhexyl)ester)	Diethylhexyl butamido triazone, DBT, Uvasorb HEB	10%	UE
Dimethico-diethylbenzalmalonate	DDBM	10%	UE, Aus
(1,3,5)-Triazine-2,4-bis((4-(2-ethylhexyloxy)-2-hydroxy)-phenyl)-6-(4methoxyphenyl)	Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenol triazine, bemotrizinol, BEMT	10%	UE, Aus
Filtres inorganiques			
Dioxyde de titane		25%	UE, EU, Aus
Oxyde de zinc		25% ² -Pas de limite ³	UE, EU, Aus
¹ : Filtres UV autorisés par la directive du conseil de l'UE [73], ² : Filtres UV autorisés listés dans la monographie de la FDA [74], ³ : Filtres UV autorisés listés dans l'ARGOM par la « Therapeutic Goods Administration » [75].			

Tableau 9 : Filtres UVA et inorganiques autorisés en Australie (Aus) [75], dans l'Union Européenne (UE) [74] et aux Etats-Unis (EU, monographie de la FDA [73])

Parmi les 26 filtres autorisés par l'Union Européenne, certains sont peu utilisés.

I.2.1.3.2.2. Mécanismes d'action des filtres UV

I.2.1.3.2.2.1. Les filtres inorganiques

Les filtres inorganiques réfléchissent et dispersent les radiations UV et visible par la formation sur la peau d'un film de particules métalliques inertes, ce qui constitue une barrière opaque. Selon la taille des particules, ils protègent contre les radiations UV par réflexion ou absorption. Ils sont photostables et inertes vis-à-vis des filtres organiques. Les filtres inorganiques semblent pouvoir prévenir des maladies liées à la photosensibilité induite par la lumière visible [76]. Ils ne semblent pas susceptibles de provoquer de réactions de sensibilisation.

Historiquement, l'un des principaux problèmes liés à leur utilisation vient de leur caractère opaque et occlusif. Ainsi, les produits de protection solaire contenant ces filtres ont-ils longtemps été considérés comme esthétiquement inacceptables, puisqu'ils laissent des traces blanches sur la peau en raison de la réflexion de la lumière visible. A l'heure actuelle, la pharmacotechnie moderne avec la micronisation et l'encapsulation a permis le développement de filtres inorganiques de meilleure qualité. La réduction de la taille des particules jusqu'à 50 voire 10 nm permet de diminuer la dispersion de la lumière visible, et donc d'obtenir un produit plus acceptable sur un plan esthétique. Le dioxyde de titane (TiO₂) et l'oxyde de zinc (ZnO) micronisés sont hautement photoprotecteurs et offrent une bonne protection contre l'immunosuppression induite par les UVB chez l'homme [77]. Ces deux filtres peuvent subir des réactions photochimiques qui peuvent compromettre leur efficacité, provoquer des dégâts sur l'ADN ou l'ARN, ou altérer l'homéostasie cellulaire. Un revêtement à base d'oxyde de silicium (SiO₂) ou de diméthicone permet de stabiliser les particules micronisées [6].

Le dioxyde de titane et l'oxyde de zinc sont dépourvus de propriétés irritantes chez l'homme. La pénétration de ces agents dans la peau a fait l'objet de discussions, mais aucune étude *in vivo* ou *in vitro* n'a pour l'instant montré de phénomène de pénétration transdermique du dioxyde de titane. L'oxyde de zinc pénètre de façon limitée dans la peau, du fait de sa faible solubilité [78]. Une simple douche est suffisante pour éliminer le dioxyde de titane micronisé de la surface cutanée.

Il semblerait que le dioxyde de titane soit plus efficace dans le domaine UVB que l'oxyde de zinc. A contrario, l'oxyde de zinc présenterait une meilleure efficacité dans le domaine de la protection vis-à-vis des UVA [79]. La réduction de la taille des particules peut aboutir à un phénomène d'agglomération des particules entre elles ce qui engendre une perte d'efficacité. Afin d'éviter cela, il est utile de réaliser l'enrobage des particules minérales afin de diminuer leur agrégation. Une bonne dispersion du filtre dans l'excipient est indispensable et pour ce faire, la recherche de l'enrobage le plus adéquat est une voie de développement intéressant pour le formulateur.

Les filtres inorganiques ont donc de nombreux avantages, surtout sous forme micronisée. Ils sont plus stables que les filtres organiques et ont un spectre de protection plus large. Ils ne sont pas photosensibilisants et seraient peu toxiques [80].

I.2.1.3.2.2.2. Les filtres organiques

I.2.1.3.2.2.2.1. Définition

Les filtres organiques sont des ingrédients actifs car capables d'absorber les radiations UV. Les radiations UV activent les électrons de la molécule qui passe d'un état fondamental à un état excité. Lors du retour à un état stable, il y a émission d'énergie sous forme d'une faible quantité de chaleur ou de radiations fluorescentes. Pour être efficace, le filtre doit être photochimiquement stable, se dissoudre ou se disperser aisément dans l'excipient et doit rester à la surface de la peau lors d'un contact avec l'eau (transpiration ou nage par exemple). Enfin, les filtres ne doivent pas être toxiques, ni causer d'irritation ou d'allergie de contact.

Un filtre est défini par sa longueur d'onde maximale d'absorption (notée λ_{\max}) et son coefficient d'absorption molaire (à la longueur d'onde maximale d'absorption, noté ϵ).

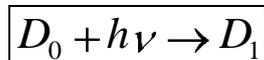
I.2.1.3.2.2.2.2. Mécanisme d'action

Les filtres sont des composés chimiques qui agissent par absorption du rayonnement ultraviolet car leurs molécules présentent une alternance de simples et de doubles liaisons, soit dans un cycle aromatique, soit en configuration aliphatique. En général, leur structure chimique consiste en un composé aromatique avec deux groupements fonctionnels, l'un donneur et l'autre accepteur d'électrons [80].

Néanmoins, une petite portion des radiations UV incidentes pénètre tout de même dans l'épiderme. En effet, aucun filtre ne peut bloquer la totalité des rayons ultraviolets. Ces molécules ne possèdent pas de propriétés d'absorption dans la visible. En conséquence, les filtres organiques sont généralement incolores et forment un film mince et invisible sur la peau, ce qui est acceptable d'un point de vue cosmétique [81].

Chaque filtre protège dans une plage donnée de longueurs d'onde. De ce fait, pour avoir une protection large, il faut associer plusieurs filtres UV [9].

Lorsque la molécule de filtre reçoit une radiation ultraviolette, elle passe de son état fondamental (D_0) à un état excité (D_1). L'équation d'absorption d'énergie par une molécule est :



avec :

- D_0 , molécule à l'état initial
- D_1 , molécule à l'état excitée
- h , constante de Planck
- ν , fréquence de la radiation.

La molécule de filtre revient ensuite à son état stable (ou à un autre état, comme nous le verrons par la suite) par une relaxation en dissipant l'énergie reçue sous forme de vibrations ou/et en réémettant une radiation moins dangereuse pour la peau (infrarouge par exemple). Une fois revenue à son état initial, la molécule est de nouveau apte à continuer le cycle de

protection (figure 31). Les filtres organiques agissent de la même façon que la mélanine, filtre naturel de la peau.

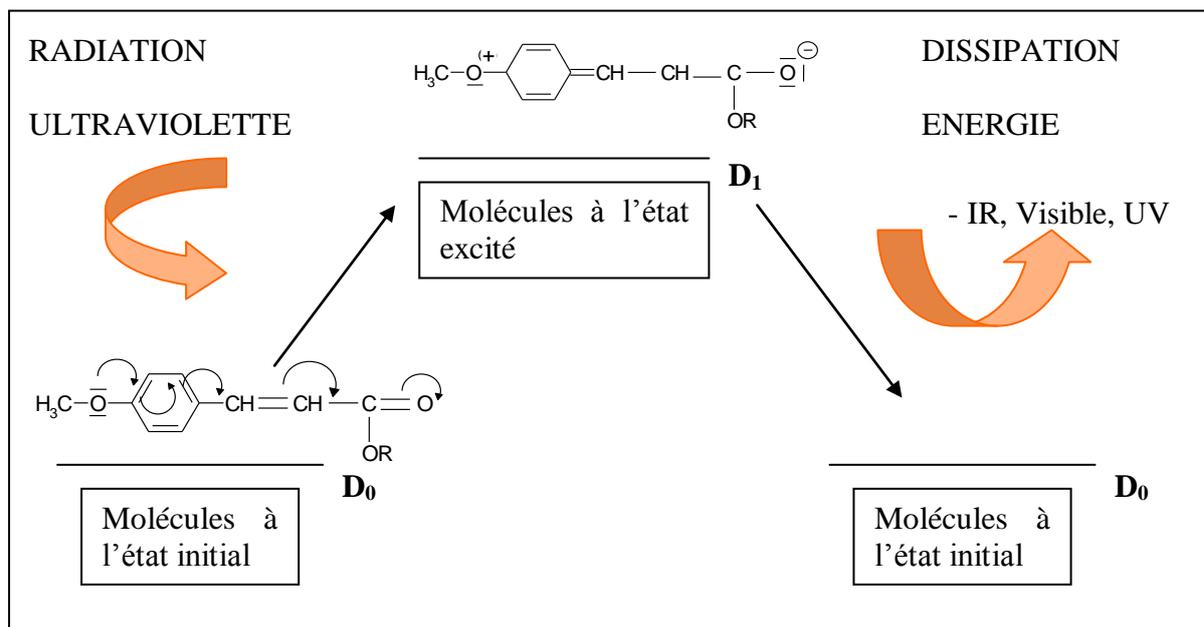


Figure 31 : Schéma du mécanisme d'action des filtres organiques [82]

Il faut noter que bien que le retour de l'état excité à l'état initial avec dégagement d'énergie calorifique soit la réponse la plus fréquente avec les filtres organiques, les molécules excitées ont d'autres possibilités [9] :

- émission d'une lumière fluorescente. Cela correspond à l'émission d'un photon d'une longueur d'onde supérieure à celle du rayon incident. Ce phénomène, relativement peu fréquent, est gênant d'un point de vue cosmétique. L'antranilate de menthyle, par exemple, est un filtre qui peut donner ce type de réponse ;

- photoionisation : c'est un phénomène rare, qui nécessite un accepteur d'électron et une très forte énergie ;

- transfert d'état : après une irradiation par des UV, la molécule excitée à l'état D_1 est dans un état « singulet » (spins non parallèles). Elle passe dans ce cas en un état plus stable, ou métastable, dans un état « triplet » D_3 . Lorsqu'elle est dans cet état triplet, elle retourne à l'état initial D_0 soit par un autre type de transfert d'état, soit par phosphorescence.

Une molécule dans un état triplet peut initier différentes réactions photo-sensitives, du fait de son irradiation. Deux cas peuvent se présenter :

Un radical M^\bullet peut se former, comme le montre la figure 32.

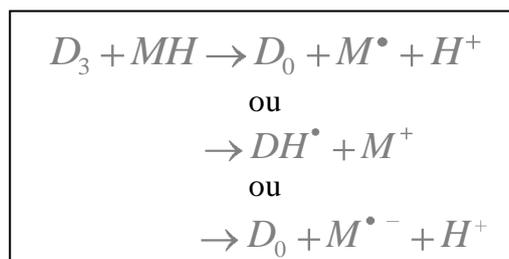


Figure 32 : Réactions d'une molécule dans un état triplet D_3 avec une espèce hydrogénée

Après ces réactions, les radicaux formés M^\bullet et $M^{\bullet -}$ peuvent réagir avec leur environnement, c'est-à-dire avec les molécules présentes au niveau cutané. De plus, M^\bullet peut se recombinaison, se dimériser, réagir avec des antioxydants de la peau, ou finalement former un peroxyde s'il rencontre de l'oxygène, les peroxydes étant des espèces très réactives, potentiellement dangereuses (figure 33).

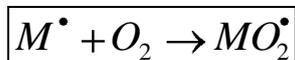


Figure 33 : Formation d'un peroxyde par réaction d'un radical avec de l'oxygène

Un oxygène singulet peut aussi se former. Dans ce cas, une molécule d'oxygène subira un transfert d'état : elle va passer de l'état triplet (O_2^3) à un état singulet (O_2^1). La réaction est présentée à la figure 34.

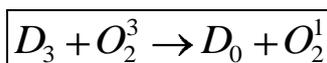


Figure 34 : Formation d'un oxygène singulet

L'espèce O_2^1 a une très faible durée de vie, de l'ordre de 10^{-5} à 10^{-6} s. Cependant, la distance parcourue par cet oxygène singulet peut être relativement grande, tout dépend de la présence de capteurs potentiels. Nul ne peut vraiment prévoir le devenir d'une structure chimique rencontrant un oxygène à l'état singulet. Toutefois, il est bien connu que cette espèce joue un rôle dans les mécanismes de l'immunosuppression et de la photocarcinogénèse. L'oxygène singulet réagit avec tout type cellulaire et notamment les cellules cutanées.

I.2.1.3.2.2.2.3. Les différentes familles de filtres organiques

Il existe trois types de filtres UV : les filtres UVB, les filtres UVA et les filtres à large spectre.

I.2.1.3.2.2.2.3.1. Les filtres UVB

Ces composés absorbant seulement les rayons UVB sont notamment les dérivés de l'acide para-aminobenzoïque (PABA), les cinnamates et les salicylates.

I.2.1.3.2.2.2.3.1.1. Les dérivés de l'acide para-amino benzoïque

Les esters de l'acide para-aminobenzoïque ou PABA sont l'amil-p-diméthylamino-benzoate (Padimate A), l'octyle diméthyle PABA (Padimate O) et le PEG-25-PABA. La formule générale des dérivés de PABA est présentée figure 35.

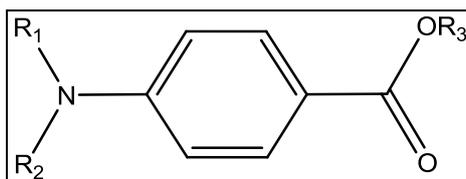


Figure 35 : Formule générale des dérivés du PABA, avec R_1 , R_2 et $R_3 = H$ dans le cas du PABA

Les dérivés du PABA sont connus pour être phototoxiques et photoallergisants [78].

Le PABA ($\lambda_{\max} = 290 \text{ nm}$, $\epsilon = 18\,255 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$), l'un des premiers filtres organiques à avoir été synthétisé, fut breveté en 1943 [9]. Il a l'avantage d'être résistant à l'eau. Néanmoins, le niveau d'absorption de ce filtre varie avec le pH du milieu.

L'un des autres inconvénients de cet ingrédient est qu'il tache les vêtements. Son utilisation était de moins en moins fréquente ces dernières années en raison de son caractère hautement allergisant. Le PABA est reconnu comme susceptible de provoquer des allergies de photocontact, et des maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux. De surcroît, il a été rapporté que la décomposition du PABA pouvait aboutir à la formation de nitrosamine, une molécule impliquée dans le processus de carcinogenèse [80]. De plus, ce filtre peut provoquer une réaction croisée avec les sulfamides, les anesthésiques locaux, les diurétiques thiazidiques, la saccharine, le cyclamate de sodium et certaines teintures [81].

Il a été interdit en Europe en décembre 2008.

L'octyldiméthyl PABA, ou Padimate O ($\lambda_{\max} = 312 \text{ nm}$, $\epsilon = 29211 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ [84], tableau 10), est un filtre UVB liposoluble efficace et relativement sûr [9]. Sa structure chimique est présentée figure 36.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
4-diméthyl-amino-benzoate de 2-éthylhexyle	Octyldimethyl PABA	Escalol 507 [®] Eusolex 6007 [®] Uvasorb DMO [®]
4-bis-polyéthoxy aminobenzoate d'éthyle	PEG-25 PABA	Unipabol U-17 [®] Uvinul P-25 [®]

Tableau 10 : Les différentes dénominations des dérivés du PABA

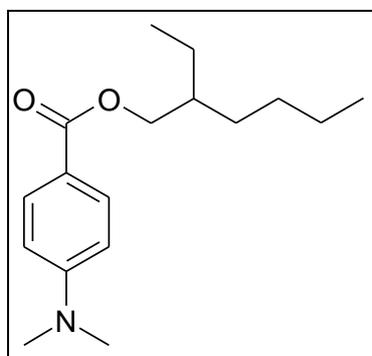


Figure 36 : Formule semi-développée du Padimate O [84]

Le Padimate O possède un coefficient d'absorption élevé et une bonne stabilité thermique. Il est relativement bien toléré. De plus, il est substantif, c'est-à-dire qu'il se fixe fortement sur la peau. Il est peu utilisé dans les pays européens mais très employé aux Etats-Unis. Sa concentration maximale d'emploi est de 8% [10].

Ce composé est relativement stable vis-à-vis des UVB, mais se décompose rapidement lorsqu'il est irradié dans le domaine UVA. La photodégradation de cette molécule conduit à un état excité très polaire [85].

Lors de la dégradation de ce dérivé de PABA, on retrouve, en faible quantité, du 2-éthylhexyl 4-méthylaminobenzoate (issu de la perte d'un groupe carbonyle) et du 4-formylméthylamino-benzoate (issu de l'oxydation de la fonction amine) (figure 37).

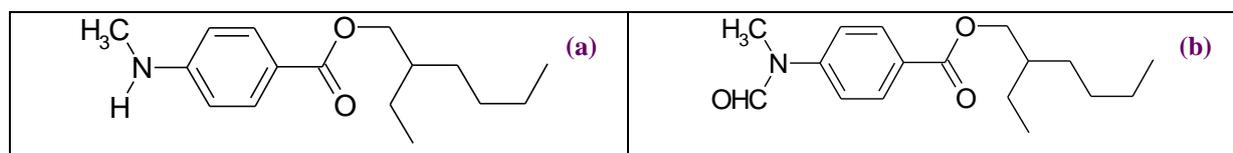


Figure 37 : Structure chimique du 2-éthylhexyl 4-méthylaminobenzoate (a) et du 4-formylméthylamino benzoate (b)

De plus, l'irradiation en milieu apolaire (type cyclohexane) pendant 100 heures donne naissance à différents sous-produits. Ce sont des esters éthylhexyle d'acide *p*-aminobenzoïque, d'acide *p*-monométhylaminobenzoïque et d'acide *p*-diméthylamino-(*o/m*)-méthylbenzoïque [86].

Le PEG-25 PABA ($\lambda_{\max} = 307 \text{ nm}$, $\epsilon = 23\,882 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ [84], tableau 10) est un dérivé éthoxylé hydrosoluble, dont la concentration maximale d'emploi est de 10% (figure 38).

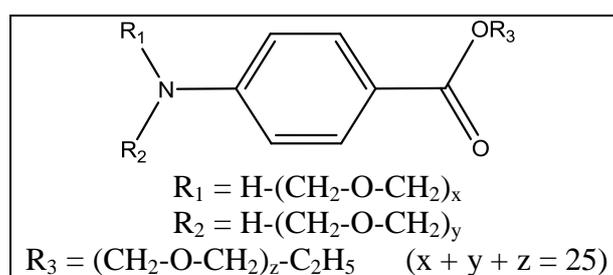


Figure 38 : Structure chimique du PEG-25 PABA [84]

Il a été établi que le PEG-25 PABA n'était ni allergisant, ni toxique [9]. Toutefois, il est capable de pénétrer faiblement à travers la peau. Une étude a ainsi montré qu'une partie du PEG-25 PABA appliqué sur la peau se retrouve en faible quantité dans les urines. Pour 20,5 g d'une crème contenant 8 % (m/m) de PEG-25 PABA appliqué sur la peau d'un homme âgé de 25 ans, la concentration maximale de ce filtre détectée dans les urines est de $210 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$. Au bout de 60 à 90 heures après application de la crème, on retrouve dans les urines 0,015 % du PEG-25 PABA appliqué. L'organisme a alors éliminé la quasi-totalité du filtre [87].

Notons que le PEG-25 PABA peut contenir des traces de 1,4-dioxane, un sous-produit de l'éthoxylation. Toutefois, la présence potentielle de ce sous-produit toxique est bien connue et il peut être éliminé facilement par purification lors de la production [88].

I.2.1.3.2.2.3.1.2. Les cinnamates

Les dérivés de l'acide cinnamique (les cinnamates) sont très utilisés en Europe et aux Etats-Unis. Ce sont des esters dont deux seulement sont autorisés par la législation européenne : l'octyle et l'isoamyle 4-méthoxycinnamate. Ils sont dotés d'un spectre d'action étroit mais absorbent d'une façon intense à 308 nm. De plus, leur coefficient d'absorption est élevé. Ils sont relativement bien tolérés, mais on voit actuellement une augmentation du nombre d'allergies du fait de l'utilisation très fréquente de ces filtres. Leur concentration maximale d'emploi est de 10 % [10]. Ils ont toutefois une faible substantivité. Les cinnamates sont rarement associés à des effets indésirables, mise à part une sensibilité croisée potentielle

avec des molécules de la même famille présentes dans l'huile essentielle de cannelle ou le baume du Pérou. Les différents dérivés cinnamiques autorisés en Europe sont présentés dans le tableau 11.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
4-méthoxycinnamate de 2-éthylhexyle	Ethylhexyl methoxycinnamate	Escalol 557 [®] Eusolex 2292 [®] NeoHeliopan AV [®] Parsol MCX [®] Uvinul MC 80 [®]
p-méthoxy cinnamate d'isopentyle	Isoamyl p-methoxycinnamate	NeoHeliopan E1000

Tableau 11 : Les différentes dénominations des cinnamates

I.2.1.3.2.2.2.3.1.2.1. L'octyle méthoxycinnamate (OMC)

L'OMC ($\lambda_{\max} = 310 \text{ nm}$, $\varepsilon = 26\,250 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) est un filtre pratiquement inodore, incolore, limpide et huileux. Il est liposoluble et constitue un très bon solvant pour l'avobenzone (filtre UVA). De plus, cette molécule est très stable, et compatible avec la plupart des matières premières employées en cosmétique (figure 39).

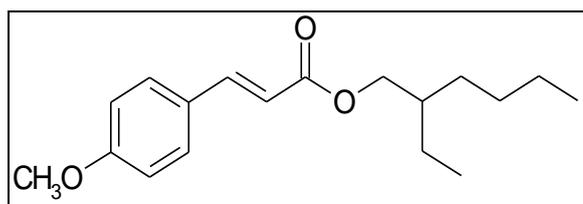


Figure 39 : Structure chimique du trans-OMC ou octinoxate [89]

C'est un filtre moins efficace que le Padimate O. C'est, à l'heure actuelle, le filtre UVB le plus largement employé aux Etats-Unis [9] et dans le reste du monde. C'est aussi logiquement l'agent le plus étudié. En revanche, ce composé n'est pas très photostable : il se dégrade rapidement en un photoproduit lorsqu'il est exposé à la lumière. Il se modifie lentement après une irradiation aux UVB, et un peu plus rapidement après une exposition additionnelle aux UVA [85]. Ce photoproduit est un isomère, le *cis*-OMC, qui absorbe moins efficacement les radiations UV que le *trans*-OMC. Ainsi, l'isomérisation photo-induite de ce filtre entraîne-t-elle une diminution de l'efficacité de l'absorption des rayonnements UV [89]. Néanmoins, il faut préciser que la diminution d'efficacité correspondant à cette isomérisation est relativement faible, comparée à celle d'autres filtres UVB. De plus, cette photoisomérisation est théoriquement réversible [90].

Cette photoisomérisation est présentée figure 40.

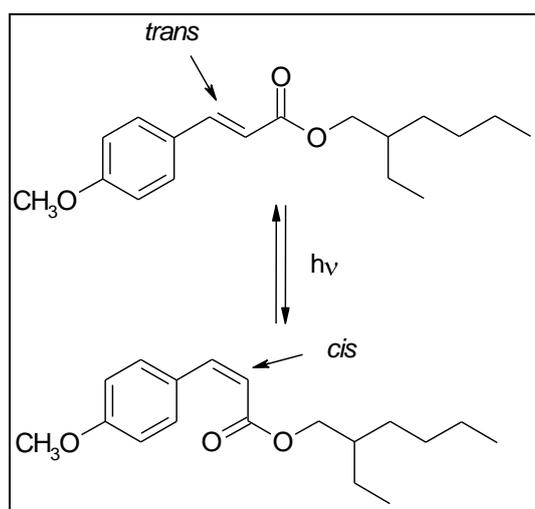


Figure 40 : Photoisomérisation cis-trans de l'octinoxate [89]

Un autre mécanisme de photodégradation de l'OMC se produit lorsque cette molécule est exposée à des radiations de longueurs d'onde supérieures à 300 nm. Dans ce cas, l'OMC subit une auto-dimérisation par une réaction de cycloaddition [2 + 2] sur la double liaison éthylénique [91]. En fait, deux molécules d'OMC réagissent l'une avec l'autre au niveau de la liaison éthylénique, pour former du cyclobutane, dimère de l'OMC. Néanmoins, même après une irradiation longue et intense, la quantité de dimères produits est faible. Cette étude a été réalisée par chromatographie en fluide supercritique, combinée à des techniques de détection par ionisation de flamme et par spectrométrie de masse. Les dimères produits lors de la photodégradation de l'OMC auront donc très peu d'impact sur la santé humaine.

Afin d'augmenter sa photostabilité, ce filtre est fréquemment utilisé en combinaison avec d'autres filtres organiques. Parmi les combinaisons utilisées, on peut citer :

- OMC, benzophénone-3 et octocrylène ;
- OMC, avobenzène et octocrylène ;
- OMC, benzophénone-3 et octyle salicylate [92].

De plus, de nombreuses études ont été menées pour améliorer la photostabilité de ce cinnamate. Ainsi, P. Perugini et son équipe ont-ils encapsulé de l'OMC dans des nanoparticules de poly-D,L-lactide-co-glycolide (PLGA), et ont étudié sa photodégradation par HPLC. Ils ont ainsi montré que, pour l'OMC seul, 52,3 % de l'agent se dégradait lors de l'irradiation (énergie correspondante : 20 DEM), contre seulement 38,3% du produit en cas d'encapsulation [89].

D'autres études ont été réalisées avec des esters glycériques de l'acide p-méthoxycinnamique. Ces esters sont censés accroître la substantivité et diminuer les effets indésirables des filtres organiques de cette classe. Ces esters glycériques sont plus stables vis-à-vis de l'hydrolyse des enzymes (les lipases notamment) présentes dans le *Stratum corneum*. Il a ainsi été démontré que 2 de ces esters (le 1,3-Dipalmitoyl-2-p-methoxycinnamoyl-1,2,3-propanetriol et le 1,3-Dioctanoyl-2-p-methoxycinnamoyl-1,2,3-propanetriol) ont le même maximum d'absorption [93] ainsi que la même efficacité (mesuré *in vivo*) que l'OMC [94]. De plus, ces esters ne sont pas phototoxiques [95]. Enfin, le 1,3-dipalmitoyl-2-p-methoxycinnamoyl-1,2,3-propanetriol est hydrolysé 2,8 fois moins vite par une lipase

présente dans le *Stratum corneum* que l'octinoxate [93]. Cet ester pourrait donc présenter une meilleure substantivité que l'OMC, et donc apporter une meilleure photoprotection.

L'OMC est reconnu comme étant très sûr d'emploi, c'est-à-dire qu'il ne provoque pratiquement pas de réactions allergiques, photoallergiques, ou d'effets phototoxiques [96]. Ce filtre présente une pénétration transcutanée très faible, *in vitro* ce qui limite sa toxicité systémique [97].

I.2.1.3.2.2.2.3.1.2.2. Le p-méthoxycinnamate d'isopentyle

L'isoamyl p-méthoxycinnamate ou cinoxate ($\lambda_{\max} = 310 \text{ nm}$, $\epsilon = 27\,679 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) est un filtre peu utilisé (figure 41).

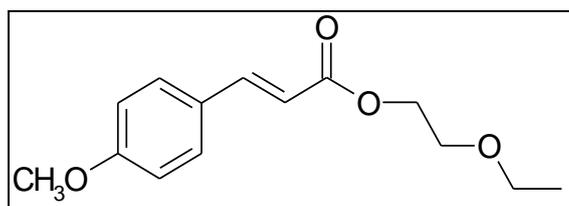


Figure 41 : Structure chimique du cinoxate

I.2.1.3.2.2.2.3.1.3. Les salicylates

Les dérivés de l'acide salicylique (les salicylates) sont des filtres UVB peu efficaces, avec un coefficient d'absorption très faible. Ils doivent donc être utilisés à forte concentration (8% minimum) pour obtenir une protection moyenne. Notons que ces ingrédients sont presque abandonnés à l'heure actuelle.

Quand ils sont utilisés, c'est essentiellement pour augmenter l'efficacité des autres filtres UVB. Les dérivés autorisés par la législation européenne sont l'homosalate (HMS, $\lambda_{\max} = 306 \text{ nm}$) et l'octyl salicylate (OS, $\lambda_{\max} = 306 \text{ nm}$, $\epsilon = 5\,607 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Un troisième dérivé de l'acide salicylique est autorisé par la FDA, mais il ne figure pas dans la liste des filtres autorisés en Europe : c'est le salicylate de trolamine (ou salicylate de triéthanolamine - TEA-). Ces différents salicylates sont présentés dans le tableau 12.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
Salicylate de 2-éthylhexyle	Homosalate	Eusolex HMS® NeoHeliopan HMS®
2-éthylhexyle-2-hydroxybenzoate	Ethylhexyl salicylate	Escalol 587® NeoHeliopan OS® Eusolex OS®
Salicylate de triéthanolamine	Trolamine salicylate	

Tableau 12 : Les différentes dénominations de l'homosalate et de l'octyl salicylate

I.2.1.3.2.2.3.1.3.1. L'homosalate et l'octylsalicylate

Ces deux filtres liposolubles sont communément utilisés pour limiter la photodégradation d'autres filtres comme l'oxybenzone ou l'avobenzène [9]. La structure chimique des deux dérivés d'acide salicylique autorisés en Europe est présentée sur la figure 42 [98].

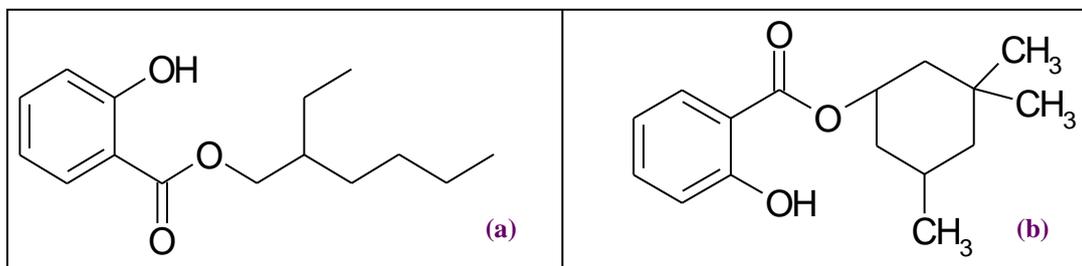


Figure 42 : Structure chimique de l'octylsalicylate (a) et de l'homosalate (b) [98]

Le salicylate d'homomenthyle, bien que peu utilisé, demeure cependant le filtre de référence pour le calcul des indices de protection préconisé par la FDA. Sa concentration maximale d'emploi est de 10 %. L'octyle salicylate, de concentration maximale d'emploi de 5 %, n'est pas plus employé [10].

I.2.1.3.2.2.3.1.3.2. Le salicylate de trolamine

Le salicylate de trolamine (ou salicylate de TEA, figure 43) est principalement utilisé pour augmenter la résistance à l'eau des produits solaires, grâce à sa substantivité. Il entre aussi dans la préparation de produits pour les cheveux, comme substance photoprotectrice [9].

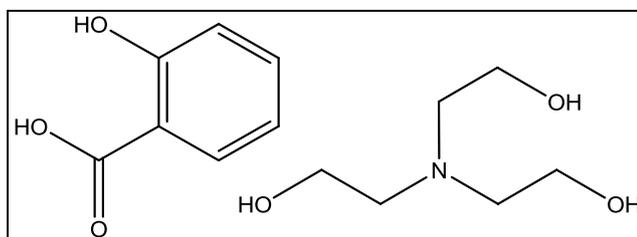


Figure 43 : Structure chimique du salicylate de TEA

On a pu évoquer le risque d'intoxication salicylée suite à l'usage de produits contenant des filtres de cette famille. Toutefois, le passage de l'octylsalicylate à travers un fragment de peau humaine évalué *in vitro* est minime (de 0,23 à 0,63 % selon l'excipient) [97]. Ces filtres ont des profils toxicologiques favorables et sont considérés comme sûrs d'emploi [78]. Le risque d'intoxication salicylée est donc à négliger.

Il est à noter que ces produits sont aussi couramment employés pour solubiliser d'autres filtres [81]. Ils sont notamment de bons solvants pour les autres filtres lipophiles.

I.2.1.3.2.2.3.1.4. L'octocrylène

Cette molécule ($\lambda_{\max} = 304 \text{ nm}$, $\varepsilon = 12\,308 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, tableau 13, figure 44) est un filtre liposoluble photostable, admis depuis peu en Europe mais depuis longtemps aux Etats-Unis [10]. Sa concentration maximale d'emploi autorisée est de 10 %.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
2-Ester éthylhexylique de l'acide 2-cyano-3,3-diphénylacrylique	Octocrylene	Escalol 597 [®] NeoHeliopan 303 [®] Uvinul N539-SG [®] Parsol 340 [®] Eusolex OCR [®]

Tableau 13 : Les différentes dénominations de l'octocrylène

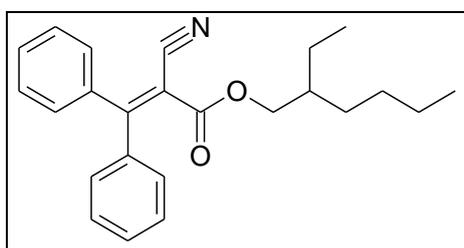


Figure 44 : Structure de l'octocrylène [99]

Il présente l'intérêt d'améliorer la photostabilité des produits solaires lorsqu'il est combiné à d'autres filtres organiques [9]. C'est notamment un bon photostabilisateur de l'avobenzène, de l'OMC et de la benzophénone-3 [92].

I.2.1.3.2.2.3.1.5. L'acide phénylbenzimidazole sulfonique

Egalement appelé ensulizole ($\lambda_{\max} = 305,5 \text{ nm}$, $\varepsilon = 24\,100 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, tableau 14), c'est un filtre UVB hydrosoluble très utilisé sous sa forme salifiée. Sa concentration maximale d'emploi est de 8 % (figure 45).

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
Acide 2-phényl-benzimidazole 5-sulfonique	Phenylbenzimidazole sulfonic acid	Eusolex 232 [®] NeoHeliopan Hydro [®] Parsol HS [®]

Tableau 14 : Les différentes dénominations de l'ensulizole

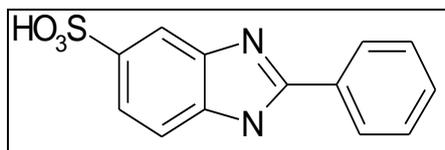


Figure 45 : Structure chimique de l'ensulizole

On l'utilise en combinaison avec d'autres filtres organiques ou inorganiques liposolubles, pour augmenter l'efficacité des produits solaires [9]. Il présente surtout de grands effets synergiques lorsqu'il est utilisé avec les filtres liposolubles. Les informations disponibles sur cette molécule, bien que plus rares que pour les autres filtres organiques, le présentent comme sûr d'emploi [78].

Il est d'un grand intérêt du point de vue galénique car il peut être utilisé pour formuler des gels hydro-alcooliques limpides [96]. D'un point de vue pratique, son incorporation en phase aqueuse nécessite une neutralisation par une base de façon à salifier la fonction acide et à augmenter ainsi sa solubilité dans l'eau [96].

I.2.1.3.2.2.3.1.6. Les dérivés du benzylidène camphre

Les différentes molécules proposées se classent parmi les filtres UVB, à l'exception du Mexoryl SX[®]. Les dérivés du camphre sont autorisés pour la protection solaire en Europe, et y sont très utilisés. En revanche, ils ne figurent pas parmi les filtres figurant dans la monographie de la FDA [9]. Ils ont une très bonne stabilité à la lumière et entraînent peu de réactions allergiques. Les deux dérivés du benzylidène camphre autorisés par la législation européenne sont présentés dans le tableau 15.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
1,7,7-triméthyl-3-4-(méthylphényl)méthylène bicyclo(2,2,1)heptane-2-one	4-methylbenzylidene camphor	Eusolex 6300 [®] NeoHeliopan MBC [®]
1,7,7-triméthyl-3-(phénylméthylène)bicyclo(2,2,1)heptane 2 one	3-benzylidene camphor (3-BC)	Unisol S22 [®] Mexoryl SD [®]

Tableau 15 : Les différentes dénominations du 4-méthylbenzylidène camphre

I.2.1.3.2.2.3.1.6.1. Le 4-méthylbenzylidène camphre

Le dérivé le plus couramment employé est le 4-méthylbenzylidène camphre ($\lambda_{\max} = 301 \text{ nm}$, $\epsilon = 22827 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ [100], figure 46).

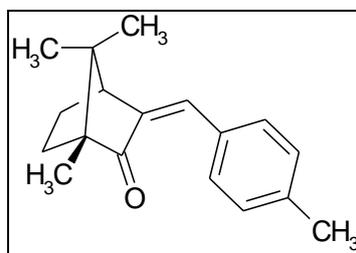


Figure 46 : Structure chimique du 4-méthylbenzylidène camphre [100]

Ce dérivé est très photostable. En effet, bien qu'il subisse une photoisomérisation de type *cis-trans* après avoir été exposé aux UV, les deux isomères ont des spectres d'absorption très similaires et leurs capacités photoprotectrices ne sont pas significativement différentes [85]. Il s'agit du filtre UVB le plus photostable. Ce filtre n'est pas sans danger pour la santé humaine. Il a en effet été prouvé que sa pénétration transcutanée *in vivo* n'était pas négligeable (environ 0,4 % chez le rat) [97].

On a voulu déterminer l'action de ce filtre organique sur l'activité thyroïdienne et sur le système hormonal sexuel de grenouilles (*Xenopus laevis*) lors de leurs métamorphoses. Les concentrations de 4-méthylbenzylidène camphre testées lors de cette étude sont équivalentes aux concentrations résiduelles que l'on peut observer dans l'environnement, dans l'eau de mer ou dans l'eau des lacs par exemple (soit 50 $\mu\text{g/L}$ au maximum). Les résultats montrent qu'à

cette concentration, ce filtre solaire n'a d'effets notables ni sur la thyroïde, ni sur le système hormonal sexuel [101].

I.2.1.3.2.2.3.1.6.2. Le 3-benzylidène camphre

Ce filtre UVB (3-BC, $\lambda_{\max} = 291,5 \text{ nm}$, $\epsilon = 31\,073 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, figure 47) est peu utilisé car peu efficace. Sa concentration maximale autorisée est faible : seulement 2% (m/m). Il se présente sous la forme d'une poudre blanche liposoluble.

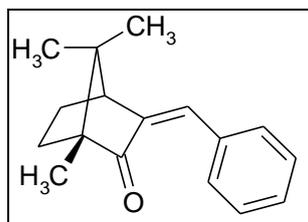


Figure 47 : Structure chimique du 3-benzylidène camphre [102]

En raison de sa nature lipophile et de sa faible masse molaire ($M = 240 \text{ g.mol}^{-1}$), on peut s'attendre à ce que ce filtre pénètre dans l'organisme en franchissant la barrière cutanée. Il a été montré *in vivo* (chez des rats) qu'après l'application topique de ce filtre pendant 65 jours à une concentration équivalente à celle employée chez l'homme (2 mg.cm⁻² de produit solaire, avec une concentration de 3 BC de 2%), on pouvait le retrouver dans différents tissus. Ainsi, les concentrations retrouvées sont de 15,5 µg.g⁻¹ dans le plasma, 18,6 µg.g⁻¹ dans les tissus adipeux et 0,05 µg.g⁻¹ dans le foie [102]. On peut noter que ces concentrations sont faibles, tandis que la quantité de produit solaire appliquée est importante et sur une durée très longue.

Certaines études semblent indiquer que le 3-benzylidène camphre présente une activité hormonale. Des essais *in vivo* sur des poissons ont montré que ce filtre possédait une activité oestrogénique [102]. De plus, *in vitro*, ce filtre favorise le développement des cellules de l'utérus chez le rat (le 3-BC est utéro-trophique), ainsi que la prolifération des cellules MCF-7 impliquées dans le cancer du sein [103, 104].

Une exception notable parmi ces dérivés est l'acide téréphtalydène dicamphré sulfonique (Mexoryl SX[®]) qui est un filtre UVA à large spectre. Il sera décrit plus loin.

I.2.1.3.2.2.3.1.7. Les triazines

Trois de ces filtres sont utilisés dans les produits solaires. Deux sont des filtres UVB, et le troisième, le bis-éthylhexyloxyphénol méthoxyphényl triazine (Tinosorb S[®]) est un filtre UVB à large spectre.

L'éthylhexyle triazine ($\lambda_{\max} = 314,5 \text{ nm}$, $\epsilon = 131\,497 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et la diéthylhexyle butamido triazine ($\lambda_{\max} = 310,5 \text{ nm}$, $\epsilon = 167\,199 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) sont les deux filtres UVB. Leurs caractéristiques sont assez proches : leurs spectres d'absorption sont pratiquement identiques. Tous deux présentent une forte absorption, mais un spectre relativement étroit [96]. Aucun de ces deux produits ne figure dans la monographie de la FDA.

Le tableau 16 et la figure 48 présentent les différentes triazines utilisées comme filtres.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
Ester tris (2-éthylhexylique) de l'acide 4,4',4''-(1,3,5-triazine-2,4,6-tri-yltriimino) tris-benzoïque	Octyltriazone	Uvinul T150®
Ester bis(2-éthylhexylique) de l'acide 4,4'-[[6-[[4-[(1,1-diméthyléthyl)amino]carbonyl]phényl]amino]-1,3,5-triazine-2,4-diyl]diimino]bisbenzoïque	Diethylhexyl butamido triazone	Uvasorb HEB®

Tableau 16 : Les différentes dénominations de l'éthylhexyle triazone et du diéthylhexyle butamido triazone

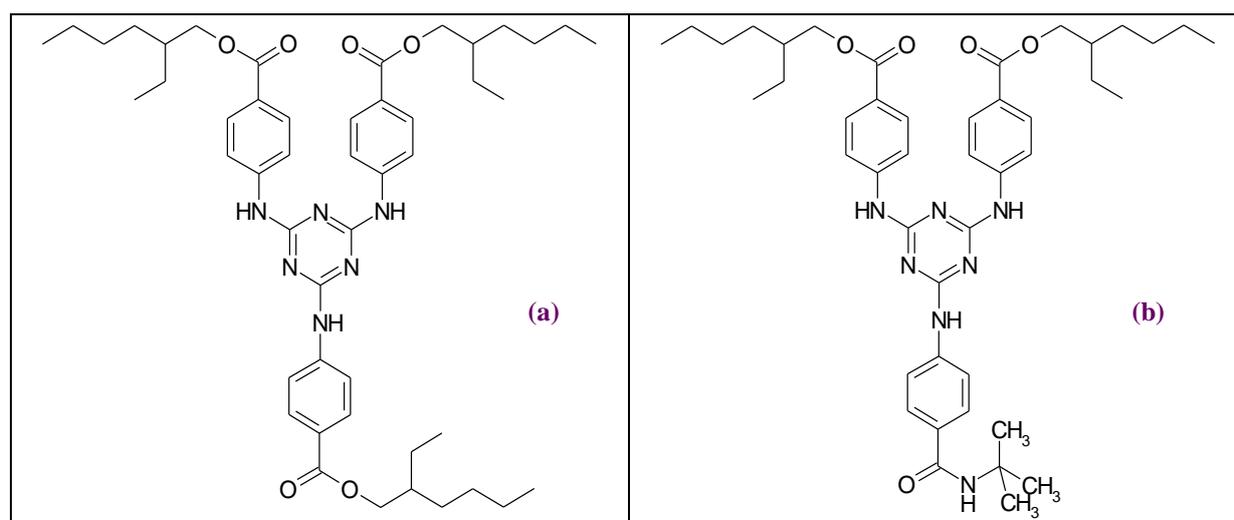


Figure 48 : Structure de l'éthylhexyle triazone (a) et du diéthylhexyle butamido triazone (b)

Un des inconvénients majeurs de ces filtres réside dans le fait qu'ils sont très peu solubles dans les huiles.

I.2.1.3.2.2.2.3.1.8. Le polysilicone-15

Le polysilicone-15 ($\lambda_{\max} = 313 \text{ nm}$, $\varepsilon = 24\,726 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, tableau 17) est un filtre UVB récent : il est autorisé en Europe dans les produits solaires depuis avril 2002. Ce filtre ne figure pas dans la monographie américaine.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
Diméthycodiéthylbenzalmalonate	Polysilicone-15	Parsol SLX®

Tableau 17 : Les différentes dénominations du polysilicone-15

Il se présente sous la forme d'un liquide limpide, de couleur jaune pâle, miscible aux huiles. Il est sûr d'utilisation (il n'est ni photoallergisant ni phototoxique) et est relativement simple à formuler. Il est très intéressant sur le plan cosmétique car il offre un effet velouté au produit final. Enfin, c'est un photostabilisateur efficace de l'avobenzone [96].

La structure chimique de ce filtre est présentée figure 49.

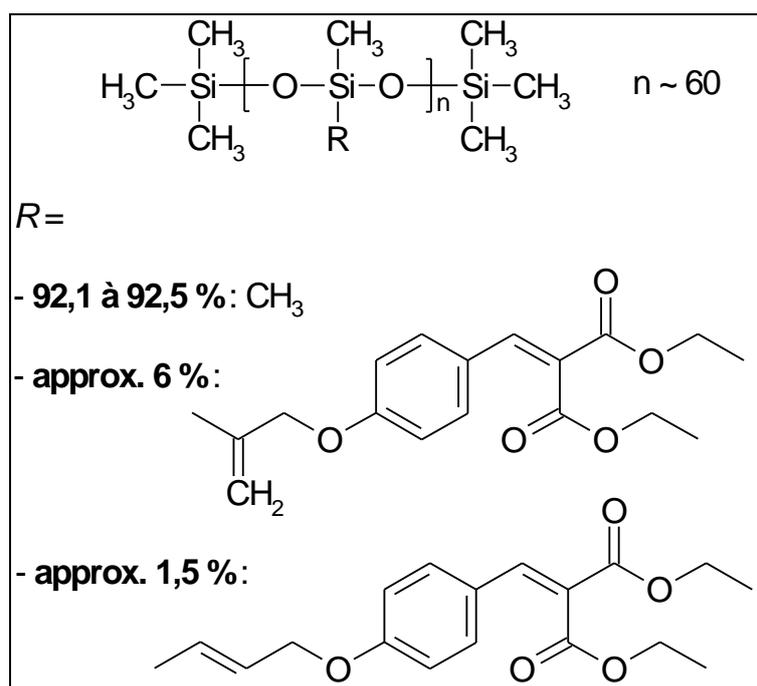


Figure 49 : Structure chimique du polysilicone-15

En termes d'efficacité, cette molécule est comparable à l'octinoxate. Ce filtre présente un coefficient d'absorption molaire *in vitro* modéré [96].

Un autre avantage de ce polymère est qu'il pénètre très peu dans la peau. Une étude *in vitro* a montré qu'au bout de 16 heures, il reste sur la peau plus de 98% de polysilicone-15 incorporé à raison de 5% (m/m) dans une émulsion, le reste ayant pénétré dans le *Stratum corneum*. Ce polymère présente donc une excellente sûreté d'emploi : il n'est pas dangereux pour l'organisme [96].

I.2.1.3.2.2.3.2. Les filtres UVA

Les filtres absorbant les radiations UVA sont peu nombreux. On peut citer les benzophénones (Bp), le butyl méthoxydibenzoylméthane (BMDBM) et les anthralinates.

I.2.1.3.2.2.3.2.1. Les benzophénones (Bp)

Il existe 12 benzophénones sur le marché mais seules les benzophénones 3, 4 et 5 figurent en annexe VII de la directive européenne. Elles filtrent les UVB et les UVA car elles ont deux maxima d'absorption, l'un vers 300 nm et l'autre vers 350 nm (suivant la nature de la molécule, les valeurs des maxima d'absorption peuvent être légèrement différentes).

Les différentes dénominations des benzophénones figurent dans le tableau 18.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
2-hydroxy-4-méthoxybenzophénone	Benzophenone-3	Escalol 567 [®] Eusolex 4360 [®] NeoHeliopan BB [®] Spectra-Sorb UV-9 [®] Uvinul M40 [®] Nuvigard B3 [®]
Acide 5-benzoyl-4-hydroxy-2-méthoxy-benzènesulfonique	Benzophenone-4	Escalol 557 [®] Uvinul MS 40 [®]
Sel monosodique de l'acide 5-benzoyl-4-hydroxy-2-méthoxy-benzènesulfonique	Benzophenone-5	-
Acide 2,2'-dihydroxy-4-méthoxybenzophénone	Benzophenone-8	-
Acide 2,2'-dihydroxy-4,4'-diméthoxybenzophénone-5,5'-disulfonique, sel de sodium	Benzophenone-9	Uvinul DS 49 [®]

Tableau 18 : Les différentes dénominations des benzophénones

I.2.1.3.2.2.2.3.2.1.1. La benzophénone-3

L'oxybenzone est la benzophénone la plus largement utilisée. Elle est surtout efficace dans les domaines UVB et UVA2, car elle présente deux pics d'absorption ($\lambda_{\text{max}} = 287,5$ et 325 nm, $\epsilon = 13\,992$ L.mol⁻¹.cm⁻¹ (325 nm) [84], figure 50) [9]. La benzophénone-3 est liposoluble. Sa concentration maximale d'emploi est de 10 %. Ce filtre est très peu utilisé aux Etats-Unis.

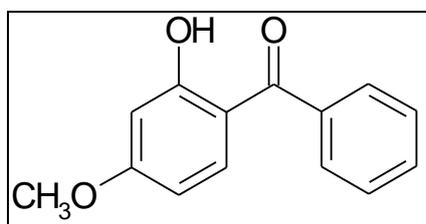


Figure 50 : Structure chimique de l'oxybenzone [100]

Notons tout d'abord que l'oxybenzone est une matière première allergisante. L'étiquetage doit mentionner sa présence sauf si sa concentration est inférieure à 0,5 % [10].

L'oxybenzone et les benzophénones en règle générale sont relativement photostables, dans le domaine UVA comme dans le domaine UVB. Mais, bien que cette molécule soit un filtre performant en milieu apolaire, elle présente un risque potentiel d'instabilité en milieu polaire. En milieu apolaire, la molécule est maintenue dans sa conformation la plus efficace par une liaison hydrogène forte. En effet, l'irradiation de l'oxybenzone dans du cyclohexane pendant 100 heures n'aboutit pas à la formation de sous-produits [86]. Mais, la conformation peut être différente en milieu polaire. Dans ce cas, cette benzophénone peut agir comme un sensibilisateur et catalyser des réactions de photodécomposition [85].

La figure 51 présente ces réactions de photoréaction.

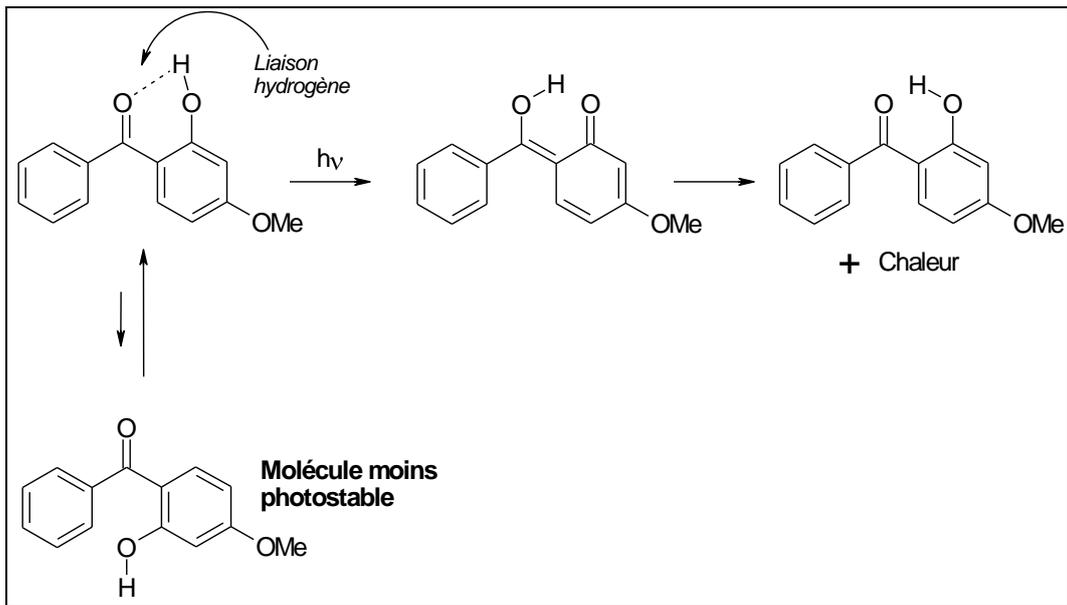


Figure 51 : Phtoréaction de l'oxybenzone

Cette molécule peut aussi être oxydée relativement rapidement suite à une irradiation UV. En effet, il a été établi que les enzymes et les co-enzymes avec des sites actifs de type thiol (R-SH) jouent un rôle important dans la défense cellulaire contre les espèces réactives de l'oxygène qui peuvent être générés dans l'épiderme suite à une exposition aux radiations UV. Le système thioredoxine-réductase/thioredoxine (TR/T) joue notamment un rôle particulièrement important dans la protection contre les dommages cellulaires causés par les radicaux oxygène réactifs et le peroxyde d'hydrogène. Or, l'oxybenzone, sous l'effet des UV, s'oxyde rapidement en une semiquinone qui va réagir (addition de Michael) avec les fonctions thiolates (R-S⁻) des molécules présentes dans les cellules épidermique (figure 52) [105].

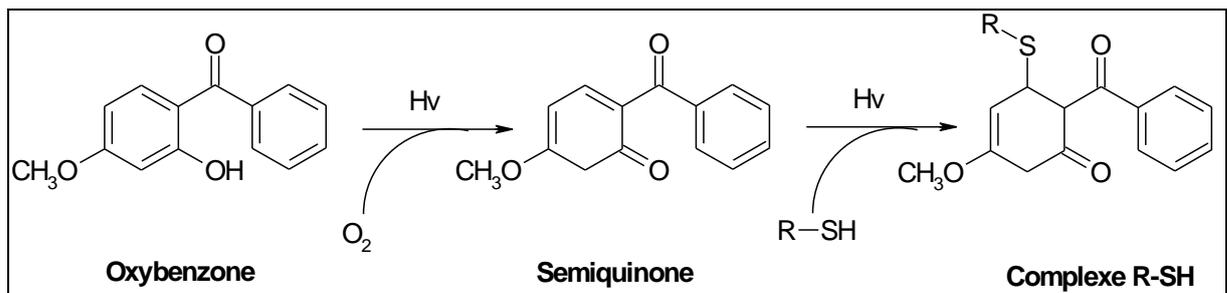


Figure 52 : Photoxydation de l'oxybenzone, suivie de l'addition de Michael sur les groupes thiolates de molécules épidermiques [105]

Cette réaction aboutit à la formation de complexes R-SH. Sous cette forme, les systèmes anti-oxydants de défense de l'épiderme ne sont donc plus actifs. L'oxybenzone, surtout chez les individus de phototypes I et II, présente donc le risque potentiel de rendre la peau plus sensible aux espèces réactives de l'oxygène [105].

De plus, ce filtre présente certains inconvénients. Il est solide à température ambiante, a une solubilité limitée et possède une couleur jaune qui peut donner un aspect non désiré au produit fini. Enfin, lorsque ce filtre est employé à haute concentration dans les formulations, il peut entraîner une cristallisation au sein du produit [106].

Un autre inconvénient est sa toxicité systémique potentielle. En effet, il a été récemment démontré que lors de l'application topique de Bp-3 sur des volontaires, 0,5 % de la quantité totale appliquée se retrouvait dans les urines au bout de 48 heures [107]. Lors d'expériences menées sur des rats, de la benzophénone-3 a été détectée dans le foie, les reins, la rate, le cœur, les muscles et les testicules. Lors d'expériences menées *in vivo*, on a aussi retrouvé de la benzophénone dans du lait maternel [108].

Une autre étude récente a permis de montrer que 8 heures après application d'une crème contenant 5% de Bp-3, une petite quantité d'oxybenzone pouvait être retrouvée dans le plasma (130 ng/ml). De plus, un peu plus de 1% de la dose appliquée pouvait être détecté dans les urines. On peut aussi y retrouver des traces de certains de ses métabolites (la 2,4-dihydroxybenzophénone -majoritaire- et la 2,3,4-trihydroxybenzophénone) [109]. Il faut préciser que lors de cette étude, la quantité de produit solaire utilisé était seulement la moitié de celle qu'un utilisateur appliquerait normalement. De plus, la pénétration transcutanée est plus importante chez les enfants, qui ont un système d'élimination moins développé, et un plus grand rapport surface corporelle sur poids, que les adultes. Ainsi, l'absorption systémique de l'oxybenzone est certainement plus élevée chez les enfants.

I.2.1.3.2.2.2.3.2.1.2. Les benzophénones-4 et 5

Les autres benzophénones utilisées sont la benzophénone-4 (sulisobenzone, $\lambda_{\max} = 287,5 \text{ nm}$, $\epsilon = 11\,520 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$, sous la forme d'un acide sulfonique) et la benzophénone-5 (son sel de sodium). Ces deux filtres sont hydrosolubles. Leur concentration maximale d'utilisation est de 5% exprimée en acide. Leur structure chimique est présentée figure 53.

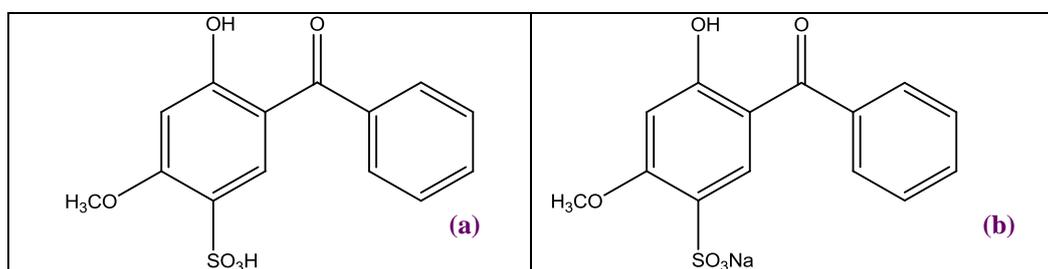


Figure 53 : Structures chimiques des benzophénones-4 (a) et 5 (b) [110]

La benzophénone-4 est un filtre UVA-UVB, qui présente un coefficient d'absorption modéré. Son utilisation reste marginale aux Etats-Unis. Ce filtre peut également être utilisé afin de protéger des molécules sensibles aux UV contenues dans les formules (des colorants par exemple) [96].

On a pu constater tant *in vivo* qu'*in vitro* que les benzophénones-3 et 4 présentaient un passage transdermique. Les valeurs obtenues sont variables selon la méthode employée. On obtient un taux de pénétration de 10 % par méthode *in vitro* et de 0,4 % par technique *in vivo* (détection dans les urines 48 heures après application de 0,4 % de la quantité de produit solaire appliquée) [97].

I.2.1.3.2.2.3.2.1.3. Les benzophénones-8 et 9

La benzophénone-8 (dioxybenzone, $\lambda_{\max} = 352$ nm, figure 54) ne figure pas sur la liste des filtres autorisés en Europe mais l'est aux Etats-Unis et en Australie. Elle est peu employée.

La benzophénone-9 ($\lambda_{\max} = 350,5$ nm, figure 54) ne figure que sur la liste des filtres autorisés au Japon. Elle est employée à une concentration maximale de 10%, afin de protéger d'autres ingrédients présents dans les cosmétiques (les colorants et les parfums par exemple) contre les UV [111].

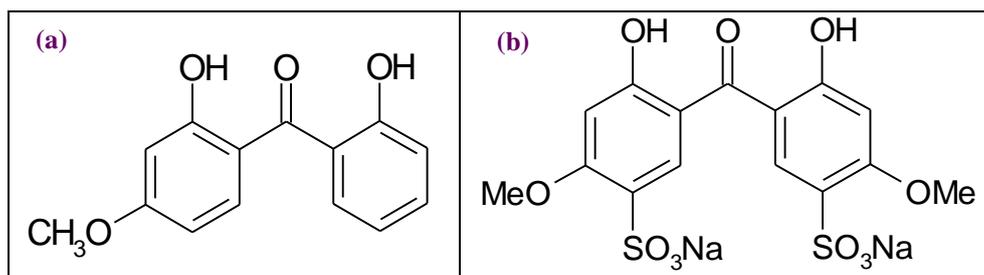


Figure 54 : Structure chimique des benzophénone-8 (a) et -9 (b) [110]

I.2.1.3.2.2.3.2.2. Les dérivés du dibenzoylméthane

Ces filtres absorbent les longueurs d'ondes comprises entre 310 et 390 nm, mais ils sont surtout efficaces dans le domaine UVA.

L'avobenzone (BMDBM, $\lambda_{\max} = 358$ nm, $\epsilon = 32\ 662$ L.mol⁻¹.cm⁻¹ [100], tableau 19, figure 55) est un filtre liposoluble absorbant une large bande UVA, et surtout fortement les UVA1. C'est le dérivé du dibenzoylméthane le plus utilisé, et le seul figurant dans la monographie de la FDA. On l'utilise à une concentration maximale de 10 %. Ce composé se présente sous la forme d'une poudre cristalline jaune, pratiquement inodore.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
4-ter-Butyl-4'méthoxy-dibenzoylméthane	Butyl methoxydibenzoylmethane	Eusolex 9020 [®] Parsol 1789 [®] Escalol 515 [®] NeoHeliopan 357 [®] Nuvigard AB 1100 [®]

Tableau 19 : Les différentes dénominations de l'avobenzone

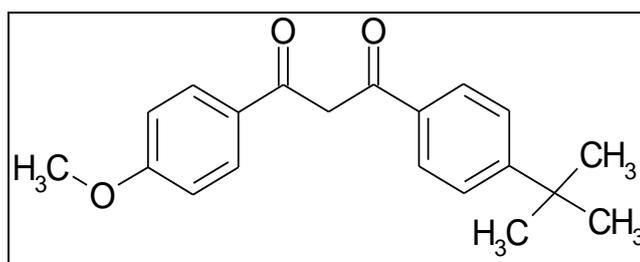


Figure 55 : Structure chimique de l'avobenzone [100]

Selon une étude récente, les produits solaires les plus efficaces contiennent de l'avobenzone (AVB) et du dioxyde de titane [112]. Néanmoins, il a été montré que ses

capacités photoprotectrices décroissent de 50 à 60% après une heure seulement d'exposition au soleil [9]. Cette molécule est en effet légèrement instable après irradiation UVB, mais surtout UVA. L'avobenzone est toutefois le filtre UVA le plus utilisé, en dépit de cet inconvénient.

Après une irradiation, même relativement courte, les dibenzoylméthanés perdent leur caractère protecteur par tautomérisation, fragmentation, et par formation de nouveaux produits possédant des capacités d'absorption différentes dans le domaine UV [85]. La tautomérisation (équilibre céto-énolique) semble être toutefois le mécanisme principal expliquant la photolabilité de l'AVB (figure 56) [90].

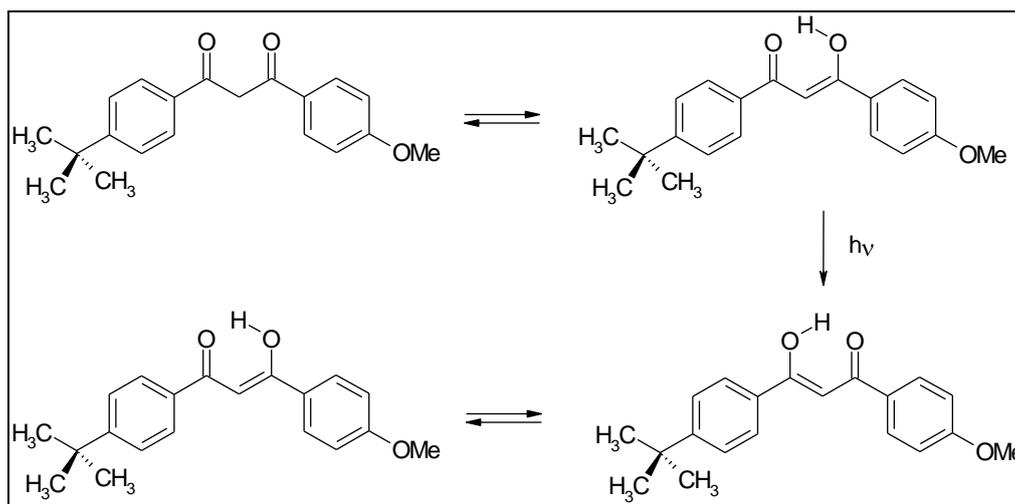


Figure 56 : Photoréaction de l'avobenzone

L'avobenzone existe sous trois formes tautomères : deux formes cis-énols et une forme β -dicétone. Lorsque l'AVB est irradié, le pourcentage de β -dicétone augmente, pour devenir la forme prédominante. Or, il a été démontré que la photodégradation de l'AVB dépend fortement de la présence de cette dicétone [113].

La photooxydation semble enfin être un mécanisme majeur de la photodégradation de l'avobenzone [86]. L'irradiation en milieu apolaire (cyclohexane) de ce composé conduit à la formation de tertio-butylbenzène, d'acide p-tertio-butylbenzoïque et d'acide p-méthoxybenzoïque, ainsi que d'autres sous-produits issus de la combinaison avec le solvant. Toutefois, il faut préciser que l'avobenzone n'est pas dégradée en milieu polaire.

De plus, il a été reporté que l'avobenzone favorisait fortement la dégradation de l'octinoxate. En effet, lorsque l'AVB s'isomérise après une irradiation, son isomère peut réagir avec l'octinoxate pour former des produits de cycloaddition. Ceux-ci déstabilisent ce cinnamate, qui, utilisé seul, est relativement photostable [90].

Etant donné que l'avobenzone, comme les benzophénones, est photolabile, on le combine fréquemment avec de l'octocrylène qui le stabilise. Les autres photostabilisants employés sont :

- le 4-méthylbenzylidène camphre, qui est un photostabilisateur efficace [96] ;
- l'anisotriazine (Tinosorb S[®]) [90]. Ce produit réduit grandement la décomposition photochimique de l'avobenzone seul, ou en combinaison avec de l'octinoxate. Il permet de maintenir les propriétés photoprotectrices. De plus, il évite la déstabilisation de l'octinoxate par l'avobenzone, consécutivement à une irradiation. Enfin, un des avantages de cette

formulation est que le Tinosorb S[®] permet une stabilisation maximale lorsqu'il est employé à une concentration minimale, soit 5 % ;

- le Méthylène bis-benzotriazolyl tétraméthylbutylphenol (Tinosorb M[®]) ;
- l'acide téréphtaldène dicamphré sulfonique (Mexoryl SX[®]) ;
- le Polysilicone-15 (Parsol SLX[®]) ;

Une autre méthode rapportée dans la littérature pour augmenter la photostabilité de l'avobenzone (et ainsi réduire sa photodécomposition) est l'inclusion de cette molécule dans une β -cyclodextrine, en solution ou à l'état solide [114].

Il semblerait que la photolabilité de l'avobenzone augmente en présence de filtres inorganiques comme le ZnO ou le TiO₂. Il peut aussi jaunir en présence de certains types de TiO₂ micronisés (figure 57) [96]. Toutefois, si les particules de ces minéraux disposent d'un enrobage convenable, cette interaction peut être limitée. On peut aussi utiliser un agent de chélation (EDTA par exemple, à 0,1%) pour limiter la formation de complexes colorés entre l'avobenzone et les minéraux. Il est aussi à noter que les fabricants d'avobenzone recommandent d'éviter l'incorporation de ce filtre dans des formules contenant des sels ferreux, des esters du PABA ou du formaldéhyde.

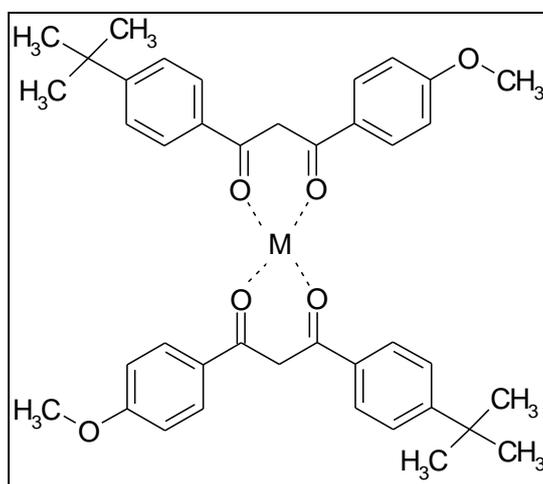


Figure 57 : Formation d'un complexe coloré entre deux molécules d'avobenzone et un métal de transition.
 $M = Fe^{2+}, Zn^{2+} \dots$ [96]

En conclusion, il faudra employer cette molécule avec précaution. En effet, bien qu'elle présente théoriquement d'excellentes capacités protectrices vis-à-vis des UVA, elle est très rapidement dégradée par ceux-ci et perd alors la majeure partie de sa capacité de filtration. Il faut préciser que cette dégradation a été étudiée en utilisant des doses d'UVA équivalentes à celles reçues lors d'une journée ensoleillée en Europe [85].

Il faut noter qu'en raison de ces problèmes de photostabilité, l'avobenzone a été beaucoup étudiée, notamment sur le plan toxicologique. Elle semble présenter un profil toxicologique favorable chez l'homme [78].

I.2.1.3.2.2.2.3.2.3. Les anthranilates

De nombreuses études ont été menées sur l'acide anthranilique, mais assez peu sur ses esters, bien qu'ils aient de nombreuses applications commerciales. On peut par exemple citer l'anthranilate de méthyle qui est utilisé comme agent aromatique et répulsif à oiseaux [106].

Le seul dérivé d'acide anthranilique disponible actuellement dans les produits solaires est l'anthranilate de menthyle (mèradimate, $\lambda_{\max} = 220, 249$ et 340 nm, $\epsilon = 4900$ L.mol⁻¹.cm⁻¹, tableau 20), qui absorbe principalement dans le domaine UVA2 [9]. Cet anthranilate (MA) est un filtre peu efficace dans le domaine UVA et doit donc être utilisé en combinaison avec d'autres agents afin d'assurer une protection efficace (figure 58).

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
Anthranilate de menthyle	Menthyl anthranilate	-

Tableau 20 : Les différentes dénominations de l'anthranilate de menthyle

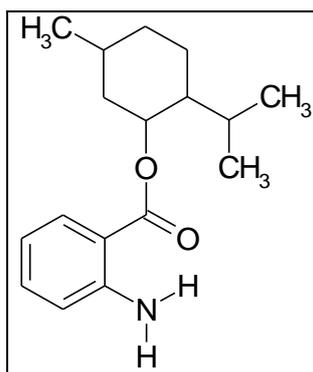


Figure 58 : Structure de l'anthranilate de menthyle

Ce composé a été approuvé par la FDA en 1978. Cette molécule présente différents avantages : elle est miscible à la plupart des huiles utilisées communément en cosmétique. Elle forme facilement des émulsions avec des composés aqueux. Elle est transparente et peut être synthétisée de telle sorte qu'elle n'ait pas d'odeur [106]. De plus, comme le montre la figure 58, c'est un composé aromatique disubstitué. Ainsi, la liaison hydrogène intramoléculaire stabilise-t-elle la structure du MA.

Son spectre d'absorption montre 3 pics, dont un dans le domaine UVA (à 340 nm) et deux correspondant à des longueurs d'onde plus énergétiques (à 220 et 249 nm). Son coefficient d'extinction molaire à son λ_{\max} de 340 nm est voisin de 4900 L.mol⁻¹.cm⁻¹, ce qui est relativement faible. En effet, c'est un composé disubstitué en ortho, et ces composés sont connus pour avoir des coefficients d'extinction molaire bien plus faibles que les composés disubstitués en para. Toutefois, le mèradimate possède un coefficient d'extinction plus élevé que la plupart des autres composés disubstitués en ortho utilisés dans les produits solaires, comme les salicylates par exemple [106].

Un des problèmes majeur rencontré avec cette molécule est que son état excité a une durée de vie longue, et surtout que l'état excité libère des oxygènes singulets lorsqu'il est en autobiose. Or, ces oxygènes singulets jouent un rôle dans de nombreux mécanismes néfastes à la peau (vieillesse prématuré, carcinogénèse...). Ce filtre peut donc être potentiellement dangereux, et favoriser certaines pathologies [106].

De plus, ce filtre a un autre inconvénient. Certaines expériences laissent à penser que les produits solaires contenant du mèradimate pourraient accroître la dangerosité des radiations atteignant la peau dans le domaine 370-400 nm, c'est-à-dire dans le domaine des UVA longs [106]. Ainsi, ce filtre protégerait dans le domaine des UVA courts, mais augmenterait le danger potentiel dans le domaine des UVA longs.

Enfin, cette molécule présenterait un inconvénient cosmétique. En effet, une étude a prouvé que l'utilisation de ce composé dans une formulation provoque la formation d'un produit fluorescent, qui apparaîtra légèrement bleuté dans des conditions de luminosité normale [106]. Ce phénomène est confirmé par une étude menée par Stokes et al. [115]. Il provoque rarement des problèmes de sensibilisation [81].

I.2.1.3.2.2.2.3.2.4. Le diéthylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate

Ce filtre UVA ($\lambda_{\max} = 354 \text{ nm}$, $\varepsilon = 31\,887 \text{ l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, tableau 21, figure 59) figure sur la liste des filtres autorisés dans l'Union Européenne, à une concentration maximale de 10 %. En raison de son point de fusion de $54 \text{ }^\circ\text{C}$, le produit cristallise lors de son stockage. Il doit être fondu à $70 \text{ }^\circ\text{C}$ (au bain-marie) avant d'être utilisé. Il se présente alors sous la forme d'un liquide jaune visqueux.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
2-[4-(diéthylamino)-2-hydroxybenzoyl]-benzoate d'hexyle	Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	Uvinul A Plus®

Tableau 21 : Les différentes dénominations du diéthylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate

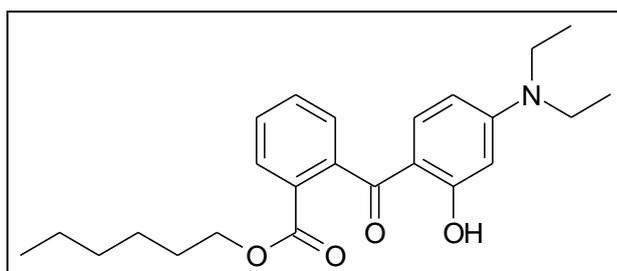


Figure 59 : Structure chimique du diéthylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate

Ce filtre présente une excellente photostabilité et est compatible avec la plupart des autres filtres UV, ainsi qu'avec les matières premières usuelles en cosmétique [116].

I.2.1.3.2.2.2.3.2.5. Le disodium phényl dibenzimidazole tétrasulfonate

Le bisimidazolate ($\lambda_{\max} = 335 \text{ nm}$, $\varepsilon = 62660 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$, tableau 22) est un filtre UVA qui se présente sous la forme d'une poudre jaune inodore. Il nécessite l'addition d'une base pour le rendre hydrosoluble. Il figure sur la liste des filtres autorisés en Europe, en Australie, en Afrique du sud, au Brésil et en Corée du sud, à une concentration maximale de 10% [117].

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
Sel de sodium de l'acide 2,2'-(1,4-phénylène) bis-[1H-benzimidazole-4,6-disulfonique]	Disodium phenyl dibenzimidazole tetrasulfonate	NeoHeliopan AP®

Tableau 22 : Les différentes dénominations du disodium phényl dibenzimidazole tétrasulfonate

La structure chimique du bisimidazylate est présentée figure 60.

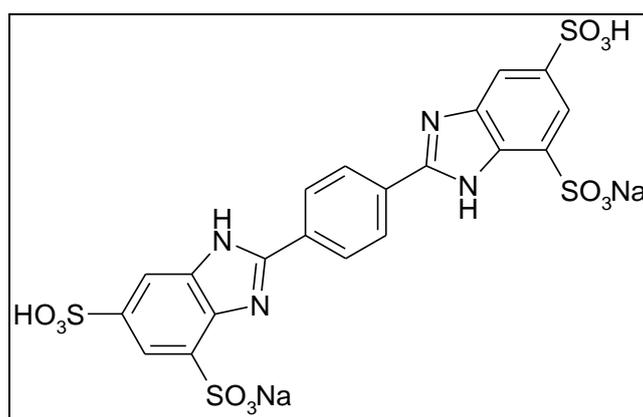


Figure 60 : Structure chimique du disodium phényl dibenzimidazole tétrasulfonate

I.2.1.3.2.2.2.3.3. Les filtres à spectre large

Le besoin grandissant de filtres à spectre large et la recherche d'une plus grande photostabilité des filtres solaires a mené au développement d'une nouvelle génération de filtres. On peut citer l'acide téréphtaldène dicamphré sulfonique (Mexoryl SX[®]), le drométrizole trisiloxane (Mexoryl XL[®]) le méthylène-bis-benzotriazolyl tétraméthylbutylphénol (Tinosorb M[®]) et enfin le bis-éthylhexyl-oxyphénol méthoxyphénol triazine (anisotriazine, Tinosorb S[®]) [74]. Les Mexoryl[®] et les Tinosorb[®] ne sont pas autorisés au Japon, ni aux États-Unis. Ils sont toutefois autorisés en Europe [73].

I.2.1.3.2.2.2.3.3.1. Les Mexoryl[®]

Les Mexoryl[®] sont des filtres brevetés par la société L'Oréal (Clichy, France). Leurs différentes dénominations figurent dans le tableau 23.

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
Acide 3,3'-(1,4-phénylène diméthine)-bis-(7,7-diméthyl 2-oxo bicyclo [2.2.1]-heptan-1-yl-méthanesulfonique) et ses sels	Terephthalidene Dicamphor Sulfonic Acid	Mexoryl SX [®]
2-(2H-Benzotriazol-2-yl)-4-méthyl-6-[2-méthyl-3-{1,3,3,3-tetraméthyl-1-(triméthylsilyl)oxy}disiloxanyl}propyl]phénol	Drometrizole trisiloxane	Mexoryl XL [®]

Tableau 23 : Les différentes dénominations des Mexoryl[®]

I.2.1.3.2.2.2.3.3.1.1. Le Mexoryl SX[®]

Comme nous l'avons précédemment fait remarquer, ce filtre est un dérivé du camphre particulièrement intéressant. Il est connu comme étant l'un des filtres UVA les plus efficaces à l'heure actuelle. C'est un filtre solaire relativement récent (breveté en 1982, et autorisé dans l'Union Européenne en 1991), à large spectre ($\lambda_{\max} = 345 \text{ nm}$), absorbant surtout dans le domaine UVA, entre 290 et 390 nm [9], [118]. Ce filtre est hydrosoluble.

La figure 61 présente la structure chimique du Mexoryl SX[®].

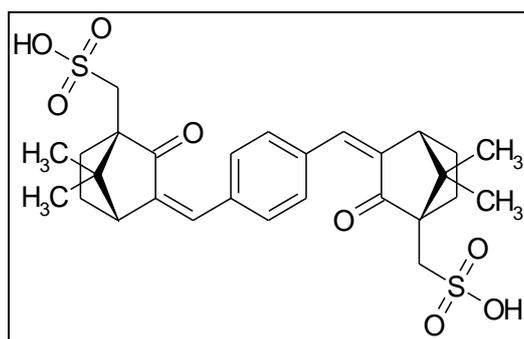


Figure 61 : Structure chimique du Mexoryl SX[®]

Les produits à base de Mexoryl SX[®] (écamsule) sont disponibles en Europe, au Canada et dans d'autres parties du monde depuis 1993. En Juillet 2006, la FDA a autorisé la vente de produits en contenant (Anthélios SX[®] par exemple) sur le marché américain, mais l'utilisation du filtre lui-même demeure proscrite [119]. Il faut noter que cette molécule n'est pas disponible commercialement, puisqu'elle fait l'objet d'un brevet déposé par la société L'Oréal.

Il semblerait que ce filtre permette la prévention de nombreuses pathologies liées à l'exposition solaire. Chez la souris, les produits contenant du Mexoryl SX[®] préviennent de façon significative la carcinogenèse induite par les rayons UV, comparés à des préparations contenant seulement des filtres UVB [120]. Toutefois, il faut relativiser les résultats de cette étude dans la mesure où le rôle des UVA dans la photocarcinogenèse est bien connu. Afin d'être complète, cette étude aurait du comparer les effets de l'écamsule à ceux d'autres filtres UVA.

Chez l'homme, l'application de produits solaires formulés à partir de Mexoryl SX[®] avant une exposition aux UVA limite différents problèmes dermatologiques liés à ces radiations. Une étude menée *in vivo* a démontré que l'utilisation d'un produit solaire contenant 5% de Mexoryl SX[®] limite la perte d'élasticité de la peau (15 à 20 % de perte chez des sujets non protégés irradiés pendant 6 semaines, tandis que cette perte est pratiquement nulle chez des sujets protégés) et ralentit la pigmentation [118]. L'emploi de ce type de produit réduit de plus significativement l'augmentation du nombre de couches de *Stratum corneum* induite par les UVA, limite légèrement l'hyperplasie épidermique et empêche la déshydratation de la peau. Une autre étude semble confirmer que le Mexoryl SX[®] permet de prévenir la pigmentation de la peau induite par les UVA. Cette protection est proportionnelle à la concentration de cette molécule dans le produit solaire employé [114].

De surcroît, il a été montré que les produits solaires contenant cette molécule réduisent la formation d'acide *cis*-urocanique [121]. En effet, l'isomérisation de l'acide *trans*-urocanique en forme *cis* (impliqué dans certains mécanismes de l'immunosuppression) est surtout due aux UVA. De plus, une formule contenant du Mexoryl SX[®] prévient la diminution du nombre de cellules de Langherhans, qui jouent un rôle dans les mécanismes de défense de la peau. Une autre étude portant sur l'absorption percutanée du Mexoryl SX[®] a montré que l'utilisation de ce filtre ne semblait pas poser de problèmes pour la santé humaine [122]. En effet, des résultats des études pharmacocinétiques obtenus *in vivo* indiquent que la dose absorbée par la peau après une application est inférieure à 0,1 %.

Enfin, ce produit est très photostable. Il est utilisé avec d'autres filtres UVA et UVB afin de formuler des produits à large spectre d'action [123].

I.2.1.3.2.2.2.3.3.1.2. Le Mexoryl XL[®]

Le Meroryl XL[®] ou silatrizole ($\lambda_{\max} = 303 \text{ nm}$ et 344 nm , $\epsilon = 16\,200 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ et $15\,500 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) est un filtre UV à large spectre, présentant une efficacité limitée [96] (figure 62). Ce filtre n'est pas non plus disponible commercialement. Ce composé se présente sous la forme de cristaux, de couleur blanche à jaune pâle, pratiquement inodore [124].

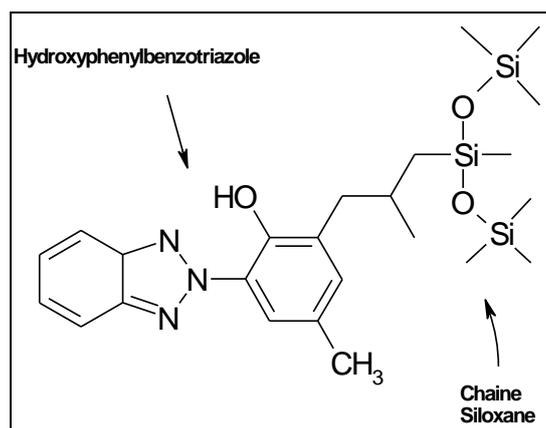


Figure 62 : Structure du Mexoryl XL[®]

C'est un hydroxybenzotriazole photostable, constitué de deux groupements chimiques : d'une part un 1,2-hydroxyphénylbenzotriazole, qui est photostable et peut absorber les UVA et les UVB, d'autre part une chaîne siloxane, qui est liposoluble [9]. Ce filtre est donc, contrairement au Mexoryl SX[®], liposoluble. De plus, la chaîne siloxane permet de maintenir le filtre à la surface de la peau [10]. Ce filtre peut être employé dans les produits solaires à une concentration maximale de 15%. Des études menées sur des rats montrent qu'une très faible proportion du produit appliqué pénètre dans la peau. De surcroît, cette molécule n'a ni activité androgénique, ni activité oestrogénique. Enfin, elle n'est pas photosensibilisante [124].

Une étude a prouvé que le Mexoryl XL[®] avait un effet synergique lorsqu'il était employé avec le Mexoryl SX[®] [114]. Néanmoins, ici encore, ce résultat est à relativiser dans la mesure où cette étude a été menée par la société L'Oréal elle-même.

I.2.1.3.2.2.2.3.3.2. Les Tinosorb[®]

Les Tinosorb[®] sont développés par la société Ciba Speciality Chemicals (tableau 24).

Nom chimique	Nom INCI	Noms commerciaux
2,2'-méthylène-bis (6-(2H-benzotriazole-2-yl)-4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)-phénol	Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenole	Tinosorb M [®]
2,4-bis-[4-(2-éthylhexyloxy)-2-hydroxy-phényle)-6-(4-méthoxyphényle)-1,3,5-triazine]	bis-Ethylhexyloxyphenol Methoxyphenyl Triazine	Tinosorb S [®]

Tableau 24 : Les différentes dénominations des Tinosorb[®]

I.2.1.3.2.2.3.3.2.1. Le Tinosorb M[®]

Le Tinosorb M[®] ($\lambda_{\max} = 305,5 \text{ nm}$ et $360,5 \text{ nm}$, $\epsilon = 12\,326 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (305,5 nm) et $14\,980 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (360,5 nm)) est un filtre UV à large spectre, développé en Europe, mais qui présente une efficacité limitée [96] (figure 63).

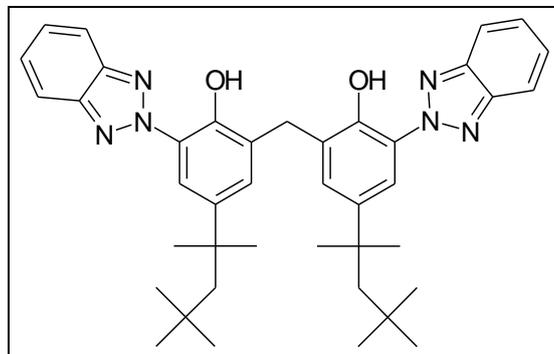


Figure 63 : Structure du Tinosorb M[®]

Il est constitué de particules organiques micronisées à disperser dans la phase aqueuse du produit solaire [9]. Les molécules de Tinosorb M[®] possédant un encombrement stérique important, elles sont peu susceptibles d'être absorbées par la peau. Ces caractéristiques physico-chimiques empêchent une quelconque pénétration cutanée tout en préservant la substantivité de la molécule. Sa concentration maximale d'emploi est de 10 %. L'absence d'effets endocriniens a été démontrée *in vitro* [125].

Le Tinosorb M[®] est particulièrement photostable. Il permet de plus d'augmenter la photostabilité et l'efficacité de produits solaires contenant de l'avobenzone ou de l'OMC [90].

Il n'est toutefois pas aisé de formuler des produits solaires contenant cette molécule car des phénomènes d'agglomération sont susceptibles de survenir.

I.2.1.3.2.2.3.3.2.2. Le Tinosorb S[®]

Le Tinosorb S[®] (anisotriazine, $\lambda_{\max} = 310 \text{ nm}$ et 341 nm , $\epsilon = 378\,440 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (310 nm) et $\epsilon = 405\,302 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ (341 nm)) est un filtre UV à large spectre, liposoluble [9] (figure 64). C'est une triazine, qui présente une solubilité limitée dans les huiles utilisées traditionnellement dans le domaine cosmétique [96].

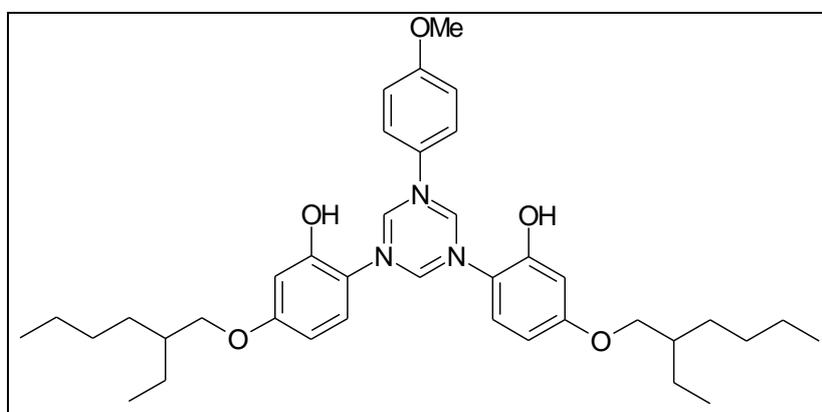


Figure 64 : Structure chimique du Tinosorb S[®]

Le Tinosorb S[®] est notamment employé pour améliorer la photostabilité et l'efficacité des produits solaires contenant de l'avobenzène et de l'OMC [126].

Les Tinosorb S[®] et M[®] présentent d'excellentes capacités d'absorption dans le domaine UVA. Ils ont tous deux aussi une bonne photostabilité, qui provient de leur structure moléculaire qui facilite la dissipation de l'énergie incidente par transfert de chaleur intramoléculaire, ou par relaxation vibrationnelle. Cela confère à ces filtres une grande sécurité d'emploi, puisque aucune espèce réactionnelle intermédiaire, ni aucun produit de décomposition photolytique, ne se forme dans la peau [9].

Il faut ajouter qu'il a été rapporté *in vitro* qu'aucun de ces Tinosorb[®] ne possède d'activité hormonale intrinsèque. Ils n'ont donc pas d'activité oestrogénique (ou antioestrogénique) ni androgénique (ou antiandrogénique) [127]. Cette absence d'activité endocrinienne est cohérente, dans la mesure où ces deux molécules possèdent un encombrement stérique important, ce qui est défavorable aux liaisons avec les récepteurs hormonaux (par encombrement stérique).

I.2.1.3.2.2.3. Comparaison des filtres organiques et inorganiques

Bien que chaque filtre (organique ou inorganique) ait ses propres caractéristiques, on peut tout de même dégager de grandes tendances pour ces deux classes (tableau 25).

Propriétés	Filtres organiques	Filtres inorganiques
<i>Facilité à formuler</i>	++++	+
<i>Effet « blanchissant »</i>	+	++
<i>Stabilité physique dans les formules</i>	++	++++
<i>Photostabilité</i>	+(++)	++++
<i>Pénétration dans la peau</i>	+++	+

Tableau 25 : Tableau comparatif des avantages et inconvénients des filtres organiques et inorganiques

Les filtres physiques présentent des effets synergiques en termes de protection de la peau lorsqu'ils sont combinés avec des filtres organiques. Des indices élevés (> 20) sont difficiles à obtenir avec des filtres inorganiques seuls. Pour cela, il faut mettre un pourcentage important de filtre physique, ce qui rend souvent le produit final cosmétiquement inacceptable (difficulté d'étaler le produit solaire sur la peau, effet blanchissant trop prononcé...) [96].

Certains filtres de nouvelle génération, comme le Polysilicone-15, combinent les avantages des filtres organiques et ceux des inorganiques.

I.2.1.3.2.3. Les propriétés du filtre idéal

I.2.1.3.2.3.1. Photostabilité

Pour être performant, un filtre UV ne doit pas être dégradé sous l'effet de la lumière : il doit être photostable. Un produit non photostable voit son efficacité diminuer à partir d'un certain temps d'exposition au soleil.

Ainsi, la photostabilité est-elle une notion très importante pour les produits solaires. La photostabilité de chaque produit solaire devra être déterminée, d'une part de manière globale par réalisation des spectres d'absorption UV avant et après irradiation, pour évaluer la perte

d'efficacité, d'autre part de manière fine, par dosage des filtres avant et après irradiation, et par identification des photoproduits issus des filtres dégradés, qui peuvent être éventuellement toxiques.

Tous les filtres organiques sont photolabiles, mais certains le sont particulièrement, comme l'avobenzone et le Padimate O [128]. Au contraire, certains filtres UV (octocrylène, salicylates ou 4-méthylbenzylidène camphre) accroissent la photostabilité de la préparation finale. Il faut noter que les filtres inorganiques (TiO₂, ZnO) sont photostables, puisqu'ils réfléchissent les UV (contrairement aux filtres organiques qui absorbent ces radiations).

Néanmoins, la photoinstabilité de certains produits solaires apparaît dans la plupart des cas pour des doses d'UV très faibles. De plus, la photodécomposition de ces filtres entraîne une diminution de leur capacité d'absorption et le développement de photoproduits potentiellement dangereux. Aucune combinaison de filtres organiques ou inorganiques ne peut complètement prévenir cette photodégradation [128].

Différentes considérations sont alors à prendre en compte. Les filtres étant diversement photostables, il conviendra de réaliser les associations les plus judicieuses afin que la perte d'efficacité soit la plus faible possible. Il faudra être vigilant quant aux associations réalisées, les filtres UVA étant moins photostables que les filtres UVB. Un mauvais choix quant aux matières premières filtrantes pourrait conduire à des produits solaires faiblement protecteurs dans le domaine UVA ce qui n'est pas souhaitable [128]. Sur le plan de la toxicité, il est nécessaire d'étudier les photoisomères et les éventuels produits de dégradation. Il faut noter que la photoisomérisation est un équilibre. Ainsi, la réaction réversible se passe tout au long de l'irradiation. Cette réaction se fait par l'intermédiaire d'une espèce chimique transitoire très réactive, qui peut réagir avec les autres composants du produit solaire ou avec les molécules présentes dans l'épiderme.

I.2.1.3.2.3.2. Substantivité

Un produit solaire est aussi défini par sa substantivité, c'est-à-dire sa capacité à maintenir son efficacité dans des conditions peu favorables (sous l'effet d'exercices physiques prolongés, en cas de transpiration ou bien de natation par exemple) [10]. Ainsi, la substantivité correspond-elle à la capacité du produit à se fixer au niveau de la couche cornée sans être éliminé trop rapidement.

La substantivité des produits solaires est liée à leur capacité à adhérer ou à se combiner aux substrats kératinisés. Certains produits solaires sont filmogènes. Selon leur capacité de fixation au *Stratum corneum*, on distinguera deux catégories de filtres : ceux qui sont facilement déplacés de leur site d'action et dont le pouvoir protecteur est de courte durée, et ceux qui ont une forte affinité pour la kératine et qui constituent un réservoir d'actif au niveau cutané.

Les paramètres physiques qui influent sur l'adsorption sont les mêmes que ceux qui influent sur la pénétration cutanée, à savoir, la concentration, la taille et la configuration moléculaire de la substance appliquée, le pH et le degré d'hydratation de la couche cornée, et enfin les interactions possibles entre le produit adsorbé et le complexe « protéines fibreuses-lipides-eau » du *Stratum corneum*.

Pour les filtres substantifs, un temps de contact minimal est nécessaire à la diffusion puis à l'établissement de liaisons avec les substrats kératinisés. Ainsi, la durée de contact entre l'application, et l'immersion lors d'un bain par exemple, entraîne-t-elle des variations importantes de protection résiduelle surtout lorsque la vitesse de désorption est plus grande que la constante de diffusion. L'efficacité du photoprotecteur n'est conservée à l'immersion qu'à la condition d'attendre la fin de l'établissement d'un équilibre de diffusion [129].

I.2.1.3.2.3.3. Rémanence

La rémanence traduit la capacité d'un produit solaire à conserver ses propriétés protectrices durant une longue période. Cette propriété est liée à la résistance à l'eau du vecteur utilisé et à la photostabilité du mélange de filtres utilisés.

I.2.1.3.2.3.4. Largeur du spectre

Historiquement, et du fait de leur composition, les premiers produits solaires ne protégeaient que des érythèmes induits par les UVB [130]. Toutefois, les UVA, même s'ils sont bien moins énergétiques, peuvent aussi induire des érythèmes. De plus, il a été montré que les UVA jouaient un rôle important dans la promotion de la photocarcinogenèse, et dans le photovieillissement de la peau [131]. Il est donc primordial que les produits solaires aient un large spectre de protection, c'est-à-dire qu'ils protègent à la fois contre les UVB et contre les UVA. Certains dermatologues pensent que les filtres solaires sont dangereux par le fait même qu'ils suppriment l'érythème, première sonnette d'alarme de l'agression cutanée. Ils permettraient ainsi de supporter une dose considérable d'UVA qui deviendrait nocive à long terme [10].

Pour cette raison, la tendance actuelle est à la multiplication des filtres. On associe dans une formule plusieurs filtres de longueurs d'onde maximales d'absorption différentes. Cela permet d'élargir le spectre d'activité et d'obtenir une large couverture vis-à-vis de l'ensemble des radiations nocives.

I.2.1.3.2.3.5. Absence d'effets toxiques

En Europe, un produit solaire a un statut de produit cosmétique. Or, la première qualité d'un produit cosmétique est de ne pas nuire à la santé humaine. Un produit cosmétique ne doit pas être toxique dans les conditions normales d'emploi. Le mésusage (cosmétique avalé par exemple) n'est pas pris en compte. Les produits solaires, comme tout produit cosmétique, doivent être parfaitement sûrs pour la santé humaine. Ils doivent donc être formulés avec des ingrédients ayant fait preuve d'une totale innocuité. Pour vérifier l'innocuité d'un produit, on s'intéressera éventuellement à un possible passage transdermique.

Tous les filtres inscrits sur la liste positive de la Directive 76/768/CEE modifiée ont subi les nombreux tests toxicologiques imposés aux substances chimiques. Bien que la notion de passage transcutané ne soit pas évoquée du point de vue réglementaire, il conviendra de rechercher au maximum des filtres susceptibles de rester en surface. L'excipient jouera un rôle fondamental dans le phénomène de passage transdermique. Des molécules comme les esters de l'acide salicylique qui sont des molécules de faibles masses moléculaires, sont capables de traverser la couche cornée et le reste de l'épiderme pour être résorbées dans le derme. Les plus grosses molécules liposolubles ont une pénétration moindre [78].

Les filtres organiques sont absorbés par l'épiderme. Certains peuvent provoquer des allergies, des irritations ou des réactions photoallergiques. Selon des études récentes, certains filtres organiques seraient capables de se comporter comme des hormones sexuelles [132].

I.2.1.3.2.3.5.1. Passage transdermique et toxicité

Le passage transdermique ou pénétration cutanée correspond au cheminement d'une molécule au travers des différentes assises de la peau, depuis sa fixation dans les premières couches de cellules du *Stratum corneum* jusqu'à sa résorption transcutanée. Un certain nombre de filtres organiques sont capables de pénétrer jusqu'aux couches profondes de la peau et de se retrouver dans la circulation sanguine. On a ainsi pu en retrouver lors de dosages urinaires [10].

I.2.1.3.2.3.5.1.1. Les facteurs influençant la pénétration

Le passage transcutané et la quantité totale de produit absorbé par la peau dépendent de différents facteurs : véhicule utilisé, surface d'application, état de la peau (la pénétration est triplée sur un érythème léger, et multipliée par 7 sur un fort coup de soleil), âge de l'individu (détermine l'épaisseur de la peau par exemple)... Toutefois, on peut remarquer que le public demande aujourd'hui des produits solaires qui résistent à l'eau, ce qui encourage la production de véhicules plus lipophiles, qui peuvent favoriser l'absorption transcutanée des filtres organiques.

Par ailleurs, la pénétration cutanée peut être involontairement augmentée dans le cas d'états pathologiques qui accroissent la perméabilité cutanée. Ce sont en particulier :

- les phénomènes inflammatoires ;
- le psoriasis ;
- les lésions cutanées de grattage ;
- les dermatoses en général.

Les caractéristiques physicochimiques du filtre solaire dans notre cas jouent aussi un rôle important dans la pénétration cutanée [10].

La taille de la molécule constitue l'un des principaux facteurs. Ainsi, la pénétration est d'autant plus facilitée que la masse molaire de la molécule est faible. La forme de la molécule est un autre facteur à prendre en compte. Il est plus difficile pour les longues molécules linéaires de s'insinuer entre les cellules cornées que pour les molécules de forme plus ramassée [133].

Enfin, la nature chimique de la molécule est très importante. Il a été montré que le *Stratum corneum* constitue une barrière lipophile s'opposant à la pénétration des substances exogènes. D'autre part, les couches de l'épiderme se trouvant immédiatement sous le *Stratum corneum* sont de nature hydrophile. Cela limite l'absorption des molécules lipophiles. Ainsi, les produits les plus susceptibles de pénétrer sont ceux qui sont amphiphiles [133, 134].

I.2.1.3.2.3.5.1.2. Les mécanismes de l'absorption transcutanée

Plusieurs voies de passage à travers la barrière de la couche cornée s'offrent aux molécules susceptibles de pénétrer (figure 65) [10].

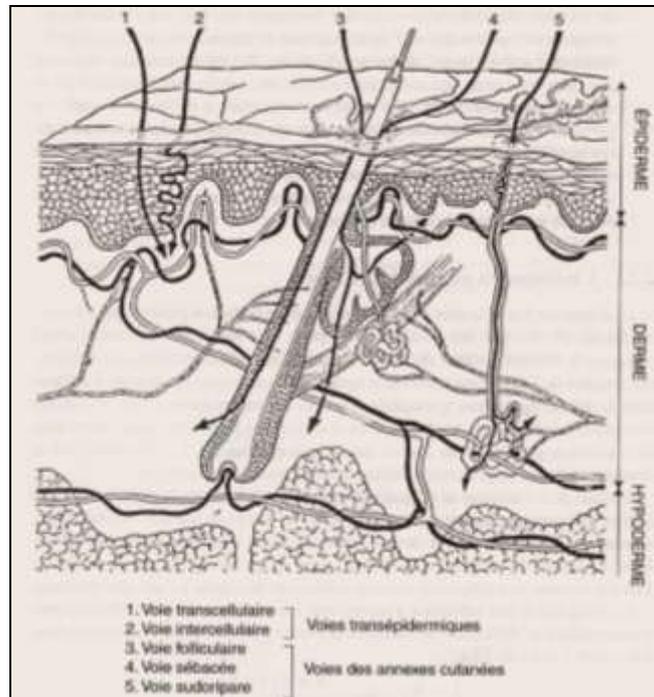


Figure 65 : Différentes voies de passage transcutanée [10]

- Un passage transcellulaire direct. Il est surtout emprunté par les molécules de petite taille. Historiquement, on a longtemps pensé que cette voie était peu commune et réservée aux molécules hydrophiles lorsque le *Stratum corneum* était suffisamment hydraté. Cependant, ce passage peut aussi faire intervenir la voie des cornéosomes (éléments du *Stratum corneum*, résidus de jonctions cellulaires, constituants du ciment intercellulaire). Etant donné leur nature protéique, ils peuvent devenir suffisamment amphiphiles pour laisser la possibilité à des molécules lipophiles de suivre cette voie.

- Un passage intercellulaire qui emprunte la voie tortueuse du ciment lipidique intercellulaire. C'est la voie la plus empruntée par les molécules amphiphiles ou lipophiles.

- Un passage transfolliculaire faisant intervenir les follicules pilosébacés. Le follicule pilosébacé est une minuscule poche traversant la surface de l'épiderme, le derme, l'hypoderme et contenant en son centre un poil ou un cheveu ainsi que des glandes sébacées (responsables de la sécrétion de sébum). Cette voie, relativement empruntée, se heurte à différents écueils. Ainsi, les glandes sébacées ont-elles tendance à capter les molécules lipophiles. De plus, l'écoulement de sébum, qui se fait de l'intérieur vers l'extérieur, a tendance à contrarier la pénétration de substances exogènes.

- Un passage par les glandes sudoripares. Cette voie est théoriquement possible mais rarement mise en évidence [133].

I.2.1.3.2.3.5.1.3. Les techniques d'évaluation du passage transdermique

Il existe différentes méthodes pour étudier l'absorption transcutanée. On distinguera deux types de techniques : les techniques *in vivo* d'une part, et les techniques *in vitro* d'autre part.

I.2.1.3.2.3.5.1.3.1. Les méthodes *in vivo*

Les méthodes *in vivo* ont l'avantage de refléter les conditions réelles d'utilisation, ainsi que de permettre d'étudier la cinétique de pénétration sur une longue période et sur différents types de peau. Néanmoins, il peut être délicat de détecter un actif présent en trop faible quantité dans l'organisme. De plus, l'expérimentation animale est actuellement sujette à controverse, et l'extrapolation de l'animal à l'homme est parfois délicate.

Parmi ces méthodes *in vivo* on peut citer la quantification du produit testé dans le sang, les urines, les fèces, le rein, le foie et parfois les muscles. Notons aussi la méthode des différences, qui consiste à extrapoler le taux de pénétration à partir de la quantité d'actif restant à la surface de la peau [133]. Enfin, une autre méthode *in vivo* a été développée pour l'étude des molécules à usage topique : la méthode du stripping. Elle consiste à appliquer sur la peau des sujets la substance à étudier, puis à prélever, à l'aide de rubans ou de pastilles adhésifs, les différentes couches cellulaires du *Stratum corneum*. La quantité de produit présente dans les strippings est ensuite dosée par une méthode analytique adaptée [133].

I.2.1.3.2.3.5.1.3.2. Les méthodes *in vitro*

Les méthodes *in vitro* sont assez simples à mettre en œuvre, mais peuvent parfois donner des résultats trompeurs. Il existe une méthode *in vitro* de mesure quasi officielle de la pénétration cutanée. Elle a été proposée par le SCCP (Scientific Committee on Cosmetic Products) au niveau européen. Cette méthode consiste à étudier la pénétration au travers d'un échantillon de peau humaine (excisée suite à une intervention chirurgicale) ou animale (fragments de peau de porcs jeunes), maintenu à 32°C. La mesure peut aussi se faire en déterminant la pénétration à travers une membrane synthétique dont les caractéristiques sont les plus proches possibles de celles de la peau humaine. Le substrat est ensuite monté sur une cellule de Franz (figure 66).

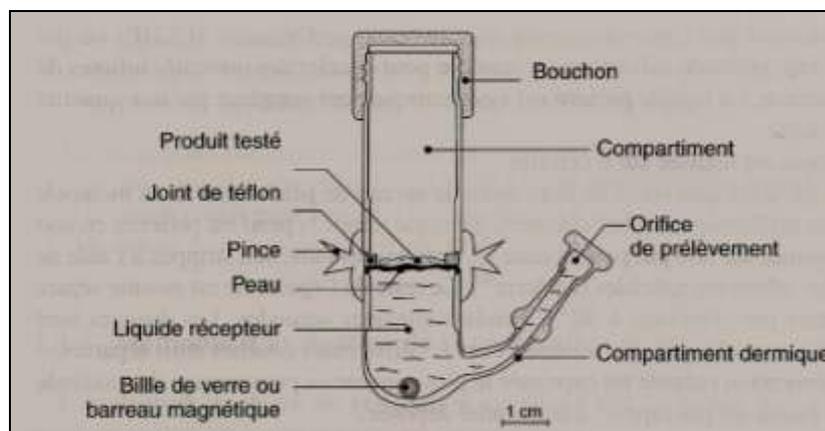


Figure 66 : Schéma de la cellule de Franz modifiée par J.P. Marty [10]

Une certaine quantité de la préparation à étudier (la molécule active incorporée dans son véhicule) est déposée uniformément à la surface du support choisi. Le compartiment

receveur de la cellule est rempli d'un liquide choisi en fonction des caractéristiques de la molécule à étudier : solution de NaCl à 0,9% pour une molécule hydrophile, mélange d'eau et d'albumine pour une molécule lipophile. On prélève ensuite une partie du liquide receveur à intervalles de temps réguliers (de 1 à 24 heures) dans lequel on dose la molécule à étudier. Le liquide prélevé est systématiquement remplacé par une quantité équivalente de véhicule [10].

I.2.1.3.2.3.5.1.4. Quelques exemples

L'étude de la pénétration transcutanée de certains filtres solaires a été réalisée. Les filtres organiques ainsi étudiés sont surtout des filtres UVB, connus depuis longtemps. Il apparaîtrait que les salicylates, les cinnamates, les benzophénones et le méthylbenzylidène camphre pénètrent de façon relativement importante à travers la peau [97]. De plus, il a été montré que des esters du PABA peuvent pénétrer à travers l'épiderme humain. Ils peuvent aussi altérer sélectivement les mélanocytes de la peau [135].

Il est possible de doser de faibles quantités de filtre solaire présent dans le plasma et l'urine par chromatographie liquide haute performance (CLHP). La pénétration transcutanée de plusieurs filtres organiques a ainsi pu être déterminée : 1,7g d'un produit solaire (contenant 8 % d'homosalate, 7,5 % d'OMC, 6 % d'oxybenzone et 5 % de 2-Ethylhexyl salicylate) ont été appliqués sur le dos et les bras de volontaires. Ensuite, la pénétration du produit dans la peau, l'absorption systémique et l'élimination par les urines ont été étudiées [109]. Cette étude montre que l'oxybenzone, l'octinoxate et le 2-éthylhexyl salicylate semblent avoir une meilleure affinité pour le *Stratum corneum* que l'homosalate. De surcroît, l'oxybenzone semble pénétrer de manière non négligeable dans l'organisme : c'est le seul filtre dont la quantité soit mesurable dans le plasma (130 ng/ml au bout de 8 heures), les autres filtres étant en-dessous des limites de détection.

Les filtres inorganiques ne pénètrent pratiquement pas à travers la peau. En effet, ils sont insolubles dans les solvants aqueux ou organiques. Ainsi, même pour de très petites tailles de particules ($\approx 10 \mu\text{m}$), le TiO_2 micronisé ne semble-t-il pas passer au travers de la peau (*in vitro*), quelle que soit la forme ou la surface des particules. Grâce à la microscopie électronique, on a constaté que ce filtre ne pénètre que dans les deux premières couches du *Stratum corneum* [97].

Il a été rapporté que certains filtres interagissaient avec la peau lors d'expositions au soleil. Ces filtres sont l'oxybenzone, le PABA et le Padimate O [9]. Lorsqu'ils sont à l'état excité, ils peuvent par exemple produire des oxygènes singulets et ainsi endommager l'ADN cellulaire. Il est possible d'éviter ce phénomène en ajoutant à la formulation des capteurs de radicaux libres. En ce qui concerne les écrans minéraux, ils pourraient être potentiellement nocifs en milieu aqueux, après une irradiation UV [97]. Dans ces conditions, ils peuvent générer des espèces réactives. Toutefois, l'absence d'absorption par la peau diminue la portée de cette observation.

Deux facteurs, en particulier, semblent importants lorsque l'on étudie la pénétration des filtres solaires à travers la peau. Tout d'abord, le véhicule employé peut grandement influencer le taux, la distribution et l'ampleur du phénomène. Par ailleurs, les filtres organiques les plus lipophiles possèdent la plus grande affinité pour le *Stratum corneum*, ce qui tend à réduire leur diffusion dans les couches les plus profondes [133].

I.2.1.3.2.3.5.2. Les effets systémiques

Un certain nombre d'études rapportent que certains filtres UV pourraient avoir des effets endocriniens.

Ainsi, Margaret Schlumpf a montré *in vivo* et *in vitro* que certains filtres possédaient des effets oestrogéniques. Des filtres UVB et UVA, tels que l'oxybenzone, l'homosalate, le 4-méthylbenzylidène camphre (4-MBC), l'OMC et le Padimate O augmenteraient la prolifération *in vitro* des cellules MCF-7 de cancer du sein. Des tests sur des rats femelles ont montré que le poids utérin augmentait, proportionnellement à la concentration, lors de l'administration orale de certains filtres, comme le 4-méthylbenzylidène camphre, l'OMC et l'oxybenzone. Enfin, l'application topique du 4-méthylbenzylidène camphre chez des rats femelles accroît également le poids utérin. Il semblerait donc qu'il y ait un lien entre le 4-MBC et les récepteurs oestrogéniques utérins [103].

Ces résultats ont entraîné une controverse à propos de la sécurité d'emploi des filtres solaires. Certains pays européens sont même allés jusqu'à interdire du marché les filtres suspectés. A l'heure actuelle, le SCCP (Scientific Committee on Consumer Products) a déclaré que les filtres organiques présents sur le marché européen ne présentaient pas d'effets oestrogéniques [108].

Une étude similaire du même auteur, publiée en 2004, a montré le même type d'activité œstrogénique pour la benzophénone-4 et l'avobenzone [104]. Toutefois, l'auteur s'accorde à dire que les résultats dépendent considérablement du système *in vitro* employé. L'activité anti-androgénique de nombreux filtres a été testée. Deux filtres, la benzophénone-3 et l'homosalate semblent avoir un effet sur la prolifération des cellules MDA-kb2 de cancer du sein. Aucun de ces filtres ne semble avoir d'activité androgénique [136]. Le 4-MBC a fait l'objet d'études approfondies *in vitro*. Il a été montré que ce filtre exerce un effet sur de nombreux organes [104]. Il augmente le poids de la thyroïde, de l'utérus et des ovaires. Il diminue le poids de la prostate, retarde la puberté et influence le système immunitaire néonatal.

Néanmoins, une étude contradictoire à ce sujet, montre que le 4-méthylbenzylidène camphre n'a pas d'effet sur la thyroïde ni sur le système hormonal sexuel des grenouilles *Xenopus laevis* [101]. La concentration de 4-méthylbenzylidène camphre employée lors de cette étude est au maximum de 50 µg.L⁻¹.

Toutefois, les effets endocriniens de ces filtres demeurent sujets à controverse. Des questions ont été soulevées quant aux modèles expérimentaux et aux techniques utilisés [137]. Ainsi, dans les expériences *in vivo*, l'exposition topique aux filtres UV semble-t-elle extrêmement élevée comparée à l'exposition humaine moyenne. Enfin, certains auteurs ont émis des doutes quant aux conclusions de M. Schlumpf dans la mesure où il existe un consensus international déclarant justement que les données *in vitro* ne peuvent permettre de conclure sur les risques que représente un produit.

Une autre étude plus récente (2006) porte sur les effets hormonaux multiples des filtres UV [138]. Les produits solaires contenant des mélanges de filtres UV sont appliqués en grande quantité sur la peau. Ces filtres persistent dans l'environnement et sont généralement lipophiles. Pour ces raisons, ils peuvent représenter un danger pour l'environnement. Ainsi, 3 filtres UV ont été détectés dans un lac à des concentrations non négligeables : 166 ng/g pour

le 4-MBC, 123 ng/g pour l'oxybenzone et 64 ng/g pour l'octinoxate [139]. De plus, tous les filtres testés ont des activités hormonales multiples. Les activités anti-oestrogénique et anti-androgénique de ces filtres sont plus marquées que l'activité oestrogénique.

Le tableau 26 compare les activités hormonales de différents filtres UV, par rapport à celles des standards utilisés pour déterminer la réponse hormonale dans chaque cas, à savoir le 17 β -oestradiol pour l'activité oestrogénique, le 4-hydroxytamoxifène pour l'activité anti-oestrogénique, la 4,5-dihydrotestostérone pour l'activité androgénique et le flutamide pour l'activité anti-androgénique.

Composé	Activité oestrogénique	Activité anti-oestrogénique	Activité androgénique	Activité anti-androgénique
<i>4-methylbenzylidene camphre</i>	-	1 / 190	-	1 / 3
<i>Benzophenone-3</i>	1 / 45 000	1 / 45	-	1 / 1,3
<i>Benzophenone-4</i>	1 / 380 000	1 / 5 700	-	1 / 40
<i>Octinoxate</i>	-	1 / 14 900	1 / 4 100 000	1 / 37
<i>Octocrylene</i>	-	1 / 2 250	1 / 290 000	1 / 11
<i>Homosalate</i>	-	1 / 3 500	1 / 110 000	1 / 17
<i>Octisalate</i>	-	1 / 20 000	1 / 45 000	1 / 1,1
<i>PABA</i>	-	1 / 24 300	-	-
<i>Padimate O</i>	-	1 / 4 600	-	1 / 2

Tableau 26 : Activités hormonales de différents filtres organiques [138]

On peut voir qu'effectivement, l'activité anti-androgénique de la plupart des filtres étudiés est très marquée. L'activité anti-oestrogénique du 4-méthylbenzylidène camphre et de la benzophénone-3 est importante, mais demeure extrêmement faible pour les autres filtres testés. Aucun des filtres testés ne semble avoir d'activité oestrogénique ou androgénique. Pour l'instant, aucune autre étude n'a cherché à évaluer l'activité androgénique potentielle des filtres UV.

Certains filtres posséderaient donc des activités hormonales multiples. Toutefois, on ne sait pas encore quelles structures spécifiques sont nécessaires pour avoir cette combinaison d'activités hormonales multiples. Les activités anti-oestrogéniques et anti-androgéniques *in vitro* sont plus marquées que l'activité oestrogénique, ce qui est d'un grand intérêt pratique et scientifique. De nombreux composés oestrogéniques ont plusieurs modes d'action. De plus, leurs diverses activités hormonales sont très complexes. Il reste donc un large champ d'investigation sur les effets endocriniens des filtres solaires (spécialement les effets androgéniques), ainsi que sur les conséquences de ces effets. Il faudra notamment se demander si ces filtres peuvent avoir un effet néfaste sur l'homme et/ou sur son environnement. Par ailleurs, à l'heure actuelle, la pertinence biologique des effets endocriniens des filtres UV testés n'a pas encore été établie.

I.2.1.3.2.3.5.3. Les effets locaux

Certains filtres solaires organiques peuvent potentiellement entraîner des effets secondaires gênants, comme des irritations, des allergies de contact immédiates ou retardées, des photoallergies et des effets phototoxiques [9]. Nous allons étudier les deux types d'effets locaux : les phénomènes allergiques et les effets irritants.

1.2.1.3.2.3.5.3.1. Les phénomènes allergiques

Les allergies correspondent à une réaction individuelle au cours de laquelle l'agent extérieur (haptène) se combine aux protéines de la peau pour constituer l'allergène. La réaction se produit à distance du point de contact et n'est pas proportionnelle à la quantité de produit appliqué [10].

Les réactions allergiques aux filtres organiques sont rares. Les effets allergiques peuvent être parfois trompeurs [97]. Les manifestations cliniques de l'allergie peuvent dans certains cas être considérées comme une preuve de l'inefficacité du produit et non pas comme une réaction allergique proprement dite. Dans ce cas, la sensation de brûlure due à l'allergie est prise pour un coup de soleil.

La fréquence des cas de photoallergie est délicate à évaluer, mais on peut estimer qu'elle touche moins de 2 % de la population. De nombreux filtres capables d'engendrer ce type d'allergie ont été recensés [9]. Parmi les filtres UVA, on peut citer la benzophénone-3, qui constitue l'allergène le plus courant, l'avobenzone et la benzophénone-4. Concernant les filtres UVB, les allergènes courants sont le PABA, l'octyl diméthyl PABA (le Padimate O), le 4-méthylbenzylidène camphre, l'octinoxate et l'acide 2-phénylbenzimidazole-5-sulfonique (ensulizole). Toutefois, les réactions allergiques demeurent rares, si l'on se réfère à l'utilisation extrêmement répandue des produits solaires. Le pouvoir allergisant et photoallergisant de certains filtres a été classé, du plus allergisant au moins allergisant (figure 67).

<u>POUVOIR ALLERGISANT</u>	<u>POUVOIR PHOTOALLERGISANT</u>
- Isopropyl dibenzoyl methane	- Oxybenzone
- PABA	- Isopropyl dibenzoyl methane
- Methylbenzylidene camphor	- Methylbenzylidene camphor
- Avobenzone	- Avobenzone
- Cinnamates	- PABA
- Benzophénone (oxybenzone)	- Cinnamates
- Phénylbenzimidazole sulfonic acid	- Phénylbenzimidazole sulfonic acid
- Salicylates	

Figure 67 : Pouvoir allergisant et photoallergisant de certains filtres organiques, par ordre décroissant [97]

En ce qui concerne les benzophénones, elles ont été responsables d'un grand pic de photoallergie dans les années 90. De ce fait, à l'heure actuelle, il y a une nette diminution de leur emploi et par incidence des cas de photoallergies [97]. De plus, si un produit solaire contient de la benzophénone-3 à une concentration supérieure à 0,5 %, la réglementation européenne précise que le fabricant doit faire figurer sur l'emballage la mention « contient de l'oxybenzone ».

Il existe une méthode pour diagnostiquer les cas de photoallergie éventuelle. Grâce à des « photopatch tests », on reproduit expérimentalement la réaction cutanée après application du produit suspecté et irradiation, en comparant la molécule suspectée à une batterie standard (PABA, octinoxate, oxybenzone...) [50].

I.2.1.3.2.3.5.3.2. Les effets irritants

Le phénomène d'irritation se manifeste lorsque l'intégrité morphologique ou fonctionnelle des cellules épidermiques est atteinte. L'irritation traduit les altérations survenant au niveau de ces cellules. Les manifestations de l'irritation ont une intensité variable, allant d'un léger érythème avec un assèchement de la peau à une destruction irréversible des cellules épidermiques avec apparition de zones nécrotiques. Les facteurs d'irritation sont liés au produit, à la quantité appliquée, à ses caractéristiques physicochimiques et à sa durée d'application. Mais ils sont aussi liés à l'individu [10]. Presque 20 % des individus utilisant un produit solaire affichant un SPF de 15 ou plus sur une période de 7 mois ont déclaré avoir développé des réactions d'irritation [140]. Il faut relativiser ces résultats dans la mesure où cette étude date de 1993. De plus, elle a été effectuée en Australie où l'utilisation des produits solaires est extrêmement fréquente tout au long de l'année.

I.2.1.3.2.3.5.3.3. Les différences entre les effets irritants et allergiques

Le tableau 27 compare les réactions allergiques et les réactions d'irritations.

Irritation	Allergie
Fréquence	
70 à 80 % des réactions d'intolérance	20 à 30 % des réactions d'intolérance
Caractéristiques	
Phénomène collectif	Phénomène individuel
Apparition rapide	Retardée
Au point de contact	A distance
Proportionnel à la concentration	Non proportionnel à la concentration
Sensation de brûlure, surface luisante	Prurit, eczéma
Histologie	
Infiltrat à polynucléaires	Infiltrat à lymphocytes
Lieu	
Epiderme	Derme
Mécanisme	
Toxique	Immunologique
Destruction du film hydrolipidique et des cellules du <i>Stratum corneum</i>	Pas de destruction cellulaire

Tableau 27 : Caractéristiques comparatives de l'irritation et de l'allergie [10]

I.2.1.3.2.3.6. Aspect esthétique

D'autres facteurs sont à prendre en compte dans la formulation d'un produit solaire, notamment la satisfaction de l'utilisateur lors de l'emploi du produit. Ainsi, le produit doit-il avoir un parfum et un toucher agréables, et être rapide et simple à étaler.

Lors de l'utilisation de crèmes, les utilisateurs aiment aussi que celles-ci soient hydratantes, c'est-à-dire qu'elles empêchent le dessèchement de la peau. Les crèmes doivent aussi être le plus transparentes possible, ce qui est un problème entre autres avec les filtres

UVA, qui risquent d'être colorés car ils absorbent près du visible, mais aussi pour les particules solides dispersées [9].

I.2.2. Détermination de l'efficacité des produits solaires

I.2.2.1. Notion de SPF

Appelé encore Facteur de Protection Solaire (FPS) ou Indice de Protection (IP), le Sun Protection Factor (SPF) est proportionnel à l'effet photoprotecteur d'un produit vis-à-vis des UVB. Depuis quelques années, on dispose aussi de méthodes de détermination de l'indice de protection vis-à-vis des UVA.

Le SPF est un indicateur de l'efficacité d'un produit solaire. Ce facteur est déterminé en contrôlant la sensibilité individuelle aux érythèmes solaires par des radiations UV, avec ou sans produit solaire [130]. Le SPF est défini selon :

$$SPF = \frac{DME \text{ d'une peau protégée par un filtre solaire}}{DME \text{ d'une peau non protégée}}$$

La Dose Minimale Erythématogène (DME) est la dose minimale de radiations UV provoquant un érythème. Les UVB sont responsables de 80 à 90% des érythèmes solaires. La mesure du SPF basée sur la détermination de la quantité d'UV nécessaire au développement d'un érythème est un indicateur de la protection dans le domaine UVB [130]. Schulze est le premier à avoir introduit cette notion de SPF. Ce concept a ensuite été étendu et popularisé par Greitzer, qui a aussi décrit une méthode permettant de mesurer la résistance à l'eau des produits solaires [130].

La DME est exprimée en $J.cm^{-2}$ mais correspond, en pratique, au temps nécessaire pour obtenir le seuil d'érythème. L'indice de protection serait donc le facteur multiplicateur du temps d'autoprotection naturelle de la peau, celui-ci étant de 20 minutes pour un phototype III, à midi, au bord de mer, en été. Un produit ayant un SPF de 6 permettrait en théorie une exposition de 120 minutes dans les mêmes conditions pour l'obtention d'un érythème à la place de débutant « léger à bords nets ». On s'oriente actuellement vers une autre interprétation de l'indice de protection en ne lui attribuant que la valeur d'un indice d'efficacité sans le relier à un temps d'exposition [10].

En 2003, les protocoles publiés par le COLIPA (Comité de Liaison des Industries de la Parfumerie) ont été utilisés comme base de travail pour le développement d'une méthode de test internationale harmonisée entre les groupes de travail européens, japonais et sud-africains. Elle a été actualisée en 2006 en utilisant les standards américains [141].

I.2.2.2. Mesure de la protection contre les UVA

Longtemps, les quelques méthodes proposées pour la détermination des indices de protection vis-à-vis des UVA ont été basées, comme pour les UVB, sur la quantification d'un érythème. Or, les UVA sont beaucoup moins énergétiques que les UVB. De ce fait, pour obtenir un érythème par irradiation UVA, il est nécessaire soit de prolonger le temps d'irradiation, soit d'augmenter l'intensité de l'irradiation par l'utilisation de lampes à forte puissance, soit d'utiliser des agents photodynamisants tels que les psoralènes. Cette dernière

technique, employée il y a une vingtaine d'années, a été rapidement abandonnée pour des raisons éthiques, ce type d'irradiation pouvant induire des sensibilisations, et à terme des cancers cutanés [10].

Différentes techniques pour déterminer le niveau de protection contre les UVA ont été mise au point, mais il n'existe actuellement aucune méthode permettant la détermination des effets biologiques des UVA sur la peau.

I.2.2.3. Les méthodes de mesure du SPF et du FP-UVA

I.2.2.3.1. Les méthodes in vivo de mesure du SPF

La première méthode standardisée pour la détermination du SPF a été la « Proposed Monograph 1978 » développée par la FDA (Food and Drug Administration) aux Etats-Unis, suivie par la norme allemande DIN 67501 qui a aussi été appliquée dans d'autres pays d'Europe. Ces deux méthodes présentent des différences significatives. Tout d'abord, la source d'UV est différente : il s'agit d'une lampe au xénon pour la méthode de la FDA, et d'une lampe à vapeur de mercure associée à la lumière naturelle pour la méthode allemande. De plus, la quantité de produit solaire appliquée sur la peau n'est pas la même : 2 mg.cm^{-2} pour la méthode de la FDA, et $1,5 \text{ mg.cm}^{-2}$ pour la norme allemande [141]. Cela a mené à certaines divergences quant aux SPF mesurés.

D'autres pays ont ensuite mis au point leurs propres protocoles : la « Standards Association of Australia » en 1986 (la version la plus récente date de 1998 en association avec la « New Zealand Standards Association ») qui inclut la mesure du SPF et de la résistance à l'eau [142], la « Japanese Cosmetic Industry Association » (JCIA) en 1991 (la version la plus récente date de 1999) et enfin le « South African Bureau of Standard » en 1992 (mise à jour en 2002). La dernière version de la monographie de la FDA date de 1999 mais des ajouts y sont faits régulièrement [143].

La méthode COLIPA est basée sur la technique de Schulze réalisée *in vivo* sur des panels de 10 à 20 volontaires [130]. On applique sur le dos de chaque sujet un cache percé de fenêtres d'un cm^2 et l'on expose toute la surface aux radiations d'une lampe à arc au xénon en obturant chaque trou à des temps progressivement croissants (figure 68). L'apparition du seuil d'érythème est évaluée 24 heures après irradiation. On détermine ainsi la Dose Minimale Erythématogène (DME) sans protection et parallèlement avec protection.



Figure 68 : Protocole de mesure du SPF *in vivo*

Le spectre d'action érythématogène mesuré par la CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) a montré que la longueur d'onde pour laquelle la sensibilité de la peau était maximale est de 298 nm. Schulze a été le premier à calculer l'efficacité relative érythématogène des radiations solaires. En intégrant le spectre d'action érythématogène avec le spectre des radiations solaires globales, il a montré que les longueurs d'onde les plus susceptibles d'induire des érythèmes sont comprises entre 306 et 310 nm (figure 69) [130].

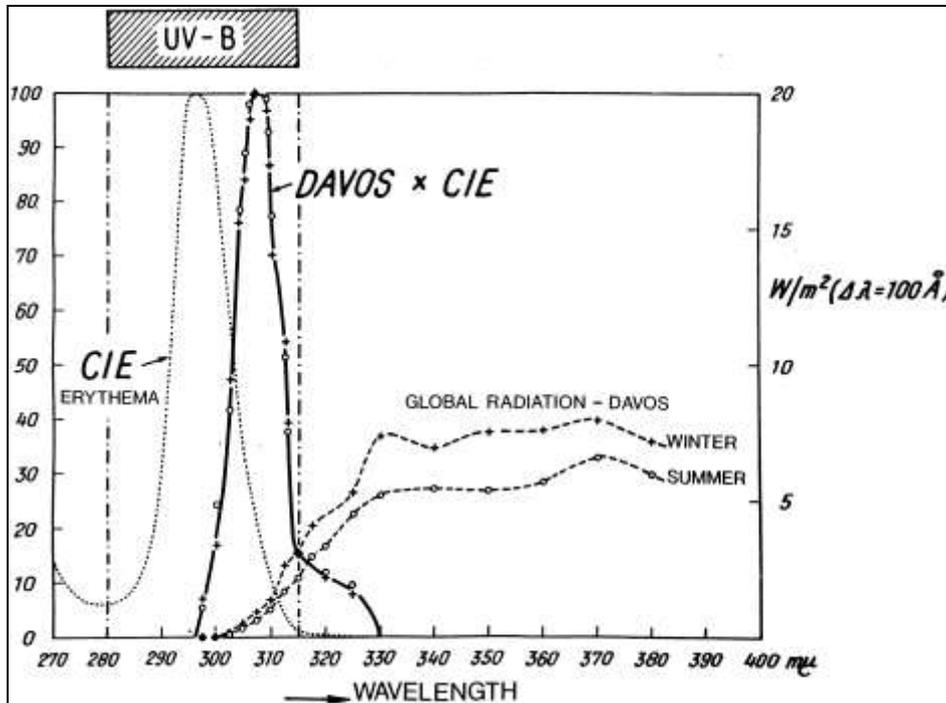


Figure 69 : Courbe d'efficacité érythématogène selon le CIE, les radiations globales mesurées à Davos, et leur produit ; selon Schulze [130]

Les lampes à arc au mercure ont longtemps été les sources lumineuses les plus employées pour induire les érythèmes. Les pics spectraux de ces lampes sont situés à 297,5 et 303 nm. Ainsi, comparés au pic solaire de 307 nm, un faux sentiment de sécurité était-il induit [130]. Aujourd'hui, on utilise surtout des lampes à arc au xénon qui possèdent des raies spectrales intenses dans les UV.

Des critiques sont émises quant à la pertinence du SPF affiché. En effet, cette valeur correspond à un SPF moyen obtenu avec un panel de 10 à 20 sujets. Selon le nombre de sujets retenus, leur phototype, la saison ... les résultats obtenus pour un même produit pourront être différents. Par ailleurs, la notion de dose appliquée est importante. Elle est de 2 mg.cm^{-2} lors des tests d'efficacité. En revanche, des observations faites sur des groupes de consommateurs indépendants ont montré que la dose appliquée en réalité est comprise entre 0,5 et 1 mg.cm^{-2} [144]. Cela fausse donc la valeur du SPF. De plus, bien que la valeur du SPF en laboratoire prenne en compte la photodégradation du produit solaire à court terme, ces tests n'incluent pas la diminution du SPF par des facteurs environnementaux (eau, transpiration...). Ils ne tiennent pas compte non plus des effets de la photodégradation lors d'expositions longues et répétées au soleil. Enfin, la valeur du SPF dépend aussi de la source lumineuse et de la longueur d'onde employées. Les mesures de SPF sont généralement effectuées avec des sources d'UV émettant un taux d'UVA inférieur à celui de la lumière naturelle.

On pourrait penser que les produits solaires sont capable de réduire les effets à long terme des UVA, comme le photovieillissement et les cancers de la peau. Cependant, l'indicateur affiché sur les produits solaires traduit une protection vis-à-vis de l'effet érythématogène des UVB. Cet indicateur ne suffit donc pas pour prévoir l'efficacité des produits solaires. Reste la question de savoir si les produits solaires permettent de lutter contre d'autres effets néfastes du soleil [107].

Afin d'obtenir des renseignements plus complets sur la protection solaire exercée par les produits solaires, deux notions ont été introduites : le facteur de protection immunitaire [145] (immune protection factor) et le facteur de protection vis-à-vis des mutations (mutation protection factor) [146].

Le facteur de protection immunitaire, analogue au SPF, définit la capacité d'un produit solaire à protéger contre l'immunosuppression. Il est calculé en comparant les doses minimales immunosuppressives d'une peau protégée, avec celles d'une peau non protégée. Le problème de ce test est qu'il n'est pas encore standardisé et qu'il dépend donc du type de test immunologique utilisé. Parmi ces tests, on peut citer les méthodes d'hypersensibilité de contact, et de réaction d'hypersensibilité retardée, qui sont couramment employées.

Le facteur de protection contre les mutations est défini comme la capacité d'un produit solaire à inhiber les mutations du gène p53, induites par exemple par les radiations UVB. Néanmoins, tout comme pour le facteur de protection immunitaire, ce test n'est pas standardisé.

I.2.2.3.2. Les méthodes in vivo de mesure du FP-UVA

La France est l'un des rares pays européens à utiliser des méthodes d'évaluation des indices anti-UVA *in vivo*. Ces méthodes sont basées sur l'observation et la mesure d'une réponse biologique de la peau spécifique aux UVA, à savoir la pigmentation immédiate (IPD – Immediate Pigment Darkening) ou persistante (PPD – Persistent Pigment Darkening) [129].

I.2.2.3.2.1. Facteur de protection érythématogène et facteur de protection phototoxique

Ces méthodes se basent sur la mesure de l'érythème ou de la pigmentation induite et sur un calcul de facteur de protection similaire à celui du FPS. Cette méthode n'est pratiquement plus utilisée car elle n'est pas fiable. La méthode phototoxique, quant à elle, nécessitait l'utilisation de psoralènes, ce qui n'est pas acceptable sur un plan éthique [129].

I.2.2.3.2.2. Méthode IPD

La pigmentation induite par les UVA par oxydation de la mélanine et ses précurseurs (phénomène de Meirowski, ou hâle du soir) est mesurée immédiatement après irradiation et jusqu'à 15 minutes après. Il s'agit d'une pigmentation transitoire de la peau apparaissant rapidement après exposition aux UVA. Cette pigmentation, partiellement réversible à l'arrêt de l'exposition, est dépendante de l'oxygène. Elle se développe sous l'effet de doses d'UVA comprises entre 1 et 6 J.cm⁻² et résulte de la photo-oxydation des mélanines ou de leurs précurseurs dans la peau de sujets de phototypes III et IV. Elle n'apparaît pas chez tous les sujets, et est de nature fugace, d'où la difficulté de mise en place de cette méthode [10, 129].

A l'arrêt de l'exposition, la coloration disparaît progressivement, et rapidement, dans les deux heures. Le FP-UVA est calculé comme le SPF selon un rapport de doses cette fois-ci pigmentantes et non plus érythématogènes.

Le principal avantage de cette méthode est qu'elle est facile à mettre en œuvre. Elle présente toutefois de nombreuses limites. Tout d'abord, les doses d'UVA employées ne semblent pas réalistes (1 à 6 J.cm⁻²). De plus, la mesure est réalisée dans la zone où la pigmentation diminue rapidement. Le facteur de protection obtenu est donc surestimé. Ensuite, la pigmentation semble relativement difficile à apprécier dans la mesure où la lecture est effectuée peu de temps après l'irradiation. La pigmentation peut alors être confondue avec un érythème thermique. La pertinence clinique est aussi considérée comme faible par certains dermatologues puisque le spectre d'action de l'IPD varie des spectres d'action de l'érythème, du cancer de la peau et du photovieillessement. Enfin, la reproductibilité est incertaine et le test n'inclut que des volontaires de phototypes III et IV [129].

I.2.2.3.2.3. Méthode PPD

Cette méthode est dérivée de la précédente. La pigmentation induite par les UVA est mesurée deux heures après irradiation, c'est-à-dire lorsque la pigmentation est stabilisée. Le calcul est fait de la même façon que pour l'IPD.

Les avantages de cette méthode sont que les doses d'UVA appliquées (environ 15 J.cm⁻²) sont plus réalistes que pour l'IPD. De plus, la mesure est effectuée dans une zone stabilisée de pigmentation, ce qui donne plus de fiabilité à la lecture.

Cependant, cette technique n'est pas dépourvue d'inconvénients. La méthode a un coût important. Ce coût est lié, en grande partie, aux volontaires immobilisés durant un temps assez long, soit de l'irradiation jusqu'à la lecture. De plus, tout comme pour l'IPD, ce test n'inclut que des volontaires de phototypes III et IV. Le problème du spectre d'action se pose comme pour l'IPD [129].

I.2.2.3.3. Les méthodes in vitro

In vitro, le principe des méthodes de détermination de l'efficacité photoprotectrice des produits solaires est basé sur la loi de Beer-Lambert :

$$\begin{array}{l} A = -\log T = -\log \frac{I}{I_0} \\ A = \epsilon l c \end{array}$$

avec A, l'absorbance ; T, la transmittance, I, l'intensité de la lumière transmise par l'échantillon ; I₀, l'intensité de la lumière incidente ; ϵ , le coefficient d'extinction molaire (L.mol⁻¹.cm⁻¹) ; l, la longueur du trajet optique (en cm) et c la concentration molaire.

Il s'agit de mesurer par spectrophotométrie de transmission le spectre d'absorption du filtre en solution ou du produit solaire appliqué sur un substrat mimant le relief de la peau. L'efficacité de la protection contre les rayonnements UVB et UVA, est ensuite déterminée par calcul de la quantité d'énergie « efficace » qui va arriver sur l'épiderme aussi bien dans le

domaine UVA que dans le domaine UVB. On prend en compte le spectre d'action des radiations UV pour le dommage considéré [129].

La méthode de Diffey et Robson [147] est pratiquée depuis les années 1990. Elle préconise une mesure comparative, à l'aide d'un spectrophotomètre à sphère d'intégration, de la transmission entre 290 nm et 400 nm par bandes de 5 nm, l'échantillon étant soumis au rayonnement UV d'une source stable et connue couvrant la totalité du spectre UV (lampe à arc au xénon). Les intensités de rayonnement UV transmises sont mesurées par un détecteur après passage à travers un monochromateur. Le facteur de protection monochromatique (mPF λ) est le rapport des intensités UV enregistrées, à une longueur d'onde λ , avant et après application du produit [129]. Le fonctionnement de ce spectrophotomètre sera décrit en détail ultérieurement.

Diffey et Robson ont établi une relation qui relie la transmittance mesurée à la valeur du SPF du produit testé :

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

avec E_{λ} , l'efficacité érythématogène spectrale (CIE) ; S_{λ} , l'irradiance spectrale solaire et T_{λ} la transmittance spectrale de l'échantillon [148].

De la même manière, il est possible d'appliquer cette relation au domaine UVA en intégrant de 320 nm à 400 nm. On peut alors déterminer le facteur de protection UVA :

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

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

D'autres méthodes *in vitro* pour la mesure de la protection UVA des produits solaires existent [129], parmi lesquelles :

- la méthode australienne officielle (AS/NZS-2604, 1993, révisée en 1997 et 1998) qui consiste à déterminer les valeurs de transmission des produits testés entre 320 et 360 nm. Il faut que les produits arrêtent un minimum de 90 % sur l'ensemble de la plage définie. Quatre méthodes sont proposées : les deux premières en cuve de quartz mesurent le pourcentage de transmission du produit en solution dans un mélange de solvants, les deux dernières mesurent la transmission du produit appliqué sur des plaques de quartz. Si plus de 90 % du rayonnement est absorbé ou réfléchi, le produit est conforme à la norme australienne. Cette méthode est peu représentative des conditions réelles mais offre une bonne reproductibilité. Elle tient peu compte des UVA longs (UVA1).

- le « Boots Star rating system ». Boots est le leader sur le marché des produits de protection solaire en Grande-Bretagne. Cette société a développé et mis en application un système d'étiquetage de la protection UVA. La protection UVA est indiquée à l'aide d'étoiles allant d'une étoile pour une protection « modérée », à cinq étoiles pour « maximale ». Il s'agit de mesurer les valeurs de densité optique, représentées en fonction de la longueur d'onde, et de calculer par intégration des aires par unité de longueur d'onde sous les portions UVA et UVB, d'un échantillon appliqué sur un substrat mimant la porosité de la peau et sa texture. Le résultat est évalué à partir du calcul du rapport entre l'absorption totale dans l'UVA sur celle dans l'UVB, appelé ratio UVA (tableau 28). A cette méthode, il peut être reproché son manque de représentativité des conditions réelles.

Ratio UVA	Nombre d'étoile	Protection UVA
De 0,0 à 0,19	-	-
De 0,20 à 0,39	*	Minimale
De 0,40 à 0,59	**	Modérée
De 0,60 à 0,79	***	Bonne
De 0,80 à 0,89	****	Supérieure
≥ à 0,90	*****	Ultra

Tableau 28 : Classification de la protection UVA des produits solaires par le « Boots Star rating system »

- la détermination de la longueur d'onde critique. La longueur d'onde critique évalue la largeur du spectre d'absorption d'un produit de protection solaire. La longueur d'onde critique est 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. Si cette valeur est comprise entre 340 nm et 370 nm, on considère que le produit offre une certaine protection dans l'UVB et l'UVA. Si cette valeur est supérieure à 370 nm, le produit est considéré comme « large spectre ». Cette méthode est souvent considérée comme insuffisamment discriminante.

La longueur d'onde critique est définie sur la portion du spectre allant de 290 à 400 nm par la relation suivante :

$$\lambda_{critique} = \text{Min}(\lambda')$$

avec λ' devant satisfaire la relation :

$$\frac{\frac{A_{290}}{2} + \sum_{\lambda=291}^{\lambda'} A_{\lambda} + \frac{A_{\lambda'}}{2}}{\frac{A_{290}}{2} + \sum_{\lambda=291}^{399} A_{\lambda} + \frac{A_{400}}{2}} \geq 0,9$$

où A_{λ} est l'absorbance spectrale de l'échantillon à une longueur d'onde λ comprise entre 290 et 400 nm [149].

Notons que l'absorbance spectrale (A_{λ}) est reliée à la transmittance spectrale T_{λ} par la relation $A_{\lambda} = -\log(T_{\lambda})$.

Le COLIPA a développé une méthode *in vitro* visant à déterminer la protection apportée par les produits solaires dans le domaine UVA [150]. Cette technique a été validée en la corrélant avec la méthode PPD *in vivo*. Notons que la Commission Européenne favorise les méthodes de mesure *in vitro* car les méthodes *in vivo* soulèvent différents problèmes éthiques.

I.2.2.3.4. Mise au point d'un protocole de détermination *in vitro* du SPF

I.2.2.3.4.1. La formule de base

Une technique *in vitro* de détermination du niveau de protection fournie par les produits solaires sous forme d'émulsion (la forme galénique la plus répandue dans le domaine de la protection solaire) a été mise au point au Laboratoire de Cosmétologie de la Faculté de Pharmacie de Nantes [151]. Les auteurs sont partis d'une émulsion L/H de base présentant une bonne stabilité dans le temps, des étuvages à 50°C (pendant un mois) et 40°C (3 mois) n'ayant révélé aucune modification des caractéristiques physico-chimiques de cette émulsion.

La formule de cette émulsion est présentée dans le tableau 29.

Ingrédients (Nom INCI)	Rôle	Quantité (% m/m)
<i>Phase lipophile</i>		
Huile de paraffine (paraffinum liquidum)	Occlusif - antideshydratant	17
Cétiol® HE (PEG-7 Glyceryl cocoate)	Surgraissant	5
Butylhydroxytoluène (Butylhydroxytoluene)	Antioxydant	0,01
Acide stéarique (Stearic acid)	Facteur de consistance, tensioactif anionique après saponification par une base	5
Emulgin® B1 (Cetareth-12)	Tensioactif non ionique	1,5
Emulgin® B2 (Cetareth-20)	Tensioactif non ionique	1,5
<i>Phase hydrophile</i>		
Glycérine (glycerin)	Humectant	4
Propylparaben sodé (sodium propylparaben)	Conservateur	0,05
Méthylparaben sodé (sodium methylparaben)	Conservateur	0,1
Keltrol® BT (Xanthan gum)	Gélifiant	0,9
Triéthanolamine (Triethanolamine)	Ajusteur de pH	0,3
Eau distillée (Aqua)	Excipient de base	64,64

Tableau 29 : Formule de l'émulsion de base L/H [151]

Dans cette formule de base, une certaine quantité d'homosalate (ou salicylate d'homomenthyle, Eusolex HMS®) a été introduite (de 2 à 10 %), en remplaçant une quantité équivalente de paraffine liquide par ce filtre liposoluble, afin de constituer un premier standard.

I.2.2.3.4.2. Protocole de mesure *in vitro* du SPF

Afin d'adapter la méthode *in vitro*, les auteurs sont tout d'abord partis des recommandations du COLIPA en utilisant la même quantité de produit sur le support d'application, soit 2 mg.cm^{-2} . Puis, les auteurs ont ensuite progressivement diminué la masse appliquée jusqu'à obtenir des résultats non statistiquement différents de ceux obtenus par la méthode *in vivo*.

Le support d'étude choisi est une plaque de polyméthacrylate de méthyle (PMMA) de 25 cm^2 et d'une rugosité de $6 \text{ }\mu\text{m}$ (Europlast, Aubervilliers, France). Ce matériau a de nombreux avantages : il présente d'excellentes propriétés optiques (sa transmission lumineuse est supérieure à celle du verre, notamment dans le domaine UV), il est résistant aux UV et enfin il est inerte chimiquement (il ne réagit pas avec les ingrédients utilisés pour la formulation des produits solaires testés). Les plaques ont deux faces, l'une lisse et l'autre rugueuse. C'est sur la face rugueuse qu'est déposé le produit à tester [152].

Cinquante milligrammes d'émulsion sont déposés sur la plaque de PMMA à l'aide d'une pipette Pasteur, puis étalés à l'aide d'un doigtier de façon homogène, jusqu'à ce qu'il ne reste plus que la quantité souhaitée sur la plaque (15 mg pour une émulsion). Les trois plaques réalisées pour chaque produit sont ensuite placées à l'obscurité pendant 15 minutes, puis la transmittance est mesurée grâce à un spectrophotomètre à sphère d'intégration (Labsphere 1000S, St Nom la bretèche, France).

I.2.2.3.4.3. Détermination de la masse de produit à étaler

Une série de crèmes solaires contenant 2 à 10% (m/m) d'homosalate a ensuite été réalisée, afin de déterminer la masse de produit à étaler pour le test *in vitro*. Le SPF de ces crèmes a aussi été déterminé *in vivo*, par la méthode COLIPA [151] (Tableau 30).

Homosalate (% m/m)	2 %	4 %	6 %	8 %	10 %
SPF (Moyenne \pm EC)	$2,07 \pm 0,52$	$3,39 \pm 0,85$	$4,37 \pm 1,10$	$4,68 \pm 1,17$	$5,16 \pm 1,29$

Tableau 30 : SPF des émulsions à base d'homosalate, mesuré *in vivo* [151]

Les auteurs ont ensuite progressivement diminué la masse résiduelle sur la plaque de PMMA, afin d'être corrélés aux résultats obtenus par la méthode *in vivo* (tableau 31).

Masse résiduelle (mg)	Concentration en homosalate (% m/m)				
	2 %	4 %	6 %	8 %	10 %
15	$1,95 \pm 0,05$	$3,24 \pm 0,33$	$4,25 \pm 0,69$	$4,63 \pm 0,61$	$5,12 \pm 0,72$
20	$2,45 \pm 0,24$	$4,05 \pm 0,68$	$5,18 \pm 0,84$	$5,52 \pm 0,89$	$6,2 \pm 0,99$
25	$2,7 \pm 0,28$	$4,8 \pm 0,68$	$6,04 \pm 0,93$	$6,42 \pm 1,02$	$7,22 \pm 1,15$
30	$2,96 \pm 0,30$	$5,43 \pm 0,77$	$6,83 \pm 1,07$	$7,56 \pm 1,09$	$8,32 \pm 1,25$

Tableau 31 : Influence de la masse résiduelle de produit sur le SPF mesuré *in vitro* [151]

Un test de Student a permis de montrer que la masse résiduelle pour laquelle on n'observe pas de différence significative entre les résultats des méthodes *in vivo* et *in vitro* est de 15 mg, soit $0,6 \text{ mg.cm}^{-2}$ [151]. A titre indicatif, la courbe de transmittance obtenue avec

une crème contenant 8 % d'homosalate, pour une quantité résiduelle de 15 mg, est présentée figure 70.

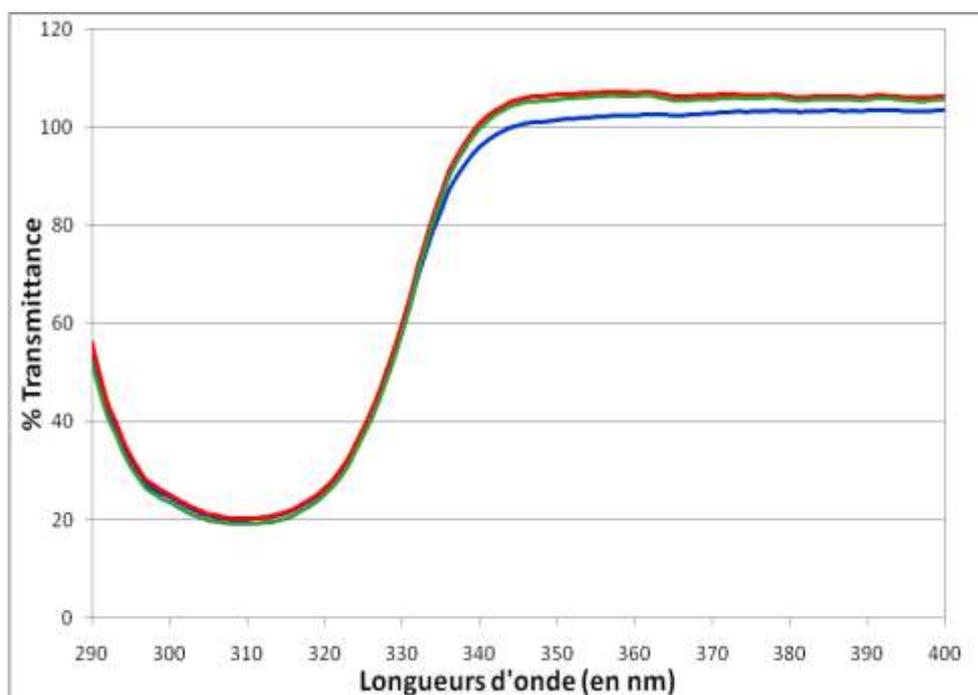


Figure 70 : Courbes de transmittance obtenues pour les trois plaques (8 % d'HMS)

Enfin, cette méthode a été validée en testant des produits du commerce, et en comparant les résultats obtenus *in vitro* avec ceux affichés sur l'emballage (Tableau 32).

Nom Commercial (Laboratoire)	SPF mesuré (moy ± EC)	SPF affiché
Ambre solaire (Garnier)	13,03 ± 1,31	10
Dior bronze (Dior)	17,83 ± 2,92	15
Lait bronzant Monoï (Corine de Farme)	9,16 ± 1,00	6
Solar expertise spécial enfant (L'Oréal)	61,20 ± 5,50	50+
Très haute protection cream (Avène)	71,30 ± 8,32	50+
Soin de beauté solaire (Lancaster)	6,20 ± 0,53	6
Photoderm max (Bioderma)	65,23 ± 6,25	50+
Ambre solaire (Garnier)	11,54 ± 0,75	10
Dior bronze (Dior)	35,07 ± 1,82	30
Spray lait solaire (Rivadis)	30,40 ± 2,79	30

Tableau 32 : Mesure de l'efficacité de produits du commerce [151]

La corrélation des résultats obtenus expérimentalement *in vitro* avec ceux mentionnés sur l'emballage des produits solaires du commerce a permis de valider le protocole mis en place. Ainsi, la masse résiduelle d'un produit sous forme d'émulsion permettant de mesurer le SPF *in vitro* grâce à un spectrophotomètre à sphère d'intégration doit être de 15 mg [151].

1.2.2.3.5. Les différentes techniques de détermination de l'efficacité des produits solaires

Le tableau 33 présente les différentes méthodes employées pour la détermination de l'efficacité des produits solaires.

Paramètre mesuré	Méthodologie	Reconnaissance de la méthode	Fiabilité
Indices anti-UVB			
Appréciation d'un érythème	<i>In vivo</i> chez l'homme	Méthode COLIPA largement utilisée au niveau européen.	La méthode est aujourd'hui standardisée.
Spectrophotométrie de transmission	<i>In vitro</i> : basé sur la loi de Beer-Lambert		
Indices anti-UVA			
- Méthodes photo-oxydative - Mesure de l'IPD et de la PPD	<i>In vivo</i> chez l'homme	Absence de validation internationale	Faible (ne concerne que les phototypes III à IV).
Spectrophotométrie de transmission	<i>In vitro</i> : basé sur la loi de Beer-Lambert	En cours de développement au niveau européen.	Nécessite une standardisation en raison des variantes.

Tableau 33 : Récapitulatif des méthodes de mesures des indices de protection solaire [127]

1.2.2.3.6. Etiquetage des produits solaires

L'étiquetage des produits solaires a été simplifié ces dernières années pour faciliter le choix de l'utilisateur. Ainsi, le COLIPA a-t-il par exemple proposé son propre classement des produits solaires. Parallèlement, la Commission Européenne a, elle aussi, mis en place un classement pour l'indication de la valeur du SPF sur les emballages des produits solaires (tableau 34) [153].

COLIPA		Commission Européenne	
Catégorie de protection	SPF	Catégorie de protection	SPF
<i>Faible</i>	2	<i>Protection faible</i>	6
	4		10
	6		
<i>Moyenne</i>	8	<i>Protection moyenne</i>	15
	10		20
	12		25
<i>Haute</i>	15	<i>Haute protection</i>	30
	20		50
	25		
<i>Très Haute</i>	30	-	-
	40		
	50		
<i>Ultra</i>	50+	<i>Très haute protection</i>	50+

Tableau 34 : Comparaison des catégories d'étiquetage des produits solaire suivant le COLIPA ou la Commission Européenne [153]

Les recommandations européennes les plus récentes en matière d'étiquetage indiquent que la variété de chiffres figurant sur les étiquettes pour rendre compte des facteurs de protection solaire devrait être limitée afin de faciliter la comparaison entre les différents produits sans réduire le choix du consommateur. La gamme des facteurs de protection solaire et l'étiquetage correspondant pour chaque catégorie est présentée dans le tableau 35 [148].

Catégorie indiquée	Facteur de protection solaire indiqué	FPS mesuré	FP-UVA minimal recommandé	Longueur d'onde critique minimale recommandée
« Faible protection »	« 6 »	6 – 9,9	Le tiers du facteur de protection solaire indiqué sur l'étiquette	370 nm
	« 10 »	10 – 14,9		
« Protection moyenne »	« 15 »	15 – 19,9		
	« 20 »	20 – 24,9		
	« 25 »	25 – 29,9		
« Haute protection »	« 30 »	30 – 49,9		
	« 50 »	50 – 59,9		
« Très haute protection »	« 50 + »	≥ 60		

Tableau 35 : Recommandation européenne en matière d'étiquetage des produits solaires [148]

Actuellement, il n'existe pas de standardisation des indices de protection anti-UVA affichés sur les produits. Toutefois, des normes sont en train d'être mises en place.

Les recommandations européennes indiquent qu'afin d'avoir des propriétés préventives contre les effets néfastes de l'exposition solaire (comme la formation d'érythèmes, le vieillissement cutané photo-induit, la photo-immunosuppression induite et certains carcinomes cutanés) les produits solaires doivent protéger à la fois dans le domaine UVB et le domaine UVA. Il convient donc de lier la protection contre le rayonnement UVA à celle contre le rayonnement UVB. On sait qu'il est possible de se prémunir contre certaines lésions biologiques cutanées si le rapport entre le facteur de protection UVA (mesuré par la méthode de la pigmentation persistante ou une méthode *in vitro*) et le SPF est d'au moins 1/3. De plus, pour assurer une protection plus large, les dermatologues recommandent que les produits de protection solaire aient une longueur d'onde critique supérieure ou égale à 370 nm. Notons que ces recommandations ont aussi été approuvées par le COLIPA [148, 153].

Le COLIPA propose, en accord avec les recommandations européennes, d'apposer un logo sur l'emballage des produits solaires indiquant que le produit protège bien contre les UVA (figure 71) [153].



Figure 71 : Logo du COLIPA traduisant le caractère protecteur du produit solaire vis-à-vis des UVA [153]

Selon les dernières recommandations européennes en matière d'étiquetage des produits solaires [148], des avertissements doivent figurer sur les produits solaires indiquant

qu'ils ne procurent pas une protection à 100 %, ainsi que des conseils sur les précautions à prendre en plus de leur utilisation. Il peut s'agir d'avertissements tels que :

- « Ne restez pas trop longtemps au soleil, même si vous utilisez un produit de protection solaire » ;
- « N'exposez pas les bébés et les jeunes enfants directement au soleil » ;
- « La surexposition au soleil est une menace sérieuse pour la santé » ;

Les produits solaires doivent faire figurer des instructions d'utilisation permettant d'obtenir l'efficacité qu'ils revendiquent. Cela peut inclure des mentions telles que :

- « Appliquez le produit de protection solaire avant de vous exposer au soleil » ;
- « Renouvelez fréquemment l'application pour maintenir la protection, surtout après avoir transpiré, avoir nagé ou vous être essuyé ».

Les produits solaires devraient porter des instructions d'utilisation afin de s'assurer qu'il en est appliqué sur la peau une quantité suffisante (environ 36 grammes pour un adulte en cas d'exposition intégrale ou pour un corps entier) pour obtenir le niveau d'efficacité revendiquée en indiquant, par exemple, la quantité nécessaire au moyen de pictogrammes, d'illustrations ou de dispositifs de mesure. Les produits solaires devraient expliquer clairement les risques encourus en cas d'application d'une quantité réduite, comme par exemple, « Attention: en réduisant cette quantité, vous diminuerez nettement le niveau de protection ».

I.2.2.4. La photoprotection contre les infrarouges

En dépit de leur faible énergie, les radiations infrarouges ne peuvent pas être considérées comme totalement inoffensives. Ainsi, une exposition aux infra-rouges (IR) et l'échauffement des tissus peuvent-ils favoriser la carcinogenèse induite par les UV. Les radiations IR semblent aussi être impliquées dans le photovieillissement. Il semblerait donc que le rayonnement IR potentialise l'action des UV. Il provoque l'apparition d'un érythème immédiat.

Les filtres inorganiques protègent théoriquement contre les radiations IR, mais aucune méthode standard n'a été proposée pour évaluer cette protection [6]. Une méthode existe cependant. Elle consiste à mesurer l'intensité de l'érythème provoqué par les IR 15 minutes après l'exposition. La durée de l'exposition est de 30 minutes avec un flux d'infrarouges de 140 W.cm^{-2} . On calcule le pourcentage d'augmentation de la dose d'IR nécessaire pour obtenir, sur la zone protégée, la même intensité d'érythème que celle de la zone non protégée. Les parties non exposées sont recouvertes de feuilles d'aluminium qui font office de réflecteurs [10].

I.2.2.5. Utilité de l'emploi d'un produit solaire à haute valeur de SPF

Le marché actuel des produits solaires est caractérisé par une large gamme de produits, avec des valeurs de SPF allant de 6 à 50+. Depuis quelques années, les produits solaires avec des valeurs de SPF supérieures à 30 se multiplient. Récemment, la FDA a conclu qu'une valeur de SPF de 30 est suffisante, et que tout produit avec une valeur de SPF supérieure doit être étiqueté SPF 30+. La question est de savoir s'il y a un intérêt à employer des produits avec une valeur de SPF supérieure à 30. Différents éléments tendent à prouver que oui.

Tout d'abord, les consommateurs ont tendance à appliquer des doses de produits solaires insuffisantes. Dans ces conditions, l'application d'un produit avec un haut SPF permettra tout de même d'obtenir une bonne protection en dépit d'une mauvaise application. Ensuite, les tests de détermination du SPF sont généralement effectués sur des sujets de phototypes I et II. En effet, la réaction érythématogène est souvent rapide chez ces personnes. La valeur de SPF ainsi obtenue ne prend donc pas en compte les sujets de phototype plus élevé. Troisièmement, lors des mesures de SPF, les sources d'UV employées peuvent contenir un faible taux d'UVA. Or, comme ces radiations peuvent elles aussi induire des érythèmes, une source lumineuse émettant peu d'UVA donnera une valeur de SPF plus basse qu'elle ne l'est en pratique. Enfin, il a été montré que des doses subérythématogènes d'UV peuvent induire une photocarcinogénèse. Ainsi, des produits avec un SPF élevé pourraient offrir une meilleure protection contre les dégâts subérythématogènes que les produits avec un SPF plus faible.

Différents facteurs diminuent la valeur du SPF, dans les conditions pratiques d'utilisation. On peut par exemple citer la transpiration, les frictions, l'abrasion, les baignades et la photodégradation du produit. En employant des produits à SPF élevés, on limitera l'effet de cette diminution de la photoprotection.

I.2.2.6. Efficacité des filtres solaires dans la prévention des différents effets néfastes des radiations ultraviolettes

Différentes études ont montré que l'utilisation de produits solaires avait un effet protecteur vis-à-vis des dégâts aigus provoqués par les UV, du développement de kératoses actiniques et des cancers de la peau [68, 69, 71, 154]. Toutefois, il n'a pas encore été prouvé définitivement que les produits solaires pouvaient réduire le risque de mélanome.

I.2.2.6.1. Produits solaires et cancers non-mélanocytaires

L'intérêt de l'emploi de produits solaires dans la prévention de l'apparition et du développement des tumeurs épithéliales a fait l'objet de nombreuses études. Il a été montré qu'une application régulière de produits solaires pouvait, modérément mais significativement, réduire le développement de lésions comme les kératoses solaires. Naylor et son équipe ont aussi démontré, par une étude menée pendant deux ans, que l'emploi régulier de produits solaires pouvait diminuer significativement l'apparition de carcinomes cutanés en évitant le développement de lésions précancéreuses [155]. De plus, une vaste étude menée sur 5 ans, et effectuée par Green, a montré que l'utilisation régulière de produits solaires chez les adultes avait un effet positif sur l'incidence des carcinomes spino-cellulaires [156].

En dépit de ces résultats, il existe plusieurs travaux qui montrent un effet strictement opposé des produits solaires. Par exemple, Kricger [157] a observé une plus grande fréquence des carcinomes baso-cellulaires chez les utilisateurs de produits solaires. Ceci pourrait être lié au sentiment excessif de sécurité ressenti par les adeptes du bronzage utilisateurs de produits solaires.

I.2.2.6.2. Produits solaires et mélanomes

L'effet préventif de la photoprotection topique sur l'apparition et le développement des mélanomes est toujours sujet à controverse. Différentes études ont abouti à des résultats contradictoires.

Une étude épidémiologique réalisée par Autier prouve qu'un usage régulier de produits solaires augmente le risque de mélanome [158]. Ces résultats sont corroborés par le fait qu'on a observé ces dernières années une augmentation du nombre de naevi chez les enfants européens, malgré une utilisation régulière de produits solaires.

Au contraire, une étude de Gallagher rapporte une diminution du nombre de naevi chez les enfants à peau claire utilisant régulièrement des produits solaires [159]. De plus, une étude menée dans le sud de la Suède sur 571 patients qui avaient été diagnostiqués porteurs de mélanome a montré une augmentation significative du nombre de mélanomes après utilisation de produits solaires [131]. Enfin, une revue systématique de Dennis portant sur 18 études témoins n'a pas pu permettre de trouver de liens entre mélanome et utilisation de produits solaires [72].

Différents facteurs doivent être pris en compte pour expliquer le manque actuel de preuves concernant les effets préventifs des produits solaires :

- le SPF moyen des produits solaires utilisés communément avant les années 1990 était compris entre 4 et 10. De plus, ces produits étaient formulés avec des filtres solaires qui n'absorbaient presque que dans le domaine UVB. Ce n'est qu'à partir de 1997 que le SPF moyen des produits solaires a atteint la valeur de 15.

- une autre explication est que plus le produit utilisé a un haut SPF, plus les utilisateurs ont tendance à prolonger l'exposition au soleil. Dans ce cas, les conséquences néfastes d'une exposition sont plus marquées. Ainsi, une étude randomisée effectuée sur des étudiants en vacances a-t-elle montré que l'application d'un produit solaire à haut SPF les a incités à accroître la durée de leur exposition au soleil [160]. Une autre étude récente a montré que les gens utilisaient des produits solaires lorsqu'ils savaient qu'ils allaient passer un certain temps à l'extérieur. Ils utilisaient ainsi les produits solaires comme une aide au bronzage, permettant d'éviter les coups de soleil [161].

- il faut enfin rappeler le fait que les utilisateurs ne savent pas appliquer convenablement les produits solaires. Généralement, ceux-ci ne sont pas appliqués avant l'exposition mais pendant l'exposition. De plus, les tests *in vivo* effectués pour estimer le SPF des produits solaires se pratiquent avec une quantité de produit de 2 mg.cm⁻². Il a été démontré que les utilisateurs appliquent bien moins de produit que cela, n'obtenant ainsi que 10 à 25 % de la protection attendue [17]. Enfin, l'uniformité de l'application du produit solaire (figure 72), la capacité à l'étaler sur toute la surface exposée de la peau, la résistance à l'immersion dans l'eau et le nombre d'applications par jour sont des facteurs connus pour influencer la protection.



Figure 72 : Coups de soleil après un étalement inhomogène d'un produit solaire [17]

En considérant tout ces facteurs, Diffey conclut qu'il n'est pas surprenant que les différentes études réalisées n'aient pas pu permettre d'établir un lien entre l'emploi de produits solaires et le risque de développement de mélanomes.

Les longueurs d'onde responsables de l'induction des mélanomes demeurent mal identifiées. Les UVB sont connus pour provoquer des dégâts directs à l'ADN, avec la formation de dimères thymidines. Un système de réparation par excision de nucléotides défectueux, par exemple une mutation du gène p53, peut contribuer au développement de mélanomes.

Les dommages oxydatifs de l'ADN induits par les UVA sont plus indirects. Ils peuvent toutefois jouer un rôle crucial dans l'initiation des mélanomes. De plus, il est possible que l'immunosuppression induite par les UVA puisse permettre aux cellules mutées (p53) aide proliférer. A l'heure actuelle, il a été statué que les radiations UVA agissent comme des promoteurs de tumeurs, mais pas comme des initiateurs. Les UVA sont capables d'induire des mutations spécifiques de certains gènes, mais leurs effets sont moins importants que ceux des UVB. Ainsi, l'utilisation de produits solaires à large spectre semble-t-elle être importante dans la prévention de l'apparition de mélanomes. L'emploi de ces produits à large spectre apportant une bonne photoprotection contre les UVA n'est répandu que depuis quelques années. Cela peut être une raison pour laquelle certaines études rapportent une augmentation du nombre de mélanomes malgré l'emploi de produits solaires.

I.2.2.7. Recommandations

La meilleure stratégie de prévention des cancers de la peau doit d'abord passer par une prise de conscience. Ainsi, faudra-t-il préférer différentes mesures comportementales, comme le port de vêtements photoprotecteurs, de chapeaux ou la réduction de l'exposition au soleil, à l'utilisation exclusive de produits solaires.

La pratique de la protection solaire est encore très inadéquate, particulièrement dans nos sociétés occidentales. De plus, les produits solaires sont utilisés par la plupart des gens comme le mode de protection solaire principal, pour différentes raisons sociétales (relaxation au soleil, bronzage synonyme de bonne santé...). La population doit être informée quant à la meilleure façon d'utiliser les produits solaires.

Sur la base de plusieurs études, le Centre International de Recherche sur le Cancer de l'Organisation Mondiale de la Santé a souligné le lien entre application correcte des produits solaires et atteinte du niveau de protection solaire indiqué. Il est notamment essentiel de renouveler fréquemment l'application d'un produit solaire. De plus, pour que le niveau de protection atteint soit celui indiqué, les produits solaires doivent être appliqués en quantités similaires à celles utilisées lors des essais, c'est-à-dire à raison de 2 mg.cm^{-2} , soit 6 cuillères à café de produit (environ 36 grammes) pour le corps entier d'un adulte. L'application d'une quantité plus faible entraîne une réduction non proportionnelle de la protection. Par exemple, la réduction de moitié de la quantité appliquée peut entraîner une réduction des deux tiers de la protection assurée [148].

A cela s'ajoutent l'uniformité de l'application et le spectre d'absorption spécifique de l'agent employé. L'application de produits solaires contenant des filtres organiques sur les parties exposées devrait être faite 15 à 30 minutes avant l'exposition au soleil. De plus, la

notion de résistance à l'eau des produits solaires est importante dans la mesure où cela diminue le danger représenté par le soleil pendant une baignade.

Dans tous les cas, les produits solaires ne doivent pas être utilisés pour tenter d'augmenter le temps d'exposition au soleil. De surcroît, il n'est pas recommandé d'utiliser des produits solaires tout au long de l'année dans les pays avec peu d'ensoleillement (Europe du Nord par exemple). Ainsi, l'utilisation de produits solaires doit-elle être proscrite d'octobre à mars. Toutefois, il existe certaines études [162] qui montrent que dans les pays bénéficiant d'un fort ensoleillement (comme l'Australie et certains états du sud des Etats-Unis), l'utilisation de produits solaires tout au long de l'année peut être bénéfique en termes de prévention des cancers cutanés et des élastoses solaires.

II. Partie expérimentale

II.1. Mise au point de protocole *in vitro*

II.1.1. Détermination de l'efficacité des produits solaires

Depuis 2004, le laboratoire de Pharmacie industrielle et de Cosmétologie (MMS, EA 2160) a fait de la thématique « Peau et Soleil » son axe de recherche principal. La première étape d'adaptation du protocole *in vivo* de détermination de l'efficacité des produits solaires a consisté à déterminer la masse à appliquer sur le support choisi (dans notre cas des plaques de polyméthylméthacrylate -PMMA- à usage unique) lorsque le produit solaire était sous forme d'émulsion [151].

Notre travail de thèse a consisté à adapter le protocole à d'autres formes galéniques représentées sur le marché pour pouvoir les étudier par méthode *in vitro*. De ce fait, nous avons réalisé des formes anhydres (sticks et poudres) et déterminé les masses résiduelles devant rester sur le support après étalement.

Nous avons aussi mis au point un protocole *in vitro* permettant de déterminer la résistance à l'eau des produits solaires. Ce protocole, qui présente l'avantage d'être rapide, peu coûteux et reproductible, pourrait être très intéressant pour le milieu industriel, en complément des méthodes de mesure *in vivo*.

II.1.1.1. Elaboration des produits solaires sous forme d'émulsions et détermination des indicateurs d'efficacité

II.1.1.1.1. Protocole de fabrication des émulsions

Le protocole de fabrication est détaillé figure 73. L'émulsion est homogénéisée à l'aide d'un agitateur à pales (Yellow line OST Basic, Ika®, Staufen, Allemagne) à raison de $900 \text{ t}.\text{min}^{-1}$.

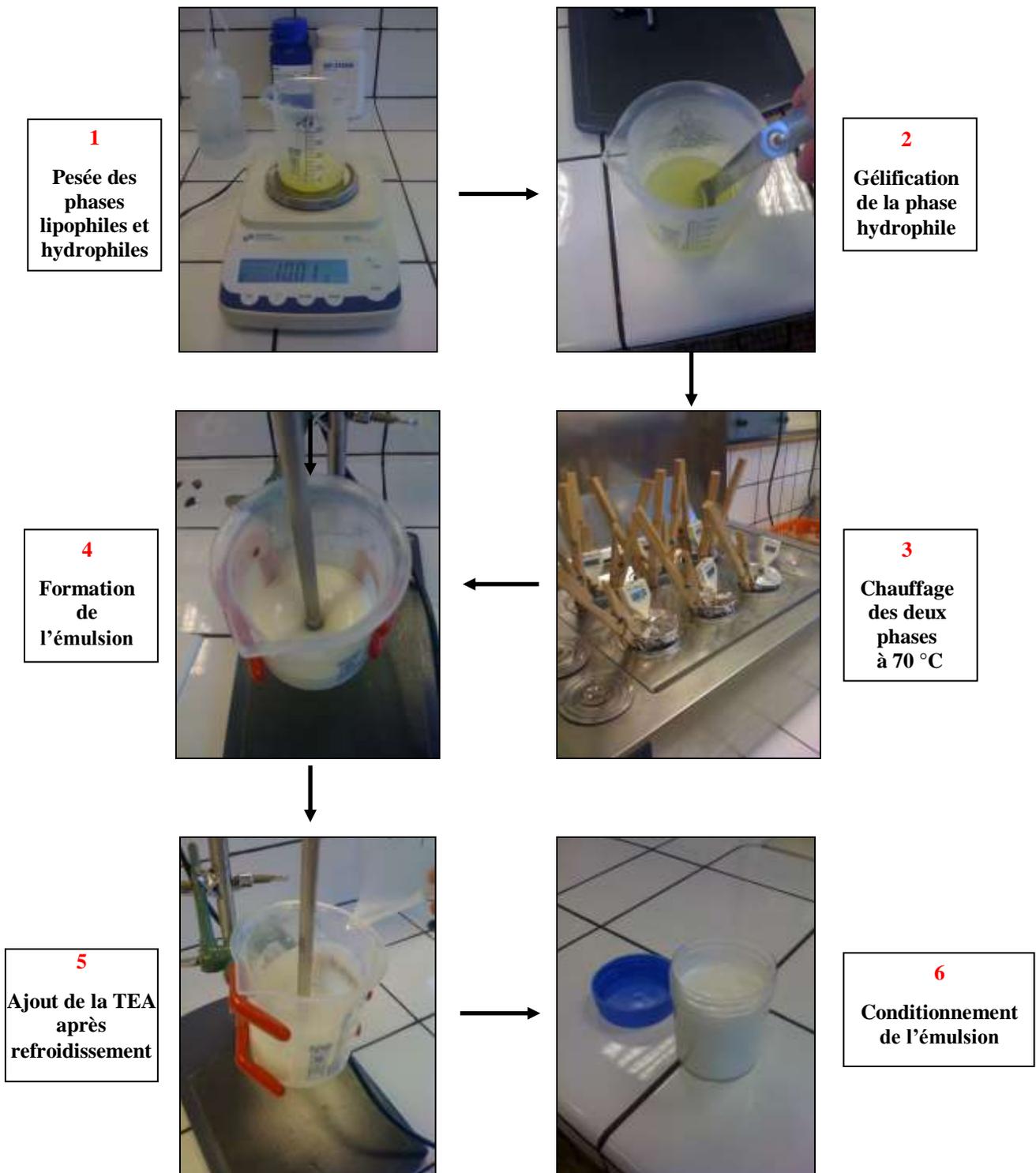


Figure 73 : Réalisation d'une émulsion antisolaire

II.1.1.1.2. Les différents filtres utilisés

Les filtres organiques testés sont regroupés dans le tableau 36.

Nom INCI	Noms commerciaux	Dose maximale d'emploi (% m/m)	Solubilité
Filtre UVB			
Homosalate	Eusolex HMS NeoHeliopan HMS Parsol HMS	10,00	Liposoluble
Phenylbenzimidazole sulfonic acid	Eusolex 232 Parsol HS NeoHeliopan Hydro USP	8,00	Hydrosoluble après neutralisation
Octocrylene	Uvinul N539T Eusolex OCR Parsol 340 NeoHeliopan 303 USP	10,00	Liposoluble
Ethylhexyl methoxycinnamate	Uvinul MC80 Eusolex 2292 Parsol MCX	10,00	Liposoluble
PEG-25 PABA	Uvinul P-25	10,00	Hydrosoluble
Isoamyl p-methoxycinnamate	NeoHeliopan E ₁₀₀₀	10,00	Liposoluble
Octyl triazone	Uvinul T150	5,00	Liposoluble
Diethylhexyl butamido triazone	Uvasorb HEB	10,00	Liposoluble
4-methylbenzylidene camphor	Eusolex 6300 NeoHeliopan MBC Parsol 5000	4,00	Liposoluble
3-benzylidene camphor	Unisol S22	2,00	Liposoluble
Octyldimethyl PABA	Eusolex 6007	8,00	Liposoluble
Ethylhexyl salicylate	Eusolex OS NeoHeliopan OS Dermoblock OS	5,00	Liposoluble
Polysilicone-15	Parsol SLX	10,00	Liposoluble
Filtre UVA			
Butyl methoxydibenzoyl methane	Eusolex 9020 Parsol 1789	5,00	Liposoluble
Diethylamino hydrobenzoyl hexyl benzoate	Uvinul A plus	10,00	Liposoluble
Disodium phenyl dibenzimidazole tetrasulfonate	Néohéliopan AP	10,00	Hydrosoluble après salification par NaOH
Filtres à spectres larges			
Benzophenone-3	Eusolex 4360 Uvinul M40	10,00	Liposoluble
Benzophenone-4	Uvinul MS40	5,00	Hydrosoluble après neutralisation
Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol	Tinosorb M	10,00	Hydrosoluble
Anisotriazine	Tinosorb S	10,00	Liposoluble
Filtres inorganiques			
Titanium dioxide	UV-Titan M160 Parsol TX	25,00	Selon la variété
Zinc oxide, diphenyl capryl methicone	Z-Cote Max	25,00	Hydrosoluble

Tableau 36 : Caractéristiques des filtres solaires employés

Les différents filtres solaires nous ont été fournis par les sociétés figurant dans le tableau 37.

Gamme de filtres	Fournisseurs
<i>Filtres organiques</i>	
Dermoblock®	Alzo, Sayreville, Etats-Unis
Eusolex®	Merck chimie, Fontenay-sous-Bois, France
NeoHeliopan®	Symrise, Holzminden, Allemagne
Parsol®	Roche, Bâle, Suisse
Tinosorb®	Ciba Specialty Chemicals, Bâle, Suisse
Unisol®	Unipex, Paris, France
Uvasorb®	3V Sigma, Bergamo, Italie
Uvinul®	BASF, Ludwigshafen, Allemagne
<i>Filtres inorganiques</i>	
UV-Titan	Kemira, Helsinki, Finlande
Z-Cote Max	BASF, Ludwigshafen, Allemagne

Tableau 37 : Fournisseurs des différents filtres solaires

II.1.1.2. Protocoles de détermination du SPF et du FP-UVA *in vitro*

Le protocole de mesure décrit concerne les émulsions, mais il variera très peu pour les autres formes galéniques étudiées. En pratique, seule la masse déposée sur la plaque de PMMA sera modifiée.

II.1.1.2.1. Préparation de l'échantillon

Le produit à tester est étalé sur une plaque de PMMA (Europlast, Aubervilliers, France). Ces plaques mesurent 5 cm de côté, et présentent une face sablée (rugosité de 6 µm) et une face lisse. Ce support présente l'avantage d'avoir une rugosité homogène et ne nécessite que peu de préparation.

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.

Afin de réaliser un blanc, une plaque de PMMA est imprégnée de glycérine. Cette manipulation préliminaire nous permet d'obtenir un spectre de référence avec une transmission proche de 100 %. Sans ce film de glycérine, les irrégularités du substrat diffuseraient davantage les rayons UV et induiraient ainsi une absorption trop grande du blanc.

Après avoir taré la plaque de PMMA, on dépose environ 50 mg de produit à l'aide d'une pipette Pasteur non stérile à usage unique d'une contenance de 1 mL (Grosseron[®], Saint Herblain, France). Le produit est déposé en petits tas très rapprochés sur toute la surface de la face rugueuse de la plaque (figure 74). La pesée s'effectue à l'aide d'une balance de précision (Sartorius[®] TE 2145 (d = 0,1 mg), Göttingen, Allemagne) (figure 75).

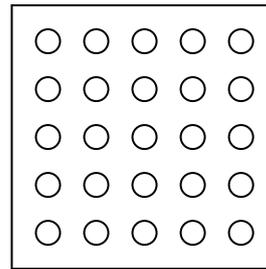


Figure 74 : Points de dépôt de produit sur une plaque de PMMA



Figure 75 : Dépôt et étalement du produit sur la plaque de PMMA

La quantité initialement déposée est à adapter en fonction de la texture de l'émulsion étudiée. Ainsi, pour une formule assez pâteuse (à base de filtres inorganiques par exemple), on ne déposera que 30 mg de produit. Pour une formule plus fluide, on déposera 50 mg, voire plus. Cela nous permet d'obtenir une durée d'étalement ainsi qu'une épaisseur de film déposé homogènes d'une mesure à l'autre. Si l'on exerce une pression trop importante lors de l'étalement du produit, celui-ci va pénétrer plus profondément dans les anfractuosités de la plaque, ce qui aura pour conséquence l'obtention de valeurs de SPF surévaluées.

Le produit est ensuite immédiatement étalé avec un doigtier en latex non poudré (Cooper[®], Melun, France) en réalisant une succession d'effleurements légers (figure 76), jusqu'à obtention d'un film homogène. L'objectif est d'atteindre une masse de $15 \pm 0,5$ mg, soit $0,6 \text{ mg.cm}^{-2}$. Cette valeur a été obtenue par corrélation avec la méthode *in vivo* [151]. La masse pesée est soigneusement notée.

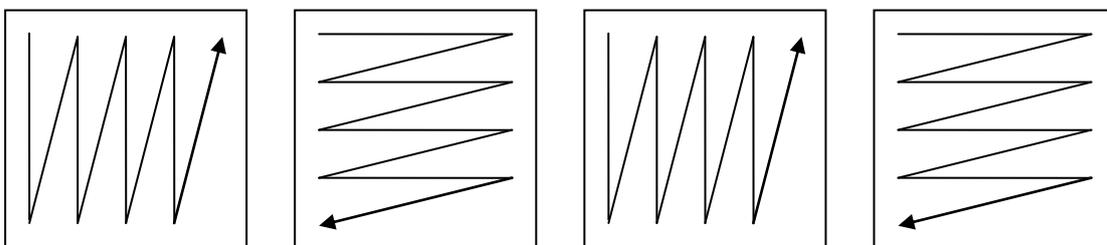


Figure 76 : Différentes phases de l'étalement du produit

L'échantillon est ensuite placé à l'obscurité, à température ambiante, pendant 15 minutes. Cela permet au produit de s'auto-niveler.

Les valeurs de SPF et d'indice UVA sont obtenues en réalisant neuf points de mesure par plaque (figure 77).

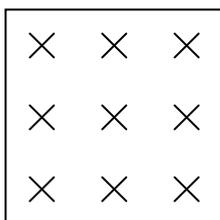


Figure 77 : Localisation des points de mesure sur la plaque

On utilise trois plaques par produit, ce qui permet de générer 27 valeurs. La moyenne et l'écart type sont ensuite calculés.

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

II.1.1.2.2. Principe du spectrophotomètre à sphère d'intégration

Le spectrophotomètre à sphère d'intégration employé (figure 78) permet de déterminer *in vitro* l'efficacité des produits solaires.



Figure 78 : Spectrophotomètre à sphère d'intégration

Le calcul du SPF du produit solaire testé est basé sur le pourcentage de rayonnement UV incident transmis par l'échantillon.

II.1.1.2.2.1. Mesure de la transmittance

La plupart des produits solaires sont capables de diffuser la lumière incidente. Ainsi, la lumière incidente parvenant sur l'échantillon est-elle généralement dispersée. La lumière qui n'est pas transmise est réfléchie, ou absorbée. Le rapport entre l'énergie transmise et l'énergie incidente est appelé transmittance. C'est ce rapport qui est mesuré et qui permet de déterminer le SPF.

La transmittance est mesurée grâce à une sphère d'intégration (ou sphère intégrante) qui permet de recueillir la lumière dispersée dans toutes les directions (figure 79).

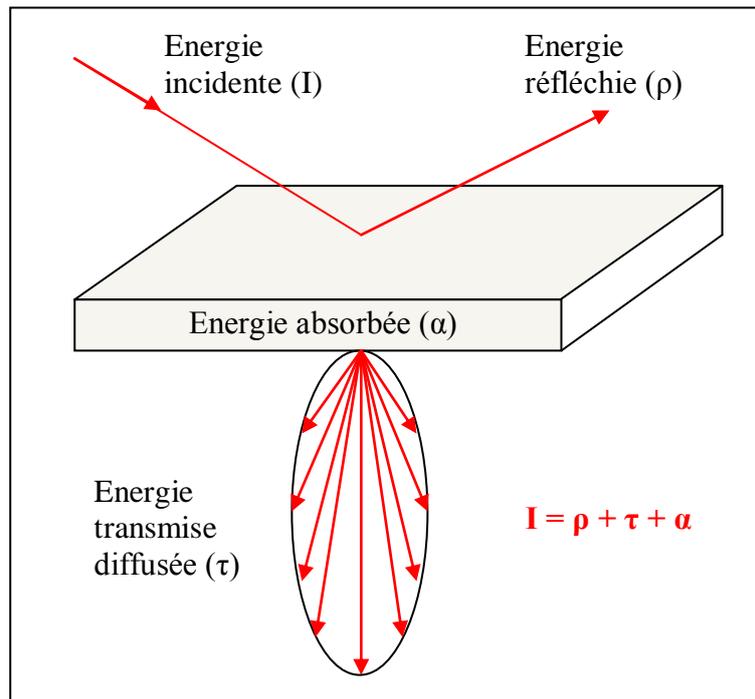


Figure 79 : Réflexion, transmission et absorption de l'échantillon

La surface interne de la sphère d'intégration est blanche, ce qui permet une meilleure réflexion. Les faisceaux lumineux provenant de n'importe quel point de la surface interne de la sphère sont distribués, en raison des multiples réflexions diffuses, de façon égale à tous les autres points de la sphère. Ce phénomène se produit indépendamment de la direction de la lumière à l'origine [164].

II.1.1.2.2.2. La tête d'optique

La tête d'optique est constituée de deux chambres [149]. La chambre supérieure renferme la sphère d'intégration, la lampe flash à arc au xénon et la fibre optique permettant de collecter le rayon incident. La sphère intégrante est construite en « Spectralon », un matériau breveté par la société Labsphere, possédant d'excellentes capacités de réflexion.

Lorsqu'elle est mise sous tension, la lampe flash illumine l'intérieur de la sphère de telle manière que l'irradiance soit uniforme sur toute sa surface. L'irradiance à l'intérieur de la sphère est alors mesurée par le spectrographe N°1, par l'intermédiaire de la fibre optique.

Notons qu'il est possible de lever ou d'abaisser la chambre supérieure afin de positionner l'échantillon convenablement pour chacune des neuf mesures.

La figure 80 montre les différents composants de la tête d'optique.

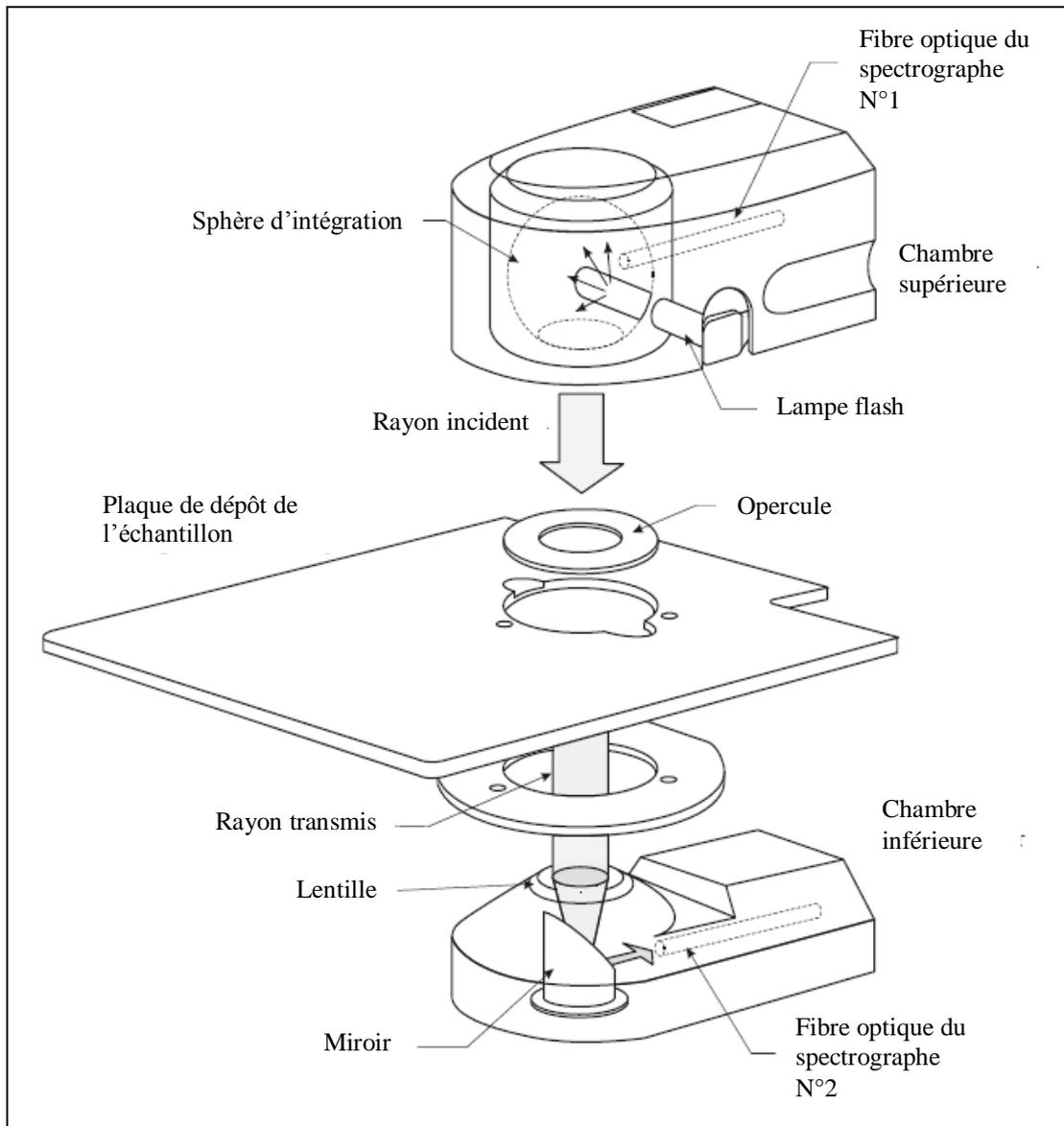


Figure 80 : Composants internes et externes de la tête d'optique

La lumière sort par une ouverture pratiquée dans la partie inférieure de la sphère. Le rayon incident arrive alors sur l'échantillon placé entre les deux chambres. Une partie est absorbée ou réfléchi, puis la fraction transmise du rayon pénètre dans la chambre inférieure. Celle-ci contient une lentille de collimation, un miroir et une fibre optique. Le faisceau transmis, en arrivant dans la chambre inférieure, est focalisé par la lentille, réfléchi par le miroir, puis transmis au spectrographe N°2, qui va déterminer l'irradiance de ce faisceau transmis. La transmittance de l'échantillon est alors le rapport entre le flux radiatif transmis (mesuré au spectrographe N°2) et le flux incident (mesuré au spectrographe N°1).

II.1.1.3. Etude de la photostabilité des produits solaires

La photostabilité d'un produit solaire est une notion particulièrement importante. En effet, l'AFSSAPS recommande de faire figurer sur l'emballage des produits solaires une mention stipulant que le produit doit être réappliqué fréquemment. En règle générale, l'intervalle de temps séparant deux applications du produit est de deux heures. Un protocole expérimental permettant d'évaluer la perte de protection assurée par un produit solaire lors de conditions d'irradiation drastiques a été mis au point au laboratoire [163].

Dans un premier temps, il s'agit comme précédemment d'étaler le produit sur des plaques de PMMA, afin d'obtenir une masse résiduelle de 15 mg. On mesure ensuite l'efficacité du produit avant irradiation (le SPF obtenu est noté SPF_0). Puis, on place les plaques dans un simulateur solaire (Suntest CPS+, Atlas[®], Moussy le Neuf, France) équipé d'une lampe à arc au xénon d'une puissance de 1100 W et de dispositifs filtrant les UVC (figure 81).



Figure 81 : Simulateur solaire Suntest CPS+

La température des échantillons est maintenue constante (pour éviter l'évaporation ou le dessèchements du produit solaire sur les plaques) grâce à un système de refroidissement, qui comprend une circulation d'eau sous les plaques et une ventilation d'air constante au-dessus de celles-ci. L'émission est maintenue à 650 W.m^{-2} pendant toute la durée de l'irradiation, ce qui correspond à l'ensoleillement d'une plage du sud de la France en été [163]. Le temps d'irradiation est fixé à deux heures, ce qui correspond aux recommandations classiques d'utilisation des produits solaires. A l'issue de cette étape, on mesure le SPF du produit (noté SPF_{t+2h}).

Un produit solaire sera considéré comme photostable s'il conserve plus de 90 % de son efficacité dans ces conditions expérimentales [163].

II.1.2. Adaptation du protocole aux formes galéniques anhydres

Deux formes galéniques anhydres ont été étudiées : les sticks et les poudres. Pour chacune d'elles, nous avons déterminé la masse devant rester sur la plaque de PMMA après étalement, pour obtenir une valeur de SPF corrélée à celle obtenue *in vivo*.

II.1.2.1. Les sticks

II.1.2.1.1. Matériel et méthode

Les sticks solaires sont généralement réservés à la protection des lèvres mais peuvent aussi, lorsque leur surface est plus importante, servir à la protection des parties les plus exposées du visage telles que le nez, les pommettes ou le haut du front. Les sticks contiennent des filtres organiques photoprotecteurs UVB et UVA, généralement associés à des filtres inorganiques (TiO₂ ou ZnO). De façon analogue aux rouges à lèvres, ils sont constitués d'un mélange cires-graisses-huiles. Ils sont dépourvus de pigments. Certains actifs peuvent être ajoutés pour une action spécifique. C'est le cas de la propolis qui est intéressante dans la prévention de l'herpès labial [10].

Les sticks sont des produits cosmétiques appliqués sur les muqueuses. Ils doivent donc être parfaitement bien tolérés pour éviter de provoquer des irritations ou des allergies. De plus, dans le cas des sticks anti-solaires, ces produits doivent satisfaire aux mêmes critères d'efficacité que les autres produits solaires. Ils doivent donc protéger sur l'ensemble du spectre UV (ce qui correspond à une longueur d'onde critique supérieure ou égale à 370 nm, et un ratio SPF/FP-UVA inférieur ou égal à 3), être photostable et posséder une substantivité suffisante.

La méthode de détermination de l'efficacité des produits solaires par méthode *in vitro*, mise au point au laboratoire [151], a été adaptée à la forme galénique stick, en déterminant les caractéristiques anti-solaires (SPF, FP-UVA, longueur d'onde critique...) grâce à un spectrophotomètre à sphère d'intégration.

II.1.2.1.1.1. La formule de base

La formule de base des sticks élaborés au laboratoire est présentée dans le tableau 38.

Ingrédients (Nom INCI)	Pourcentage massique (% m/m)
Huile de coco (Coconut oil)	32,20
Lanoline (Lanolin)	15,00
Paraffine liquide (Paraffinum liquidum)	10,00
Paraffine (Paraffin)	17,00
Ozokérite (Ozokerite)	4,00
Cire d'abeille blanche (Cera alba)	4,50
Huile de ricin (Ricinus communis)	7,30 - 15,30
Filtre organique liposoluble	2,00 – 10,00

Tableau 38 : Composition de la formule de base des sticks utilisée

II.1.2.1.1.2. Le protocole de fabrication

Le protocole de fabrication des sticks est présenté figure 82.

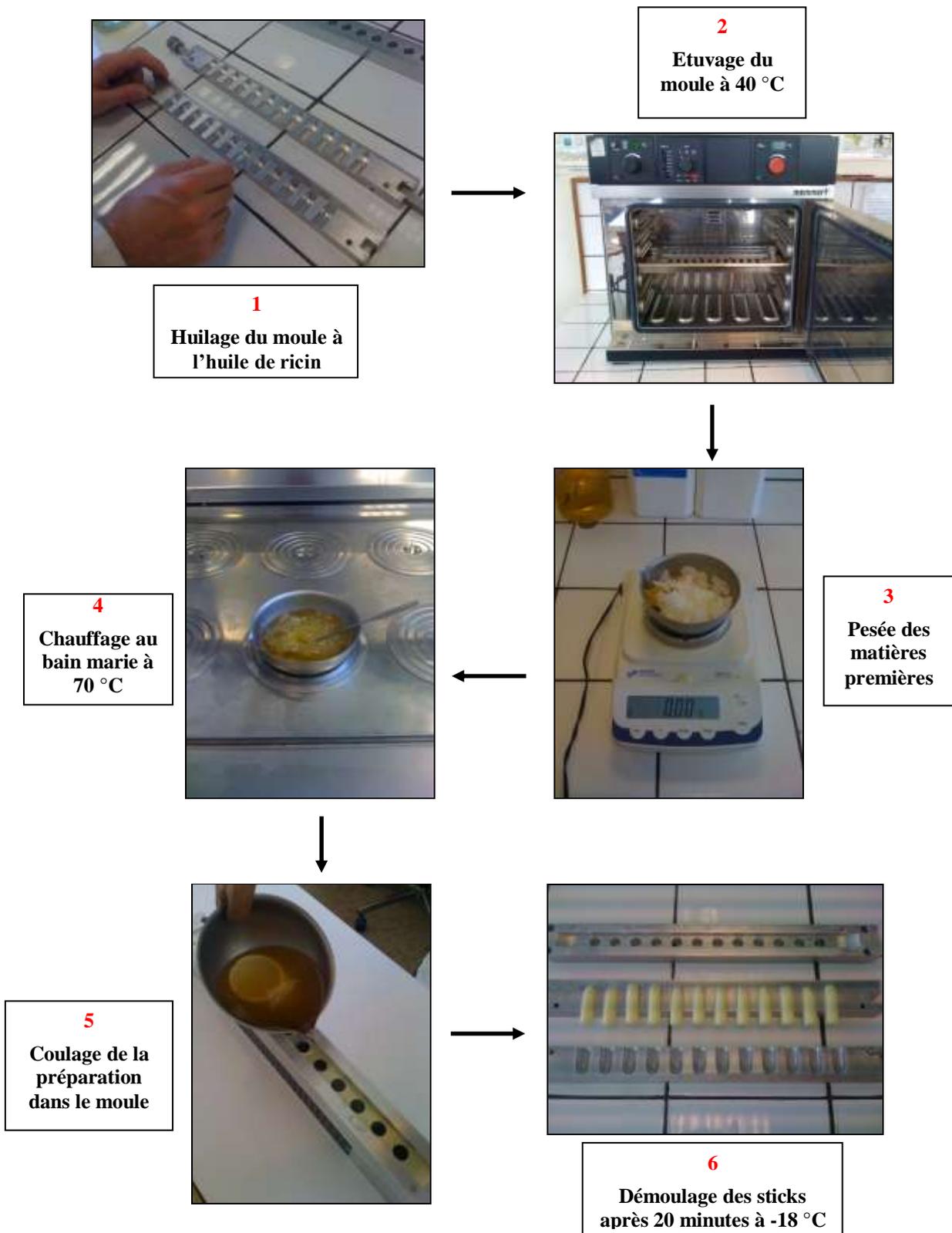


Figure 82 : Protocole de fabrication des sticks solaires

II.1.2.1.1.3. Les produits testés

Les produits testés sont des produits du commerce, vendus en pharmacie, en parfumerie ou en supermarché. Quatorze produits ont été étudiés, présentant des SPF théoriques (inscrits sur l'emballage) très variables, allant de 15 à 50+ (tableau 39).

Produits	SPF affiché
Sun (Labello)	25
Stick lèvres protection extrême (Dermophil)	20
Stick extrême zones fragiles (Uriage)	50+
Duo sport reflet glacier (Bergasol)	30
Duo protection (Eucerin)	30
Baume protecteur pour lèvres (Elisabeth Arden)	15
Stick beauté solaire yeux et lèvres (Lancaster)	25
Fond de teint stick solaire protecteur (Shiseido)	30
Stick solaire très haute protection (Clarins)	30
Sun lipstick (Piz Buin)	20
Stick lèvres (Neutrogena)	20
Stick ultra protection zones sensibles (Vichy)	50
Gloss lèvres brillance (Polysianes)	15
Stick UVA/UVB Anthelios (La Roche-Posay)	50+

Tableau 39 : Sticks antisolaires du commerce testés

De plus, afin de disposer d'une large gamme de produits, 11 filtres liposolubles autorisés en Europe ont été testés, ainsi que deux filtres inorganiques (le dioxyde de titane et l'oxyde de zinc). Parallèlement à l'étude de ces sticks, des émulsions (selon la formule de base précédemment décrite) contenant ces mêmes filtres ont été réalisées, pour avoir une valeur de référence pour le SPF de ces produits.

Les mesures de SPF ont été réalisées grâce au Labsphere 1000-S[®], comme pour les études précédentes. Ici, encore on étale une certaine masse de stick sur une plaque de PMMA, avant de mesurer le SPF. Afin de déterminer la masse adéquate de stick à étaler, 4 masses résiduelles ont été étudiées : 15, 20, 25 et 30 mg.

II.1.2.1.2. Résultats expérimentaux

II.1.2.1.2.1. Introduction

Si la mesure *in vitro* du SPF des émulsions est aujourd'hui une méthode couramment employée dans le laboratoire, il n'existait pas de protocole permettant de mesurer *in vitro* le SPF des sticks antisolaires. Cette partie de la présente étude a donc pour objectif la mise en place de ce protocole.

Pour les produits du commerce, la comparaison des résultats obtenus pour chaque masse résiduelle avec les SPF affichés sur les emballages des sticks nous permettra de déterminer la masse devant rester sur la plaque pour obtenir des valeurs de SPF corrélées à

celles obtenues *in vivo*. De la même manière, pour les produits formulés au laboratoire, la comparaison des valeurs obtenues pour chaque masse avec celles obtenues pour les émulsions nous permettra de confirmer la valeur de cette masse résiduelle.

II.1.2.1.2.2. Résultats obtenus avec les sticks du commerce en fonction de la masse résiduelle

Tout d'abord, nous avons testé différents produits du commerce. Ces produits présentent des caractéristiques antisolaires et des formules très variables, ce qui permet d'avoir un panorama le plus complet possible du marché des sticks solaires.

Lors de mesures préliminaires, nous avons constaté qu'avec une masse résiduelle de 15 mg, le SPF obtenu pour les sticks anti-solaires était toujours inférieur à celui mesuré dans les mêmes conditions pour 15 mg d'émulsion contenant le même filtre à la même concentration. Cela peut s'expliquer par le fait que les sticks sont des formes galéniques anhydres. Dans le cas des émulsions, on observe un phénomène d'évaporation de l'eau contenue dans la formule après étalement. Ainsi, la proportion de filtre (% m/m) augmente-t-elle sur la plaque après étalement. Ce phénomène ne se produisant pas dans le cas des sticks, le SPF mesuré est plus faible pour une masse résiduelle identique. De plus, il est probable que les filtres organiques se comportent différemment en fonction de la forme galénique.

On peut vérifier que plus la masse résiduelle est grande, plus les valeurs de SPF obtenues sont élevées [151]. Nous avons mené une série de tests en augmentant progressivement la masse résiduelle de stick. De plus, nous avons remarqué qu'au delà de 30 mg, l'étalement est inhomogène et les écarts-types pour chaque plaque sont très importants. Les valeurs de SPF obtenues ne sont alors plus fiables. Quatre masses ont alors été testées, 15 mg, 20 mg, 25 mg et 30 mg. Le SPF affiché est celui qui figure sur les emballages des produits. Cette valeur a été déterminée *in vivo* par les fabricants. La figure 83 présente les résultats obtenus pour une masse résiduelle de 15 mg.

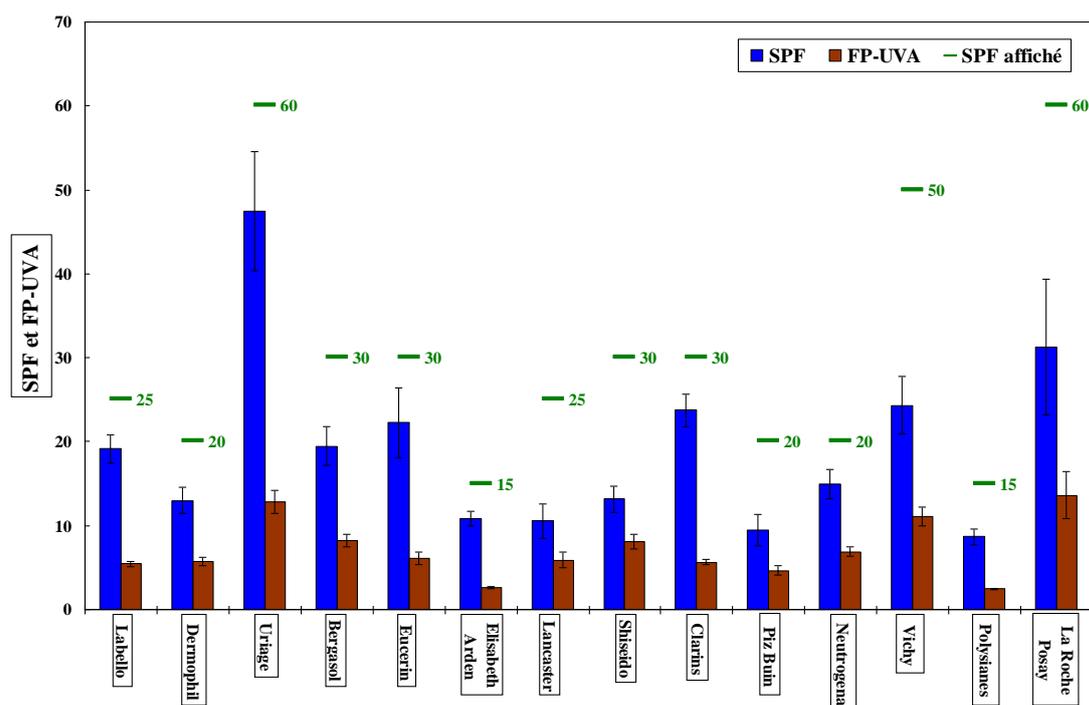


Figure 83 : SPF et FP-UVA des sticks du commerce testés (masse résiduelle = 15 mg)

On remarque tout d'abord que les valeurs de SPF obtenues pour une masse résiduelle de 15 mg sont toujours inférieures à celle indiquées sur l'emballage. De plus, on constate très logiquement que plus le SPF mesuré est grand, plus l'écart type est élevé. Ce phénomène s'observe pour l'ensemble des mesures effectuées.

La figure 84 présente les valeurs de SPF et FP-UVA obtenues pour une masse résiduelle de 20 mg.

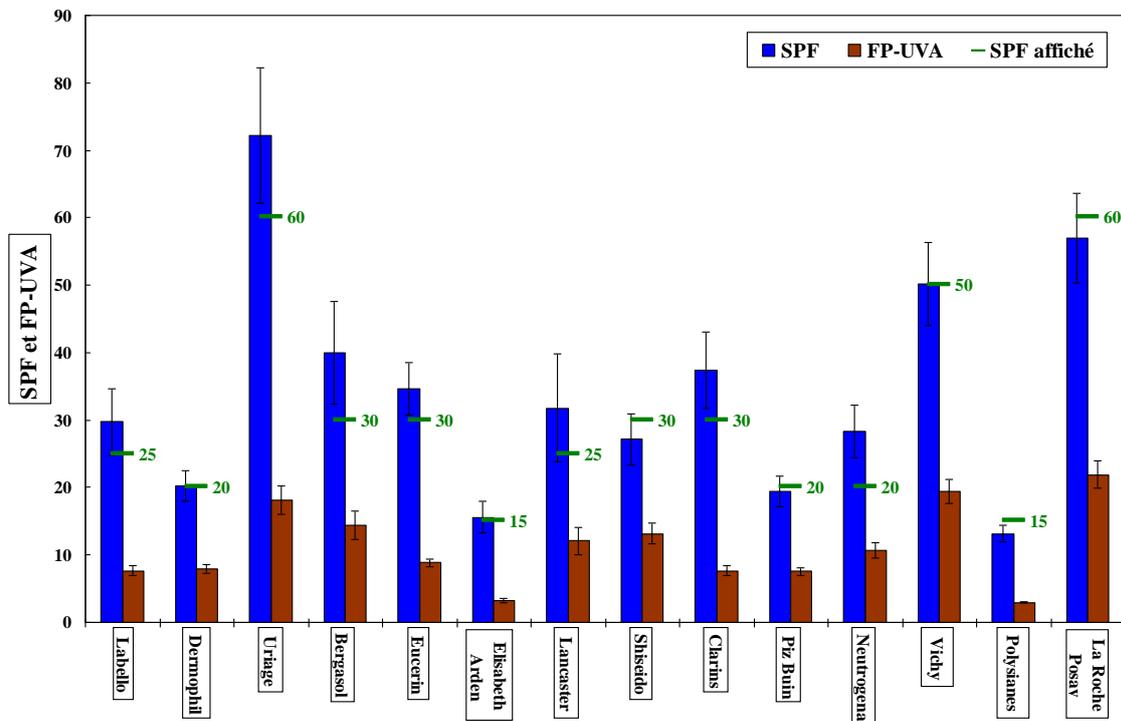


Figure 84 : SPF et FP-UVA des sticks du commerce testés (masse résiduelle = 20 mg)

On note que pour une masse résiduelle de 20 mg, les SPF obtenus sont corrélés avec ceux indiqués sur l'emballage (figure 84). Dans le cas du produit Labello[®], le SPF mesuré est de 29,71, ce qui correspond bien à un SPF affiché de 25. Pour le stick Uriage[®], le SPF mesuré est de 72,16. Ce stick appartient donc bien à la catégorie des produits 50+. Pour les produits Bergasol[®] et Lancaster[®], les SPF mesurés (respectivement 40,02 et 31,80) sont légèrement supérieurs à ceux affichés (respectivement 30 et 25). Toutefois, un test de Student ($P < 0,95$, $n = 27$) nous permet de conclure qu'il n'existe pas de différence significative, pour cette masse résiduelle, entre les résultats obtenus par les méthodes *in vivo* et *in vitro*, et ce pour l'ensemble des 14 produits étudiés.

Ainsi, dans le cas des sticks du commerce, une masse résiduelle de 20 mg semble-t-elle convenir pour obtenir des résultats conformes à ceux obtenus *in vivo*.

Pour une masse résiduelle de 25 mg, on peut constater que les valeurs de SPF mesurés sont supérieures à celles indiquées sur l'emballage (figure 85). Cette masse résiduelle est donc trop importante.

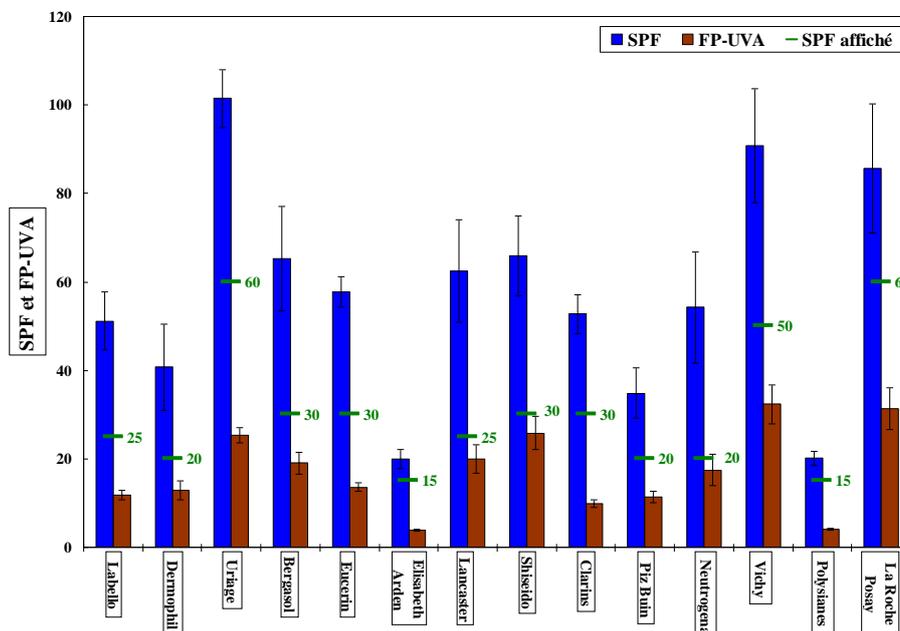


Figure 85 : SPF et FP-UVA des sticks du commerce testés (masse résiduelle = 25 mg)

Enfin, on vérifie logiquement qu'une masse résiduelle de 30 mg n'est pas adaptée non plus. Les résultats obtenus ne correspondent pas à ceux indiqués sur les emballages (mesurés *in vivo*) (figure 86). La masse résiduelle est bien trop grande. De plus, les écarts types obtenus sont très élevés. Cela vient du fait qu'avec une telle masse résiduelle, l'étalement est difficile à réaliser. La quantité de produit déposé varie grandement sur la surface de la plaque, et par conséquent le SPF mesuré aussi.

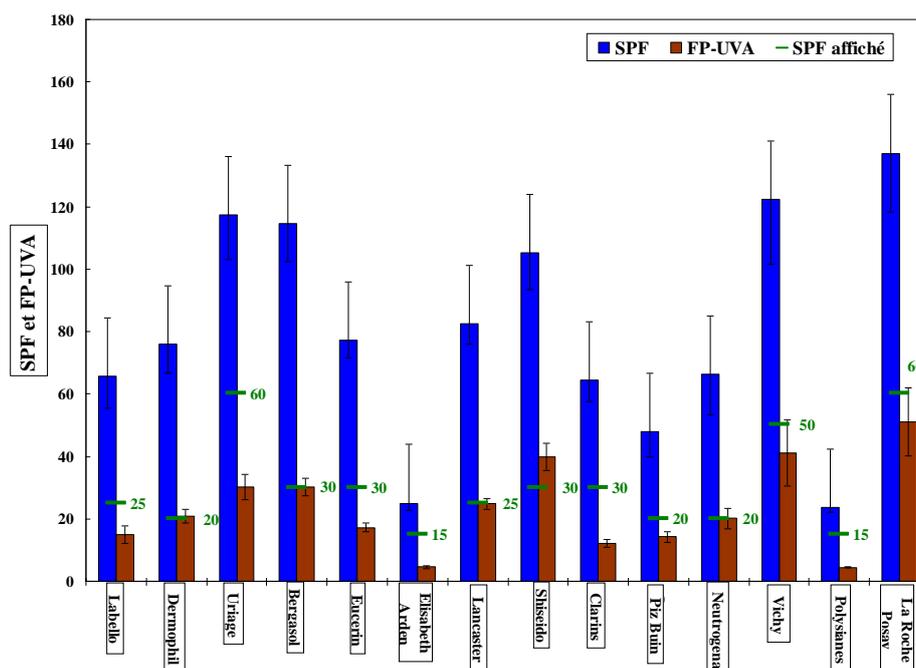


Figure 86 : SPF et FP-UVA des sticks du commerce testés (masse résiduelle = 30 mg)

De plus, nous avons cherché à vérifier si les produits testés étaient bien conformes en termes de protection dans le domaine UVA, avec une masse résiduelle de 20 mg. Le tableau 40 présente les produits non conformes en termes de protection UVA.

Produits	SPF affiché	SPF \pm EC	FP-UVA \pm EC	Longueur d'onde critique	SPF/FP-UVA
Labello	25	29,71 \pm 5,01	7,62 \pm 0,74	374 nm	3,90
Uriage	50 +	72,16 \pm 10,05	18,15 \pm 2,10	374 nm	3,98
Eucerin	30	34,68 \pm 3,85	8,86 \pm 0,59	374 nm	3,91
Elisabeth Arden	15	15,62 \pm 2,38	3,25 \pm 0,32	347 nm	4,81
Clarins	30	37,40 \pm 5,67	7,63 \pm 0,71	361 nm	4,90
Polysianes	15	13,18 \pm 1,16	2,99 \pm 0,14	341 nm	4,41

Tableau 40 : Produits non conformes en termes de protection UVA

Parmi les 14 produits testés, 6 ne protègent pas suffisamment dans l'UVA. On distingue deux types de produits. Les produits Labello[®], Uriage[®] et Eucerin[®] dont la longueur d'onde critique est supérieure à 370 nm mais pour lesquels le ratio SPF/FP-UVA est supérieur à 3. Ces produits ne sont pas conformes, mais ils ne représentent pas un réel danger pour l'utilisateur.

La seconde catégorie de produit est constituée des sticks Elisabeth Arden[®], Clarins[®] et Polysianes[®]. Pour ces trois sticks, la longueur d'onde critique est inférieure à 370 nm et le ratio SPF/FP-UVA est largement supérieur à 3 (il est compris entre 4,41 et 4,91). Ces produits sont potentiellement dangereux car ils ne protègent presque pas des radiations UVA, ce qui représente un réel risque pour la santé humaine. Ceci est d'autant plus gênant pour le produit Clarins[®] que l'emballage indique une protection sur l'ensemble du spectre.

Le tableau 41 présente les produits conformes en termes de protection UVA.

Produits	SPF affiché	SPF \pm EC	FP-UVA \pm EC	Longueur d'onde critique	SPF/FP-UVA
Dermophil	20	20,18 \pm 2,26	7,88 \pm 0,65	376 nm	2,56
Bergasol	30	40,02 \pm 7,58	14,42 \pm 2,05	376 nm	2,78
Lancaster	25	31,80 \pm 7,94	12,10 \pm 2,04	375 nm	2,63
Shiseido	30	27,14 \pm 3,85	13,18 \pm 1,48	385 nm	2,06
Piz Buin	20	19,41 \pm 2,27	7,54 \pm 0,63	372 nm	2,57
Neutrogena	20	28,19 \pm 3,90	10,71 \pm 1,10	374 nm	2,64
Vichy	50	50,18 \pm 6,10	19,39 \pm 1,79	376 nm	2,59
La Roche-Posay	50 +	56,98 \pm 6,67	21,86 \pm 2,03	376 nm	2,61

Tableau 41 : Produits conformes en termes de protection UVA

Les autres produits sont conformes en termes de protection UVA. Toutefois, on constate que certains produits protègent assez faiblement dans l'UVA (Bergasol[®] ou Neutrogena[®]). La protection dans le domaine UVA est rarement mise en avant sur

l'emballage de ces produits. Cela pourrait constituer un problème dans la mesure où les sticks sont généralement employés pour protéger des zones sensibles (comme le visage). Ils sont très souvent utilisés lors de séjour à la montagne, lieu où l'irradiation UV est intense en raison de l'altitude et de la forte réflexion par la neige. La protection dans le domaine UVA devrait donc être optimale pour éviter l'induction de cancers cutanés.

Enfin, nous avons étudié l'évolution du SPF en fonction de la masse résiduelle pour chaque produit. Pour cela, nous avons tracé les courbes $SPF = f(\text{masse résiduelle})$ (figure 87).

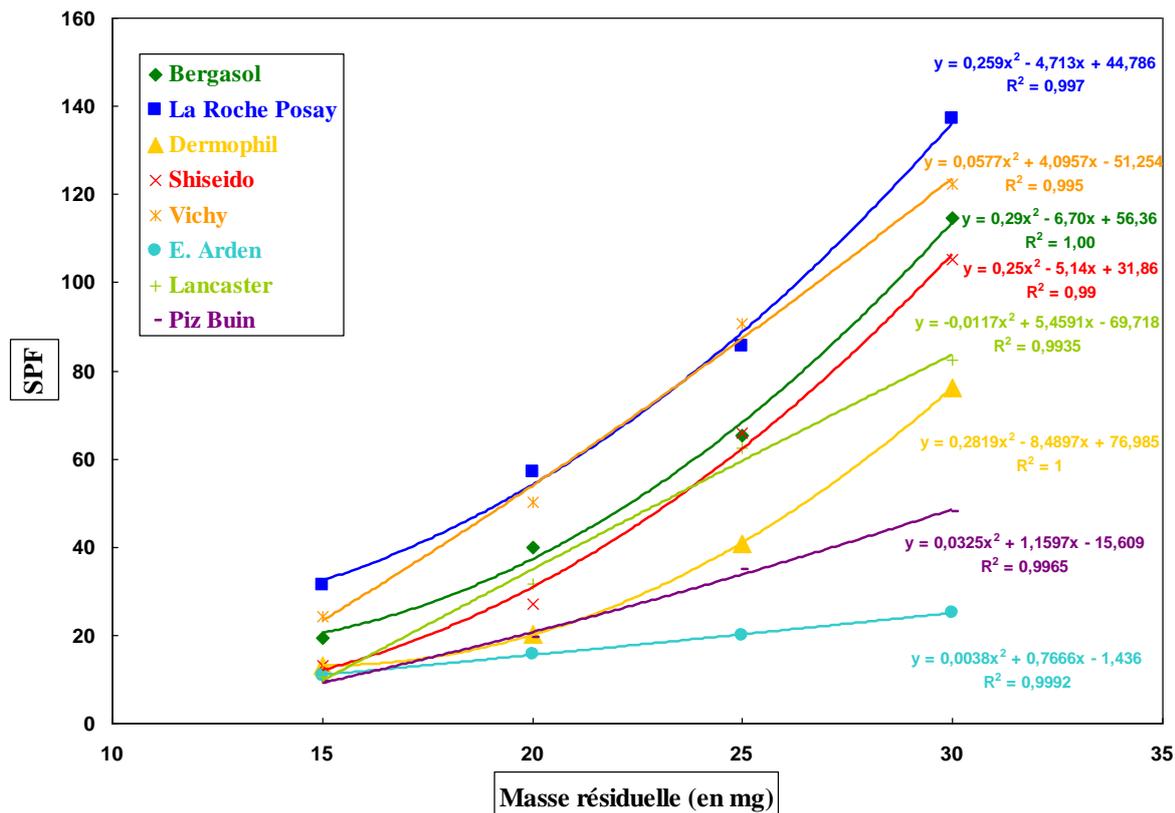


Figure 87 : Evolution du SPF en fonction de la masse résiduelle pour les sticks du commerce testés

Dans ce cas, la courbe $SPF = f(\text{masse résiduelle})$ correspond à un polynôme du second degré. Ce type de comportement peut s'expliquer par le fait qu'au-delà de 20 mg, la masse résiduelle n'est plus adaptée à la mesure. Les SPF obtenus pour des masses résiduelles de 25 et 30 mg sont alors surestimés par rapport à la valeur attendue.

II.1.2.1.2.3. Résultats obtenus avec les sticks formulés au laboratoire

Afin de compléter cette étude, nous avons testé les filtres liposolubles autorisés en Europe, incorporés dans la formule de base des sticks. Nous avons aussi utilisé pour cette étude deux filtres inorganiques, le dioxyde de titane et l'oxyde de zinc. La masse résiduelle de produit demeurant sur la plaque après étalement est ici de 15 mg dans le cas des émulsions, et de 20 mg pour les sticks.

Le SPF affiché est celui qu'il faudrait noter sur l'emballage des produits ainsi formulés, suivant la législation européenne. L'intervalle de confiance est calculé par la

méthode de Student ($P < 0,05$; $n = 27$). Les résultats obtenus avec les filtres organiques sont présentés dans le tableau 42.

Filtres	Concentration (% m/m)	SPF (émulsion – 15 mg) [Intervalle de confiance]	SPF affiché	SPF (stick – 20 mg) [Intervalle de confiance]	SPF affiché
Homosalate	10	$3,98 \pm 0,22$ [3,89 – 4,07]	/	$3,40 \pm 0,17$ [3,33 – 3,47]	/
Ethylhexyl méthoxycinnamate	10	$13,27 \pm 0,45$ [13,09 – 13,45]	10	$11,88 \pm 0,50$ [11,68 – 12,08]	10
Octyldiméthyl PABA	10	$10,81 \pm 0,33$ [10,68 – 10,94]	10	$10,20 \pm 0,55$ [9,98 – 10,42]	10
Octocrylène	10	$9,36 \pm 1,28$ [8,85 – 9,87]	8	$9,78 \pm 0,92$ [9,42 – 10,14]	8
Anisotriazine	10	$25,32 \pm 2,96$ [24,15 – 26,49]	25	$28,28 \pm 3,37$ [26,95 – 29,61]	25
Isoamyl p-méthoxycinnamate	10	$11,27 \pm 1,03$ [10,86 – 11,68]	10	$10,74 \pm 0,28$ [10,63 – 10,85]	10
Octyltriazone	5	$8,25 \pm 0,59$ [8,02 – 8,48]	8	$8,21 \pm 0,18$ [8,14 – 8,28]	8
Diethylhexyl butamidotriazone	10	$13,09 \pm 0,33$ [12,96 – 13,22]	10	$9,55 \pm 0,26$ [9,45 – 9,67]	8
4-méthylbenzylidène camphre	4	$4,78 \pm 0,48$ [4,59 – 4,97]	/	$5,16 \pm 0,48$ [4,97 – 5,35]	/
3 benzylidène camphre	2	$2,18 \pm 0,15$ [2,12 – 2,24]	/	$2,14 \pm 0,14$ [2,08 – 2,2]	/
Ethylhexyl salicylate	5	$2,3 \pm 0,19$ [2,22 – 2,38]	/	$2,05 \pm 0,12$ [2 – 2,1]	/

Tableau 42 : Comparaison des valeurs de SPF obtenues pour les émulsions et les sticks formulés au laboratoire à partir de filtres organiques

Le tableau 43 regroupe les résultats concernant les filtres inorganiques.

Ecran	SPF (émulsion – 15 mg) [Intervalle de confiance]	SPF affiché	SPF (stick – 20 mg) [Intervalle de confiance]	SPF affiché
TiO ₂ : Eusolex TS (25%)	$52,31 \pm 7,02$ [49,53 – 55,09]	50	$54,61 \pm 6,98$ [51,85 – 57,37]	50
ZnO : Z-Cote Max (25%)	$8,27 \pm 0,68$ [8 – 8,54]	8	$8,4 \pm 1,07$ [7,98 – 8,82]	8

Tableau 43 : Comparaison des valeurs de SPF obtenues pour les émulsions et les sticks formulés au laboratoire à partir de filtres inorganiques

Comme on peut le voir, les résultats varient selon le filtre employé. Pour 6 filtres parmi les 13 étudiés (l'octocrylène, le 4 méthylbenzylidène camphre, le 3 benzylidène camphre, l'octyle triazone, le dioxyde de titane et l'oxyde de zinc), on n'observe pas de différence significative entre les valeurs obtenues avec les deux formes galéniques. Cela

indique qu'une masse résiduelle de stick de 20 mg permet d'obtenir des résultats identiques à ceux obtenus pour les émulsions.

Pour les sept autres filtres, il existe une différence significative entre les valeurs de SPF obtenu selon les formes galéniques étudiées. Il est possible que cette différence vienne du fait que l'écart type mesuré pour le SPF est relativement grand dans le cas des sticks. L'étalement est en effet délicat pour cette forme galénique particulière ce qui conduit à des valeurs d'écart-type élevées dans certains cas.

Néanmoins, on n'observe pas de différence significative en termes de SPF affichés entre les valeurs obtenues avec les deux formes galéniques. Cela indique que les valeurs de SPF mesurés pour les sticks sont très proches de celles obtenues pour les émulsions, pour un filtre donné. Ces résultats confirment donc ceux obtenus avec les produits du commerce. Ainsi, ces tests sur les produits formulés au laboratoire montrent-ils que pour un stick, une masse de 20 mg est la plus indiquée.

Nous avons de plus étudié l'évolution du SPF en fonction de la concentration en filtre, pour les deux formes galéniques (figure 88). Dans le cas des émulsions, la courbe SPF = f (concentration) est une droite [151]. On s'attend donc à observer le même type d'évolution linéaire dans le cas des sticks.

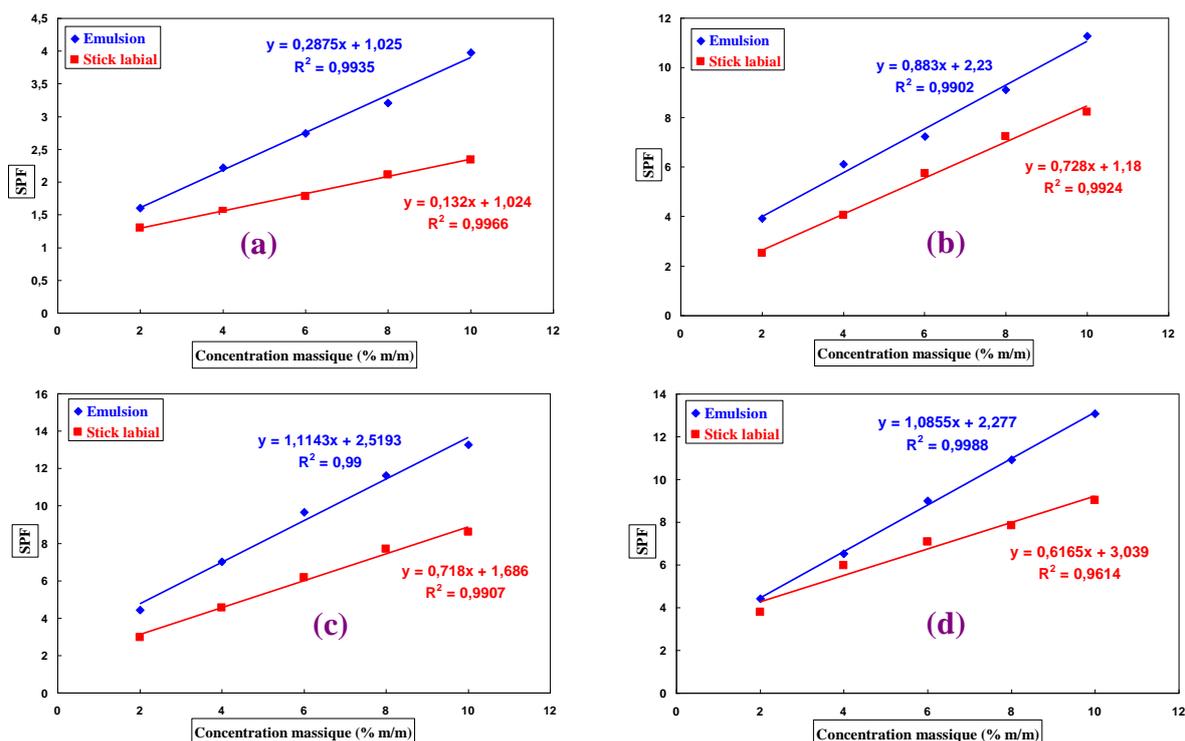


Figure 88 : Résultats obtenus avec une masse résiduelle de 15 mg de stick ou d'émulsion formulés à base d'homosalate (a), d'isoamyl p-méthoxycinnamate (b), d'octyl méthoxycinnamate (c) et de diéthylhexyl butamidotriazone (d)

On constate effectivement que, pour les deux formes galéniques, le SPF évolue linéairement en fonction de la concentration massique en filtre (% m/m) dans les formules. Notons que le même type d'évolution est observé pour une masse résiduelle de 20 mg dans le cas des sticks. Ces résultats montrent que pour une masse résiduelle de 20 mg, les sticks se

comportent de manière analogue aux émulsions étudiés. La méthode de détermination *in vitro* des indices de protection UV dans le cas des sticks semble donc tout à fait valide.

La masse résiduelle de stick pour déterminer le SPF *in vitro* est de 20 mg.

Cette étude a fait l'objet d'une publication dans la revue *International Journal of Cosmetic Science* [165].

II.1.2.2. Les poudres

Les poudres testées correspondent à des poudres libres ou compactes utilisées en maquillage ou à des fins de protection solaire. Elles servent surtout à mettre en valeur le bronzage et sont en générale peu photoprotectrices. Elles conviennent surtout aux phototypes III ou IV.

II.1.2.2.1. Matériel et méthode

II.1.2.2.1.1. Formule de base

Afin de pouvoir adapter le protocole de mesure *in vitro* à l'ensemble des formes galéniques anhydres existant sur le marché, l'étude a été étendue aux poudres. La formule de base des poudres compactes formulées au laboratoire est présentée tableau 44.

Ingrédients (Nom INCI)	Rôle	Quantité (% m/m)
<i>Phase lipophile</i>		
Myristate d'isopropyle (Isopropyl myristate)	Emollient - lubrifiant	5,00
Acide stéarique (Stearic acid)	Facteur de consistance	11,00
Blanc de baleine synthétique (Cetyl alcohol)	Emollient – Epaississant	4,00
Span® 80 (sorbitan monooleate)	Tensioactif non ionique	0,50
Tween® 80 (Polysorbate 80)	Tensioactif non-ionique	0,50
Filtre organique liposoluble	Actif antisolaire	2,00 – 10,00
<i>Poudres</i>		
Talc (Talc)	Base	66,00 - 74,00
Stéarate de magnésium (Magnesium stearate)	Agent de compactage	3,00

Tableau 44 : Formule de base des poudres compactes réalisées au laboratoire

II.1.2.2.1.2. Protocole de fabrication

Le protocole de réalisation des poudres au laboratoire est illustré par la figure 89.

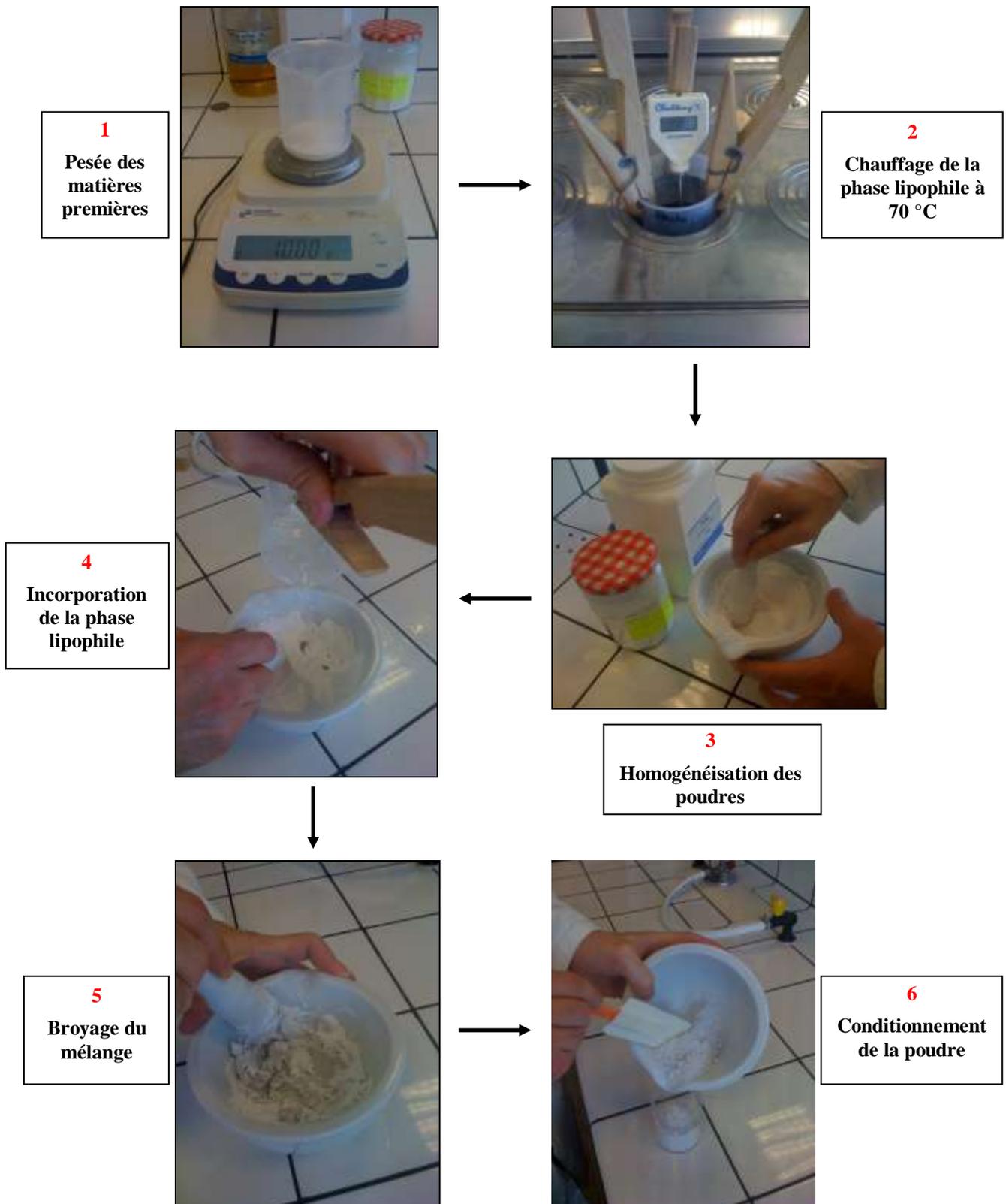


Figure 89 : Protocole de fabrication des poudres solaires

II.1.2.2.1.3. Les filtres et les produits testés

Le tableau 45 récapitule les différents filtres liposolubles testés.

Filtre	Nom Commercial	Fournisseurs
Octyl méthoxycinnamate	Parsol MCX	Roche
Homosalate	Eusolex HMS	Merck
Octyltriazone	Uvinul T150	BASF
4-méthylbenzylidène camphre	Eusolex 6300	Merck
Octylsalicylate	Eusolex OS	Merck
Octyl diméthyl PABA	Eusolex 6007	Merck
Octocrylène	Eusolex OCR	Merck
Isoamyl p-méthoxycinnamate	NeoHeliopan E ₁₀₀₀	Symrise

Tableau 45 : Filtres incorporés dans les poudres formulées au laboratoire

Les poudres du commerce testées sont regroupées dans le tableau 46.

Nom commercial (Laboratoire)	SPF affiché
Poudre soleil (Stila Sun)	15
Poudre de soleil (Polysianes)	6
Compact teint sublime (Polysianes)	30
Poudre solaire active doré (Sephora)	10
Poudre solaire riviera (Sephora)	10
Poudre de soleil sensuelle tenue & confort (Lancôme)	10
Teint haute perfection confort & tenue extrême (Dior)	25
Teint poudre tenue extrême (Estée Lauder)	10

Tableau 46 : Poudres commerciales testées

Comme précédemment, la transmittance est mesurée avec le Labsphere UV 1000-S[®]. Les valeurs de SPF obtenues pour différentes masses résiduelles de poudre sont comparées avec celles obtenues pour les émulsions. Cela nous permettra de déterminer quelle est la masse de poudre devant rester sur la plaque après étalement, pour obtenir des valeurs de SPF satisfaisantes, c'est-à-dire corrélées à celles obtenues dans le cas des émulsions.

Une fois la masse adéquate déterminée, l'étude sera complétée par une comparaison des valeurs de SPF des poudres commerciales obtenues *in vitro* avec celles affichées par les industriels sur les emballages des produits. Quatre masses ont été étudiées : 10,0 mg, 12,5 mg, 15,0 mg et 17,5 mg.

II.1.2.2.2. Résultats expérimentaux

II.1.2.2.2.1. Résultats obtenus avec les poudres formulées au laboratoire

Les poudres étant une forme galénique anhydre, on s'attend à observer le même type de comportement que pour les sticks. Ainsi, la masse résiduelle permettant d'obtenir des résultats corrélés avec ceux obtenus *in vivo* devrait-elle être supérieure à celle utilisée dans le cas des émulsions.

Néanmoins, les mesures préliminaires ont montré qu'avec une masse résiduelle sur la plaque de 15 mg, les valeurs de SPF obtenues dans le cas des poudres sont supérieures à celles obtenues avec les émulsions dans les mêmes conditions, avec les mêmes filtres à la même concentration. Nous avons alors étudié ce comportement particulier en mesurant le SPF des poudres solaires pour des masses résiduelles encadrant la valeur de 15 mg (soit 10,0 mg, 12,5 mg et 17,5 mg).

Le tableau 47 permet de suivre l'évolution du SPF en fonction de la masse résiduelle pour les différentes poudres formulées au laboratoire. De plus, à titre de comparaison, ce tableau présente les résultats obtenus pour les émulsions avec une masse de 15 mg restant sur la plaque après étalement. Les filtres sont utilisés à la concentration maximale autorisée par la législation européenne.

Filtres	SPF émulsion	SPF _{poudre} 10 mg	SPF _{poudre} 12,5 mg	SPF _{poudre} 15 mg	SPF _{poudre} 17,5 mg
Octyl méthoxycinnamate (10 %)	13,27 ± 0,45	9,30 ± 1,13	12,21 ± 0,76	15,35 ± 1,94	18,32 ± 2,32
Homosalate (10 %)	4,34 ± 0,60	4,31 ± 0,53	4,56 ± 0,51	5,23 ± 0,67	5,82 ± 0,40
Octyltriazone (5 %)	7,34 ± 0,42	5,12 ± 0,47	6,67 ± 0,90	7,19 ± 0,83	8,00 ± 0,55
Octylsalicylate (5 %)	2,72 ± 0,23	2,46 ± 0,20	2,99 ± 0,18	3,27 ± 0,22	4,26 ± 0,38
Isoamyl p-méthoxycinnamate (10 %)	13,72 ± 1,08	10,26 ± 1,41	13,10 ± 1,34	15,03 ± 2,21	17,06 ± 1,87
Octyl diméthyle PABA (8 %)	10,81 ± 0,97	9,86 ± 1,52	11,28 ± 1,31	12,48 ± 1,80	13,68 ± 0,79
Octocrylène (10 %)	11,32 ± 1,24	8,69 ± 1,69	11,30 ± 1,25	13,67 ± 1,65	15,93 ± 1,59
4-méthylbenzylidène camphre (4 %)	4,78 ± 0,33	4,21 ± 0,42	4,80 ± 0,49	5,51 ± 0,57	6,4 ± 0,63

Tableau 47 : Influence de la masse résiduelle sur le SPF dans le cas des poudres

Tout d'abord, on remarque effectivement que pour une masse résiduelle de 15 mg, le SPF mesuré dans le cas des poudres est bien supérieur à celui obtenu avec les émulsions. De plus, on constate que l'écart-type obtenu est faible. Cela vient du fait que cette forme galénique s'étale facilement sur les plaques. Le produit est alors uniformément réparti à la surface du substrat.

Pour chaque filtre, la relation SPF = f (masse résiduelle) est tracée (figure 90).

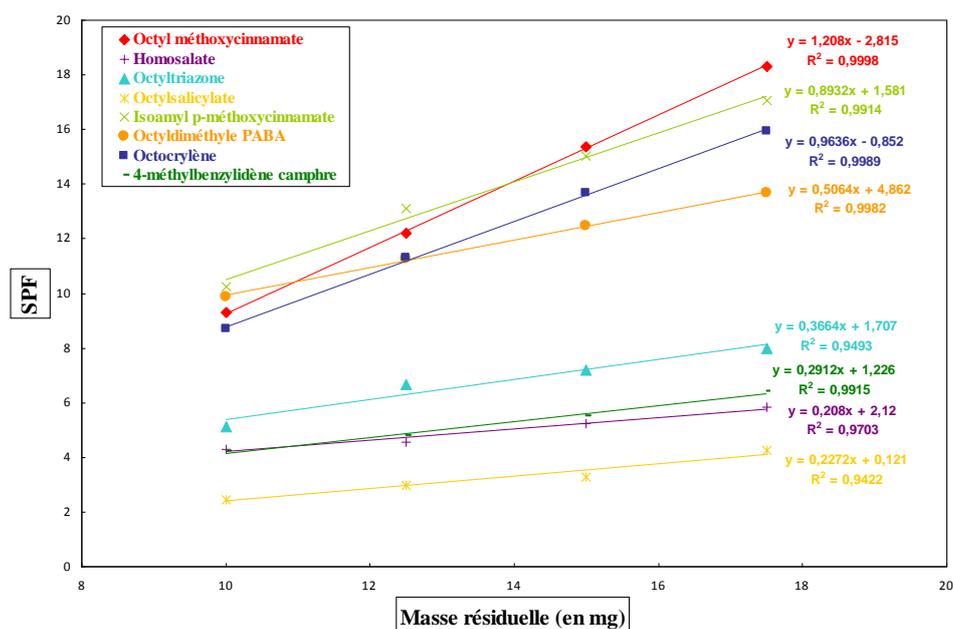


Figure 90 : Courbe SPF = f (masse résiduelle) dans le cas des poudres

Une masse résiduelle de 12,5 mg semble pouvoir permettre d'obtenir des valeurs de SPF proche de celles obtenues avec les émulsions. Afin de le vérifier, nous avons calculé l'intervalle de confiance par la méthode de Student ($P < 0,05$; $n = 27$) pour les deux formes galéniques. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 48. Le SPF affiché est celui qu'il faudrait noter sur l'emballage des produits ainsi formulés, suivant la législation européenne.

Filtre	Concentration (% m/m)	SPF (émulsion – 15 mg) [Intervalle de confiance]	SPF affiché	SPF (poudre-12,5 mg) [Intervalle de confiance]	SPF affiché
Octyl méthoxycinnamate	10	13,27 ± 0,45 [13,09 – 13,45]	10	12,21 ± 0,76 [11,91 – 12,51]	10
Homosalate	10	4,34 ± 0,60 [4,10 – 4,58]	/	4,56 ± 0,51 [4,36 – 4,76]	/
Octyltriazone	5	7,34 ± 0,42 [7,17 – 7,51]	6	6,67 ± 0,90 [6,31 – 7,03]	6
Octylsalicylate	5	2,72 ± 0,23 [2,63 – 2,81]	/	2,99 ± 0,18 [2,92 – 3,06]	/
Isoamyl p-méthoxycinnamate	10	13,72 ± 1,08 [13,29 – 14,15]	10	13,10 ± 1,34 [12,57 – 13,63]	10
Octyl diméthyle PABA	8	10,81 ± 0,97 [10,43 – 11,19]	10	11,28 ± 1,31 [10,76 – 11,80]	10
Octocrylène	10	11,32 ± 1,24 [10,83 – 11,81]	10	11,30 ± 1,25 [10,81 – 11,79]	10
4-méthylbenzylidène camphre	4	4,78 ± 0,33 [4,65 – 4,91]	/	4,80 ± 0,49 [4,61 – 4,99]	/

Tableau 48 : Comparaison des valeurs de SPF obtenues pour les émulsions et les poudres formulées au laboratoire (masse résiduelle de 12,5 mg)

Ici, le SPF évolue linéairement en fonction de la masse résiduelle. Cette évolution semble logique dans la mesure où une plus grande quantité de produit présent sur le substrat se traduit par une plus grande absorption des UV, et donc une valeur de SPF plus haute. Il est également probable que pour une masse résiduelle supérieure, cette évolution ne soit plus linéaire. Le SPF tendra alors vers un maximum.

On note que pour 6 des 8 filtres étudiés, les intervalles de confiance déterminés par la méthode de Student se chevauchent. On n'observe donc pas de différence significative entre les valeurs obtenues pour les deux formes galéniques. On constate qu'il existe une différence significative pour les deux autres filtres organiques, l'octyle triazone et l'octyle méthoxycinnamate. Toutefois, cette différence est très faible. De plus, les SPF affichés sont identiques pour les deux formes galéniques.

On peut en déduire que la masse de poudre devant rester sur la plaque après étalement dans la méthode *in vitro* est de 12,5 mg.

II.1.2.2.2. Résultats obtenus avec les poudres du commerce

Afin de compléter cette étude, nous avons ensuite testé différentes poudres du commerce. Le SPF de ces produits pour une masse résiduelle sur la plaque de 12,5 mg a été mesuré, puis comparé aux valeurs indiquées sur les emballages de ces produits. Les résultats obtenus pour une masse résiduelle de 12,5 mg sont représentés sur la figure 91.

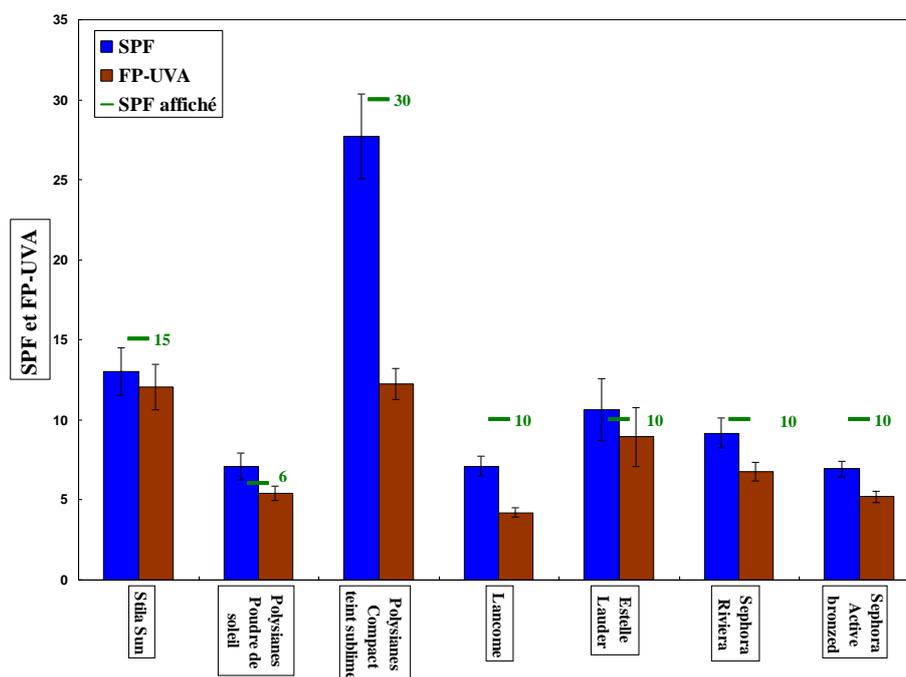


Figure 91 : SPF et FP-UVA des poudres du commerce testées (masse résiduelle = 12,5 mg)

Une masse résiduelle de 12,5 mg permet d'obtenir une bonne corrélation entre les résultats *in vivo* et *in vitro*. On note toutefois que pour deux produits (Lancôme® et Sephora active bronzed®), le SPF mesuré (respectivement 7,11 et 6,93) est inférieur au SPF affiché (soit 10). Il est possible que ces produits ne soient pas suffisamment dosés en filtre pour prétendre à un SPF de 10, ou bien que la valeur affichée soit surévaluée.

Les résultats obtenus pour une masse résiduelle de 15 mg sont présentés figure 92.

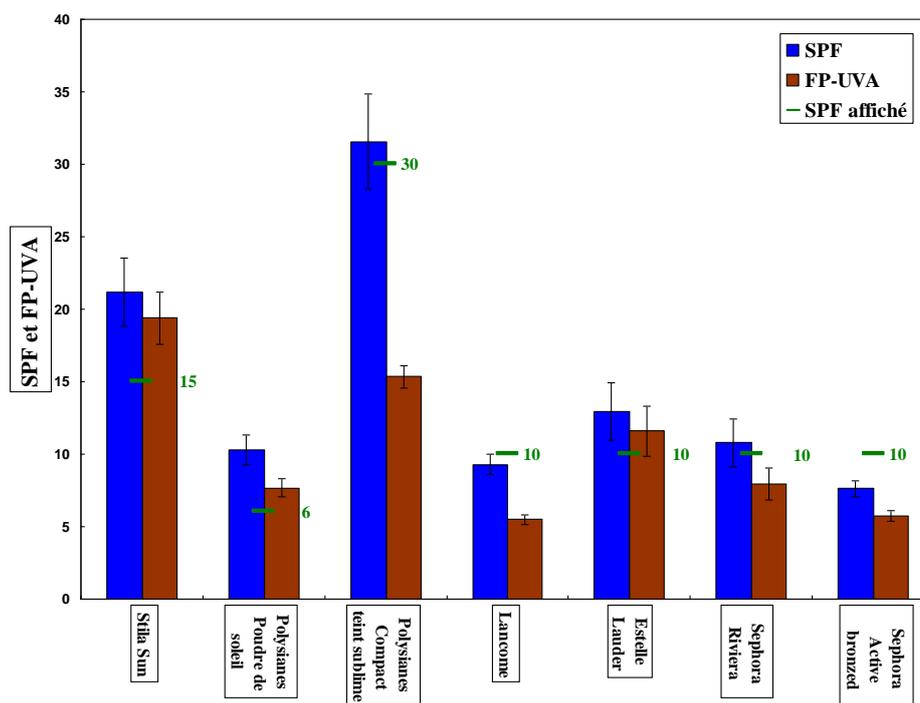


Figure 92 : SPF et FP-UVA des poudres du commerce testées (masse résiduelle = 15 mg)

En utilisant avec les poudres du commerce une masse résiduelle de 15 mg, on constate bien, comme pour les produits formulés au laboratoire, que le SPF obtenu est supérieur à celui affiché sur l'emballage. Comme précédemment, le SPF mesuré pour les deux produits Lancôme® et Sephora active bronzed® est inférieur à celui indiqué sur l'emballage. Cela semblerait confirmer que la valeur réelle du SPF de ces deux produits est inférieure à 10.

De plus, nous avons cherché à vérifier, comme dans le cas des sticks, si les produits testés étaient bien conformes en termes de protection dans le domaine UVA (tableau 49). Les résultats correspondent à une masse résiduelle de 12,5 mg.

Produits	SPF affiché	SPF ± EC	FP-UVA ± EC	Longueur d'onde critique	SPF/FP-UVA
Stila Sun	15	13,01 ± 1,50	12,06 ± 1,42	389 nm	1,08
Polysianes (poudre de soleil)	6	7,09 ± 0,82	5,41 ± 0,45	387 nm	1,31
Polysianes (teint sublime)	30	27,73 ± 2,65	12,27 ± 0,97	382 nm	2,26
Lancome	10	7,11 ± 0,62	4,21 ± 0,27	384 nm	1,69
Estelle Lauder	10	10,63 ± 1,92	8,93 ± 1,81	388 nm	1,19
Sephora (Riviera)	10	9,17 ± 0,95	6,78 ± 0,60	387 nm	1,35
Sephora (Active bronzed)	10	6,93 ± 0,51	5,21 ± 0,35	387 nm	1,33

Tableau 49 : Indice de conformité des poudres du commerce testées

Il est à noter que ces produits ne sont pas des produits solaires mais bien des produits de maquillage, donc non assujettis à la réglementation des produits solaires. Par ailleurs, la notion de réapplication toutes les 2 heures n'existe pas ici.

Les poudres testées protègent dans les domaines UVB et UVA. La longueur d'onde critique déterminée pour ces produits est largement supérieure à 370 nm, et le ratio SPF/FP-UVA inférieur à 3 (il est même généralement inférieur à 1,5). Cela n'est pas surprenant dans la mesure où l'actif principal utilisé dans ces produits est le dioxyde de titane. Or, ce filtre inorganique agit en réfléchissant les UV. Il protège donc sur la totalité du spectre UV.

La masse résiduelle de poudre pour déterminer le SPF *in vitro* est de 12,5 mg.

II.1.3. Mise au point du protocole *in vitro* de détermination de la résistance à l'eau

Les produits solaires doivent présenter, entre autres, deux propriétés fondamentales. Ils doivent être substantifs c'est-à-dire qu'ils doivent pouvoir se fixer au niveau de la couche cornée de la peau sans être éliminés trop rapidement, par frottements par exemple. De plus, ils doivent être rémanents. La rémanence d'un produit solaire définit sa capacité à conserver ses propriétés photoprotectrices au fil du temps. C'est une notion particulièrement importante dans la mesure où le bronzage se pratique très fréquemment près de points de baignade (mers, rivières, lacs ou piscines). Les produits solaires se doivent donc de conserver leurs propriétés photoprotectrices après la baignade.

Actuellement, la méthode de détermination de la résistance à l'eau des produits solaires est pratiquée *in vivo* [166]. Néanmoins, cette méthode a plusieurs inconvénients : d'une part elle pose un problème éthique dans la mesure où des volontaires sains sont soumis à des doses potentiellement élevées de radiations ultraviolettes. D'autre part, elle est contraignante et coûteuse à mettre en œuvre (sélection d'un panel de sujets, longueur des tests, ...).

Nous avons donc mis en place un protocole *in vitro* permettant d'évaluer la résistance à l'eau des produits solaires. Cette technique est rapide, peu onéreuse, reproductible et simple à mettre en œuvre. Elle présente donc de nombreux avantages par rapport à la méthode *in vivo*, et semble plus adaptée à une utilisation en milieu industriel.

Les produits solaires sont le plus souvent employés à la plage, en été. Les baignades sont donc courantes, et il est important de savoir si les produits employés résistent non seulement à l'eau, mais aussi aux frottements engendrés par les mouvements (nage, jeux ...) dans la mer. Ainsi, depuis quelques années, un standard visant à établir le degré de résistance à l'eau des produits solaires a été mis en place. Toutefois, il n'existe pas actuellement de méthode *in vitro* permettant d'établir la résistance à l'eau des produits solaires. Notre objectif a donc été de mettre en place un protocole *in vitro* pour déterminer la résistance à l'eau des différents produits solaires (sticks, émulsions, sprays, ...).

II.1.3.1. Présentation de la méthode *in vivo* et de ses pré-requis

La méthode utilisée pour déterminer *in vivo* la résistance à l'eau d'un produit solaire est proposée par le COLIPA [166]. Cette méthode repose sur la comparaison des SPF déterminés avant et après immersion des sujets dans un spa, un jacuzzi ou une baignoire, à raison de deux bains successifs de 20 minutes chacun (la température de l'eau étant fixée à $29 \pm 2^\circ\text{C}$) suivis d'une période de séchage. Un produit est considéré comme résistant à l'eau si la perte de SPF à l'issue de ces deux bains est inférieure à 50 %. Notons que la notion de résistance à l'eau n'est pour l'instant définie que dans le domaine UVB (aucune quantification de la perte d'efficacité dans le domaine UVA n'étant mentionnée).

II.1.3.1.1. Pré-requis

Tout d'abord, il est impératif 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 $\text{SPF}_0 \pm 17\%$. Cela revient à dire 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 :

$$\frac{t \cdot s}{\sqrt{n}} \leq 0,17 \times \text{SPF}_0$$

II.1.3.1.2. Détermination du pourcentage de résistance à l'eau

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

$$\% \text{WRR} = \frac{(\text{SPF}_{40} - 1)}{(\text{SPF}_0 - 1)} \times 100$$

avec SPF_{40} , la valeur du SPF après immersion de 40 minutes dans l'eau et 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 :

$$\text{mean} \% \text{WRR} - d_1$$

avec d_1 , calculé par la formule suivante :

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

où s est l'écart type (pour le SPF_{40}) ; n est le nombre de mesures ; t_u est la valeur lue dans la table de Student unilatérale pour $n-1$ degrés de liberté et $\alpha = 10\%$.

II.1.3.1.3. Notion d'étiquetage

II.1.3.1.3.1. Appellation « résistant à l'eau »

Un produit sera considéré comme résistant à l'eau s'il satisfait à la première condition, et si la valeur de [mean% WRR – d] est supérieure à 50 %.

II.1.3.1.3.2. Appellation « très résistant à l'eau »

Certains produits sont formulés afin de présenter une résistance à l'eau particulièrement importante. Ils sont alors désignés sous le nom de produits « très résistants à l'eau ». Pour le prouver, ces produits doivent subir deux périodes d'immersion de 20 minutes supplémentaires (soit quatre bains de 20 minutes). Si, à l'issue de ces immersions, le produit satisfait toujours aux deux conditions énoncées ci-dessus, il sera alors effectivement considéré comme « très résistant à l'eau » et pourra afficher cette mention.

II.1.3.2. Matériel et méthode

II.1.3.2.1. Protocole expérimental

Les conditions expérimentales de détermination du caractère de résistance à l'eau d'un produit solaire ont été adaptées du protocole *in vivo* proposé par le COLIPA [164].

Le dispositif expérimental consiste en une cuve en polycarbonate (Cuve IKA Werke EH_{4.1}, Saint Herblain, France) munie d'un thermoplongeur (Yellow line basic ET) qui permet de maintenir l'eau du bain à une température de $29 \pm 2^\circ\text{C}$, et d'un système d'agitation doux ($5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) (figure 93).



Figure 93 : Système expérimental de détermination *in vitro* de la résistance à l'eau d'un produit solaire

Dans un premier temps, on étale 15 mg du produit étudié sur une plaque de PMMA, puis on mesure le SPF initial du produit (SPF₀). Cette plaque est ensuite immergée dans la cuve remplie d'eau distillée, pendant 20 minutes. Elle est ensuite séchée, puis on détermine de nouveau le SPF du produit solaire (SPF_{20'}). Ensuite, l'ensemble des opérations est renouvelée (trempage, séchage et mesure), et l'on obtient le SPF_{40'} du produit solaire. On peut ainsi calculer le pourcentage de résistance à l'eau d'un produit solaire.

II.1.3.2.2. Validation de la méthode à l'aide de crèmes de référence

Nous avons cherché à vérifier que la méthode *in vitro* mise au point donnait des résultats corrélés avec ceux obtenus *in vivo*. Pour cela, nous avons déterminé la résistance à l'eau de deux émulsions témoins. La première consiste en l'émulsion de base formulée au laboratoire décrite précédemment, contenant 8 % d'homosalate. Cette crème qui n'est pas résistante à l'eau, est le témoin négatif. La seconde est le standard de crème résistante à l'eau proposée comme référence par le COLIPA (Tableau 50) [166].

Phase	Ingrédients (nom INCI)	Quantité (% m/m)
Phase 1	Lanoline (Lanolin)	4,5
	Beurre de cacao (Theobroma cacao)	2,0
	Stéarate de glycéryle (Glyceryl stearate)	3,0
	Acide stéarique (Stearic acid)	2,0
	Octyle diméthyle PABA (Octyl dimethyl PABA)	7,0
	Benzophénone-3 (Benzophenone-3)	3,0
Phase 2	Eau distillée (Aqua)	71,6
	Sorbitol (Sorbitol)	5,0
	Triéthanolamine (Triethanolamine)	1,0
	Propylparaben sodé (sodium propylparaben)	0,3
	Méthylparaben sodé (sodium methylparaben)	0,1
Phase 3	Alcool benzylique (Benzyl alcohol)	0,5

 **Filtres organiques**

Tableau 50 : Composition du standard « Water resistant » proposé par le COLIPA

II.1.3.2.3. Comparaison de la résistance à l'eau d'émulsions contenant des filtres hydrosolubles et liposolubles

Afin d'étudier l'influence des caractéristiques physico-chimiques des filtres sur la rémanence des produits solaires, nous avons testé la résistance à l'eau du standard COLIPA en modifiant la composition de cette crème de référence, soit en remplaçant les filtres d'origine par des filtres lipo ou hydrosolubles.

Les filtres ainsi incorporés sont présentés tableau 51.

Filtre	Nom commercial	Concentration (% m/m)	Fournisseurs
Octocrylène	Uvinul N ₅₃₉ T	10	BASF
Isoamyle p-méthoxycinnamate	Néohéliopan E ₁₀₀₀	10	Symrise
Octyle diméthyle PABA	Eusolex 6007	8	Merck
Benzophénone-4	Uvinul MS ₄₀	5	BASF
PEG-25 PABA	Uvinul P ₂₅	10	BASF

 *Filtres liposolubles*

 *Filtres hydrosolubles*

Tableau 51 : Filtres liposolubles ou hydrosolubles incorporés dans le standard « Water resistant » proposé par le COLIPA

II.1.3.2.4. Application de la méthode à des produits du commerce

Par ailleurs, douze crèmes solaires du commerce mentionnant le caractère « résistant à l'eau » ont été étudiées. Ces produits sont présentés de manière anonyme car ils ont été aimablement fournis par la société Idéa, société bordelaise de tests de tolérance et d'efficacité.

II.1.3.3. Résultats expérimentaux

II.1.3.3.1. Choix du protocole expérimental

Nous avons analysé les résultats obtenus après trois protocoles d'immersion différents : en eau distillée stagnante, en eau distillée avec le système d'agitation précédemment décrit, et en eau salée (30 g.L⁻¹) avec le même dispositif. Cette concentration en chlorure de sodium correspond à la concentration moyenne de l'eau de mer à la surface du globe. L'émulsion employée pour ces tests préliminaires est le standard COLIPA résistant à l'eau.

La notion de résistance à l'eau décrite par le COLIPA n'est définie que dans le domaine UVB. Il nous a paru important d'effectuer également des mesures dans le domaine UVA. De plus, il est nécessaire qu'un produit solaire considéré comme résistant à l'eau conserve également ses propriétés photoprotectrices vis-à-vis des UVA après immersion. Les UVA étant cancérigènes, un produit non-résistant à l'eau dans le domaine UVA pourrait être potentiellement dangereux pour l'utilisateur.

Pour cela, nous avons adapté les calculs du COLIPA et remplacé le SPF par le FP-UVA dans les équations précédentes [166]. Cela nous permet d'étudier le comportement d'un produit solaire résistant à l'eau sur la totalité du spectre UV.

Les résultats obtenus dans chacun des cas figurent dans le tableau 52.

	Eau distillée stagnante	Eau distillée salée agitée	Eau distillée agitée
SPF ₀ Moyenne ± EC	14,78 ± 1,16	12,60 ± 1,66	15,64 ± 1,14
SPF _{40'} Moyenne ± EC	12,81 ± 0,94	11,11 ± 1,47	10,96 ± 0,90
d	0,47	0,67	0,46
0,17 x SPF ₀	2,51	2,14	2,66
[% WRR - d] (UVB)	85,47 %	86,78 %	67,81 %
FP-UVA ₀ Moyenne ± EC	3,97 ± 0,17	3,66 ± 0,26	4,15 ± 0,18
FP-UVA _{40'} Moyenne ± EC	3,28 ± 0,14	3,01 ± 0,24	2,73 ± 0,13
d	0,07	0,10	0,07
0,17 x FP-UVA ₀	0,67	0,62	0,71
[% WRR - d] (UVA)	76,72 %	75,50 %	54,88 %

Tableau 52 : Influence du mode d'immersion sur la détermination de la résistance à l'eau d'une crème solaire

Le SPF du standard COLIPA doit être compris entre 12 et 15, ce qui est bien le cas ici. De plus, le SPF du standard formulé par nos soins vérifie les conditions d'acceptabilité du SPF initial, dans la mesure où l'on vérifie bien que l'incertitude d est largement inférieure à $0,17 \times \text{SPF}_0$. Cette condition préliminaire est aussi vérifiée dans le domaine UVA.

On constatera que cette condition est toujours très largement vérifiée. Cela vient du fait que pour le protocole *in vivo*, l'écart-type obtenu lors de la mesure du SPF et du FP-UVA est bien plus grand qu'avec le protocole *in vitro*. En effet, dans le protocole *in vivo*, la mesure dépend du type de peau, et peut varier grandement d'un sujet à l'autre en fonction de la sensibilité personnelle au soleil. Avec le protocole *in vitro*, l'écart-type de la mesure dépend de l'homogénéité de l'étalement, c'est-à-dire de la personne qui réalise l'application. Si cette dernière est suffisamment expérimentée, les résultats obtenus varient peu d'une plaque à l'autre, et l'écart-type obtenu est faible. De plus, les mesures sont parfaitement reproductibles.

On remarque que dans chacun des trois cas (dans les domaines UVA et UVB), la valeur de [% WRR] est strictement supérieure à 50%. Cela signifie que le standard étudié est bien résistant à l'eau sur l'ensemble du spectre UV. De plus, la mesure de la résistance à l'eau est parfaitement adaptable au domaine UVA.

Nous choisirons le protocole le plus drastique afin d'obtenir les résultats les plus fiables possibles. On immergera donc les plaques dans de l'eau distillée avec un dispositif d'agitation pour la mesure de la résistance à l'eau. Notons que ce protocole se rapproche de celui décrit par le COLIPA pour la mesure *in vivo* (immersion des sujets dans un jacuzzi rempli d'eau à 29 ± 2 °C).

Le protocole utilisant de l'eau salée permet d'obtenir des valeurs de [% WRR - d] plus grandes qu'avec de l'eau distillée. Il semblerait en effet que lors de l'immersion, les plaques se recouvrent d'une pellicule de sel sur leur surface rugueuse, surface où est étalé le produit.

De plus, lors du séchage, l'eau salée s'évapore, laissant le NaCl à la surface de la plaque. Cette pellicule augmente artificiellement la valeur du SPF_{40} , ce qui engendre une plus grande valeur du [% WRR - d]. Les produits étudiés apparaissent alors comme plus résistants à l'eau. Ce problème ne pouvant être pallié, nous utiliserons donc uniquement de l'eau distillée pour la mesure de la résistance à l'eau.

II.1.3.3.2. Validation de la méthode avec les témoins positif et négatif

Les résultats obtenus avec les deux crèmes de référence sont présentés dans le tableau 53.

	SPF_0 (M ± EC)	SPF_{40} (M ± EC)	Incertitude	$0,17 \times SPF_0$	[% WRR - d]
<i>Emulsion L/H</i> (HMS 8 %)	3,45 ± 0,3	1,61 ± 0,03	0,12	0,59	24,89
<i>Standard COLIPA</i>	15,64 ± 1,14	10,96 ± 0,96	0,46	2,66	67,81

Tableau 53 : Mise en œuvre du test de résistance à l'eau avec le standard COLIPA et le témoin négatif

Dans un premier temps, on vérifie bien que le test est valide dans la mesure où l'incertitude d est bien inférieure à $0,17 \times SPF_0$, et ce pour les deux émulsions.

La qualité de résistance à l'eau du standard COLIPA « *Water resistant* » est bien vérifiée ([% WRR - d] = 67,8 %). A contrario, le témoin négatif, l'émulsion L/H lavable à l'eau, s'avère bien non résistante à l'eau, avec une valeur de [% WRR - d] de 24,89 %. Ce premier test nous permet de vérifier que le protocole de mesure de résistance à l'eau *in vitro* est discriminant, et qu'il donne des résultats corrélés à ceux obtenus *in vivo*.

Ces mesures indiquent aussi que la formule d'une émulsion a une grande influence sur sa résistance à l'eau. L'émulsion L/H est bien lavable à l'eau, ce qui est conforme aux résultats attendus. Inversement, le standard proposé par le COLIPA, qui est une émulsion H/L, est résistante à l'eau. Il s'avère donc que c'est le sens de l'émulsion qui conditionne sa résistance à l'eau.

Il est de plus possible que la résistance à l'eau du standard proposé par le COLIPA dépende des ingrédients constituant la phase lipophile (lanoline et beurre de cacao). Ces ingrédients sont en effet particulièrement lipophiles et se fixent plus efficacement à la surface des plaques, où ils constituent un film hydrophobe.

II.1.3.3.3. Résultats obtenus avec les émulsions contenant des filtres lipo ou hydrosolubles

Nous avons comparé le caractère résistant à l'eau d'émulsions formulées à l'aide des filtres lipo ou hydrosolubles, incorporés au standard COLIPA.

Les résultats obtenus pour les différentes émulsions testées sont rassemblés dans le tableau 54.

Filtere (concentration)	SPF ₀ (M ± EC)	SPF ₄₀ (M ± EC)	Incertitude	0,17xSPF ₀	[% WRR - d]
<i>Uvinul N₅₃₉ T</i> (10 %)	11,32 ± 1,24	9,21 ± 0,63	0,49	1,92	79,39
<i>Néohéliopan E₁₀₀₀</i> (10 %)	14,78 ± 2,33	12,57 ± 1,55	0,92	2,51	83,57
<i>Eusolex 6007</i> (8 %)	11,15 ± 0,53	10,18 ± 0,41	0,21	1,90	90,34
<i>Uvinul MS₄₀</i> (5 %)	4,49 ± 0,31	1,13 ± 0,02	0,12	0,76	3,72
<i>Uvinul P₂₅</i> (10 %)	4,10 ± 0,16	1,12 ± 0,03	0,06	0,70	3,86



Filtres liposolubles



Filtres hydrosolubles

Tableau 54 : Influence de la nature du filtre sur le caractère de résistance à l'eau de l'émulsion

Tout d'abord, on vérifie que le test est acceptable. C'est bien le cas ici car l'incertitude est bien inférieure à 0,17 x SPF₀. La condition relative à l'intervalle de confiance du SPF₀ est donc bien vérifiée.

Les valeurs de SPF et de FP-UVA du standard COLIPA formulé avec des filtres liposolubles ou avec des filtres hydrosolubles sont présentées figure 94.

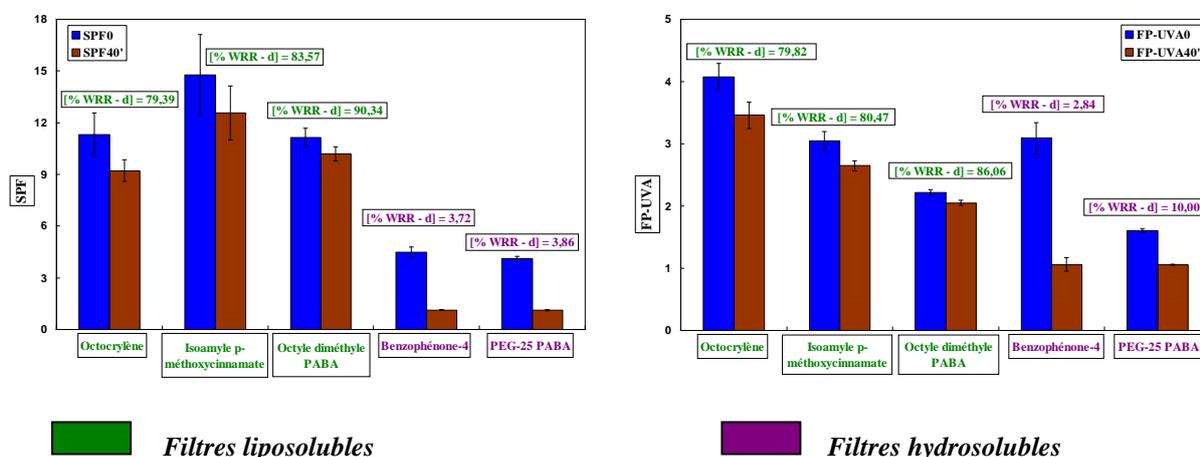


Figure 94 : SPF (a) et FP-UVA (b) du standard COLIPA contenant des filtres lipo ou hydrosolubles

On constate que les filtres liposolubles permettent d'obtenir des produits résistants à l'eau, contrairement aux filtres hydrosolubles. Les produits ainsi formulés sont résistants à l'eau sur l'ensemble du spectre UV.

L'émulsion L/H contenant 8 % d'homosalate s'est avérée non résistante à l'eau, bien qu'elle contienne un filtre lipophile. Il semblerait donc que ce soit davantage la nature de l'excipient qui conditionne le plus la résistance à l'eau, même si la nature du filtre a une certaine influence. Si la formule de base d'une émulsion n'est pas résistante à l'eau, l'utilisation d'un filtre lipophile ne changera rien.

Néanmoins, les résultats précédents montrent aussi que l'incorporation de filtres hydrosolubles dans une émulsion diminue fortement sa résistance à l'eau. Il est probable que ces filtres, présents dans la phase continue, se dissolvent dans l'eau distillée de la cuve lors de la mesure. L'émulsion n'adhère donc plus à la surface des plaques. Ce problème ne se présente pas avec l'utilisation de filtres lipophiles. Ces filtres sont en effet solubilisés dans la phase dispersée de l'émulsion L/H, et ne sont, par définition, pas solubles dans l'eau distillée.

Ainsi, lors de la préparation d'un produit solaire résistant à l'eau, faudra-t-il vérifier que l'excipient est bien résistant à l'eau. De plus, il faudra employer en priorité des filtres liposolubles.

II.1.3.3.4. Détermination de la résistance à l'eau de produits du commerce

D'une manière préliminaire, on contrôle que les produits testés sont conformes à la condition concernant l'intervalle de confiance du SPF_0 et du $FP-UVA_0$. Les résultats obtenus figurent dans le tableau 55.

Produit	Incertitude (UVB)	0,17 x SPF_0	Incertitude (UVA)	0,17 x $FP-UVA_0$
1	1,20	3,76	0,57	2,30
2	1,64	5,29	0,60	2,65
3	1,72	7,58	0,70	3,48
4	0,99	3,54	0,66	2,19
5	1,19	4,98	0,55	2,64
6	1,19	4,38	0,58	2,76
7	2,41	9,58	1,57	7,23
8	2,79	6,90	1,02	3,51
9	1,44	4,91	0,37	1,70
10	1,26	5,64	0,30	1,98
11	0,66	4,76	0,18	1,65
12	1,00	6,02	0,33	2,24

Tableau 55 : Vérification de la condition d'acceptabilité de la mesure pour les produits du commerce

Les produits du commerce vérifient bien la condition d'acceptabilité de la mesure de la résistance à l'eau. Ainsi, l'incertitude est-elle bien largement inférieure à $0,17 \times SPF_0$ (ou $FP-UVA_0$ dans le domaine UVA).

Nous avons cherché à vérifier le caractère de résistance à l'eau de ces produits. Les résultats obtenus avec les différents produits du commerce étiquetés comme résistants à l'eau dans le domaine UVB sont présentés figure 95.

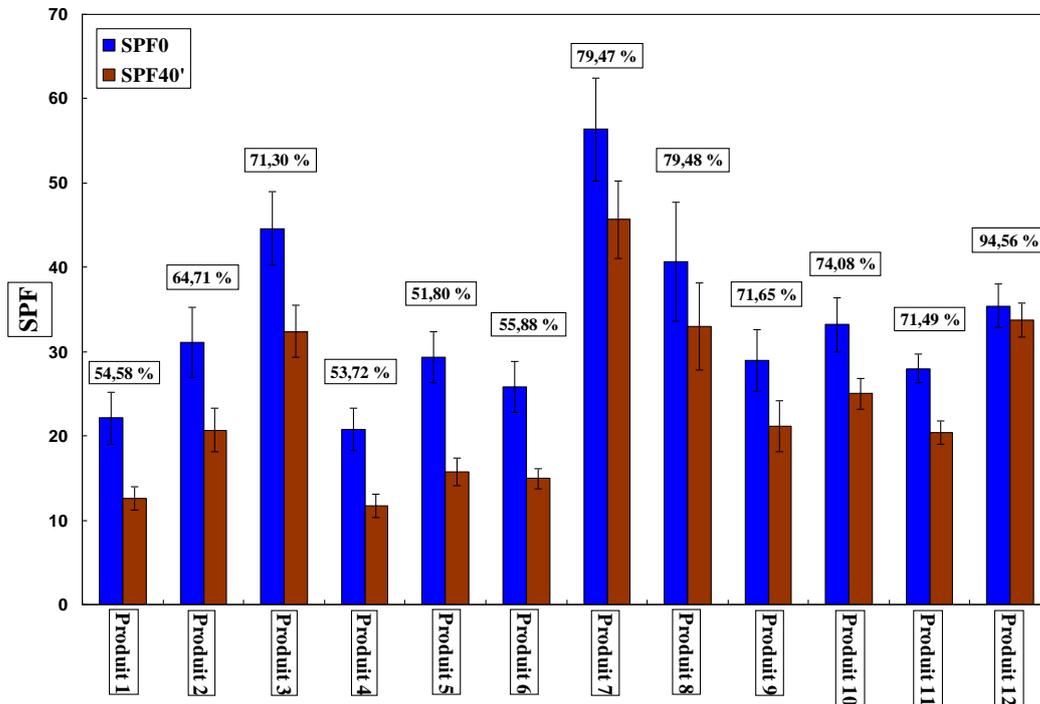


Figure 95 : Evolution du SPF des produits du commerce testés avant et après immersion

Ces produits s'avèrent bien résistants à l'eau ($[\% \text{ WRR} - d] > 50 \%$). De plus, la persistance de l'efficacité de ces mêmes produits dans le domaine UVA a été étudiée (figure 96). En effet, cette notion est indispensable à vérifier puisqu'un produit solaire conservant son caractère photoprotecteur uniquement dans le domaine UVB n'aurait que peu d'intérêt.

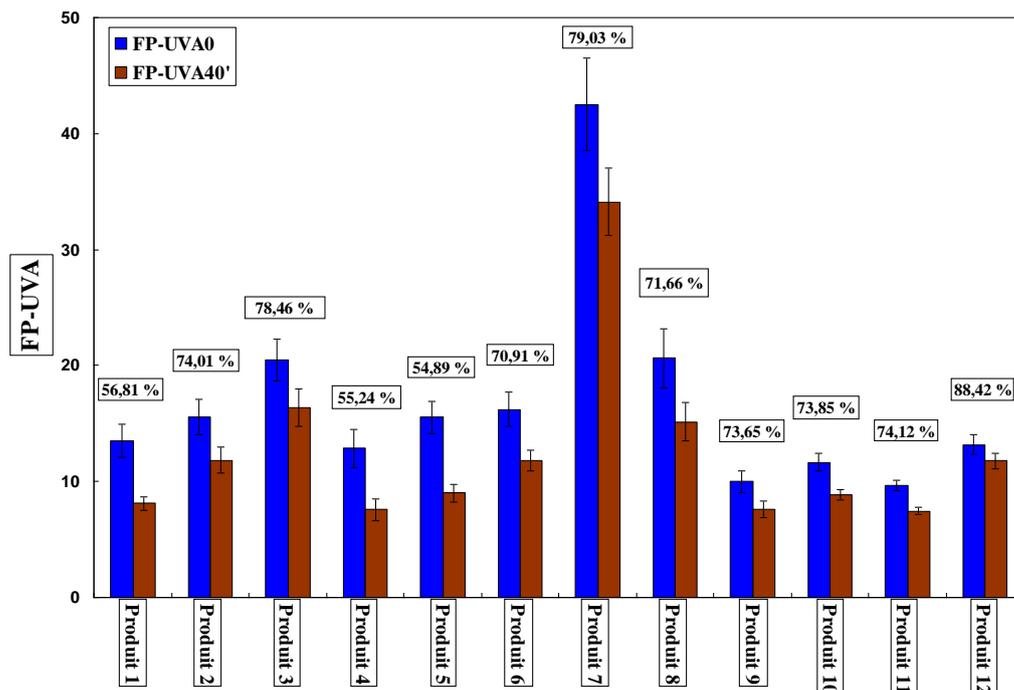


Figure 96 : Evolution du FP-UVA des produits du commerce testés avant et après immersion

Les produits du commerce testés s'avèrent également résistants à l'eau dans le domaine UVA : ils assurent une protection supérieure à 50 % de l'efficacité initiale.

Pour ces douze produits, la mesure de la résistance à l'eau a initialement été effectuée *in vivo*, ce qui a permis de les étiqueter comme étant « water resistant ». Nous avons pu vérifier, par méthode *in vitro*, que ces produits se révèlent aussi résistants à l'eau, sur l'ensemble du spectre UV. Ces différents résultats sont corrélés à ceux obtenus par méthode *in vivo*.

Enfin, nous avons cherché à savoir si les critères de validité établis par l'AFSSAPS quant à la longueur critique et au ratio SPF/FP-UVA étaient conservés après l'immersion (tableau 56).

Produits	$\frac{SPF_0}{FP - UVA_0}$	$\frac{SPF_{40}}{FP - UVA_{40}}$	Longueur d'onde critique t_0	Longueur d'onde critique t_{40}
1	1,64	1,55	380 nm	380 nm
2	2,00	1,75	378 nm	379 nm
3	2,18	1,98	379 nm	379 nm
4	1,62	1,54	380 nm	380 nm
5	1,89	1,75	382 nm	383 nm
6	1,59	1,26	378 nm	381 nm
7	1,33	1,34	382 nm	381 nm
8	1,97	2,18	378 nm	376 nm
9	2,90	2,78	373 nm	372 nm
10	2,85	2,82	376 nm	374 nm
11	2,89	2,74	373 nm	372 nm
12	2,69	2,86	377 nm	375 nm

Tableau 56 : Détermination des indicateurs de conformité des produits du commerce testés avant et après immersion

Les rapports $SPF_{40}/FP-UVA_{40}$ restent bien inférieurs à 3 et la longueur d'onde critique (λ_c) supérieure à 370 nm pour tous les produits testés. La perte d'efficacité affecte de manière assez homogène les domaines UVB et UVA, et les produits testés demeurent conformes.

On constate toutefois une légère variation du rapport SPF/FP-UVA et de la longueur d'onde critique. Cela vient certainement du fait qu'une partie des filtres présents dans ces émulsions sont solubilisés par l'eau distillée de la cuve lors de la mesure. Ces produits sont formulés à partir d'un mélange de filtres UVB, UVA et à spectre large.

Ainsi, bien que ces produits soient résistants à l'eau, une certaine quantité de crème déposée sur la plaque va-t-elle se désorber lors de la mesure. Il est alors possible que la proportion des filtres dans la crème restant sur la plaque varie légèrement, en fonction de la solubilité des filtres employés. Si, à l'issue des 40 minutes d'immersion, une plus grande quantité de filtres UVB que de filtres UVA est entraîné par l'eau distillée, alors le ratio SPF/FP-UVA va légèrement diminuer. Cette modification du ratio pourrait alors venir de la différence de solubilité dans l'eau des filtres présents dans l'émulsion.

Le protocole de mesure de résistance à l'eau mis au point *in vitro* donne donc des résultats corrélés avec ceux obtenus *in vivo*. Cette méthode est donc adaptée à une utilisation dans le domaine industriel.

La mise au point du protocole *in vitro* de résistance à l'eau des produits solaires a fait l'objet d'une publication dans la revue *Die Pharmazie* [167].

II.2. Mise au point de standards à haut SPF

II.2.1. Introduction

Actuellement, il existe 4 formules de standards utilisés pour valider les mesures effectuées par méthodes *in vivo* ou bien *in vitro* [168]. Ces formules (P2, P3, P7, et UVA) correspondent à des SPF relativement faibles permettant au maximum un affichage « protection moyenne ». Devant ce manque de standards possédant des SPF élevés (20, 30, 50 et 50+), il nous a paru important d'effectuer un travail de formulation visant à combler cette lacune. Nous nous sommes imposés un certain nombre de pré-requis indispensables : les formules devront être photostables et répondre à des critères de stabilité dans le temps permettant une conservation de leur efficacité sur une période de 3 ans.

Nous avons formulé différentes crèmes en associant des filtres organiques et inorganiques. De plus, nous avons vérifié que ces produits conservaient leurs propriétés photoprotectrices dans le temps, ce qui nous a permis de sélectionner différentes émulsions stables dont les valeurs de SPF (et de FP-UVA) soient comprises dans une large gamme (de 20 à 50+).

II.2.2. Matériel et méthode

II.2.2.1. Formules réalisées à partir de l'émulsion L/H de référence du laboratoire

II.2.2.1.1. Composition en filtres des différentes formules étudiées

Afin d'obtenir des produits avec différents indices de protection, nous avons utilisé différentes combinaisons de filtres dans la formule de base utilisée au laboratoire. Soixante émulsions ont ainsi été formulées. Nous en avons ensuite étudié la stabilité par étuvage à 50°C pendant un mois, en déterminant les marqueurs du niveau de photoprotection *in vitro* (SPF, FP-UVA, longueur d'onde critique ...) à intervalles réguliers (tous les 7 jours).

Sur les 60 crèmes formulées, nous n'en présenterons ici que 10, les autres n'ayant pas montré une stabilité suffisante.

Les combinaisons de filtres utilisées figurent dans le tableau 57.

Formules	Composition	Concentration (% m/m)
1	- Diethylhexyl butamido triazone - Anisotriazine - Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol	4,00 3,00 3,00
2	- Phenylbenzimidazole sulfonic acid - Octocrylene - Anisotriazine - Butyl methoxydibenzoylmethane	4,00 3,00 3,00 5,00
3	- Diethylhexyl butamido triazone - Anisotriazine - Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol - Titanium dioxide (Parsol TX)	5,00 5,00 5,00 5,00
4	- Ethylhexyl methoxycinnamate - Anisotriazine - Butyl methoxydibenzoylmethane	5,00 5,00 5,00
5	- Butyl methoxydibenzoylmethane - Diethylamino hydrobenzoyl hexyl benzoate	5,00 10,00
6	- Butyl methoxydibenzoylmethane - Disodium phenyl dibenzimidazole tetrasulfonate - Diethylamino hydrobenzoyl hexyl benzoate	5,00 10,00 10,00
7	- Phenylbenzimidazole sulfonic acid - Octocrylene - Butyl methoxydibenzoylmethane - Titanium dioxide (UV Titan M160)	5,00 5,00 5,00 3,00
8	- Phenylbenzimidazole sulfonic acid - Octocrylene - Anisotriazine - Butyl methoxydibenzoylmethane - Titanium dioxide (UV Titan M160)	5,00 3,00 3,00 3,00 3,00
9	- Anisotriazine - Ethylhexyl methoxycinnamate - Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol - Titanium dioxide (UV Titan M160)	5,00 5,00 5,00 5,00
10	- Octocrylene - Diethylhexyl butamido triazone - Butyl methoxydibenzoylmethane - Titanium dioxide (UV Titan M160)	4,00 4,00 5,00 3,00

Tableau 57 : Combinaisons de filtres employées pour la mise au point de standards

Il faut noter que les formules 5 et 6 ne contiennent que des filtres UVA.

II.2.2.1.2. Caractéristiques des différentes formes commerciales de dioxyde de titane employées

Le dioxyde de titane, utilisé en combinaison avec des filtres organiques, permet d'obtenir des produits solaires de SPF élevé. Ce filtre inorganique fonctionne par réflexion des radiations. Il protège donc l'utilisateur sur l'intégralité du spectre UV. De plus, il permet de stabiliser les émulsions. Enfin, étant un filtre minéral, ses propriétés photoprotectrices restent stables au cours du temps. Nous avons donc mis au point des formules contenant du

dioxyde de titane, à une concentration variable (entre 3 et 5 % m/m), ainsi que diverses combinaisons de filtres organiques.

Deux types de dioxyde de titane, dont les caractéristiques sont présentées dans le tableau 58, ont été utilisés.

	Parsol TX[®]	UV Titan M160[®]
<i>Fournisseurs</i>	Kemira	DSM
<i>Taille des particules</i>	< 150 nm	17 nm
<i>Composition</i>	- TiO ₂ : 85,5 % - SiO ₂ : 12,2 % - Diméthicone : Min 0,5 %	- TiO ₂ : 81,1 % - Al ₂ O ₃ : 6,19 % - Acide stéarique : 6,95 %
<i>Type</i>	Rutile	Rutile
<i>Solubilité</i>	Liposoluble	Liposoluble

Tableau 58 : Caractéristiques des dioxydes de titane utilisés dans la formulation des standards à hauts SPF

Le M160[®] est un dioxyde de titane hydrophobe de type rutile. Il est constitué d'un noyau de TiO₂ enrobé d'acide stéarique et d'alumine pour éviter son agglomération. Ce dioxyde de titane appartient à la catégorie des TiO₂ ultrafins. Il est particulièrement photoprotecteur. Etant micronisé, il est plus simple à incorporer aux émulsions.

Le Parsol TX[®] est un dioxyde de titane fin, liposoluble, également de type rutile. L'enrobage de diméthicone permet d'éviter l'agglomération des particules entre elles et favorise donc son incorporation dans les formules. Une représentation schématique en coupe de ce dioxyde de titane est donnée figure 97.

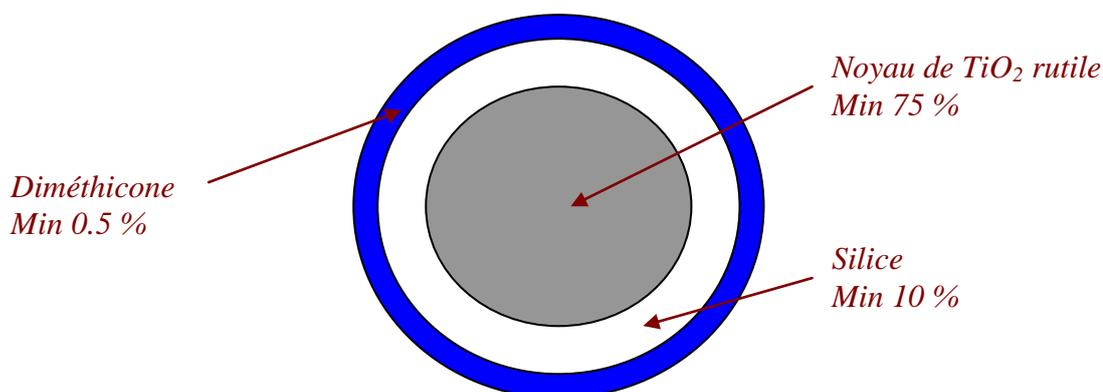


Figure 97 : Schéma en coupe d'une particule de Parsol TX[®]

II.2.2.2. Détermination des caractéristiques physico-chimiques des émulsions formulées

Nous avons étudié l'évolution des caractéristiques physico-chimiques des formules lors de l'étuvage. Pour cela, nous avons déterminé régulièrement la viscosité et le pH de ces formules. La viscosité a été déterminée à l'aide d'un viscosimètre DV-II+ Pro (Brookfield, Middleboro, Etats-Unis). Le pH a été mesuré grâce à un pHmètre pH/Cond 340i (WTW, Wien, Allemagne).

Ces appareils sont représentés sur la figure 98.



Figure 98 : Viscosimètre DV-II+ (a) et pHmètre pH/Cond 340i (b)

II.2.2.3. Détermination du SPF et du FP-UVA par des volontaires

La détermination du SPF et du FP-UVA des formules stables retenues a été effectuée par 14 personnes : 12 expérimentateurs non formés, recrutés parmi les étudiants en Master de Cosmétologie, un manipulateur familiarisé avec le protocole, et moi-même. Un test de Student nous permettra de déterminer s'il existe une différence significative entre les résultats obtenus.

II.2.3. Résultats expérimentaux

Différentes combinaisons de filtres organiques et inorganiques ont été testées en les incorporant dans l'émulsion L/H de base utilisée au laboratoire. Certaines de ces émulsions ont ensuite été sélectionnées en se basant sur la stabilité des produits, la longueur d'onde critique et la photostabilité. Il est nécessaire de préciser que nous ne présentons ici que les combinaisons de filtres permettant d'obtenir des formules stables.

II.2.3.1. Etude de la thermostabilité des émulsions formulées

II.2.3.1.1. Evolution des caractéristiques physico-chimiques

Nous avons étudié l'évolution de la viscosité, déterminée à 25°C, et du pH de ces formules au cours de leur période d'étuvage à 50°C.

Il faut préciser que la viscosité relative obtenue ne permet pas de comparer les produits entre eux. En effet, les valeurs pour chaque produit correspondent à des vitesses de rotation et à des modules de mesure différents. Nous avons toutefois conservé, pour chaque émulsion, le même module et la même vitesse de rotation tout au long de l'essai de vieillissement accéléré. Il est donc tout à fait possible de comparer les valeurs de viscosité relative obtenue avant et après étuvage, pour un même produit.

A titre indicatif, le tableau 59 présente les différents modules et vitesses de rotation utilisés pour chaque produit.

Formules	Module	Vitesse de rotation (RPM)
1	RV 4	6
2	RV5	30
3	RV 5	12
4	RV 4	10
5	RV 4	3
6	RV 4	3

Tableau 59 : Vitesses de rotation et modules de mesure utilisés pour la détermination de la viscosité relative

L'évolution de la viscosité en fonction du temps d'étuvage est présentée figure 99.

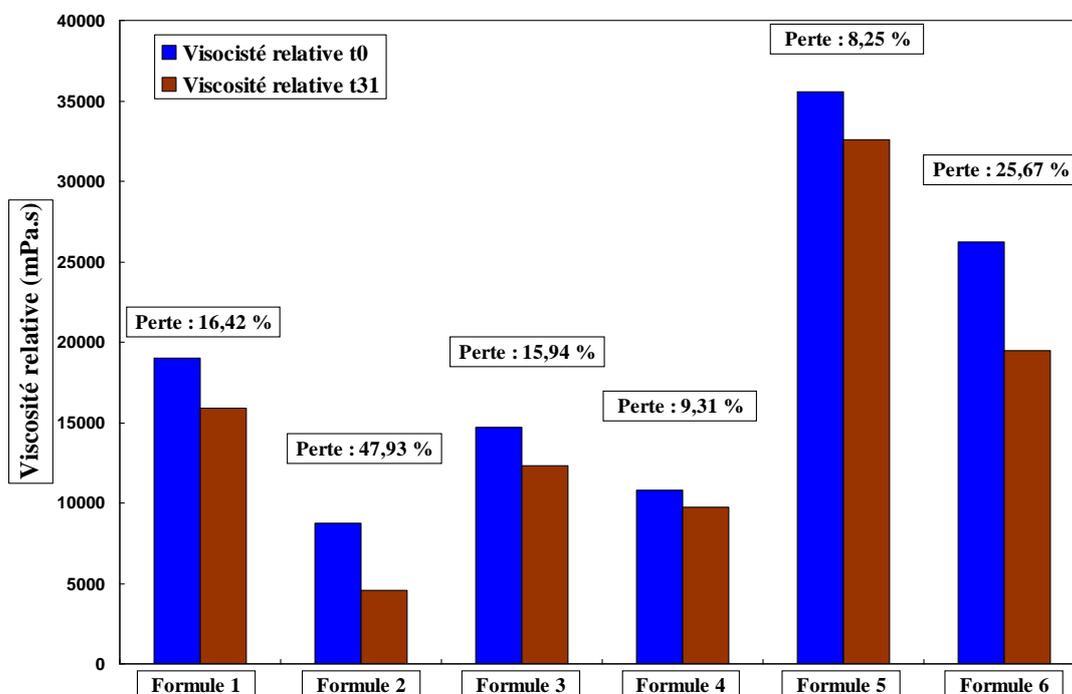


Figure 99 : Evolution de la viscosité des émulsions au cours de l'étuvage à 50°C pendant un mois

La viscosité diminue pour l'ensemble des produits. Toutefois, cette baisse reste faible dans la plupart des cas. Le produit dont la viscosité décroît le plus correspond à la formule 6. Cela est probablement dû à la présence d'acide phénylbenzimidazole sulfonique, qui ne semble pas être un filtre stable.

La viscosité de la formule 5 est plus importante que celle de la formule 6. Le produit 6 contient en effet, en plus de l'avobenzone et du diéthylamino hydroxybenzoyle hexylbenzoate présents aussi aux mêmes concentrations dans la formule 5, du bisimidazylate. Ce filtre étant hydrosoluble, la quantité d'eau est plus faible dans la formule 6, ce qui explique que sa viscosité soit différente.

Le tableau 60 montre les variations du pH des émulsions avant et après étuvage.

Formules	pH avant étuvage	pH après étuvage
1	7,22	6,52
2	6,20	6,13
3	6,53	6,98
4	7,13	6,54
5	7,16	6,78
6	5,95	6,51

Tableau 60 : Evolution du pH des émulsions après étuvage à 50°C pendant un mois

On constate que le pH des émulsions est tout à fait adapté à une application cutanée, puisqu'il est compris, pour l'ensemble des formules, entre 5,95 et 7,22. De plus, le pH varie peu au cours de l'étuvage.

II.2.3.1.2. *Evolution du SPF*

La mesure de la stabilité des émulsions est effectuée en plaçant ces produits à l'étuve à 50 °C pendant un mois. Lors de cet étuvage, on contrôle les caractères organoleptiques régulièrement, et on mesure les caractéristiques photoprotectrices et physico-chimiques (viscosité et pH) des produits. Comme dans le cas de la mesure de la photostabilité, on considère qu'une émulsion est stable du point de vue de la photoprotection qu'elle assure, si elle conserve plus de 90% de son efficacité à l'issue de cette période d'étuvage.

L'évolution du SPF des formules numérotées de 1 à 5, en fonction du temps d'étuvage, est présenté figure 100.

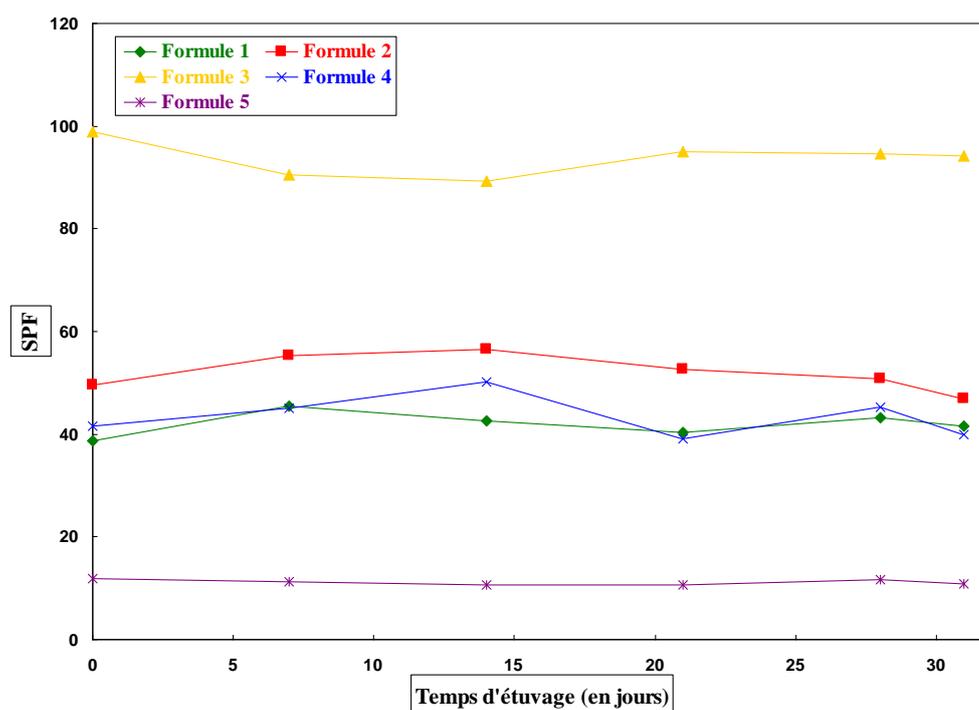


Figure 100 : Evolution du SPF des émulsions 1, 2, 3, 4 et 5 au cours d'une période d'un mois d'étuvage

Dans le cas de ces 5 formules, on observe que le SPF reste stable au cours de l'étuvage. La diminution de l'efficacité semble faible. Notons que la diminution des valeurs du SPF semble plus marquée dans le cas de la formule 3. De plus, ces émulsions conservent un aspect et un toucher pratiquement inchangés au cours du vieillissement.

De la même manière, la figure 101 montre l'évolution du SPF des formules 6, 7, 8, 9 et 10 lors d'une période d'étuvage.

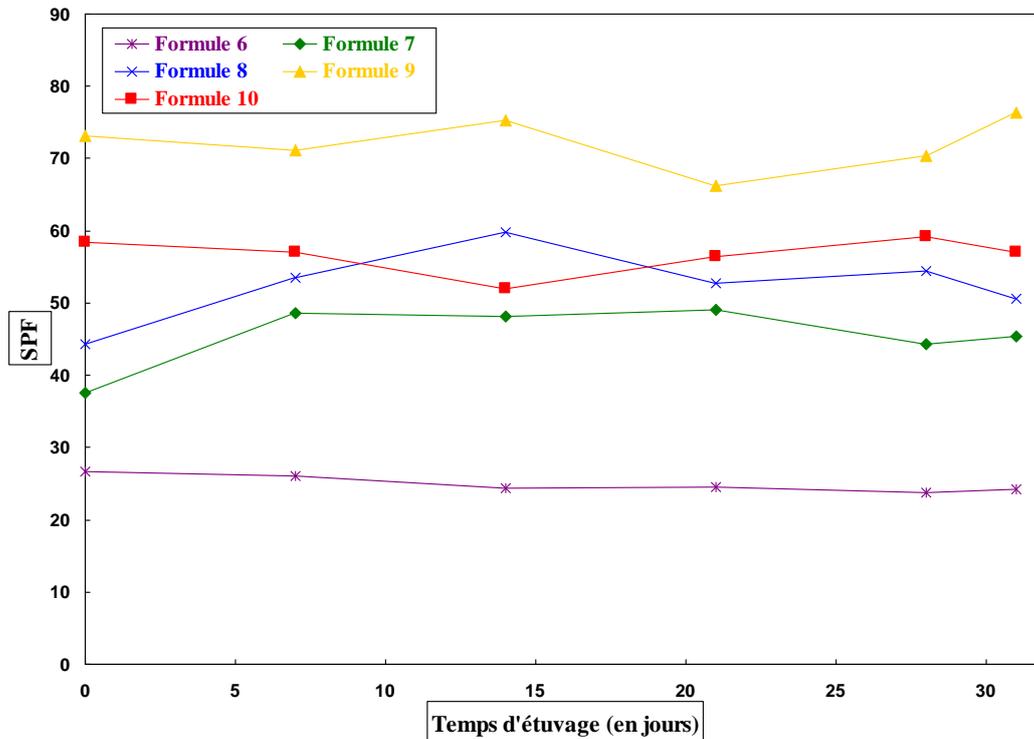


Figure 101 : Evolution du SPF des émulsions 6, 7, 8, 9 et 10 au cours d'une période d'un mois d'étuvage

Il est important de noter que les propriétés physico-chimiques ne varient pratiquement pas lors de l'étuvage, ce qui semble confirmer l'importance de l'utilisation du dioxyde de titane pour la formulation d'une crème stable. De plus, de part sa nature minérale, les propriétés photoprotectrices du dioxyde de titane ne diminuent pas au cours du temps. Seule la formule 6, qui ne contient que des filtres UVA et pas de dioxyde de titane, devient plus granuleuse à l'issue d'un mois passé à l'étuve, probablement car elle contient une grande quantité de filtres.

Le SPF varie peu lors de l'étuvage. Ces formules sont stables : elles conservent plus de 90 % de leur efficacité après un mois d'étuvage. Certaines combinaisons de filtres paraissent particulièrement intéressantes pour formuler des émulsions stables de hauts indices. Le SPF augmente sensiblement pour deux émulsions, la 7 et la 8.

L'évolution de l'efficacité des 10 formules testées au cours du mois d'étuvage figure tableau 61.

Formules	SPF ₀ ± EC [Intervalle de confiance]	SPF ₃₁ ± EC [Intervalle de confiance]	Variation de l'efficacité
1	38,69 ± 3,47 [37,32 – 40,06]	41,51 ± 3,16 [40,26 – 42,76]	+ 7,29 %
2	49,64 ± 6,49 [47,07 – 52,21]	46,83 ± 3,93 [45,27 – 48,39]	- 5,66 %
3	98,94 ± 8,75 [95,48 – 102,40]	94,28 ± 6,60 [91,67 – 96,89]	- 4,71 %
4	41,58 ± 5,55 [39,38 – 43,78]	39,88 ± 1,97 [39,10 – 40,66]	- 4,09 %
5	11,96 ± 1,54 [11,35 – 12,57]	10,84 ± 0,89 [10,48 – 11,19]	- 9,36 %
6	26,63 ± 3,46 [25,26 – 28,00]	24,17 ± 1,43 [23,60 – 24,74]	- 9,24 %
7	37,54 ± 3,18 [36,28 – 38,80]	45,45 ± 4,76 [43,57 – 47,33]	+ 21,07 %
8	44,24 ± 5,66 [42,00 – 46,48]	50,55 ± 4,91 [48,61 – 52,49]	+ 14,26 %
9	73,07 ± 5,63 [70,84 – 75,30]	76,38 ± 5,34 [74,27 – 78,49]	+ 4,53 %
10	58,36 ± 6,94 [54,82 – 61,90]	57,09 ± 6,41 [54,55 – 59,63]	- 2,18 %

Tableau 61 : Etude de l'efficacité dans l'UVB des formules après une période d'étuvage d'un mois

Ainsi, l'association de la diéthylhexyle butamidotriazone et de l'anisotriazine semble-t-elle être synergique. Cet effet est renforcé par l'association de l'anisotriazine et du méthylène bis-benzotriazolyle tétraméthylbutylphénol (soit respectivement les Tinosorb S[®] et M[®]) dont l'effet synergique est bien connu. Ainsi, l'association de ces trois filtres permet-elle de réaliser des crèmes à fort indice de protection, même en employant de faibles concentrations, comme le montrent les résultats obtenus avec la formule 1. A de plus hautes concentrations, et associée au dioxyde de titane, cette combinaison permet de formuler des émulsions présentant un SPF très élevé, comme c'est le cas avec la formule 3. L'association d'OMC, des Tinosorb S[®] et M[®] et du dioxyde de titane donne aussi d'excellents résultats (formule 9). L'émulsion obtenue reste stable, et présente un haut SPF. Ainsi, l'utilisation de ces deux combinaisons de trois filtres permet-elle d'obtenir des produits dont les propriétés photoprotectrices se conservent dans le temps.

Les résultats obtenus avec les formules 2 et 4 tendent à prouver l'intérêt de l'association de l'anisotriazine et de l'avobenzone. Il semblerait que l'utilisation conjointe de ces deux filtres permette de réaliser des produits dont le SPF diminue peu au cours du vieillissement. Il semblerait en outre que l'association de ces deux filtres ait un effet synergique sur le SPF, comme le montre les résultats obtenus avec la formule 4. La stabilité de la formule 2 tend à prouver que lorsqu'il est associé à l'avobenzone, l'acide phénylbenzimidazole sulfonique permet d'obtenir des émulsions stables. Néanmoins, il est difficile de conclure à un effet réellement positif de cette association car cette formule contient aussi de l'anisotriazine. Elle contient également de l'octocrylène qui présente des

capacités photoprotectrices stables dans le temps. L'association de l'octocrylène et de l'avobenzone permet d'obtenir des émulsions stables, avec un SPF élevé (formules 7, 8 et 10). On constate donc que l'octocrylène est un filtre très stable.

II.2.3.1.3. Evolution du FP-UVA

L'évolution du FP-UVA des 5 premières formules en fonction du temps d'étuvage est semblable à celle observée pour le SPF, comme le montre la figure 102.

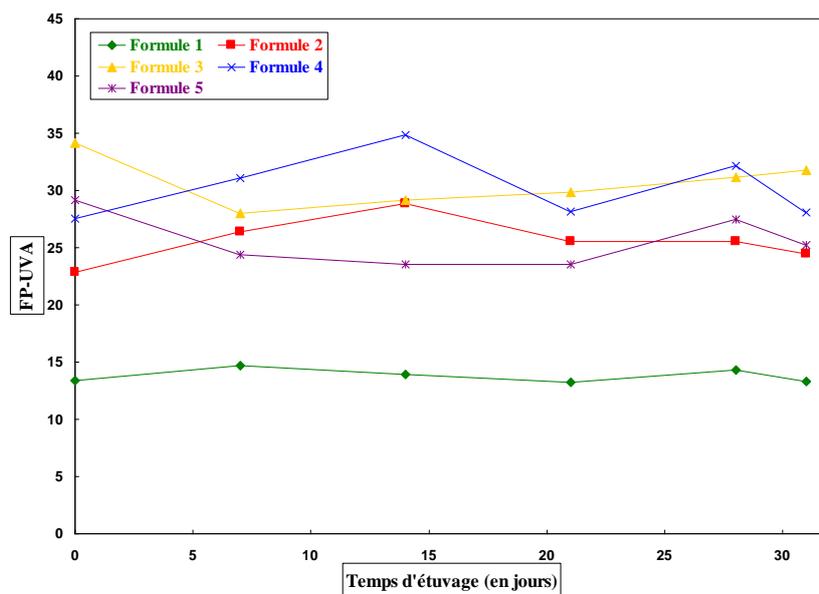


Figure 102 : Evolution du FP-UVA des émulsions 1, 2, 3, 4 et 5 au cours d'une période d'un mois d'étuvage

On étudie également l'évolution du FP-UVA au cours de la période d'étuvage pour les formules 6, 7, 8, 9 et 10 (figure 103). Il faut noter que l'on observe là aussi, pour certaines formules, une augmentation du FP-UVA dans les premiers jours d'étuvage.

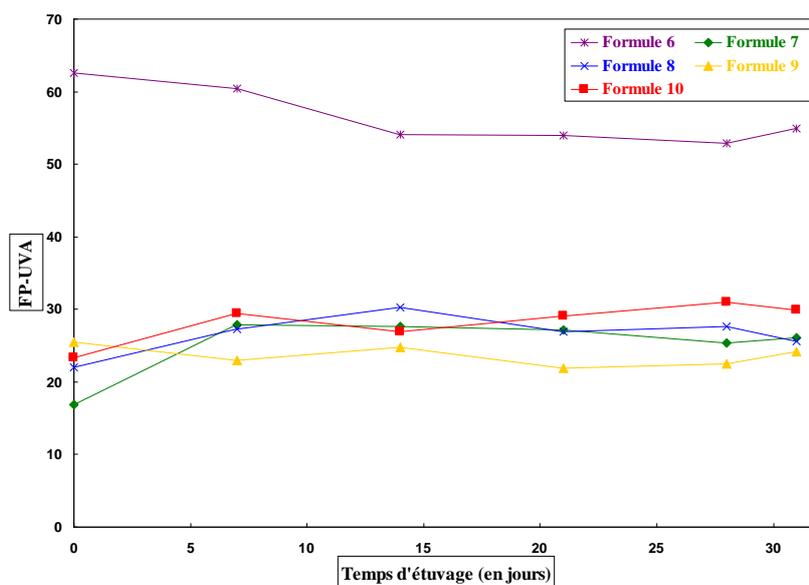


Figure 103 : Evolution du FP-UVA des émulsions 6, 7, 8, 9 et 10 au cours d'une période d'un mois d'étuvage

La variation de l'efficacité des formules dans le domaine UVA est donnée tableau 62.

Formules	FP-UVA ₀ ± EC [Intervalle de confiance]	FP-UVA ₃₁ ± EC [Intervalle de confiance]	Variation de l'efficacité
1	13,40 ± 0,90 [13,04 – 13,76]	13,34 ± 0,92 [12,98 – 13,70]	- 0,45 %
2	22,86 ± 2,90 [21,71 – 24,01]	24,47 ± 1,60 [23,84 – 25,10]	+ 7,04 %
3	34,12 ± 2,94 [32,96 – 35,28]	31,74 ± 2,27 [30,84 – 32,64]	- 6,98 %
4	27,56 ± 3,71 [26,09 – 29,03]	28,05 ± 1,16 [27,59 – 28,51]	+ 1,78 %
5	29,13 ± 3,65 [27,69 – 30,57]	25,20 ± 2,34 [24,27 – 26,13]	- 13,49 %
6	62,53 ± 7,83 [59,41 – 65,65]	54,93 ± 3,01 [53,74 – 56,12]	- 12,15 %
7	16,83 ± 1,35 [16,30 – 17,36]	26,06 ± 2,19 [251,19 – 26,93]	+ 54,84 %
8	22,01 ± 2,13 [18,71 – 20,39]	25,66 ± 1,56 [25,04 – 26,28]	+ 16,58 %
9	25,49 ± 1,68 [24,83 – 26,15]	24,15 ± 1,40 [23,60 – 24,70]	- 5,26 %
10	23,28 ± 1,99 [22,49 – 24,07]	29,89 ± 3,06 [28,68 – 31,10]	+ 28,39 %

Tableau 62 : Variation de l'efficacité dans l'UVA des formules après une période d'étuvage d'un mois

La perte d'efficacité dans le domaine UVA est moins grande, pour les formules 1, 2 et 4, que dans le domaine UVB. Inversement, pour les formules 5 et 6, la diminution du FP-UVA est proportionnellement plus grande que celle du SPF. Ces deux formules ne contiennent en effet que des filtres UVA.

Il faut noter que les formules 5 et 6 perdent plus de 10 % de leur efficacité dans le domaine UVA après un mois d'étuvage à 50°C (soit respectivement 13,49 % et 12,15 %). Cette perte d'efficacité reste faible. Elle ne devrait pas s'avérer gênante pour l'utilisation de ces produits en tant que standards UVA. Une solution pour palier ce problème pourrait être l'ajout de dioxyde de titane, qui augmenterait à la fois la stabilité et la photostabilité de ces émulsions.

La formule 9 conserve, elle, plus de 90 % de ses propriétés photoprotectrices dans l'UVA. Pour la formule 8, l'évolution du FP-UVA est identique à celle du SPF. Pour les deux autres formules (7 et 10), le FP-UVA augmente significativement.

II.2.3.1.4. Evolution des critères de validité

L'évolution des critères de validité de ces formules au cours de l'étuvage est donnée dans le tableau 63.

Standard	$\frac{SPF_0}{FP-UVA_0}$	$\frac{SPF_{31}}{FP-UVA_{31}}$	Longueur d'onde critique à t_0	Longueur d'onde critique à t_{31}
1	2,89	3,11	375 nm	375 nm
2	2,17	1,91	378 nm	380 nm
3	2,90	2,97	378 nm	378 nm
4	1,51	1,42	379 nm	381 nm
5	0,41	0,43	385 nm	384 nm
6	0,43	0,44	385 nm	385 nm
7	2,23	1,74	379 nm	384 nm
8	2,01	1,97	378 nm	378 nm
9	2,87	3,16	377 nm	376 nm
10	2,51	1,91	380 nm	384 nm

Tableau 63 : Evolution des critères de validité des 10 formules stables au cours de l'étuvage à 50°C

Le ratio SPF/FP-UVA et la longueur d'onde critique sont pratiquement inchangés après étuvage. Cela montre la grande stabilité des marqueurs de photoprotection de ces formules.

On peut toutefois noter que le ratio augmente légèrement pour la formule 9. Cela vient du fait que ces émulsions contiennent une plus grande proportion de filtres UVB que de filtres UVA. Enfin, le ratio diminue significativement pour les formules 7 et 10 en raison de l'augmentation importante du FP-UVA lors de l'étuvage.

II.2.3.2. Etude de la photostabilité des émulsions formulées

La photostabilité de ces produits a été étudiées en utilisant un simulateur solaire (Suntest CPS+, Atlas[®], Moussy le Neuf, France).

On considère qu'un produit est photostable s'il conserve plus de 90 % de son efficacité à l'issue de deux heures d'irradiation [163]. Il faut noter que cette condition est particulièrement drastique. Il est de coutume de faire figurer sur l'emballage des produits solaires la mention « ré-appliquer toutes les deux heures d'exposition ». Néanmoins la notion de photostabilité des produits solaires ne fait l'objet d'aucune obligation légale. Toutefois, c'est un facteur important car de nombreux estivants ne respectent pas les recommandations de ré-application. Afin de protéger au mieux, il est impératif que les produits de protection solaire soient photostables.

II.2.3.2.1. Evolution du SPF après irradiation

La variation d'efficacité dans le domaine UVB des 10 émulsions choisies est présentée figure 104.

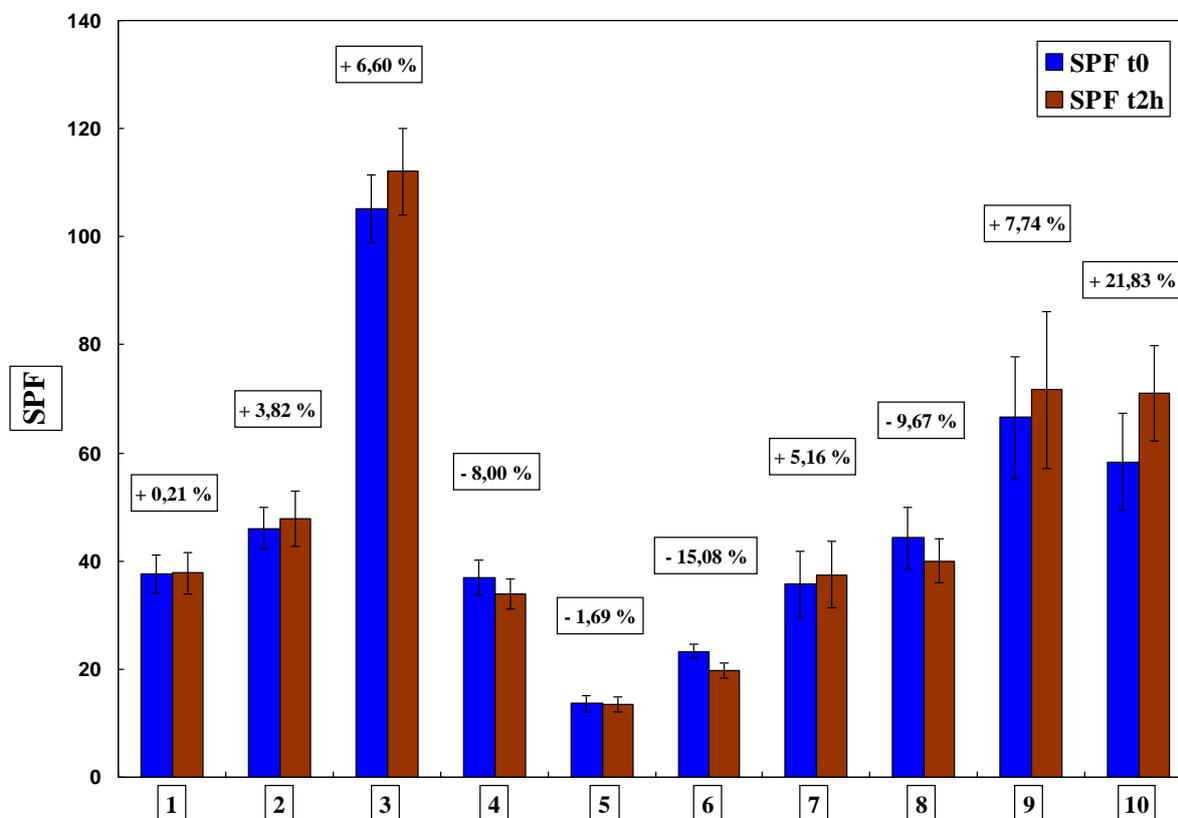


Figure 104 : Photostabilité dans le domaine UVB des 10 émulsions sélectionnées

Toutes les formules sélectionnées sont photostables, c'est-à-dire qu'elles conservent plus de 90 % de leur efficacité dans le domaine UVB, exceptée la formule 6. Toutefois, cette dernière ne perd que 15,08 % de son efficacité, ce qui reste acceptable.

En étudiant la composition en filtres de ces formules, on constate que certaines combinaisons de filtres semblent particulièrement photostables. Les émulsions contenant un mélange d'anisotriazine et de méthylène bis-benzotriazolyl tétraméthylbutylphénol (les formules 1 et 3) conservent leurs propriétés photoprotectrices après irradiation dans le domaine UV. Il en va de même pour les formules contenant un mélange d'anisotriazine et de butyle méthoxydibenzoylémthane (avobenzone), soit les formules 2 et 4. L'anisotriazine pourrait donc être un bon photostabilisateur de l'avobenzone. De plus, il semblerait que l'octocrylène soit aussi un photostabilisateur efficace de l'avobenzone. Ainsi, toutes les émulsions contenant une combinaison de ces deux filtres sont-elles photostables (soit les formules 7, 8 et 10).

Les formules contenant du dioxyde de titane sont en général photostables. En effet, ce filtre réfléchit les UV et son efficacité ne diminue donc pas au cours du temps. Toutefois, l'efficacité des filtres organiques peut, elle, diminuer.

II.2.3.2.2. Evolution du FP-UVA après irradiation

De la même manière, nous avons étudié l'évolution du FP-UVA après irradiation en simulateur solaire. Les résultats obtenus sont présentés figure 105.

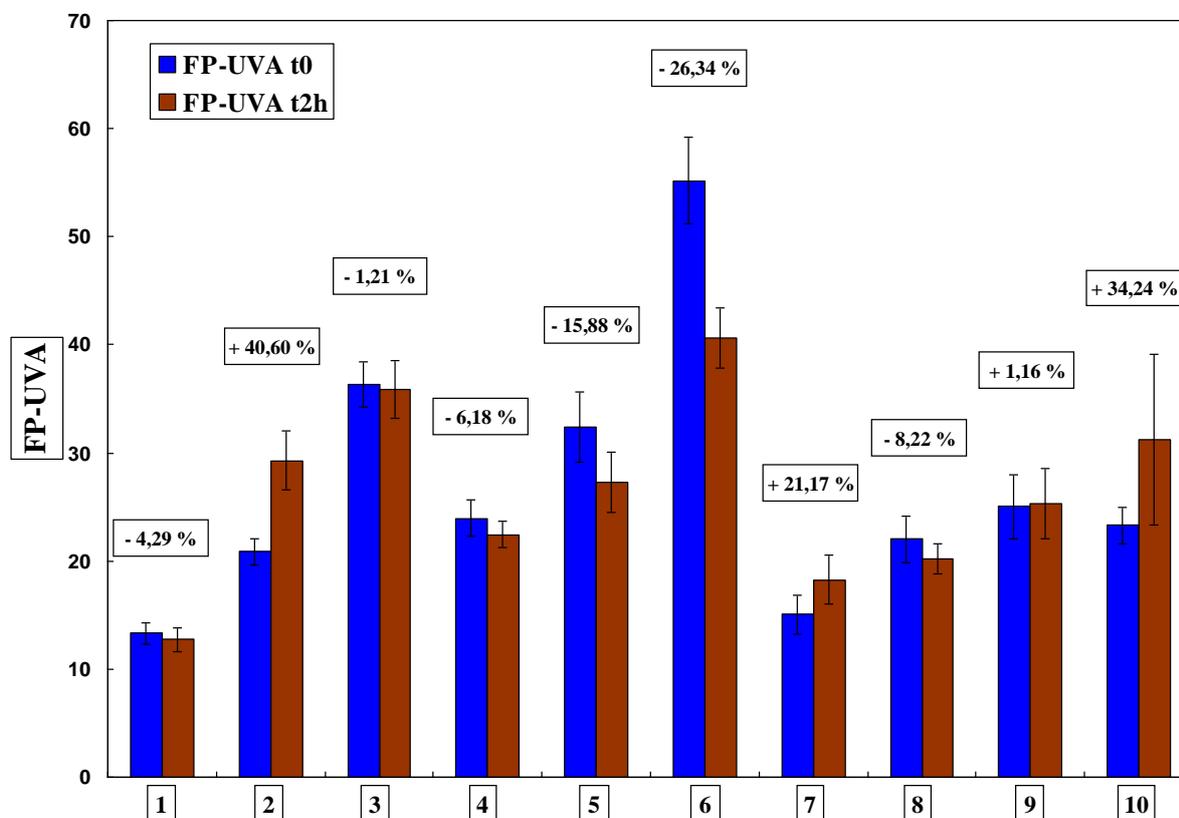


Figure 105 : Photostabilité dans le domaine UVA des 10 émulsions sélectionnées

Pour la plupart des formules testées, on observe le même comportement dans le domaine UVA que dans le domaine UVB. Les formules qui étaient photostables dans le domaine UVB le sont également dans le domaine UVA.

Toutefois, on observe pour deux produits (les formules 5 et 6), une diminution du FP-UVA significativement plus grande que celle du SPF. On remarque que ces 2 émulsions contiennent du diéthylamino hydroxybenzoyle hénylbenzoate (Uvinul A plus[®]). Il est donc probable que ce filtre perde une partie de son pouvoir photoprotecteur dans le domaine UVA après irradiation. Cette diminution est observée même lorsque ce filtre est utilisé conjointement à l'avobenzène (formule 5 et 6). Il ne semble donc pas être photostable.

II.2.3.2.3. Evolution de la longueur d'onde critique et du ratio SPF/FP-UVA

Les valeurs obtenues pour ces critères de validité avant et après irradiation sont présentées dans le tableau 64.

Formules	Longueur d'onde critique à t_0	Longueur d'onde critique à t_{2h}	$\frac{SPF_0}{FP - UVA_0}$	$\frac{SPF_{t+2h}}{FP - UVA_{t+2h}}$
1	375 nm	375 nm	2,83	2,96
2	378 nm	380 nm	2,21	1,63
3	378 nm	378 nm	2,90	3,12
4	377 nm	377 nm	1,54	1,51
5	385 nm	384 nm	0,42	0,49
6	385 nm	384 nm	0,42	0,49
7	379 nm	380 nm	2,37	2,05
8	378 nm	379 nm	2,01	1,98
9	377 nm	377 nm	2,66	2,83
10	380 nm	381 nm	2,51	2,28

Tableau 64 : Evolution des critères de validité après irradiation des émulsions testées

Pour ces formules, la longueur d'onde critique reste supérieure à 370 nm. De même, le ratio SPF/FP-UVA demeure bien inférieur à 3 après deux heures d'irradiation. Seule la formule 3 a un ratio SPF/FP-UVA supérieur à trois après irradiation. Toutefois, l'augmentation est faible et la valeur du ratio UVB/UVA après irradiation reste acceptable.

II.2.3.3. Détermination du SPF et du FP-UVA par des manipulateurs inexpérimentés et un manipulateur expérimenté

Nous avons ensuite demandé à 13 volontaires, familiarisés ou non avec le protocole *in vitro*, de mesurer les caractéristiques photoprotectrices des formules les plus intéressantes (tableau 65).

Formules	SPF \pm EC Expérimentateur confirmé	SPF \pm EC Moyenne des volontaires	FP-UVA \pm EC Expérimentateur confirmé	FP-UVA \pm EC Moyenne des volontaires
1	37,66 \pm 3,55 [36,28 – 39,04]	35,26 \pm 10,21 [31,22 – 39,30]	13,30 \pm 0,98 [12,91 – 13,69]	12,89 \pm 3,02 [11,70 – 14,08]
2	46,05 \pm 3,79 [44,55 – 47,55]	44,05 \pm 11,17 [39,42 – 48,68]	20,84 \pm 1,27 [20,34 – 21,34]	22,80 \pm 4,80 [20,90 – 24,70]
3	105,14 \pm 6,25 [102,67 – 107,61]	95,77 \pm 20,77 [87,51 – 104,03]	36,31 \pm 2,06 [35,49 – 37,13]	32,47 \pm 6,85 [29,76 – 35,18]
4	36,86 \pm 3,22 [35,59 – 38,13]	37,50 \pm 12,25 [32,65 – 42,35]	23,93 \pm 1,69 [23,26 – 24,60]	24,84 \pm 7,45 [21,89 – 27,79]
5	13,64 \pm 1,48 [13,05 – 14,23]	14,52 \pm 4,29 [12,82 – 16,22]	32,43 \pm 3,25 [31,14 – 33,72]	34,36 \pm 10,35 [30,26 – 38,46]
6	23,28 \pm 1,31 [22,76 – 23,80]	21,48 \pm 5,67 [19,24 – 23,72]	55,16 \pm 3,99 [53,58 – 56,74]	48,49 \pm 13,77 [43,04 – 53,94]

Tableau 65 : Détermination du SPF et du FP-UVA des émulsions par un panel d'expérimentateurs

Un test de Student ($n = 27$, $P < 0,05$) nous permet de confirmer qu'il n'y a pas de différence significative entre les valeurs de SPF (ou de FP-UVA) obtenues. Les valeurs de SPF (et de FP-UVA) mesurées sont donc conformes à ce qui était attendu.

Toutefois, l'écart-type pour les mesures effectuées par l'ensemble des 13 manipulateurs est très important. Cela vient du fait que 12 des 13 manipulateurs étaient inexpérimentés (un seul était familiarisé avec le protocole de mesure). L'étalement du produit sur les plaques de PMMA n'est donc pas parfait.

Les résultats obtenus pour la longueur d'onde critique et le ratio SPF/FP-UVA sont présentés tableau 66.

Formules	Longueur d'onde critique Expérimentateur confirmé	Longueur d'onde critique Moyenne des volontaires	SPF/FP-UVA Expérimentateur confirmé	SPF/FP-UVA Moyenne des volontaires
1	375 nm	375 nm	2,83	2,74
2	378 nm	380 nm	2,21	1,93
3	378 nm	377 nm	2,90	2,95
4	377 nm	380 nm	1,54	1,51
5	385 nm	385 nm	0,42	0,42
6	385 nm	385 nm	0,42	0,44

Tableau 66 : Détermination de la longueur d'onde critique et du ratio SPF/FP/UVA par un panel d'expérimentateurs

Ratios et longueurs d'onde critique pour les deux groupes de manipulateurs (expérimentés et inexpérimentés) sont analogues, ce qui est conforme à ce que l'on observe pour les valeurs de SPF et de FP-UVA.

II.2.3.4. Conclusion

De nombreuses émulsions contenant différentes combinaisons de filtres ont été testées. Parmi ces émulsions, dix sont de bons candidats pour faire office de standards à hauts indices. À l'issue d'un étuvage à 50°C pendant un mois, ces émulsions ont conservé plus de 90 % de leurs capacités photoprotectrices. De plus, leur viscosité et leur pH varient peu lors de ce vieillissement. Enfin, ces émulsions sont photostables et elles vérifient bien les critères de validité préconisés par l'AFSSAPS ($\lambda_c \geq 370$ nm et $SPF/FP-UVA \leq 3$). La seule limite concerne les formules 5 et 6, dont le FP-UVA diminue d'environ 15 % après étuvage. Parmi les différentes formules contenant de l'UV Titan M160[®], trois semblent intéressantes pour la réalisation de standards à hauts indices. Il s'agit des formules 7, 8 et 10.

Nous avons donc obtenu 10 crèmes pouvant faire office de standards, avec des indices de protection dans le domaine UVB et dans le domaine UVA très variés (10 à 50+). Deux formules sont particulièrement intéressantes, car elles présentent des indices de protection très élevés. Il s'agit de la crème 3, dont le SPF affiché est de 50+, et de la 6, dont le FP-UVA déterminé est de 55. Le SPF de ces émulsions a été déterminé *in vitro* par de nombreux manipulateurs n'ayant jamais réalisé de mesures auparavant, ce qui confirme les valeurs obtenues. Reste à déterminer leur indice de protection *in vivo*.

II.3. Etude de molécules d'intérêt

II.3.1. Introduction

Les filtres organiques sont très largement employés dans la formulation des produits solaires. Toutefois, certains de ces filtres peuvent provoquer, dans certains cas, des effets indésirables. Il peut s'agir d'allergies, de réactions phototoxiques ou photoallergiques. Certains filtres pourraient aussi avoir des effets sur le système endocrinien chez l'homme. De plus, certains des filtres organiques étant hydrosolubles, ils peuvent représenter une source de pollution pour l'environnement, étant donné les conditions dans lesquelles ils sont employés (lors de vacances à la mer par exemple). Pour toutes ces raisons, il nous a paru important de chercher des solutions alternatives à ces filtres organiques. Nous nous sommes plus spécifiquement intéressés à des molécules naturelles, extraites de végétaux.

Il existe une immense variété de plantes dans la nature. De nombreuses molécules extraites de ces plantes sont fréquemment utilisées en thérapeutique, à des fins de prévention ou de soin. Parmi cette multitude de molécules, deux familles nous ont semblé particulièrement intéressantes : les polyphénols en général, et les flavonoïdes en particulier. Les flavonoïdes sont une classe de polyphénols, très répandus dans la nature. Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présentes dans le règne végétal. Ils sont caractérisés, comme leur nom l'indique, par la présence de plusieurs groupements phénoliques associés en structures qui ont généralement un haut poids moléculaire. Ces composés sont des métabolites secondaires des plantes. Ils sont l'objet de nombreuses études, notamment du fait de leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement de certains cancers, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives [169, 170]. Ils sont également utilisés comme additifs par les industries agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique [169].

Les polyphénols naturels regroupent un vaste ensemble de substances comprenant au moins un noyau aromatique, et un ou plusieurs groupes hydroxyles, en plus d'autres substituants. Il existe de nombreuses familles de polyphénols comme les phénols simples, les acides-phénols (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), les flavonoïdes, les isoflavonoïdes ou les anthocyanes par exemple. Sous forme polymérisée, on retrouve par exemple les tannins qui ont un très haut poids moléculaire [171]. Nous nous intéresserons plus particulièrement à la famille des flavonoïdes. Les flavonoïdes sont une classe de métabolites secondaires présents dans les fruits, les légumes, les noix, les graines et les boissons à base de plantes (thé, infusions ...) [172]. A l'heure actuelle, plus de 6000 flavonoïdes ont été identifiés [173]. Ils présentent des activités biologiques variées (antimicrobienne, anti-inflammatoire et anticancéreuse...) [174]. Ces propriétés viennent de leurs actions antioxydantes qui en font des chélateurs de métaux et des désactivateurs de radicaux libres. Il semblerait aussi que certains flavonoïdes puissent absorber les radiations UVB, et ainsi agir comme des filtres solaires. Peu d'études à ce sujet ont toutefois été menées.

Nous avons dans un premier temps déterminé les capacités photoprotectrices de certains extraits végétaux contenant des taux importants de flavonoïdes ou de polyphénols. Puis, nous avons testé directement ces molécules sous forme purifiée. Enfin, nous avons associé certains composés avec des filtres inorganiques, afin de réaliser des crèmes à fort indice de protection, ne contenant pas de filtres organiques. Nous avons finalement complété cette étude en déterminant les propriétés photoprotectrices d'extraits lichéniques. Ces

échantillons nous ont été aimablement fournis par le Pr. Joël Boustie du Laboratoire de Pharmacognosie et Mycologie de la Faculté de Pharmacie de Rennes.

II.3.2. Matériel et méthode

II.3.2.1. Présentation des différentes molécules testées

De nombreux flavonoïdes et polyphénols ont été testés, afin d'évaluer leur capacité photoprotectrice. Leurs propriétés d'absorption vont dépendre, comme pour les filtres organiques, de leur structure chimique.

II.3.2.1.1. Les flavonoïdes et les polyphénols testés

Les tableaux 67, 68 et 69 présentent les différentes molécules étudiées et leurs structures chimiques.

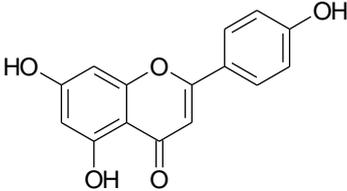
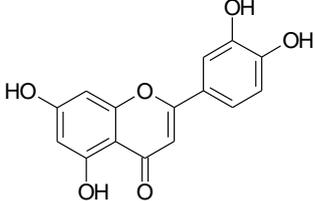
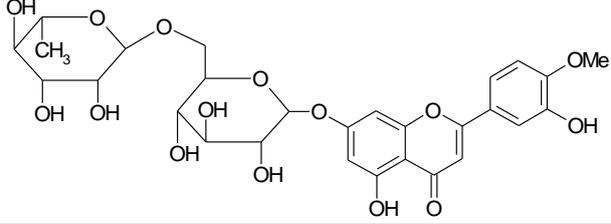
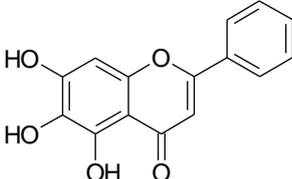
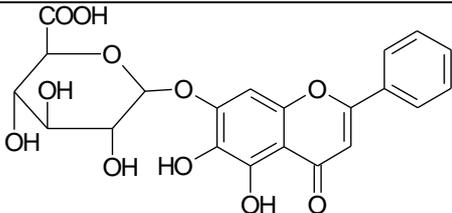
Molécules	Famille	Formule développée	Masse molaire (g.mol⁻¹)
Apigénine	Flavone		172
Lutéoline	Flavone		286
Diosmine	Flavone		548
Baicaléine	Flavone		270
Baicaline	Flavone		446

Tableau 67 : Les flavones testées

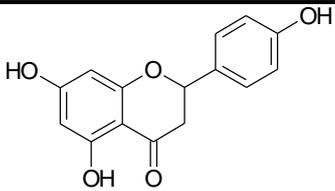
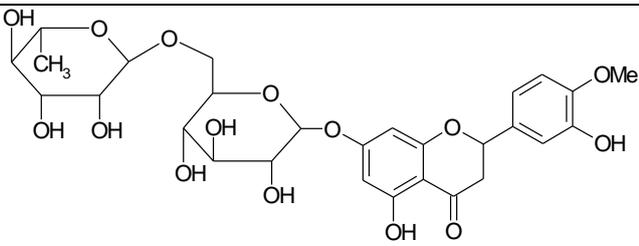
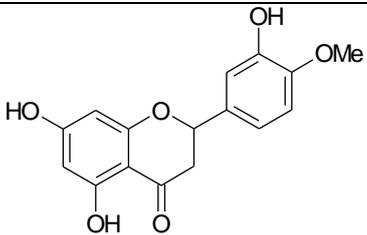
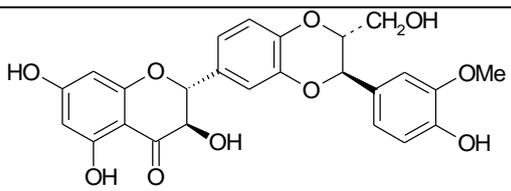
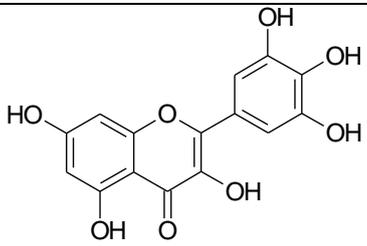
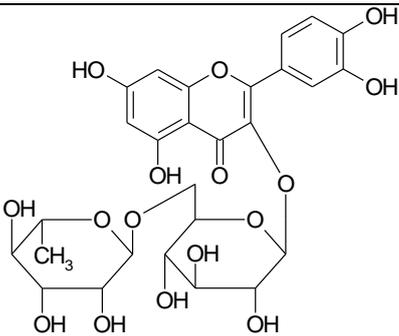
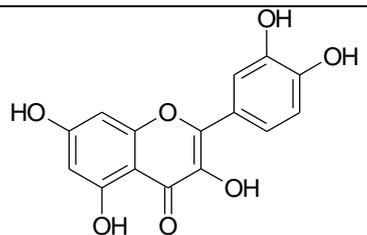
Molécules	Famille	Formule développée	Masse molaire (g.mol ⁻¹)
Naringinine	Flavanone		272
Hespéridine	Flavanone		611
Hespérétine	Flavanone		302
Silybinine	Flavanonol		482
Myricétine	Flavonol		318
Rutine	Flavonol		302
Quercétine	Flavonol		610

Tableau 68 : Les flavanones, flavanonols et flavonols testés

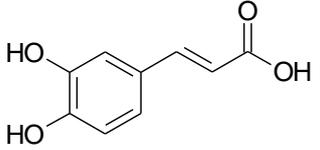
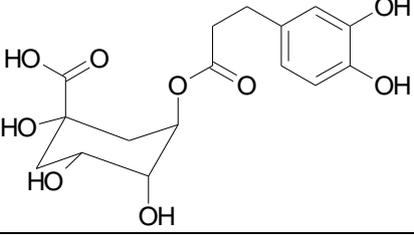
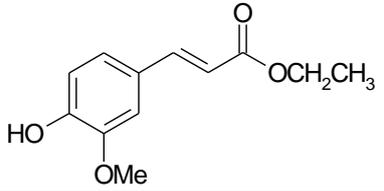
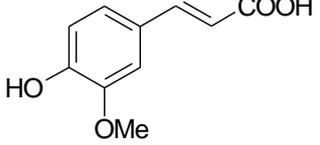
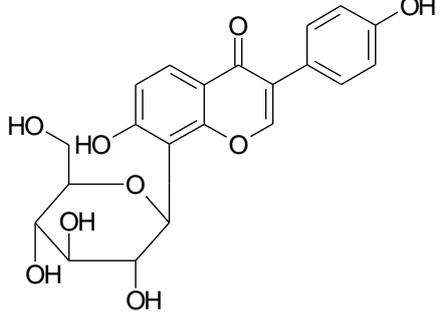
Molécules	Famille	Formule développée	Masse molaire (g.mol ⁻¹)
Acide caféique	Polyphénol		180
Acide chlorogénique	Polyphénol		354
Ethyl férulate	Polyphénol		222
Acide férulique	Polyphénol		194
Puérarine	Isoflavone		432

Tableau 69 : Les polyphénols et isoflavones testés

II.3.2.1.2. Occurrence dans l'alimentation : généralités

II.3.2.1.2.1. Les flavonols

La source la plus commune de flavonols dans la nourriture est la quercétine. On la trouve dans divers fruits et légumes, mais ce sont les oignons qui en contiennent la plus haute concentration. Il existe d'autres flavonols présents dans la nourriture, comme par exemple le kaempférol (dans les brocolis), la myricétine (dans différentes baies) et l'isorhamnétine (dans les oignons) [173].

II.3.2.1.2.2. Les flavanones

Les flavanones se trouvent presque exclusivement dans les agrumes. Les tissus solides contiennent les plus hautes concentrations, mais les jus présentent des concentrations de plusieurs centaines de milligrammes par litre. L'héspéridine et la naringénine sont les principaux flavonoïdes des oranges et des mandarines.

II.3.2.1.2.3. Les flavones

Les principales flavones présentes dans la nourriture sont l'apigénine et la lutéoline. Les apports en flavones sont minimes, dans la mesure où l'on ne les trouve à des concentrations significatives que dans des plantes consommées en faibles quantités. Les sources les plus importantes sont, par exemple, les piments de Cayenne et le céleri [173].

II.3.2.1.2.4. Les isoflavones

Les principales isoflavones sont la génistéine et la daidzéine. Ces flavonoïdes sont présents dans le soja et les apports alimentaires sont donc particulièrement importants dans les pays d'Extrême-Orient (apport quotidien : environ 30-40 mg). Les consommations sont négligeables en Europe à l'exception des consommateurs de lait de soja (certains nourrissons, les personnes allergiques au lactose...).

II.3.2.1.2.5. Quel flavonoïde trouve t'on en fonction des sources ?

Le tableau 70 liste les sources naturelles pour les principaux flavonoïdes étudiés. On pourra utiliser soit l'extrait naturel, soit la molécule purifiée.

Flavonoïdes	Famille	Produits naturels
Silybine	Flavanonol	Chardon-Marie
Myricétine	Flavonols	Baies, thé
Lutéoline	Flavone	Piments de Cayenne, céleri, artichaut
Apigénine	Flavone	Persil, thym, menthe poivrée, céleri
Rutine	Flavonol glycoside	Sarrasin (source la plus riche), agrumes, thé noir, pommes, fruits du noni
Quercétine	Flavonol	Oignons, pommes, thé, baies, choux, choux-fleurs, capres, livèches, piments, laitue
Hespérétine	Flavanone	Oranges, mandarines, pamplemousses
Naringénine	Flavanone	Oranges, mandarines, pamplemousses, tomates (faible quantité)
Hespéridine	Flavanone glycoside	Oranges, citrons
Diosmine	Flavone glycoside	Feuille de buchu, agrumes en faible quantité (oranges, citrons, tangerines, pamplemousses)
Puérarine	Isoflavone	Kudzu
Baicaline	Flavone (aglycone)	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi
Baicaléine	Flavone	<i>S. Georgi</i>

Tableau 70 : Occurrence des flavonoïdes dans les produits naturels

II.3.2.1.3. Caractéristiques des extraits et des molécules testées

II.3.2.1.3.1. Les extraits végétaux testés

Différents extraits végétaux ont été testés. Ces extraits présentent une certaine concentration en flavonoïdes (tableau 71), et peuvent donc avoir un intérêt dans le domaine de la photoprotection topique.

Extraits végétaux	Fournisseurs	Concentration en molécules actives
Extrait de chardon marie	BioSerae, Bram, France	- Silymarine : 72,3 % - Silybine : 31,2 %
Extrait de sarrasin	BioSerae, Bram, France	- Rutine > 30 %
Extrait de salade	BioSerae, Bram, France	- Acide caféique : 46,3 % - Isoquercétine : 5,6 %
Extrait d'oignon	BioSerae, Bram, France	- Isoquercétine : 30,4 %
Extrait de jus de grenade	MMPinc, South Plainfield, EU	- Acide ellagique : 40,8 %
Extrait de <i>Rhus Potaninii</i>	MMPinc, South Plainfield, EU	- Acide ellagique : 80,2 %
Extrait de Galanga	Sabinsa Europe GmbH, Langen, Allemagne	- Ethyle p-méthoxycinnamate : 98,1 %

Tableau 71 : Concentration en molécules actives des extraits végétaux testés

II.3.2.1.3.2. Les polyphénols et les flavonoïdes testés

La pureté des molécules testées, et leurs fournisseurs, figurent dans le tableau 72.

Molécules	Pureté	Fournisseurs
Silybinine	95,0 %	MMPinc, South Plainfield, EU
Apigénine	99 %	Daqing New Century Fine Chemicals, Beijing, Chine
Myricétine	90,2 %	MMPinc, South Plainfield, EU
Lutéoline	98,5 %	MMPinc, South Plainfield, EU
Rutine	99 %	Fisher Bioblock, Illkirch, Allemagne
Quercétine	99,0 %	Fisher Bioblock, Illkirch, Allemagne
Naringinine	95,0 %	Sigma, Aldrich, St Quentin, France
Hespéridine	95,0 %	Sigma, Aldrich, St Quentin, France
Hespéretine	95,0 %	Sigma, Aldrich, St Quentin, France
Diosmine	95,0 %	Sigma, Aldrich, St Quentin, France
Puéarine	80,5 %	MMPinc, South Plainfield, EU
Baicaléine	95,8 %	MMPinc, South Plainfield, EU
Baicaline	95,4 %	MMPinc, South Plainfield, EU
Acide caféique	95,0 %	Sigma, Aldrich, St Quentin, France
Acide chlorogénique	65,0 %	MMPinc, South Plainfield, EU
Ethylféruate	99,0 %	Kraeber GMBH & Co, Elleberk, Allemagne
Acide férulique	99,6 %	Azide Chemical co, Wuxi, Chine

Tableau 72 : Origine des molécules purifiées testées

II.3.2.2. Formulation des crèmes

II.3.2.2.1. Incorporation des actifs seuls

Les extraits, les flavonoïdes et les polyphénols ont été incorporés dans l'émulsion L/H de base utilisée au laboratoire, après refroidissement de celle-ci. La concentration dans les crèmes est comprise entre 2 et 10 % (m/m). Il a ainsi été possible d'étudier l'influence de la concentration en actif sur l'efficacité anti-solaire. Nous avons choisi de nous limiter à une concentration de 10 % (m/m) pour les molécules étudiées. La plupart des flavonoïdes sont pratiquement insolubles dans l'eau, exception faite de la baicaline qui est soluble en solution aqueuse alcaline. De même, les différents extraits ont été introduits dans l'émulsion L/H de base à une concentration de 10% m/m. Ces différents extraits sont hydrosolubles à l'exception de l'extrait de Galanga, titré en éthyle p-méthoxycinnamate, qui est liposoluble.

Les extraits de lichens sont eux aussi pratiquement insolubles dans l'eau. Ils ont donc été introduits en fin de préparation, tout comme les flavonoïdes.

II.3.2.2.2. Les associations réalisées

Afin d'augmenter le potentiel photoprotecteur des flavonoïdes, ces molécules ont été associées à d'autres filtres solaires. Dans un premier temps, nous avons combiné la quercétine avec de l'avobenzone. L'objectif était d'obtenir une crème protégeant efficacement dans le domaine UVA. Nous avons fait varier la concentration de chacun des composants afin d'étudier l'influence sur le SPF. Dans un second temps, nous avons étudié l'intérêt de l'association de la rutine et de la quercétine avec le dioxyde de titane et l'oxyde de zinc. L'objectif était de parvenir à mettre au point des émulsions sans filtres organiques et possédant un SPF élevé. Les deux flavonoïdes, ainsi que les deux filtres inorganiques, ont été employés à une concentration de 10 % (m/m).

Le tableau 73 donne les caractéristiques principales des deux filtres inorganiques utilisés.

	Tayca MT-100TV	Z-Cote Max
<i>Type de filtre</i>	TiO ₂ , rutile	ZnO
<i>Fournisseurs</i>	Unipex, St Ouen l'Aumône, France	BASF, Levallois Perret, France
<i>Taille des particules</i>	15 nm	< 0,2 µm
<i>Composition</i>	- TiO ₂ : 83,0 % - Al ₂ O ₃ : 9,0 % - Acide stéarique : 8,0 %	- ZnO : 96-99 % - Diphényle capryle méthicone : 1-4 %
<i>Solubilité</i>	Liposoluble	Liposoluble

Tableau 73 : Caractéristiques des filtres inorganiques utilisés en association avec la rutine et la quercétine

II.3.2.3. Détermination des capacités absorbantes des molécules testés

Afin de déterminer le domaine d'absorption des différents polyphénols, on utilise un spectrophotomètre à double faisceau (Hitashi UV-visible, U-2000) (figure 106).



Figure 106 : Spectrophotomètre à double faisceau, Hitashi UV-visible, U-2000

Des solutions aqueuses ou éthanoliques diluées sont tout d'abord réalisées. L'absorbance (A) est mesurée entre 200 et 400 nm. On utilise comme blanc de l'eau distillée (ou de l'éthanol selon la solubilité de la molécule étudiée). Les solutions sont ensuite introduites dans une cuve en quartz d'un centimètre de chemin optique, afin d'effectuer la mesure.

On détermine dans un premier temps la longueur d'onde maximale d'absorption. Puis on mesure l'absorbance du composé à cette longueur d'onde, à différentes concentrations. On trace alors la droite donnant l'absorbance en fonction de la concentration, ce qui nous permettra de calculer le coefficient d'extinction molaire de la molécule étudiée, à sa longueur d'onde maximale d'absorption.

II.3.3. Résultats expérimentaux

II.3.3.1. Résultats concernant les extraits végétaux testés

II.3.3.1.1. Détermination du niveau de photoprotection apporté par les extraits testés

Les capacités photoprotectrices des différents extraits végétaux, incorporés dans des émulsions L/H à une concentration de 10 % (m/m), ont été déterminées *in vitro*. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 74.

Extraits	SPF ± EC	FP-UVA ± EC	Longueur d'onde critique	SPF/FP-UVA
Salade	4,36 ± 0,55	4,02 ± 0,46	378 nm	1,08
Chardon-marie	8,76 ± 1,11	3,85 ± 0,38	369 nm	2,28
Sarrasin	1,93 ± 0,14	2,11 ± 0,14	389 nm	0,91
Oignon	9,34 ± 1,23	8,12 ± 1,03	388 nm	1,15

Tableau 74 : Capacité photoprotectrice des différents extraits végétaux testés

Ces extraits, s'ils présentent de bonnes propriétés photoprotectrices (sauf l'extrait de sarrasin), ont des inconvénients. Ainsi, les émulsions formulées avec les extraits de salade, d'oignon et de chardon-marie ont-elles une couleur très prononcée, allant du vert au marron selon l'extrait. De plus, les extraits d'oignon et de sarrasin en particulier ont une odeur désagréable, ce qui rend leur utilisation délicate en cosmétique. Enfin, pour ces quatre extraits, l'incorporation en phase hydrophile est difficile et les émulsions obtenues sont granuleuses. Pour ces différentes raisons, ces extraits ne peuvent être utilisés tels quels pour la formulation de produits solaires. Toutefois, les crèmes obtenues présentent un SPF élevé et offrent une bonne protection dans le domaine UVA, notamment dans le cas du chardon-marie et de l'oignon.

L'extrait de salade génère, quant à lui, une protection assez faible, mais un ratio UVB/UVA largement inférieur à 3 (1,08), ce qui en fait un candidat prometteur. Son activité photoprotectrice est liée à la présence d'acide caféique.

L'acide caféique est le nom commun de l'acide (E) 3-(3,4-dihydroxyphényl)prop-2-énoïque. C'est un dérivé de l'acide cinnamique qui a une structure très proche de celle de l'acide férulique. Contrairement à l'acide cinnamique, il présente deux groupes hydroxy sur son noyau aromatique, ce qui lui confère des propriétés propres aux polyphénols [175]. La structure chimique de l'acide caféique est donnée figure 107.

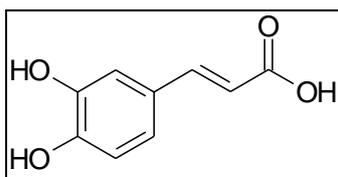


Figure 107 : Structure de l'acide caféique

L'acide caféique est un inhibiteur de la cancérogenèse. C'est aussi un antioxydant efficace [175, 176]. Il est présent en grande quantité dans le café, dont il tire son nom. En général, il est présent sous forme estérifiée, principalement par l'acide quinique avec lequel il forme l'acide chlorogénique (figure 108).

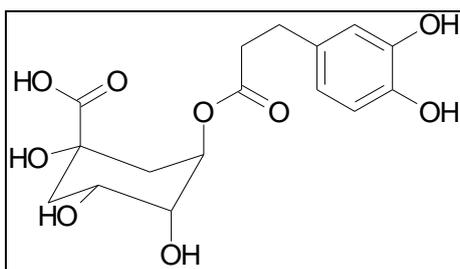


Figure 108 : Structure de l'acide chlorogénique

L'acide chlorogénique est un composé naturel présent dans le café, dans le bambou *Phyllostachys edulis*, ainsi que dans de nombreuses autres plantes [177]. Ce composé possède une forte activité antioxydante et pourrait ainsi contribuer à prévenir les maladies cardiovasculaires [178]. Il pourrait de plus avoir des propriétés antivirales, antibactériennes et antifongiques, tout en présentant une faible toxicité [179]. Il est enfin connu pour être un hypoglycémiant [180].

Il nous a donc semblé intéressant d'étudier directement les flavonoïdes et les polyphénols contenus dans ces extraits, à savoir la silybine, la quercétine et l'acide caféique.

Nous avons aussi étudié l'influence de la concentration en extrait sur le SPF des émulsions. Trois extraits ont été étudiés, ceux de jus de grenade et de *Rhus potaninii* (tous deux titrés en acide ellagique), et celui de galanga, titré en éthyle p-méthoxycinnamate.

L'éthyle p-méthoxycinnamate est un dérivé cinnamique qui ne fait pas partie de la liste des filtres autorisés par la législation européenne. Sa structure est donnée figure 109.

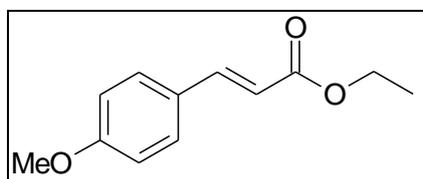


Figure 109 : Structure de l'éthyle p-méthoxycinnamate

L'acide ellagique est un polyphénol antioxydant présent dans de nombreux fruits et légumes comme les framboises, les fraises, les canneberges, le raisin, les noix et les grenades [181]. Cette molécule a des propriétés antioxydantes et anticancérigènes qui pourraient être bénéfique pour la santé humaine [181]. Toutefois, peu d'études ont été menées à ce sujet. Sa structure chimique est représentée figure 110.

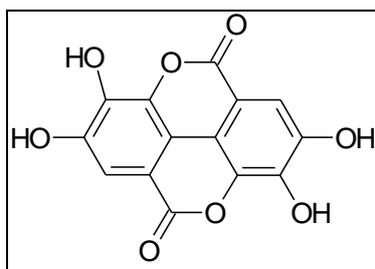


Figure 110 : Structure de l'acide ellagique

Les courbes SPF = f (concentration) des extraits étudiés sont présentées figure 111.

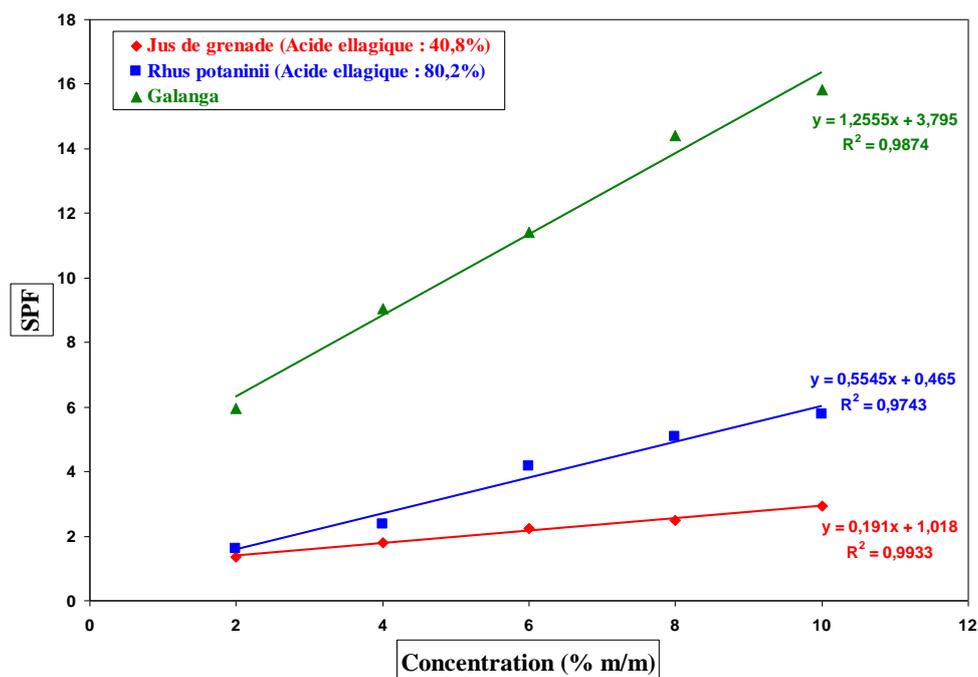


Figure 111 : Influence de la concentration en extrait sur le SPF

De la même manière, on étudie l'influence de la concentration en extrait sur le FP-UVA (figure 112).

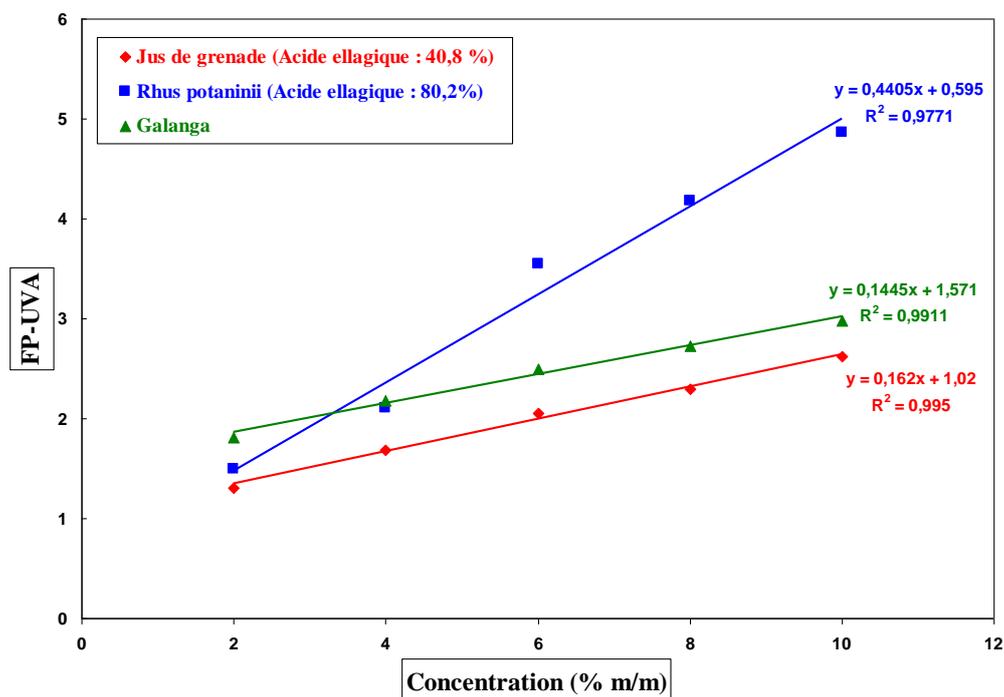


Figure 112 : Influence de la concentration en extrait sur le FP-UVA

Les résultats obtenus pour l'extrait de galanga dans le domaine UVB sont très intéressants. Le SPF obtenu ($15,82 \pm 0,61$) pour une concentration de 10 % (m/m) est comparable à celui obtenu avec du méthoxycinnamate d'octyle ($13,27 \pm 0,45$). Toutefois, comme pour les autres dérivés cinnamiques, la protection offerte dans le domaine UVA est faible ($2,98 \pm 0,19$). Cet extrait devra donc être associé à d'autres filtres UVA. Il faut noter que cet extrait liposoluble s'incorpore facilement aux émulsions L/H, et que la crème obtenue a de bonnes propriétés physico-chimiques. Elle ne présente ni couleur ni odeur particulières.

L'extrait de *Rhus potaninii*, fortement concentré en acide ellagique, permet de formuler des crèmes à faibles SPF. On constate logiquement que les émulsions contenant l'extrait de jus de grenade, moitié moins concentré en acide ellagique, ont un SPF en moyenne deux fois inférieur. En dépit de la photoprotection assurée relativement faible, l'acide ellagique a des nombreuses propriétés, ce qui en fait un filtre intéressant pour la mise au point de produits solaires. En effet, les crèmes présentent un ratio UVB/UVA faible (1,19), et une longueur d'onde critique élevée (391 nm). Il pourrait donc être utilisé à haute concentration en combinaison avec des filtres inorganiques afin de formuler des produits solaires de protection modérée, mais présentés comme formulés sans filtres organiques. Il pourrait aussi être utilisé à plus faible concentration pour augmenter la longueur d'onde critique des produits solaires.

II.3.3.1.2. Détermination de la photostabilité des extraits testés

La photostabilité de l'émulsion contenant l'extrait de sarrasin n'a pas été déterminée en raison de la faible efficacité de celui-ci. Pour les autres extraits végétaux, nous avons déterminé la photostabilité des émulsions en contenant, à une concentration de 10 % (m/m).

Les échantillons ont subi une irradiation de deux heures dans un simulateur solaire (Suntest CPS+, Atlas[®], Moussy le Neuf, France) (figure 113).

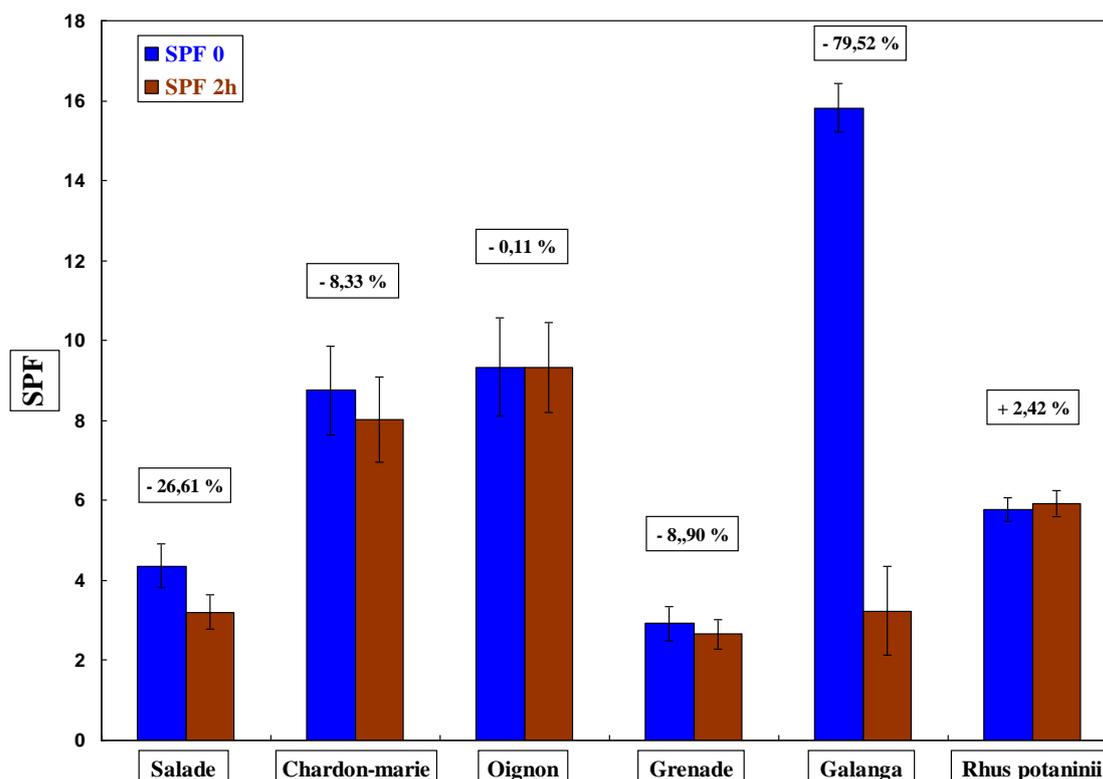


Figure 113 : Comparaison de la photostabilité dans le domaine UVB de différents extraits végétaux

Les deux extraits végétaux contenant des flavonoïdes (chardon-marie et oignon), s'avèrent être photostables dans le domaine UVB : les émulsions conservent plus de 90 % de leur efficacité. Il semblerait donc que la quercétine et la silybine soient des molécules photostables. De la même manière, les extraits contenant de l'acide ellagique (grenade et *Rhus potaninii*) sont photostables.

L'extrait de galanga est très photolabile (diminution de 79 % du SPF). Cela n'est pas surprenant dans la mesure où cet extrait est hautement concentré en éthyl p-méthoxycinnamate. Or, nous l'avons vu, les dérivés cinnamiques sont connus pour leur photostabilité. De même, l'émulsion contenant l'extrait de salade n'est pas photostable : elle perd 27 % de son efficacité. Il semblerait donc que l'acide caféique ne soit pas photostable dans le domaine UVB. Cela vient très certainement de sa structure chimique, qui est très proche de celle des dérivés cinnamiques en général et de l'éthylféruate en particulier.

La photostabilité dans le domaine UVA des extraits étudiés a aussi été déterminée (figure 114).

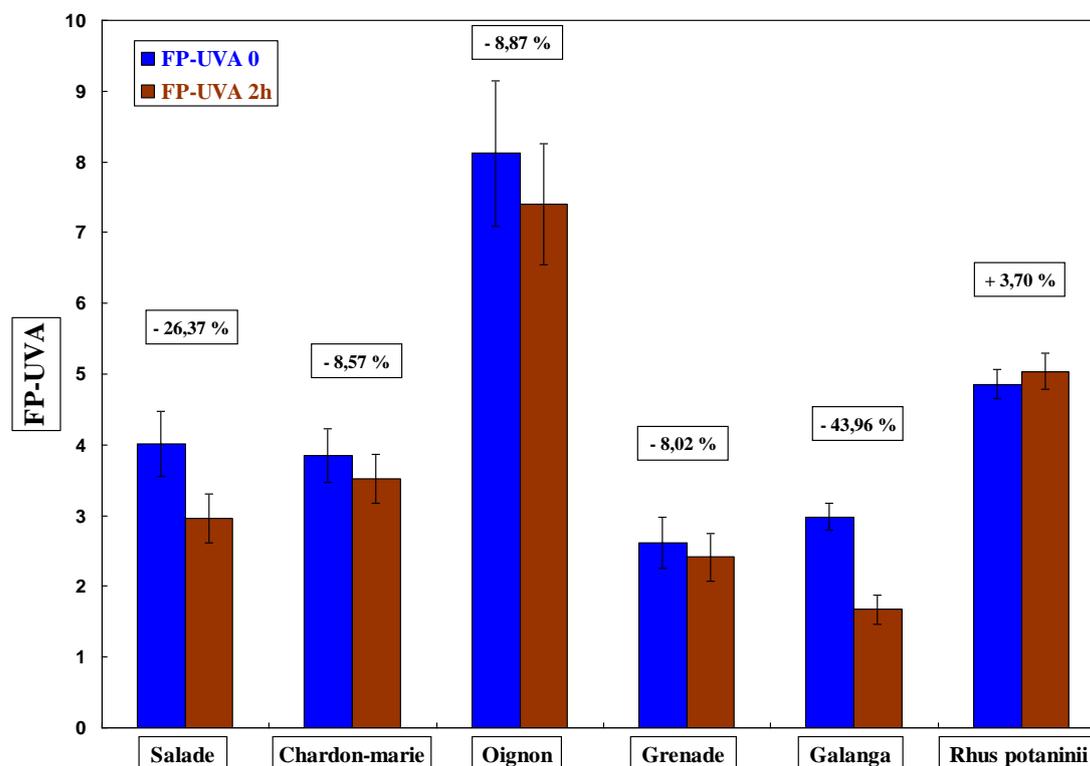


Figure 114 : Comparaison de la photostabilité dans le domaine UVA de différents extraits végétaux

On obtient des résultats tout à fait comparables à ceux obtenus dans le domaine UVB. Toutefois, pour l'extrait de galanga, la diminution du FP-UVA est moins importante que celle du SPF. Cela peut s'expliquer par le fait que l'éthylfêrulate est un filtre UVB. Sa perte d'efficacité lors d'une exposition aux UV est donc plus marquée dans le domaine UVB que dans le domaine UVA.

Le tableau 75 donne l'évolution des critères de validité après deux heures d'irradiation.

Extraits	Longueur d'onde critique à t_0	Longueur d'onde critique à t_{2h}	$\frac{SPF_0}{FP-UVA_0}$	$\frac{SPF_{t+2h}}{FP-UVA_{t+2h}}$
Salade	378 nm	379 nm	1,08	1,08
Chardon-marie	369 nm	368 nm	2,28	2,28
Oignon	388 nm	387 nm	1,15	1,26
Jus de grenade	392 nm	392 nm	1,11	1,10
Galanga	337 nm	351 nm	5,31	1,94
<i>Rhus potaninii</i>	391 nm	391 nm	1,19	1,17

Tableau 75 : Evolution des critères de validité des extraits naturels après irradiation

Cinq des extraits étudiés restent conformes après irradiation. On peut noter que l'extrait de chardon-marie présente une longueur d'onde critique très légèrement inférieure à

370 nm. Comme prévu, l'extrait de galanga n'est pas conforme, puisque l'éthyl p-méthoxycinnamate est un filtre UVB.

II.3.3.1.3. Conclusion

Les extraits naturels présentant une forte concentration en polyphénols en général, et en flavonoïdes en particulier, ont un fort potentiel pour la formulation de produits solaires. Ces extraits permettent de formuler des produits de SPF moyens, qui protègent aussi dans le domaine UVA, tout en étant photostables. Toutefois, les émulsions ne sont pas acceptables d'un point de vue galénique, aussi nous avons étudié directement les flavonoïdes et les polyphénols présents dans ces extraits après purification.

Les extraits contenant de l'acide ellagique, surtout l'extrait de *Rhus potaninii* qui est le plus concentré en cet acide, pourraient permettre de formuler des crèmes d'indice de protection moyen s'ils sont combinés avec des filtres inorganiques convenables. Ils pourraient aussi être utiles à faible concentration pour augmenter la longueur d'onde critique d'un produit solaire.

L'extrait de galanga, lui, n'apporte pas de réel progrès par rapport aux filtres déjà existant car l'éthyl p-méthoxycinnamate a des caractéristiques photoprotectrices très proches de celles de l'éthylhexylméthoxycinnamate.

II.3.3.2. Résultats concernant l'éthylfêrulate et l'acide fêrulique

II.3.3.2.1. Mesures spectrophotométriques

L'acide fêrulique est le nom commun de l'acide [(hydroxy-4-méthyl-3)-3phényl]-3-propène-2oïque. La présence du noyau phénolique et d'une chaîne conjuguée insaturée confère à l'acide fêrulique un pouvoir antioxydant et d'absorption des UV [182]. C'est une poudre jaune clair, inodore. Sa structure est présentée figure 115.

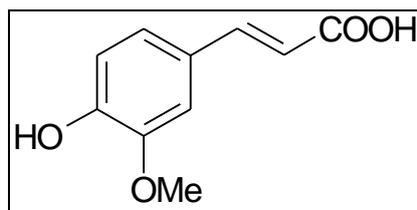


Figure 115 : Structure de l'acide fêrulique

L'acide fêrulique est très répandu chez les végétaux. On en trouve la présence, par exemple, dans le riz, le blé, l'orge, l'écorce de certains arbres, l'asperge, les olives... [183]. Dans le domaine médical, l'acide fêrulique montre des propriétés anti-inflammatoires. En outre, différents chercheurs ont suggéré des effets inhibiteurs sur l'athérosclérose, l'hypercholestérolémie et les maladies cardio-vasculaires. L'acide fêrulique pourrait aussi être bénéfique pour le traitement des grands brûlés par exemple [184].

L'éthylfêrulate est l'ester éthylique de l'acide fêrulique. Il se présente sous la forme d'une poudre blanche liposoluble, pratiquement inodore.

L'éthylfêrulate présente 2 pics d'absorption : l'un à 310 nm et l'autre à 327 nm. Sa structure moléculaire est comparable à celles des dérivés cinnamiques (figure 116). Son spectre est analogue à celui de certains de ces composés. Ainsi, l'isoamyle p-méthoxycinnamate et l'éthylhexylméthoxycinnamate ont-ils une longueur d'onde maximale d'absorption située à 310 nm. Toutefois, il est probable que ce maximum d'absorption situé à une longueur d'onde de 327 nm confère à l'éthylfêrulate une capacité protection non négligeable vis-à-vis des UVA courts. L'acide fêrulique, quant à lui, présente un seul pic d'absorption à 323 nm.

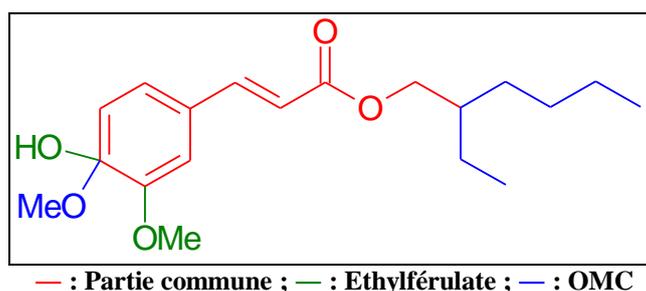


Figure 116 : Comparaison des structures moléculaires de l'éthylfêrulate et de l'OMC

Le tableau 76 présente les caractéristiques spectroscopiques de l'éthylfêrulate et de l'acide fêrulique. Nous avons également fait figurer les valeurs obtenues pour deux dérivés cinnamiques.

Molécules testées	Longueurs d'onde maximales d'absorption	Coefficient d'extinction molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)
Ethylfêrulate	327 nm	28 895
Acide fêrulique	323 nm	72 211
Isoamyle p-méthoxycinnamate	310 nm	27 679
Ethylhexyle méthoxycinnamate	310 nm	26 250

Tableau 76 : Caractéristiques spectrophotométriques de l'éthylfêrulate et de différents cinnamates

On constate que l'éthylfêrulate possède un coefficient d'extinction molaire du même ordre que celui des dérivés cinnamiques. Ce coefficient est nettement plus important pour l'acide fêrulique.

II.3.3.2.2. Détermination in vitro des propriétés photoprotectrices

Le SPF, le FP-UVA et la longueur d'onde critique de l'éthylférulate et de l'acide férulique ont été déterminés *in vitro* (figure 117).

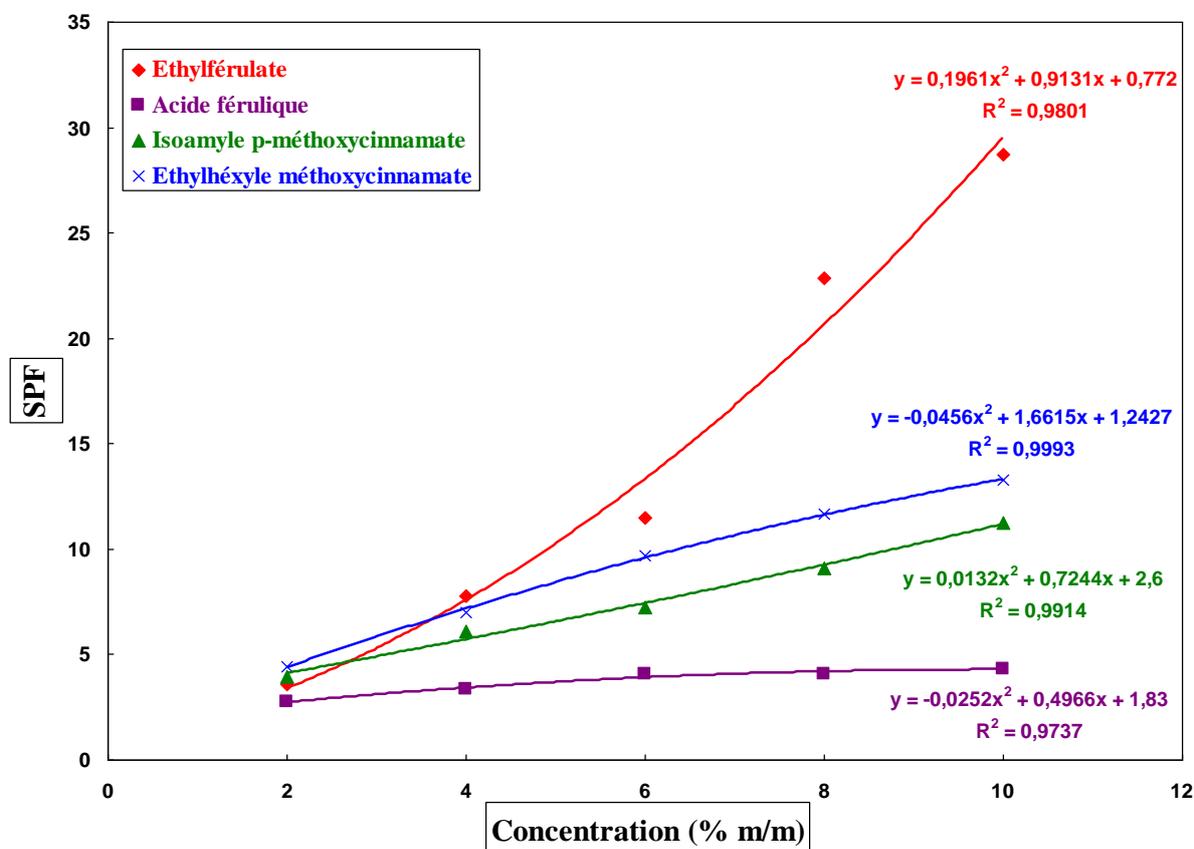


Figure 117 : Influence de la concentration en éthylférulate et en acide férulique sur le SPF

Les valeurs obtenues peuvent être comparées avec celles de deux dérivés cinnamiques. L'éthylférulate présente donc un SPF proche de 29 pour une concentration de 10 % (m/m). C'est donc un filtre UVB très efficace. Son efficacité est comparable à celle de l'anisotriazine, qui présente un SPF de 25 à la même concentration. Bien que son spectre d'absorption soit proche de celui des dérivés cinnamiques, il est beaucoup plus efficace que ces composés dans le domaine UVB.

L'acide férulique, lui, n'absorbe que faiblement dans le domaine UVB : une crème à 10 % (m/m) en acide férulique présente un SPF de 4. Cela correspond aux valeurs obtenues avec l'homosalate à la même concentration ($4,34 \pm 0,60$). Cela le classe donc parmi les filtres UVB les moins efficaces. Etant donné le prix élevé de l'acide férulique, il est peu probable que ce composé puisse s'avérer exploitable dans le domaine industriel.

De la même manière, il est possible d'étudier l'évolution du FP-UVA en fonction de la concentration massique pour l'éthylféréulate et l'acide férulique (figure 118).

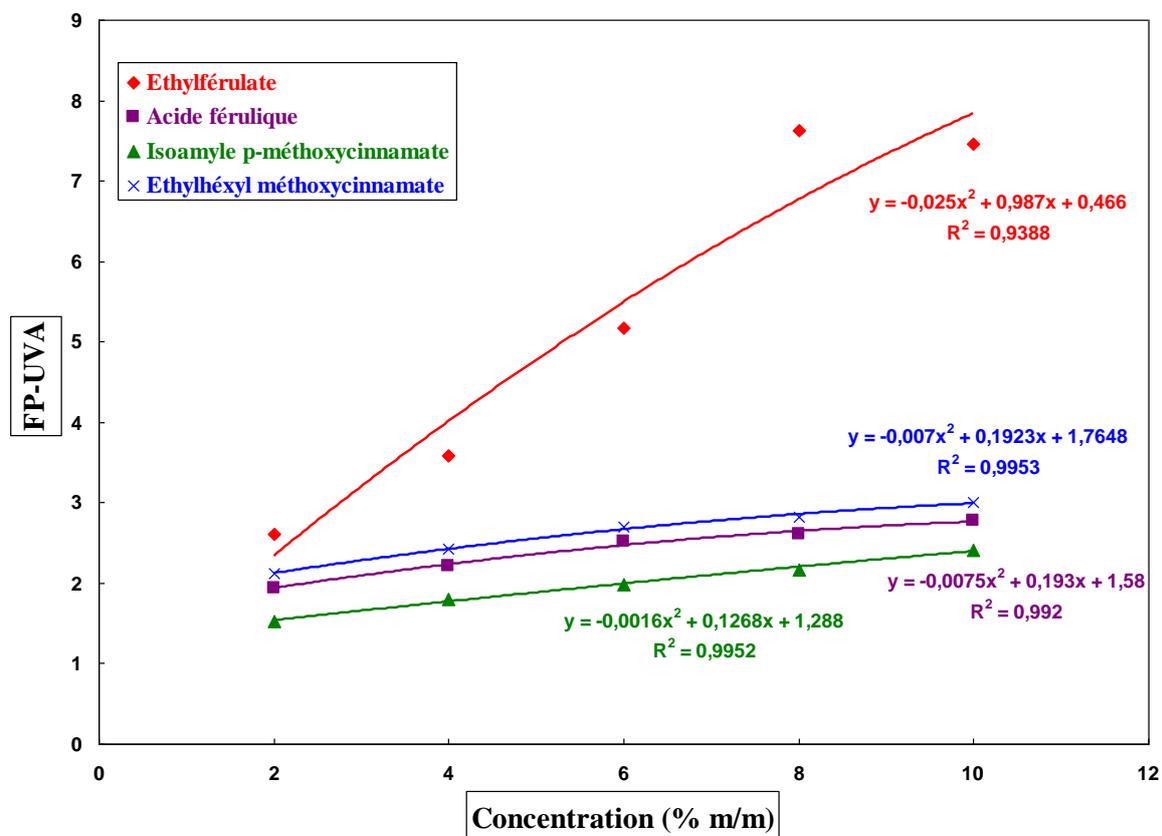


Figure 118 : Influence de la concentration en éthylféréulate et en acide férulique sur le FP-UVA

L'absorption dans le domaine UVA de l'éthylféréulate est plus faible que dans le domaine UVB, mais demeure élevée, avec une supériorité évidente sur les dérivés cinnamiques commercialisés. Cela n'est pas surprenant dans la mesure où, contrairement à ces dérivés cinnamiques, l'éthylféréulate présente un pic d'absorption à une longueur d'onde de 327 nm, c'est-à-dire dans les UVA courts. Son FP-UVA en fait le troisième filtre UVA le plus efficace après l'anisotriazine ($15,01 \pm 1,35$) et le diéthylaminohydroxybenzoylhéxyle benzoate ($10,95 \pm 0,63$)

L'acide férulique absorbe également peu dans l'UVA ($2,77 \pm 0,15$), et n'a donc pratiquement aucune utilité en tant que filtre UVA ou à spectre large.

Afin d'attester du potentiel de l'éthylféréulate en tant que photoprotecteur topique, il convient de déterminer son ratio SPF/FP-UVA et sa longueur d'onde critique. Les résultats obtenus pour une concentration de 10 % (m/m) figurent dans le tableau 77.

Composé	Longueur d'onde critique	Ratio SPF/FP-UVA
Ethylféréulate	357 nm	3,85
Acide férulique	354 nm	1,56

Tableau 77 : Ratio SPF/FP-UVA et longueur d'onde critique de l'éthylféréulate et de l'acide férulique

L'éthylféréulate incorporé à 10 % (m/m) dans une émulsion génère un ratio SPF/FP-UVA supérieur à 3, et une longueur d'onde critique inférieure à 370 nm. Il ne peut donc pas être employé seul, tout comme les autres filtres UVB organiques du commerce. Afin d'obtenir un produit satisfaisant les critères de validité, il est nécessaire d'utiliser l'éthylféréulate en combinaison avec d'autres filtres. Certains filtres UVA, comme l'avobenzène, pourraient convenir. L'avobenzène est en effet un filtre organique bien toléré. Une autre solution pourrait être d'associer l'éthylféréulate à un filtre inorganique, comme le dioxyde de titane par exemple. L'acide férulique devrait également être associé à d'autres filtres pour obtenir un produit protégeant suffisamment dans l'UVA.

II.3.3.2.3. Détermination de la photostabilité

Nous avons évalué la photodégradation de l'éthylféréulate au cours du temps. Nous avons pour cela mesuré le SPF initial d'une émulsion contenant de l'éthylféréulate à une concentration de 10 % (m/m), puis nous avons soumis l'échantillon à une série d'irradiations. A l'issue de chaque période d'irradiation, le SPF et le FP-UVA ont été déterminés. La courbe montrant l'influence du temps d'irradiation sur le SPF est donnée figure 119.

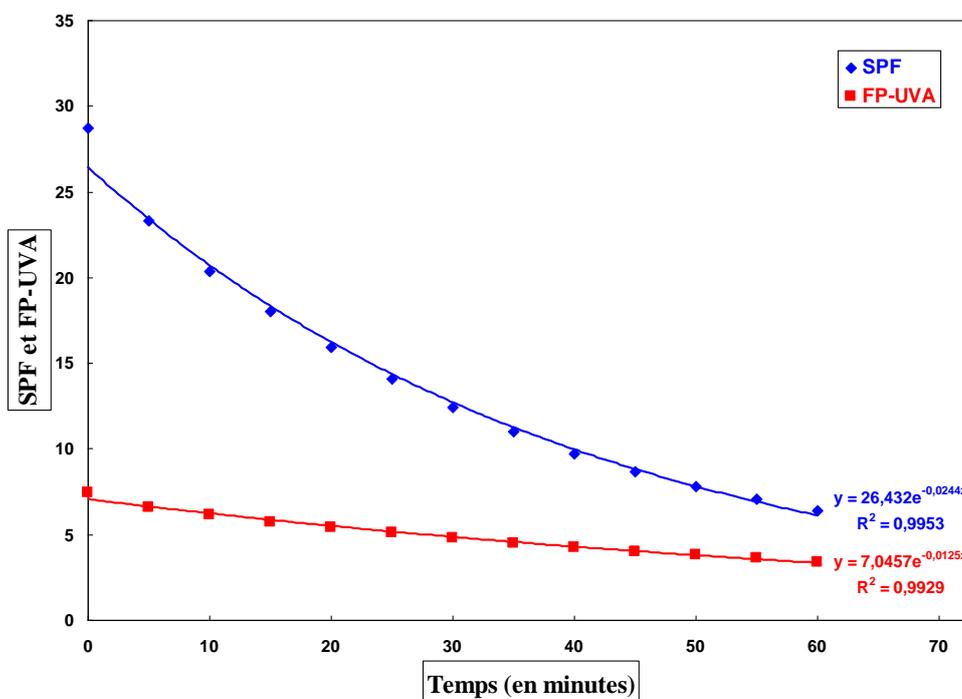


Figure 119 : Photodégradation de l'éthylféréulate

L'éthylféréulate apparaît comme un filtre très photolabile. Son efficacité diminue très rapidement, en particulier dans le domaine UVB. On détermine, par une régression exponentielle, l'équation des courbes $SPF = f(t)$ et $FP-UVA = f(t)$, dont le coefficient de régression R^2 s'avère supérieur à 0,99 dans les deux cas. Il est alors possible de calculer les temps pour lesquels le SPF correspond à 90% ou 50% du SPF initial, soit respectivement $t_{90\%}$ et $t_{50\%}$. Il est aussi possible d'effectuer ce calcul dans le domaine UVA (tableau 78).

Molécule	$t_{90\%}$ (UVB)	$t_{90\%}$ (UVA)	$t_{50\%}$ (UVB)	$t_{50\%}$ (UVA)
Ethylféréulate	1' 04''	4' 03''	25' 00''	50' 50''

Tableau 78 : Détermination des $t_{50\%}$ et $t_{90\%}$ pour l'éthylféréulate dans les domaines UVB et UVA

La photodégradation de l'éthylfêrulate est très rapide, car il perd la moitié de son efficacité en 25 et 51 minutes, respectivement dans les domaines UVB et UVA. Les dérivés cinnamiques, comme le méthoxycinnamate d'octyle, sont en général photolabiles. Toutefois, l'éthylfêrulate apparaît comme moins stable à la lumière que les autres filtres organiques autorisés en Europe [163]. Il conviendra donc de l'associer avec d'autres filtres afin d'augmenter sa photostabilité.

La photostabilité de l'acide fêrulique a elle aussi été déterminée (tableau 79). Nous avons pour cela mesuré la perte d'efficacité d'une émulsion L/H contenant 10% (m/m) d'acide fêrulique après 2 heures d'irradiation.

Molécule	SPF ₀ ± EC	SPF _{2h} ± EC	FP-UVA ₀ ± EC	FP-UVA _{2h} ± EC	Perte d'efficacité (UVB)	Perte d'efficacité (UVA)
Acide fêrulique	4,32 ± 0,36	2,66 ± 0,20	2,77 ± 0,15	2,09 ± 0,10	38,43 %	24,55 %

Tableau 79 : Photostabilité de l'acide fêrulique

L'acide fêrulique perd 38 % de son efficacité dans le domaine UVB et 24 % dans le domaine UVA. Il n'est pas photostable, et devra donc être lui aussi combiné avec d'autres filtres solaires.

II.3.3.2.4. Conclusion

L'éthylfêrulate est connu pour ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires [185, 186]. Cet ingrédient entre déjà dans la formulation de produits cosmétiques en tant qu'antioxydant. Toutefois, il ne figure pas dans l'annexe VII de la Directive européenne 76/768/CEE modifiée. Il n'est pas à l'heure actuelle référencé en Europe comme étant un filtre organique, mais son utilisation est réglementée dans certains pays. L'acide fêrulique, quant à lui, fait partie de la liste des filtres UV autorisés au Japon, à une concentration maximale d'emploi de 10 % (m/m).

L'éthylfêrulate apparaît comme un bon candidat pour la photoprotection topique. Il absorbe très fortement dans le domaine UVB, et fortement dans le domaine UVA. De plus, il est aisé de l'incorporer dans une émulsion ; il n'a ni odeur, ni couleur particulière. Toutefois, ce composé ne peut être employé seul, en raison de sa longueur d'onde critique trop faible (et de son ratio UVB/UVA trop fort), et de sa grande photolabilité. Il devra donc être associé à d'autres filtres afin de pallier à ces inconvénients. Une solution intéressante serait de combiner dans le même produit solaire de l'éthylfêrulate et du dioxyde de titane. Il serait alors possible d'obtenir un produit à haut indice de protection, présenté comme formulé sans filtres organiques.

L'acide fêrulique n'est pas, quant à lui, un filtre UV prometteur. Cette molécule n'absorbe pas suffisamment dans le domaine UV et n'est pas photostable. En raison de son prix élevé, il ne trouvera sans doute pas de débouchés dans le domaine de la photoprotection topique.

Ces travaux sur l'éthylfêrulate ont donné lieu à une publication dans la revue internationale *Natural Product Research* [187].

II.3.3.3. Résultats concernant les flavonoïdes et les polyphénols testés

De nombreuses molécules ont été étudiées, principalement des flavonoïdes mais aussi des polyphénols, susceptibles de présenter un intérêt pour la mise au point de produits solaires présentés comme dépourvus de filtres organiques. Nous avons constaté que les indices de protection obtenus varient d'une famille à l'autre, en fonction de la structure chimique. Certaines de ces familles sont très prometteuses.

II.3.3.3.1. Mesures spectrophotométriques

La longueur d'onde maximale d'absorption et les coefficients d'extinction molaire des différents flavonoïdes étudiés ont été déterminés par spectrophotométrie (tableau 80).

Molécules testées	Longueur d'onde maximale d'absorption	Coefficient d'extinction molaire (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)
Silybinine	287 nm	73 835
Apigénine	339 nm	43 907
Myricétine	302 nm et 376 nm	26 712 et 74 466
Lutéoline	351 nm	80 821
Rutine	341 nm	22 346
Quercétine	373 nm	20 613
Naringinine	290 nm	17 450
Hespéridine	285 nm	100
Hespérétine	288 nm	17 408
Diosmine	290 nm	504
Puérarine	303 nm	22 111
Baicaléine	315 nm	27 647
Baicaline	325 nm	24 485
Acide caféique	324 nm	16 569
Acide chlorogénique	330 nm	35 188

Tableau 80 : Caractéristiques spectrophotométriques des flavonoïdes et des polyphénols testés

Les coefficients d'extinction molaire des flavonoïdes testés sont très variables : ils sont compris entre 100 L.mol⁻¹.cm⁻¹ pour l'hespérétine (à 285 nm) et 80 821 L.mol⁻¹.cm⁻¹ pour la lutéoline (à 351 nm).

De la même manière, les longueurs d'onde maximales d'absorption sont très différentes selon les familles considérées. Ainsi, les flavanones (hespéridine, hespérétine, naringinine) absorbent-elles dans le domaine UVB, tandis que les polyphénols tels que l'acide caféique et l'acide chlorogénique absorbent dans les UVA courts. On remarque d'ailleurs que ces deux polyphénols présentent une longueur d'onde maximale d'absorption très proche de celle de l'éthylfêrulate, dont la structure est comparable.

Deux familles semblent particulièrement intéressantes car l'absorption a lieu dans les UVA longs : les flavones et les flavonols. Les flavonols comprennent la rutine, la quercétine et la myricétine (qui possède deux pics d'absorption). Ces trois molécules ont des coefficients

d'extinction molaire élevés (en particulier la myricétine), et semblent constituer des filtres UVA efficaces. Les flavones, apigénine et lutéoline par exemple, ont des coefficients d'extinction molaire très élevés et pourraient s'avérer être des filtres UVA encore plus intéressants.

II.3.3.3.2. Détermination des propriétés photoprotectrices in vitro

II.3.3.3.2.1. Détermination du SPF

Nous avons étudié l'influence de la concentration en flavonoïdes et en polyphénols sur le SPF des crèmes formulées (figure 120).

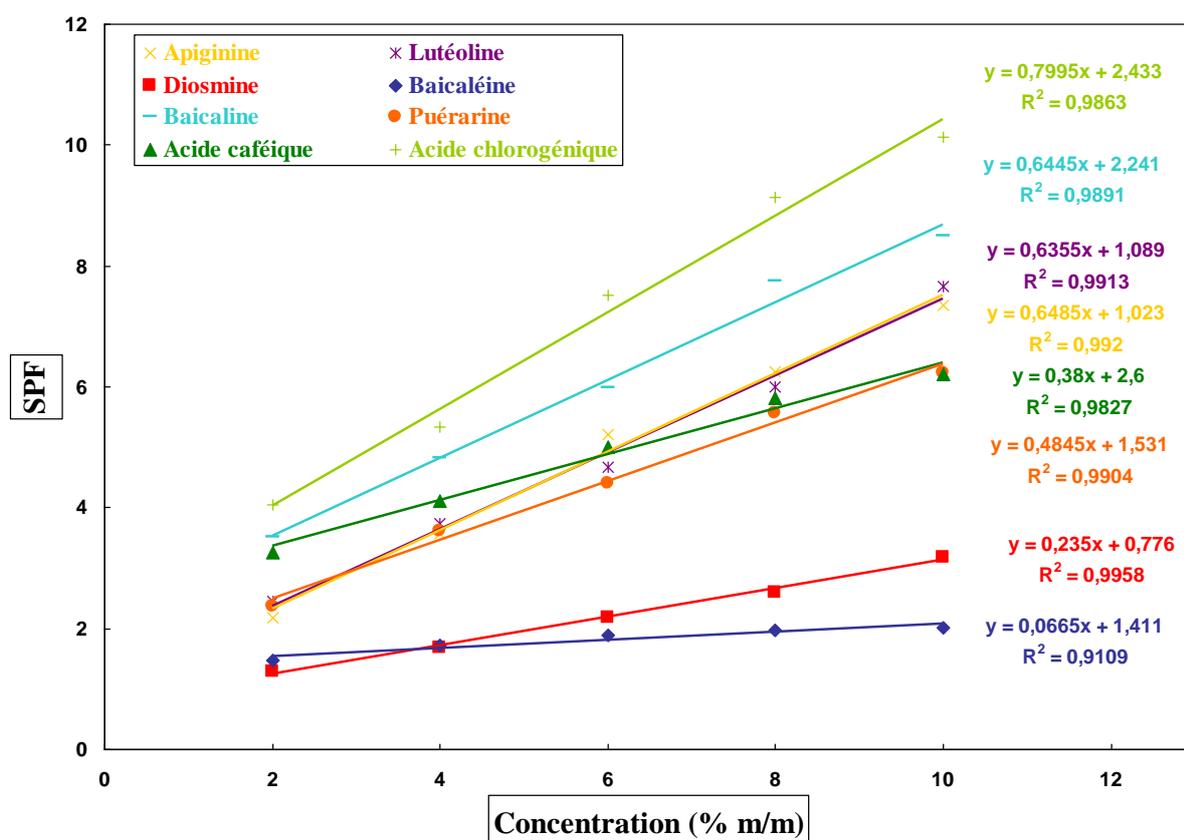


Figure 120 : Influence de la concentration en flavones, isoflavones et polyphénols sur le SPF

L'acide chlorogénique absorbe modérément dans le domaine UV : il permet d'obtenir un SPF de $10,13 \pm 1,56$ pour une concentration de 10 % (m/m). Ce résultat n'est pas surprenant étant donné l'analogie de structure de cet acide avec celle des dérivés cinnamiques. Ce polyphénol pourrait donc être intéressant comme substituant des filtres organiques UVB autorisés. De plus, comme prévu, l'acide caféique absorbe modérément dans le domaine UV.

La lutéoline, une flavone, absorbe elle aussi dans le domaine UVB, avec un SPF de $7,66 \pm 0,48$ pour une concentration de 10 % (m/m). La baicaline et l'apigénine, deux flavones, permettent d'obtenir des valeurs de SPF intéressantes, soit respectivement $8,49 \pm 0,81$ et $7,34 \pm 1,26$, pour une concentration de 10 % (m/m). Ces résultats confirment l'intérêt que l'on peut avoir pour les flavones pour la conception de produits solaires. Il faut néanmoins noter que la baicaléine, forme aglycone de la baicaline, absorbe très peu dans le domaine UVB.

La puérrarine, une isoflavone, permet elle aussi d'obtenir un SPF moyen ($6,23 \pm 0,95$) pour une concentration de 10 % (m/m). Toutefois, c'est la seule isoflavone que nous avons pu étudier, aussi est-il impossible de conclure sur l'intérêt global de cette famille de flavonoïdes en photoprotection topique.

Les autres extraits ne présentent pas d'intérêt particulier car ils ne permettent d'obtenir qu'un SPF compris entre 1,5 et 3,5 pour une concentration de 10 % (m/m). C'est surprenant en ce qui concerne la diosmine, car cette molécule appartient à la famille des flavones. Il est possible que sa faible absorption dans le domaine UVB vienne du groupement méthoxy sur le cycle C, ou plus probablement du fait qu'il s'agisse d'un glycoside.

La figure 121 montre l'influence de la concentration des autres flavonoïdes étudiés sur la concentration.

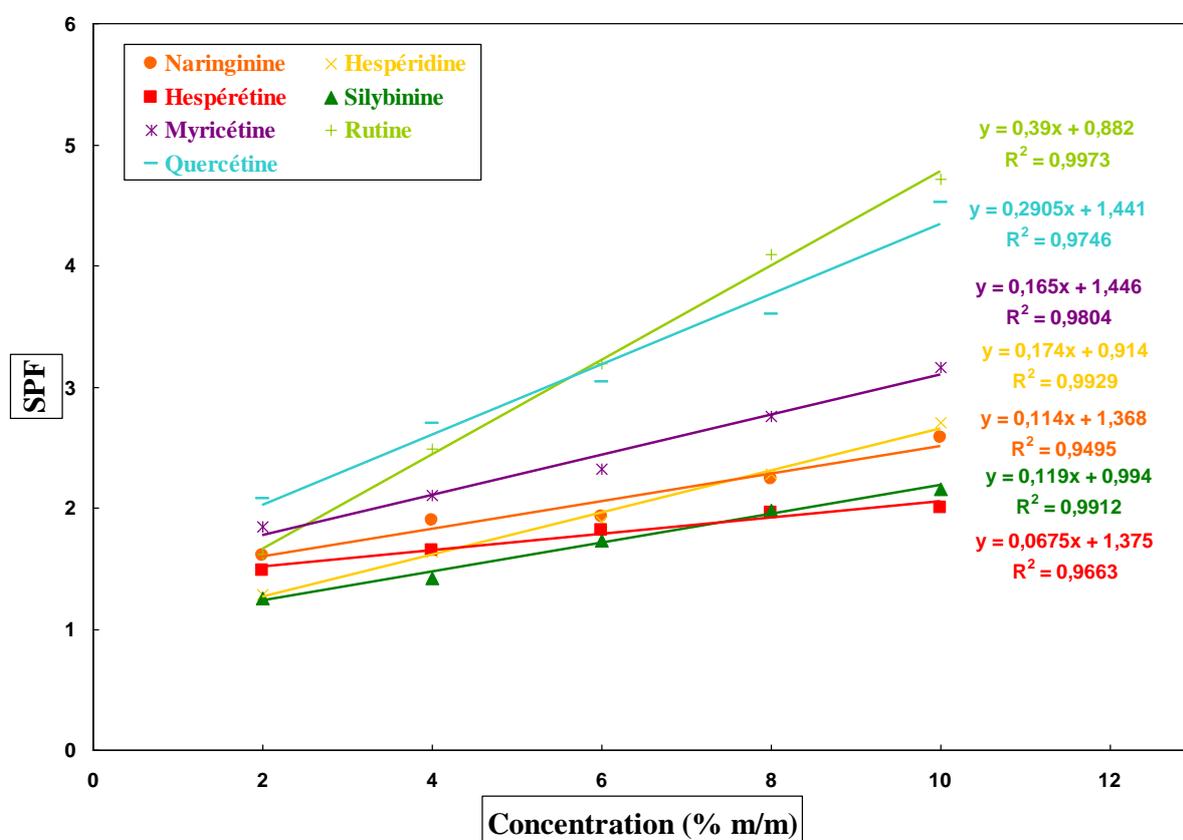


Figure 121 : Influence de la concentration en flavanones, flavonols et flavanonols sur le SPF

La quercétine en émulsion L/H offre un SPF de $4,52 \pm 0,38$ pour une concentration de 10 % (m/m). De même, la rutine (de la famille des flavanols) peut présenter un intérêt, avec un SPF de $4,72 \pm 0,20$ pour une concentration de 10 % (m/m). Comme prévu, cette famille s'avère intéressante pour la photoprotection topique. Il faut noter que la quercétine est la forme aglycone de la rutine, il semble donc logique que les valeurs de SPF obtenues soient proches.

On remarque que l'hespérétine et l'hespéridine, qui appartiennent à la famille des flavanones, ne permettent d'obtenir que des valeurs de SPF particulièrement basses. La naringinine absorbe très peu dans le domaine UVB. Cela semble indiquer que la famille des flavanones ne convient pas à la réalisation de produits solaires.

II.3.3.3.2.2. Détermination du FP-UVA

De la même manière, il est possible d'étudier l'influence de la concentration en flavonoïdes et en polyphénols sur le FP-UVA (figure 122).

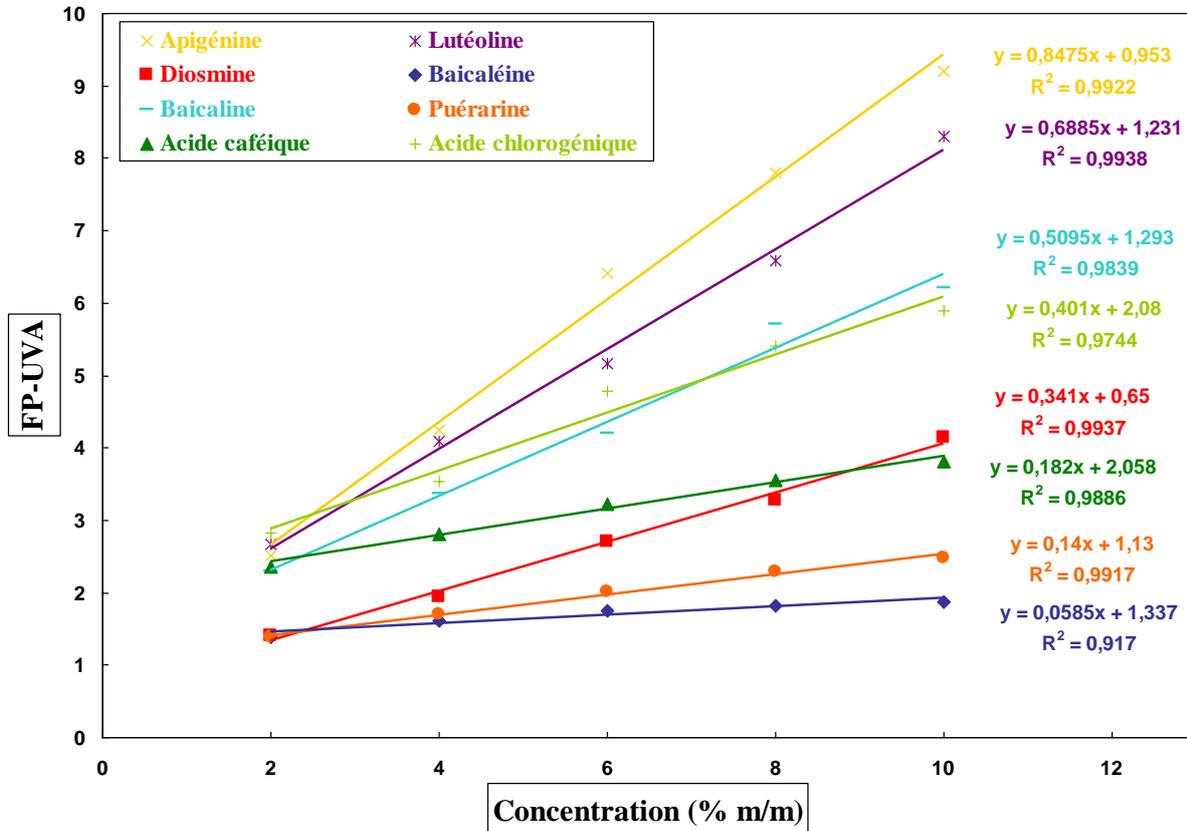


Figure 122 : Influence de la concentration en flavones, isoflavones et polyphénols sur le FP-UVA

La lutéoline, une flavone, absorbe fortement dans le domaine UVA. On peut même constater que le FP-UVA ($8,31 \pm 0,52$ à une concentration de 10 % (m/m)) est supérieur au SPF. Cet extrait a donc un grand intérêt potentiel dans la protection solaire en tant que filtre UVA. L'apigénine et la baicaline sont très efficaces dans le domaine UVA : les FP-UVA obtenus sont respectivement de $9,21 \pm 1,74$ et de $6,21 \pm 0,53$, pour une concentration de 10 % (m/m). Les résultats obtenus avec l'apigénine sont comparables à ceux obtenus avec le diéthylaminohydroxybenzoylhéxyle benzoate (FP-UVA de $10,95 \pm 0,63$). Les flavones semblent donc particulièrement intéressantes, notamment en tant que filtres UVA. La capacité d'absorption élevée de cette famille de flavonoïdes vient de leur structure qui présente une succession de doubles liaisons conjuguées.

La diosmine, une autre flavone, présente elle aussi un FP-UVA ($4,15 \pm 0,28$) supérieur au SPF. Toutefois, l'intérêt de cette flavone est limité par rapport aux autres flavonoïdes de la même famille.

L'acide chlorogénique absorbe, quant à lui, modérément dans le domaine UVA (FP-UVA = $5,89 \pm 0,47$). L'intérêt de ce polyphénol réside plutôt dans la protection contre les UVB. L'acide caféique protège assez peu dans le domaine UVA. On lui préférera donc l'acide chlorogénique, car les valeurs de SPF et de FP-UVA obtenues sont supérieures pour la même concentration.

Les autres flavonoïdes étudiés n'ont pas d'intérêt particulier, dans la mesure où la protection dans le domaine UVA est trop faible. La puérarine, par exemple, bien qu'elle permette d'atteindre un SPF intéressant pour une concentration de 10 % (m/m), génère une faible valeur de FP-UVA (pour la même concentration).

Nous avons étudié l'influence de la concentration des autres flavonoïdes sur le FP-UVA (figure 123).

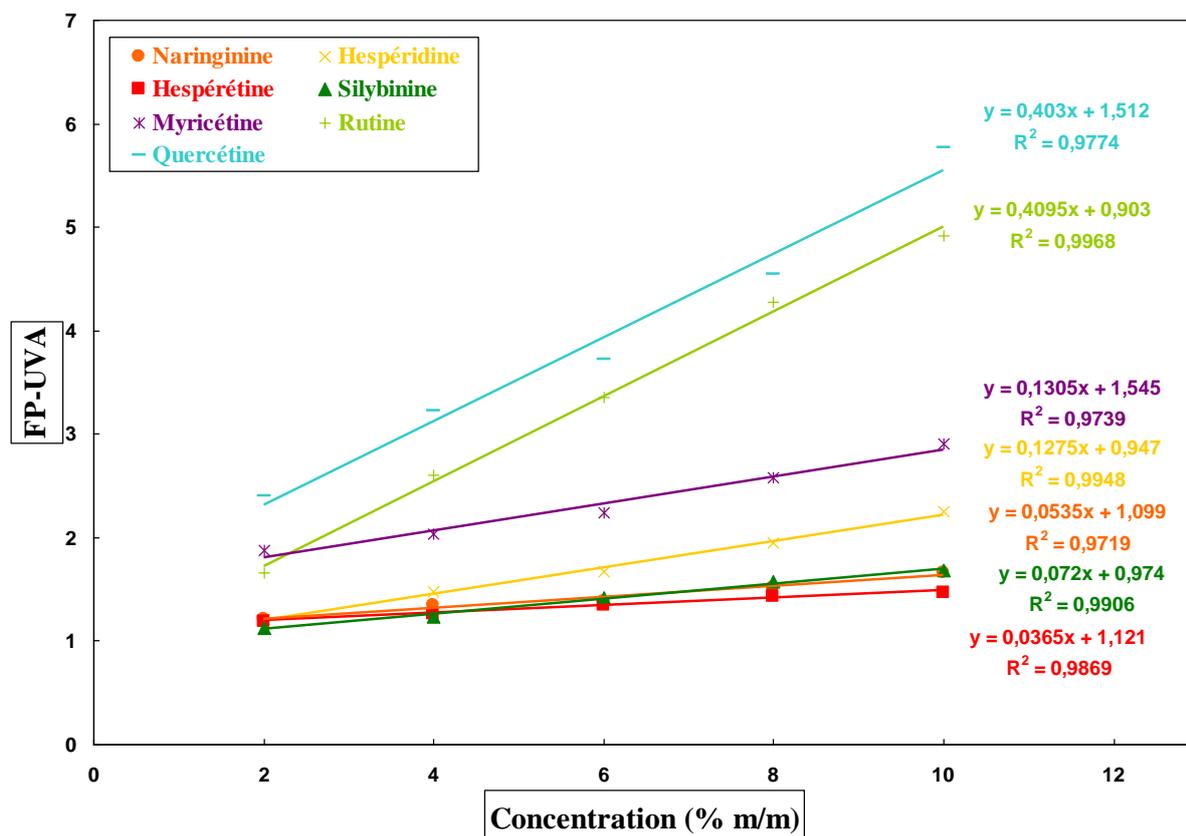


Figure 123 : Influence de la concentration en flavanones, flavonols et flavanonols sur le FP-UVA

La quercétine absorbe modérément dans l'UVA. La rutine en émulsion permet elle aussi d'obtenir un FP-UVA moyen ($4,92 \pm 0,20$). Elle pourrait être, comme la quercétine, associée à des filtres organiques UVA afin d'obtenir des crèmes offrant une protection élevée. On pourra aussi l'associer à d'autres filtres inorganiques pour disposer de crèmes présentées comme ne contenant pas de filtres organiques. Les flavonols sont donc une autre famille de flavonoïdes susceptibles de constituer de bons filtres solaires naturels.

Enfin, les autres flavonoïdes protègent très modérément dans le domaine UVA. Les faibles valeurs de FP-UVA obtenues avec la naringinine confirment ainsi le peu d'intérêt que présente la famille des flavanones en tant que photoprotecteurs topiques.

II.3.3.3.2.3. Détermination de la longueur d'onde critique et du ratio UVB/UVA

Les critères de validité des émulsions formulées à partir de flavonoïdes et de polyphénols ont été déterminés, pour une concentration de 10 % (m/m) de l'ingrédient actif (tableau 81).

Molécules testées	SPF ± EC	FP-UVA ± EC	Longueur d'onde critique	SPF/FP-UVA
Silybinine	2,16 ± 0,17	1,68 ± 0,09	371 nm	1,29
Apigénine	7,34 ± 1,26	9,21 ± 1,74	388 nm	0,80
Myricétine	3,16 ± 0,27	2,91 ± 0,24	390 nm	1,09
Lutéoline	7,66 ± 0,48	8,31 ± 0,52	387 nm	0,92
Rutine	4,72 ± 0,20	4,92 ± 0,20	380 nm	0,96
Quercétine	4,52 ± 0,38	5,77 ± 0,55	387 nm	0,78
Naringinine	2,58 ± 0,18	1,66 ± 0,08	363 nm	1,55
Hespéridine	2,70 ± 0,22	2,25 ± 0,15	377 nm	1,20
Hespéretine	2,00 ± 0,11	1,47 ± 0,05	371 nm	1,36
Diosmine	3,18 ± 0,19	4,15 ± 0,28	379 nm	0,77
Puérarine	6,23 ± 0,95	2,48 ± 0,45	354 nm	2,51
Baicaléine	2,01 ± 0,09	1,87 ± 0,08	382 nm	1,07
Baicaline	8,49 ± 0,81	6,21 ± 0,53	380 nm	1,37
Acide caféique	6,20 ± 0,23	3,81 ± 0,09	361 nm	1,63
Acide chlorogénique	10,13 ± 1,56	5,89 ± 0,47	364 nm	1,72

Tableau 81 : Longueurs d'onde critiques et SPF/FP-UVA obtenus avec les flavonoïdes et les polyphénols

Les deux familles présentant un intérêt particulier, à savoir les flavones et les flavonols, permettent d'obtenir des crèmes conformes en termes de longueur d'onde critique et de ratio UVB/UVA. De plus, les flavones, comme l'apigénine ou la lutéoline, ont des longueurs d'onde critiques particulièrement élevées et des ratios SPF/FP-UVA souvent inférieurs à 1. A forte concentration (10 % m/m), elles pourraient servir à remplacer les filtres UVA existant. A plus faible concentration, elles pourraient permettre d'augmenter la longueur d'onde critique des produits de protection solaire. La rutine et la quercétine, de la famille des flavonols, protègent elles aussi plus dans le domaine UVA que dans le domaine UVB. Toutefois, elles protègent moins efficacement que les flavones. Elles seront donc surtout intéressantes en association avec d'autres filtres.

L'émulsion contenant 10 % (m/m) de puérarine, bien que potentiellement intéressante en raison de son SPF moyen, présente une longueur d'onde critique trop faible. Il en va de même pour les acides caféique et chlorogénique. Ces molécules devront donc être associées à des filtres UVA ou à des filtres inorganiques afin de formuler des produits conformes.

II.3.3.3. Détermination de la photostabilité des flavonoïdes et des polyphénols

Les études de photostabilité ont été effectuées sur des crèmes contenant les flavonoïdes et les polyphénols à une concentration de 10 % (m/m). Comme précédemment, les échantillons ont été placés dans un simulateur solaire (Suntest CPS+, Atlas[®], Moussy le Neuf, France). On mesure le SPF et le FP-UVA avant et après deux heures d'irradiation.

II.3.3.3.1. Evolution du SPF

Les résultats obtenus pour le SPF sont présentés figure 124.

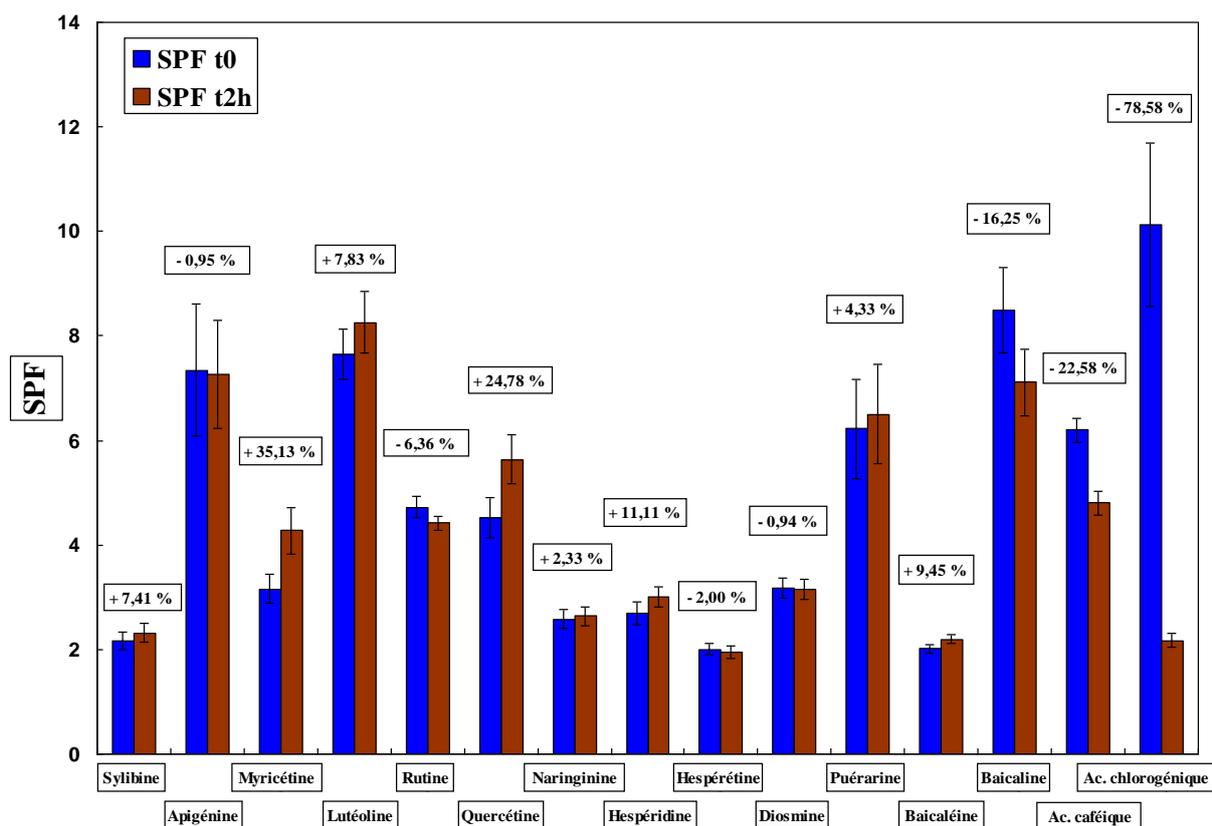


Figure 124 : Photostabilité des flavonoïdes et des polyphénols testés dans le domaine UVB

Presque tous les flavonoïdes étudiés ici sont photostables dans le domaine UVB : les crèmes conservent toutes au moins 90 % de leur efficacité après deux heures d'irradiation. Le seul flavonoïde à ne pas être photostable est la baicaline : le SPF de la crème qui en contient diminue de 16,25 %. Cette perte d'efficacité reste toutefois limitée.

Ce n'est pas le cas avec les polyphénols. Le SPF de l'émulsion formulée avec l'acide chlorogénique diminue considérablement après irradiation. En cas d'utilisation, il faudra l'associer à d'autres filtres afin d'obtenir des émulsions photostables.

II.3.3.3.2. Evolution du FP-UVA

Les résultats obtenus pour le FP-UVA sont présentés figure 125.

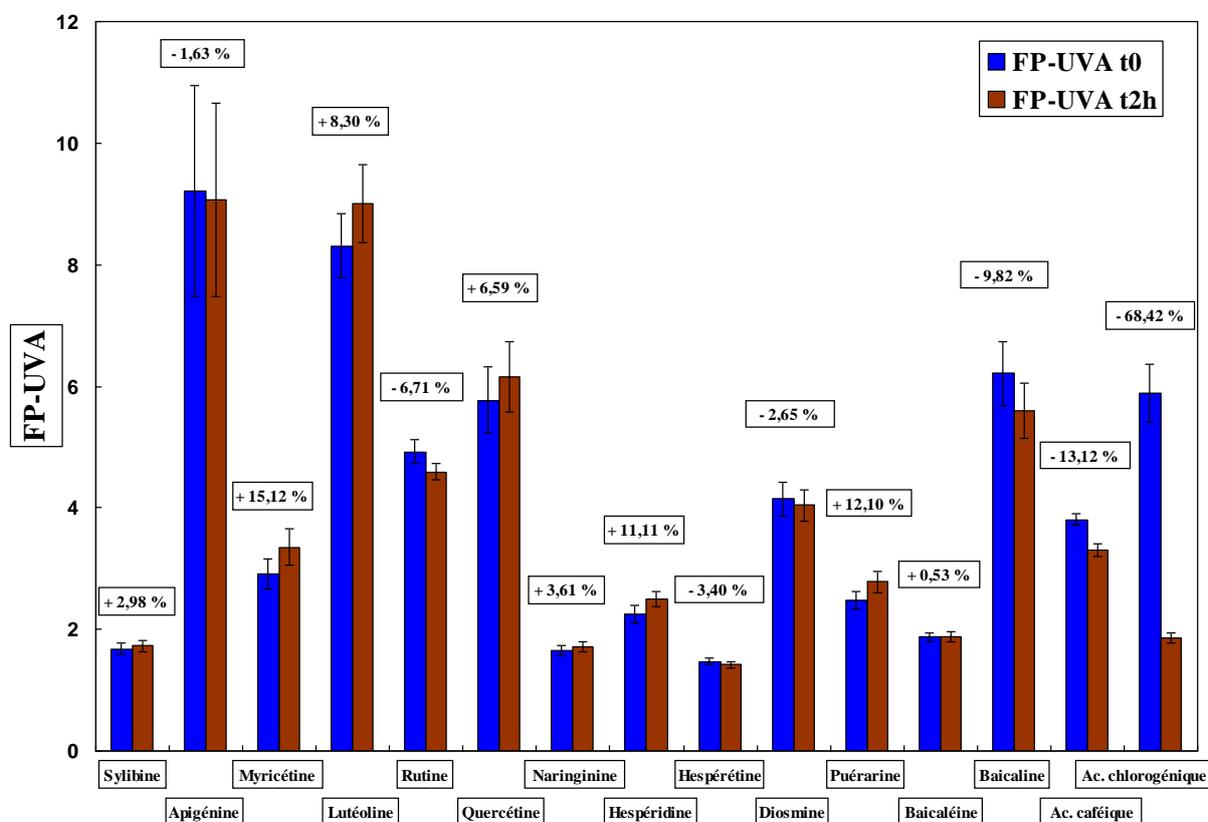


Figure 125 : Photostabilité des flavonoïdes et des polyphénols testés dans le domaine UVA

On constate que les flavonoïdes sont également photostables dans le domaine UVA. La perte d'efficacité dans le domaine UVA est en général très proche de celle observée dans le domaine UVB. Il apparaît ici que tous les flavonoïdes sont photostables dans le domaine UVA, y compris la baicaline. Les seules molécules à ne pas être photostables sont les polyphénols, et en particulier l'acide chlorogénique.

La photostabilité des flavonoïdes est très intéressante d'un point de vue pratique. En effet, de nombreux filtres UVB actuellement autorisés ne sont pas photostables. Aussi certains flavonoïdes pourraient-ils les remplacer avantageusement. De plus, les filtres UVA organiques, et en particulier l'avobenzone, ne sont pas non plus photostables. Nous avons vu que certains flavonoïdes de la famille des flavones, notamment l'apigénine et la lutéoline, permettaient d'obtenir des FP-UVA comparables à ceux générés par les filtres UVA organiques actuellement autorisés. Ils ont même une efficacité supérieure à celle de l'avobenzone. Il faut noter que la photostabilité des flavonoïdes n'est pas surprenante puisqu'on les retrouve dans la peau de certains fruits ou dans différentes feuilles, où elles exercent leur action photoprotectrice [173].

II.3.3.3.4. Conclusion

A l'issue de cette étude, il apparaît que deux familles particulières de flavonoïdes présentent un intérêt en photoprotection topique : ce sont les flavones et les flavanols.

Parmi les différentes flavones étudiées, l'apigénine, la lutéoline et la baicaline semblent particulièrement prometteuses. Elles protègent fortement dans le domaine UVA. Elles sont photostables, et elles présentent une longueur d'onde critique très élevée. Ces flavones pourraient remplacer les filtres UVA actuellement sur le marché, ou être utilisées à de plus faibles concentrations afin d'augmenter la longueur d'onde critique de certains produits solaires. Elles pourraient aussi être combinées à des filtres inorganiques afin d'obtenir des produits à hauts indices, présentés comme ne contenant pas de filtres organiques. Il faut noter que les propriétés antioxydantes des flavonoïdes sont un avantage supplémentaire [188]. Enfin, les flavonoïdes sont à priori d'une totale innocuité par voie topique dans la mesure où, par voie orale, ils ne présentent pas de toxicité [170].

Les flavanols, tels que la rutine et la quercétine, sont aussi des photoprotecteurs potentiellement intéressants, surtout en raison de leur caractère protecteur dans le domaine UVA. Toutefois, leur capacité photoprotectrice est plus faible. Ces flavonoïdes seront donc plus adaptés à une association avec des filtres UVA, ou avec des filtres inorganiques afin d'obtenir des produits de SPF élevés.

Il existe toutefois certaines limites à leur utilisation. D'une part, leur prix est relativement élevé, ce qui restreint leur utilisation à haute concentration. Toutefois, les actifs utilisés dans cette étude étaient d'une grande pureté. Il devrait être possible d'obtenir des résultats similaires avec des extraits concentrés en flavonoïdes, moins onéreux. D'autre part, ces actifs sont parfois difficiles à incorporer dans les émulsions, principalement à haute concentration. Les émulsions obtenues sont alors granuleuses, et présentent une coloration soutenue, pas toujours acceptable du point de vue cosmétique. Il faudra alors utiliser les flavonoïdes à plus faible concentration, ou alors ajouter à l'émulsion des agents blanchissants.

Les acides caféique et chlorogénique sont des photoprotecteurs modérément efficaces dans le domaine UVB. Cette propriété est certainement due à leur analogie de structure avec les dérivés cinnamiques. Bien qu'ils soient moins photoprotecteurs dans le domaine UVB que l'éthylfêrulate, ils présentent un ratio UVB/UVA inférieur à 3. Leurs longueurs d'onde critique sont toutefois inférieures à 370 nm. De surcroît, leur photolabilité, surtout en ce qui concerne l'acide chlorogénique, fait qu'il n'est pas possible de les utiliser seuls. Il faudra donc les combiner avec d'autres filtres, de préférences inorganiques, afin d'augmenter leur photostabilité et leur longueur d'onde critique.

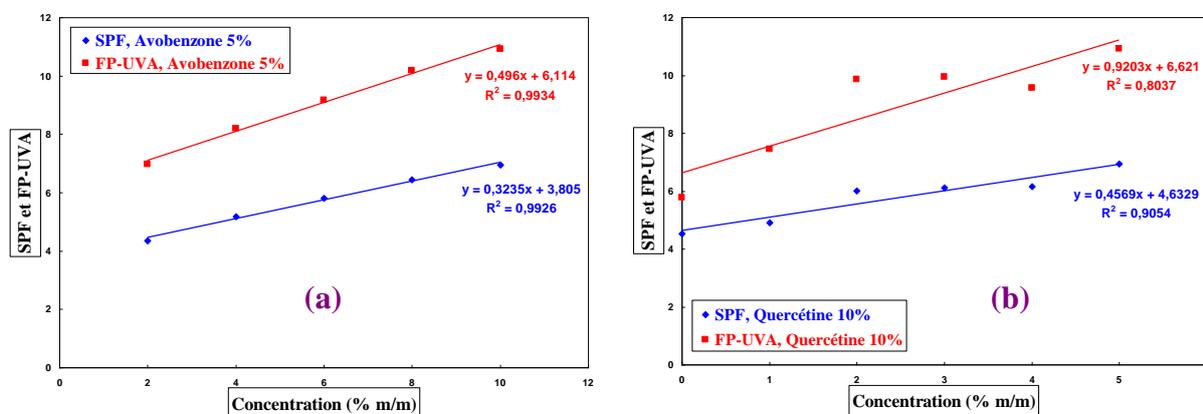
Ces travaux sur les flavonoïdes et les polyphénols ont donné lieu à une publication dans la revue *Natural Product Communications* [189].

II.3.3.4. Intérêts de l'association à des filtres solaires autorisés

Nous avons ici étudié les effets de l'association de la rutine et de la quercétine à différents filtres organiques et inorganiques.

II.3.3.4.1. Association quercétine et avobenzone

Nous avons étudié l'intérêt de l'association sur le SPF et le FP-UVA (figure 126).



(a) : Avobenzone à 5 % (m/m) ; (b) : Quercétine à 10 % (m/m)

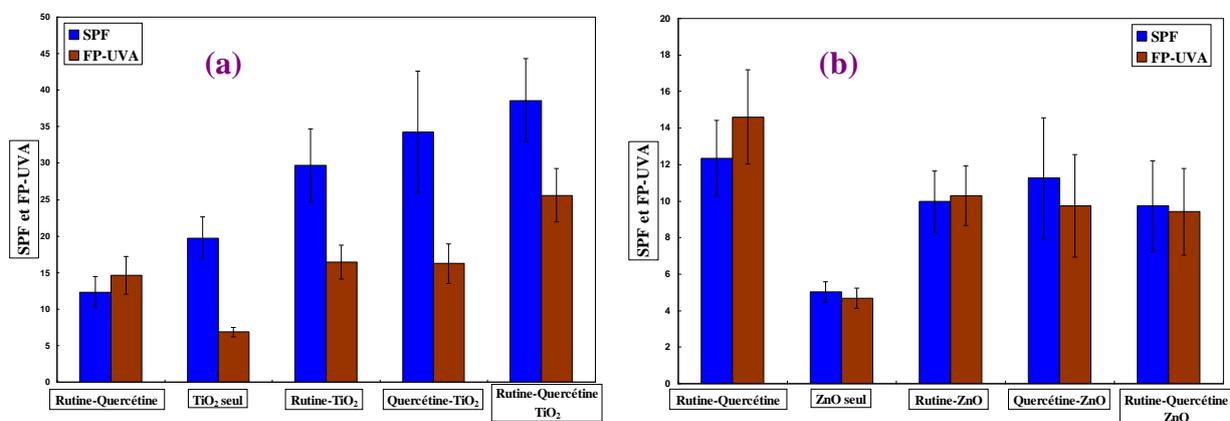
Figure 126 : Influence de la concentration en quercétine et en avobenzone sur le SPF et le FP-UVA

A une concentration élevée, soit 10 % (m/m) en quercétine et 5 % (m/m) en avobenzone, le FP-UVA obtenu est moyen : $10,93 \pm 1,32$. En comparant ces résultats avec ceux obtenus pour les mêmes filtres aux mêmes concentrations, utilisés seuls (soit un FP-UVA de $6,13 \pm 0,45$ pour l'avobenzone et de $5,77 \pm 0,55$ pour la quercétine), on constate que l'association est purement additive. Elle ne présente pas un grand intérêt. Il est probable que l'association de la quercétine (ou de la rutine) avec des filtres organiques ne permette pas d'obtenir des crèmes de hauts indices, à moins d'utiliser ces actifs à de très hautes concentrations.

Notons que cette association est intéressante en termes de protection UVA. Elle permet d'obtenir, en fonction de la concentration employée, un ratio UVB/UVA compris entre 0,60 et 0,66, pour une longueur d'onde critique de 388 nm.

II.3.3.4.2. Intérêt de l'association quercétine, rutine, TiO_2 et ZnO

Nous avons également étudié l'intérêt de l'association de deux flavanols, la rutine et la quercétine, avec les deux filtres inorganiques utilisés en Europe, l'oxyde de zinc et le dioxyde de titane. Les résultats obtenus sont présentés figure 127.



(a) dioxyde de titane ; (b) oxyde de zinc

Figure 127 : Association de la rutine et de la quercétine avec du dioxyde de titane ou de l'oxyde de zinc

La combinaison de la rutine et de la quercétine à 10 % (m/m) permet un effet synergique : le SPF obtenu est de $12,34 \pm 2,08$. Il pourrait ainsi être possible d'obtenir des crèmes d'indice moyen en combinant les flavonoïdes ou les polyphénols entre eux.

L'association de la quercétine et du dioxyde de titane présente elle aussi un effet synergique : le SPF est ici de $34,26 \pm 8,31$. De plus, l'association avec la rutine donne elle aussi des résultats intéressants ($\text{SPF} = 29,70 \pm 4,96$). Cette combinaison de flavonoïdes avec du dioxyde de titane est particulièrement intéressante et pourrait permettre de formuler des émulsions, présentées comme exemptes de filtres organiques, à indice de protection élevé.

La combinaison de ces flavanols avec l'oxyde de zinc a un effet purement additif sur le SPF. Les valeurs de SPF obtenues ($9,97 \pm 1,67$ et $11,25 \pm 3,31$ pour la rutine et la quercétine respectivement) ne permettent d'obtenir qu'un niveau de protection modéré. Un produit solaire n'étant considéré comme efficace qu'à partir d'un SPF de 15, l'étude de la combinaison de l'oxyde de zinc avec les flavonoïdes ne semble pas devoir être poursuivie. De plus, il est bien plus difficile de formuler des émulsions avec de l'oxyde de zinc qu'avec du dioxyde de titane.

On vérifie que ces associations sont conformes en termes de longueur d'onde critique et de ratio SPF/FP-UVA (tableau 82).

Association	Longueur d'onde critique	SPF/FP-UVA
Rutine-Quercétine	388 nm	0,84
Rutine-TiO ₂	380 nm	2,11
Rutine-ZnO	387 nm	1,15
Quercétine-TiO ₂	387 nm	1,81
Quercétine-ZnO	390 nm	0,97
Rutine-Quercétine-TiO ₂	387 nm	1,51
Rutine-Quercétine-ZnO	387 nm	1,03

Tableau 82 : Critères de validité des formules associant de la rutine et de la quercétine avec des filtres inorganiques

Les différentes associations réalisées montrent une longueur d'onde critique supérieure à 370 nm et un ratio UVB/UVA inférieur à 3. En particulier, les associations de la rutine et de la quercétine avec le dioxyde de titane offrent une protection sur l'ensemble des longueurs d'onde pouvant provoquer des effets indésirables. La combinaison de ces deux flavanols avec du dioxyde de titane est donc très prometteuse.

Ces travaux sur la rutine et la quercétine ont été publiés dans la revue internationale *Journal of Natural Products* [190].

II.3.3.5. Résultats concernant les extraits lichéniques

Les résultats obtenus étant soumis pour une publication, il n'est pas possible ici de détailler la nature des extraits de lichens testés.

Après avoir introduit ces extraits dans l'émulsion L/H de base du laboratoire, nous en avons déterminé expérimentalement les capacités photoprotectrices.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 83.

Extraits	SPF \pm EC	FP-UVA \pm EC	Longueur d'onde critique	SPF/FP-UVA
1	5,96 \pm 0,50	2,13 \pm 0,07	345 nm	2,80
2	1,56 \pm 0,18	1,45 \pm 0,14	381 nm	1,08
3	5,66 \pm 0,48	2,55 \pm 0,15	364 nm	2,22
4	4,58 \pm 0,90	2,04 \pm 0,20	358 nm	2,25
5	3,35 \pm 0,23	3,91 \pm 0,30	390 nm	0,86

Tableau 83 : Capacités photoprotectrices des extraits lichéniques testés

Certains de ces extraits génèrent des résultats très intéressants. Trois extraits (1, 3 et 4) permettent d'obtenir des valeurs de SPF comprises entre 4,50 et 6,00. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues pour certains filtres organiques commerciaux, aux mêmes concentrations, comme l'homosalate par exemple. Néanmoins, ces trois extraits protègent principalement dans le domaine UVB : leurs longueurs d'onde critique sont comprises entre 345 et 364 nm. Pour un usage cosmétique, ils devront alors être combinés à des filtres UVA ou à des filtres inorganiques afin d'obtenir des crèmes protégeant suffisamment sur l'ensemble du spectre UV.

L'extrait 5 a un intérêt particulier pour la protection dans le domaine UVA. Bien que le SPF et le FP-UVA mesurés pour cet échantillon soient relativement faible (3,35 \pm 0,23 et 3,91 \pm 0,30 respectivement), le ratio UVB/UVA est faible (0,86) et la longueur d'onde critique élevée 390 nm. Cet extrait pourrait avoir un intérêt pratique. En premier lieu, associé à des filtres inorganiques, il devrait permettre de formuler des crèmes solaires d'indice de protection modéré, mais protégeant efficacement dans le domaine UVA. Il serait intéressant d'étudier l'association de ces extraits de lichen avec du dioxyde de titane ou de l'oxyde de zinc, afin de vérifier si ces combinaisons ont un effet synergique sur le SPF, comme c'est le cas pour la rutine et la quercétine. Dans un second temps, l'extrait 5 pourrait permettre, utilisé en plus petite quantité, d'augmenter la longueur d'onde critique de certains produits solaires, comme c'est le cas pour certains des flavonoïdes précédemment étudiés.

CONCLUSION

Protéger sa peau contre les effets nocifs du rayonnement solaire est, nous l'avons vu, un sujet de première importance. Les efforts fournis en ce sens par les dermatologues et les organismes de santé publique semblent avoir eu un certain impact sur la population. Toutefois, il faudra attendre encore une vingtaine d'années avant de pouvoir constater si la campagne de mise en garde des professionnels de santé, débutée dans les années 90, a eu une incidence réelle sur les habitudes des vacanciers. En effet, les mélanomes, par exemple, ont une période d'induction relativement longue et ils n'apparaissent qu'entre l'âge de 40 et 50 ans chez les personnes les plus exposées. Il est donc indispensable de continuer à informer sur les effets néfastes des UV.

Il existe pourtant différentes solutions simples pour se prémunir des dangers du soleil :

- se couvrir lors des expositions, en portant un t-shirt ou un chapeau spécialement conçus pour être photoprotecteurs ;
- éviter de s'exposer entre 11 heures et 16 heures ;
- choisir un produit solaire adapté à son type de peau, et l'appliquer en quantité suffisante.

Les produits solaires existent en effet sous de nombreuses formes galéniques (sticks, poudres, huiles, gels ...) et la gamme de protection proposée par les fabricants est vaste, allant d'un SPF de 6 pour les huiles jusqu'à 50+ pour certaines crèmes. L'on ne peut que conseiller d'utiliser des produits présentant un SPF élevé, puisque la quantité de crème appliquée est bien souvent minimisée par l'utilisateur. De plus, il est aussi indispensable de sélectionner un produit protégeant suffisamment dans l'UVA. Les méthodes *in vivo* de détermination du FP-UVA sont longues, coûteuses, et peu reproductibles. Il faudra donc utiliser en compléments de ces méthodes classiques des techniques de détermination *in vitro*. Les procédures de détermination de l'indice de protection des produits solaires *in vitro* présentent de nombreux avantages : elles sont rapides, peu onéreuses, et reproductibles. Pour des raisons éthiques, elles ont vocation à remplacer les protocoles *in vivo* existant. Par ailleurs, elles représentent un atout de choix pour le formulateur puisqu'elles permettent d'avoir une indication rapide de la capacité photoprotectrice d'un produit, notamment dans le domaine UVA. Malheureusement, les procédés de mesure *in vitro* sont encore peu employés. C'est pourquoi le travail que j'ai effectué lors de cette thèse de doctorat revêt une importance particulière.

Tout d'abord, j'ai mis au point un protocole *in vitro* de détermination des capacités photoprotectrices de deux formes galéniques anhydres, les sticks et les poudres. J'ai également mis au point une méthode de détermination *in vitro* de la résistance à l'eau des produits solaires. Cette méthode devrait être particulièrement utile dans le milieu industriel en raison de sa simplicité et de sa rapidité de mise en œuvre. Enfin, j'ai développé différents standards à hauts indices de protection. Ces formules devraient permettre d'harmoniser les méthodes existantes. Il reste toutefois à déterminer *in vivo* les indices de protection de ces formules.

Un autre problème concernant les produits solaires est apparu il y a plusieurs années : il s'agit de leur toxicité chez l'homme. Les filtres organiques sont notamment connus pour provoquer des phénomènes allergiques et photoallergiques. De plus, un débat sur leurs potentiels effets endocriniens divise à l'heure actuelle la communauté scientifique. Afin de garantir la totale innocuité des produits solaires, il pourrait devenir nécessaire de remplacer

les filtres organiques actuellement employés par des matières premières ne présentant aucune dangerosité pour l'homme. Nous nous sommes pour cela tournés vers des molécules naturelles, extraites de plantes.

Les résultats obtenus avec les flavonoïdes, les polyphénols et les extraits de lichens sont très prometteurs. Les flavones, en particulier, sont d'excellents candidats pour la photoprotection topique. Elles protègent sur l'ensemble des longueurs d'onde nocives, et présentent les mêmes capacités photoprotectrices que les filtres organiques. Nous avons vu que, combinées à du dioxyde de titane, la rutine et la quercétine permettent de préparer des émulsions présentant un SPF élevé. Une des limites à l'utilisation des flavonoïdes est leur prix, trop important à l'heure actuelle pour une utilisation industrielle. Toutefois, il a été montré que l'utilisation d'extraits concentrés en flavonoïdes et en polyphénols permettait aussi d'obtenir de très bons résultats. De plus, les flavonoïdes devraient pouvoir être utilisés à de plus faible concentration (de l'ordre de 1 à 2 % m/m) afin d'augmenter la longueur d'onde critique des produits solaires. Il reste néanmoins à étudier ce dernier point, ainsi que la combinaison des différents flavonoïdes avec les filtres inorganiques existants.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] : **J. Bernard**, Energie solaire : calculs et optimisation, *Ellipses marketing*, **2004**.
- [2] : **J.P. Cesarini**, Enseignement pour la formation du personnel qualifié opérateurs des appareils de bronzage UV mis à disposition du public, *Fondation Rotschild*, **1996**.
- [3] : **H.K. Seidlitz, S. Thiel, A. Krins, H. Mayer**, Solar radiation at the Earth's surface, *Compre Ser Photosci*, **2001** ; 3 : 705-738.
- [4] : **A. Hufty**, Introduction à la climatologie : le rayonnement et la température, l'atmosphère, l'eau, le climat et l'activité humaine, *Presses Université Laval*, **2001**.
- [5] : **M.C. Girard**, Traitement des données de télédétection, *Dunod*, **1999**.
- [6] : **S. Gonzalez, M. Fernandez-Lorente, Y. Gilaberte-Calzada**, The latest on skin photoprotection, *Clin Dermatol*, **2008** ; 26 : 614-626.
- [7] : **DP. Häder, M. Lebert, M. Schuster, L. Del Ciampo, EW. Helbling, R. McKenzie**, ELDONET : a decade of monitoring solar radiation on five continents, *Photochem Photobiol*, **2007** ; 83 (6) : 1348-57.
- [8] : **M.A. Pathak**, Sunscreens : progress and perspectives on photoprotection of human skin against UVB and UVA radiation, *J Invest Dermatol*, **1996** ; 23 : 783-800.
- [9] : **P. Kullavanijaya, H.W. Lim**, Photoprotection, *J Am Acad Dermatol*, **2005** ; 52 : 937-958.
- [10] : **M.C. Martini**, Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie, *Tec&Doc*, **2003**.
- [11] : **M. Cario-Andre**, Rôle des mélanocytes dans l'unité épidermique de mélanisation reconstruite ex-vivo après une irradiation UV aiguë, *Thèse de doctorat*, **2000**.
- [12] : **T. Passeron, R. Ballotti, J.P. Ortonne**, Melanogenesis, *EMC-Dermatologie Cosmétologie*, **2005** ; 2 : 204-216.
- [13] : **L. Meunier, N. Raison-Peyron, J. Meynadier**, Immunosuppression photo-induite et cancers cutanés, *Rev Méd Interne*, **1998** ; 19 : 247-254.
- [14] : **P.R. Wheeler, B. Young, J.W. Heath**, Histologie fonctionnelle, *De Boeck Université*, **2004**.
- [15] : **M.S. Marks, M.C. Seabra**, The melanosomes : membrane dynamics in black and white, *Nat Rev Molec Cell Biol*, **2001** ; 2 : 738-748.
- [16] : **S. Astner, R.R. Anderson**, Skin Phototypes 2003, *J Invest Dermatol*, 2004 ; 122.
- [17] : **S. Lautenschlager, H.C. Wulf, M.R. Pittelkow**, Photoprotection, *Lancet*, **2007** ; 370 : 528-537.
- [18] : **J-P. Borel, A. Randoux**, Biochimie dynamique, *De Boeck & Larcier*, **1997**.
- [19] : **M.F. Holick**, Sunlight « D »ilemma : risk of skin cancer or bone disease and muscle weakness, *Lancet*, **2001** ; 357 : 4-6.

- [20] : **M.F. Holick**, Vitamin D : Its role in cancer prevention and treatment, *Prog Biophys Mol Biol*, **2006** ; 92 : 49-59.
- [21] : **T.C. Chen, F. Chimeh, Z. Lu, J. Mathieu, K.S. Person, A. Zhang, N. Kohn, S. Martinello, R. Berkowitz, M.F. Holick**, Factors that influence the cutaneous synthesis and dietary sources of vitamin D, *Arch Biochem Biophys*, **2007** ; 460 : 213-217.
- [22] : **W.B. Grant**, An estimate of premature cancer mortality in the U.S due to inadequate doses of solar ultraviolet-B radiation, *Cancer*, **2002** ; 94 : 1867-1875.
- [23] : **J.E. Osborne, P.E. Hutchinson**, Vitamin D and systemic cancer : is this relevant to malignant melanoma ?, *Br J Dermatol*, **2002** ; 147 : 197-213.
- [24] : **V. Tangpricha, C. Spina, M. Yao, T.C. Chen, M.M. Wolfe, M.F. Holick**, Vitamin D deficiency enhances the growth of MC-26 colon cancer xenografts in Balb/c mice, *J Nutr*, **2005** ; 135 : 2350-2354.
- [25] : **P. De Haes, M. Garmyn, H. Degreef**, 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ inhibits ultraviolet B-induced apoptosis, Jun kinase activation, and interleukin-6 production in primary human kératinocytes, *J Cell Biochem*, **2003** ; 89 : 663-673.
- [26] : **R. Vieth, T.R. Pinto, B.S. Reen, M.M. Wong**, Vitamin D poisoning by table sugar, *Lancet*, **2002** ; 359 : 672.
- [27] : **M-P. Lavoie, M. Hébert**, Faire la lumière sur le trouble affectif saisonnier, *Can Psychol*, **2007** ; 48 (3) : 187-198.
- [28] : **P. Pevet**, Mélatonine et rythmes biologiques, *Thérapie*, **1998** ; 53 : 411-420.
- [29] : **B. Claustrat, J. Brin, G. Chazot**, Mélatonine, rythme veille-sommeil et sommeil, *Médecine du sommeil*, **2005** ; 1 (4) : 11-19.
- [30] : **Y. Le Strat, N. Ramoz, P. Gorwood**, Troubles de l'humeur et rythmes biologiques, *Ann Pharm Fr*, **2008** ; 66 (3) : 169-174.
- [31] : **N. Yawalkar, L.R. Braathen**, Le psoriasis vulgaire : de la pathog nese au traitement, *Forum Méd Suisse*, **2006** ; 6 : 549-554.
- [32] : **J.D. Bos, P.I. Spuls**, Topical treatments in psoriasis : today and tomorrow, *Clin Dermatol*, **2008** ; 26 : 432-437.
- [33] : **C.J.G Sanders, H.Y. Lam, C.A.F.M. Bruinjnzeel-Koomen, V. Sigurdsson, H. van Weelden**, UV Hardening therapy : A novel intervention in patients with photosensitive cutaneous lupus erythematosus, *J Am Acad Dermatol*, **2006** ; 54 : 479-486.
- [34] : **J. Leone, JL. Pennaforte, V. Delhinger, J. Detour, K. Lefondre, JP. Eschard, JC. Etienne**, Influence de la saison sur le risque de pouss e systémique du lupus :  tude rétrospective de 66 patients, *Rev Med Interne*, **1997** ; 18 : 286-291.
- [35] : **H. McGrath Jr**, Ultraviolet A1 (340-400 nm) irradiation and systemic lupus erythematosus, *J Invest Dermatol Symp Proc*, **1999** ; 4 (1) : 79-84.
- [36] : **J.P. Césarini**, Photocanc rog nese cutan e, *Rev Med Interne*, **1995** ; 16 : 344-347.
- [37] : **P. Clément-Lacroix, L ; Duberet**, Ultraviolet et peau. Modulation des fonctions immunes, *Pathol Biol*, **1992** ; 40 : 178-183.

- [38] : S. Kondo, D.N. Sauder, R.C. McKenzie, H. Fujisawa, G.M. Shivji, A. El-Ghorr, M. Norval, The role of cis-urocanic acid in UVB-induced suppression of contact hypersensitivity, *Immunol Lett*, **1995** ; 48 : 181-186.
- [39] : H.S. Black, F.R. De Gruilj, P.D. Forbes, J.E. Cleaver, H.N. Ananthaswamy, E.C. De Fabo, S.E. Ullrich, R.M. Tyrell, Photocarcinogenesis : an overview, *J Photobiol Photochem B*, **1997** ; 40 : 29-47.
- [40] : A. Hawrot, M. Alam, D. Ratner, Squamous cell carcinoma, *Curr Probl Dermatol*, **2003** ; 15 (3) : 91-133.
- [41] : L.H. Goldberg, Basal cell carcinoma, *Lancet*, **1996** ; 347 : 663-667.
- [42] : Programme des Nations Unies pour l'Environnement, Bulletin du Programme Action Ozone, **2003** ; 45.
- [43] : B. Dréno, Mélanome, *Rev Prat*, **1999** ; 49 : 833-837.
- [44] : L. Thomas, A.J. Cochran, Prise en charge du mélanome cutané, *Cancer Radiother*, **1998** ; 2 : 732-746.
- [45] : F. Grange, Épidémiologie du mélanome cutané : données descriptives en France et en Europe, *Ann Dermatol Venerol*, **2005** ; 132 (12) : 975-982.
- [46] : J.H. Epstein, Phototoxicity and photoallergy, *Semin Cutan Med Surg*, **1999** ; 18 (4) : 274-284.
- [47] : A. Pons-Guiraud, Les allergies aux parfums en 2007, *Rev Fr Allergol Immunol Clin*, **2007** ; 47 : 232-236.
- [48] : K. Kejlova, D. Jirova, H. Bendova, H. Kandarova, Z. Weidenhoffer, H. Kolarova, M. Liebsch, Phototoxicity of bergamot oil assessed by in vitro techniques in combination with human patch test, *Toxicol in Vitro*, **2007** ; 21 : 1298-1303.
- [49] : K. Shimoda, Mechanisms of quinolone phototoxicity, *Toxicol Lett*, **1998** : 102-103 : 369-373.
- [50] : J.L. Bourrain, P. Amblard, Les photoallergies, *Rev Fr Allergol Immunol Clin*, **1997** ; 37 (5) : 661-667.
- [51] : J.C. Beani, Les photoallergies graves, *Rev Fr Allergol Immunol Clin*, **2008** ; 48 : 325-330.
- [52] : Y. Tokura, Y. Iwamoto, K. Mizutani, M. Takigawa, Sparfloxacin phototoxicity : potential photoaugmentation by ultraviolet A and B sources, *Arch Dermatol*, **1996** ; 288 : 45-50.
- [53] : C. Durieu, M.C. Marguery, F. Giordano-Labadie, F. Journe, F. Loche, J. Bazex, Allergie de contact photoaggravée et allergie de contact au kétoprofen : 19 cas, *Ann Dermatol Venerol*, **2001** ; 128 : 1020-1024.
- [54] : M. Jeanmougin, J.R. Manciet, A. Pons-Guiraud, G. Laine, L. Dubertret, Allergies et photoallergies de contact aux photoprotecteurs externes-Etudes sur six années, *Nouv Dermatol*, **1994** ; 13 : 372-378.

- [55] : **P.-E. Stoebner, L. Meunier**, Photo-*vieillesse* du visage, *Ann Dermatol Venereol*, **2008** ; 135 : 1S21-1S26.
- [56] : **C.K. Huang, T.A. Miller**, The truth about over-the-counter topical anti-aging products : a comprehensive review, *Aesthetic Surg J*, **2007** ; 27 (4) : 402-412.
- [57] : **M. Ramos-E-Silva, S.C. Da Silva Carneiro**, Cosmetics for the Elderly, *Clin Dermatol*, **2001** ; 19 : 413-423.
- [58] : **S. Monestier, C. Gaudy, J. Gouvernet, M.A. Richard, J.J. Grob**, Multiple senile lentigos of the face, a skin ageing pattern resulting from a life excess of intermittent sun exposure in dark-skinned Caucasians : a case-control study, *Br J Dermatol*, **2006** ; 154 : 438-444.
- [59] : **H. Nagashima, K. Hanada, I. Hashimoto**, Correlation of skin phototype with facial wrinkle formation, *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, **1999** ; 15 : 2-6.
- [60] : **S.S. Shapiro, C. Saliou**, Role of vitamins in skin care, *Nutrition*, **2001** ; 17 : 839-844.
- [61] : **S. Boisnic, M.-C. Branchet**, Vieillesse cutané environnemental, *EMC-Dermatologie Cosmétique*, **2005** ; 2 : 242-247.
- [62] : **R.P. Kane**, Is ozone depletion really recovering ?, *J Atmos Solar-Terrest Phys*, **2008** ; 70 : 1455-1459.
- [63] : **E. de Vries, J.W. Coebergh**, Cutaneous malignant melanoma in Europe, *Eur J Cancer*, **2004** ; 40 (16) : 2355-2366.
- [64] : **A.L. Wright, G.C. Hart, S.C. Peirce**, Clothing protection factor for a replica England football shirt, *Lancet*, **1998** ; 351 : 1706.
- [65] : ARPANSA, Australie.
- [66] : **AS/NZS 4399**, Sun Protective Clothing-Evaluation and Classification, **1996**.
- [67] : **PR NF EN 13758/A1**, Textiles. Propriétés de protection contre la rayonnement UV solaire. - *Partie 1 : méthodes d'essai pour étoffes destinées à l'habillement (indice de classement : G07-198-1/A1PR)*. - *Partie 2 : classification et marquage de l'habillement (indice de classement : G07-198-2/A1PR)*.
- [68] : **S.C. Thompson, D. Jolley, R. Marks**, Reduction of solar keratoses by regular sunscreen use, *N Engl J Med*, **1993** ; 329 : 1147-1151.
- [69] : **A. Green, R. Neale, D. Battistutta**, Daily sunscreen application and betacarotene supplementation in prevention of basal-cell and squamous-cell carcinomas of the skin : a randomized controlled trial, *JAMA*, **2000** ; 283 : 2955-2960.
- [70] : **T.K. Lee, T.K. Rivers, R.P. Gallagher**, Site-specific protective effect of broad-spectrum sunscreen on nevus development among white schoolchildren in a randomized trial, *J Am Acad Dermatol*, **2005** ; 52 : 786-792.
- [71] : **L.K. Roberts, D.G. Beasley, D.B. Learn, L.D. Gibbens, J. Beard, J.W. Stanfield**, Ultraviolet spectral energy differences affect the ability of sunscreen lotions to prevent ultraviolet-radiation-induced immunosuppression, *Photochem Photobiol*, **1996** ; 63 : 874-884.

- [72] : **L.K. Dennis, L.E. Beane Freeman, M.J. VanBeek**, Sunscreen use and the risk for melanoma : a quantitative review, *Ann Intern Med*, **2003** ; 139 :966-978.
- [73] : **Directive du conseil de l'UE (76/768/CEE)**, List of the permitted UV filters which cosmetics products may contain, *Annexe VII*, **2005** ; 011.002 : 102-104.
- [74] : **Department of Health and Human Services FDA**, Sunscreen drug products for over the counter use : final monograph, *Fed Reg*, **1999** ; 64 : 27666-27693.
- [75] : **Therapeutic Goods Administration**, Australian regulatory guidelines for OTC medicines (ARGOM), <http://tga.gov.au/docs/html/argom.htm>.
- [76] : **H. Moseley, H. Cameron, T. MacLeod, C. Clark, R. Dawe, J. Ferguson**, New sunscreens confer improved protection for the photosensitive patients in the blue light region, *Br J Dermatol*, **2001** ; 145 : 789-794.
- [77] : **R.G. Van der Molen, H.M. Hurks, C. Out-Luiting**, Efficacy of micronized titanium dioxide-containing compounds in protection against UVB induced immunosuppression in human in vivo, *J Photochem Photobiol B*, **1998** ; 44 : 143-150.
- [78] : **J.F. Nash**, Human safety and efficacy of ultraviolet filters and sunscreen products, *Dermatol Clin*, **2006** ; 20 : 301-307.
- [79] : **S.R. Pinnell, D. Fairhurst, R. Gillies, M.A. Mitchnick, N. Kolas**, Microfine zinc oxide is a superior sunscreen ingredient to microfine titanium dioxide, *Dermatol Surg*, **2000** ; 26 : 309-314.
- [80] : **T. Maier, H.C. Korting**, Sunscreens – Which and what for ?, *Skin Pharmacol Physiol*, **2005** ; 18 : 253-262.
- [81] : **S.G. Pellatt**, Prevention of skin cancer, *Highlights in Oncology Practice*, **1999** ; 17(1) : 3-10.
- [82] : **N.J. Lowe, N.A. Shaath, M.A. Pathak**, Sunscreens : development, evaluation and regulatory aspect, second edition, *Marcel Dekker*, **1997**.
- [83] : **D. Lutz**, Photostabilité des filtres et des préparations solaires, *Laboratoire Helioscience*.
- [84] : **V. Vanquerp, C. Rodriguez, C. Coiffard, L.J.M. Coiffard, Y. De Roeck-Holtzhauer**, High-performance liquid chromatographic method for the comparison of the photostability of five sunscreen agents, *J Chromatogr A*, **1999** ; 832 : 273-277.
- [85] : **N. Tarras-Wahlberg, G. Stenhagen, O. Larkö, A. Rosén, A-M. Wennberg, O. Wennerström**, Changes in ultraviolet absorption of sunscreens after ultraviolet irradiation, *J Invest Dermatol*, **1999** ; 113 : 547-553.
- [86] : **N.M. Roscher, M.K.O. Lindemann, S.B. Kong, C.G. Cho, P. Jiang**, Photodecomposition of several compounds commonly used as sunscreen agent, *J Photochem Photobiol A*, **1994** ; 80 (1-3) : 417-421.
- [87] : **A. Balaguer, A. Chisvert, A. Salvador, M. Herraes, O. Diez**, A solid-phase extraction and size-exclusion liquid chromatographic method for polyethylene glycol 25 p-aminobenzoic acid determination in urine : Validation for urinary excretion studies of users of sunscreens, *Anal Chim Acta*, **2008** ; 611 : 220-225.

- [88] : **M.O. Masse, C. Delporte, E. Bervelt**, Identification de filtres solaires dérivés de l'acide para-aminobenzoïque par spectroscopie RMN et par CPG/SM, *Int J Cosmet Sci*, **2001** ; 23 (5) : 259-279.
- [89] : **P. Perugini, S. Simeoni, S. Scalia, I. Genta, T. Modena, B. Conti, F. Pavanetto**, Effect of nanoparticle encapsulation on the photostability of the sunscreen agent, 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate, *Int J Pharm*, **2002** ; 246 : 37-35.
- [90] : **E. Chatelain, B. Gabard**, Photostabilisation of butyl methoxydibenzoylmethane (Avobenzon) and Ethylhexyl methoxycinnamate by Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine (Tinosorb S), a new broadband filter, *Photochem Photobiol*, **2001** ; 74 (3) : 401-406.
- [91] : **J.K. Broadbent, B.S. Martincigh, M.W. Raynor, L.F. Salter, R. Moulder, P. Sjöberg, K.E. Markides**, Capillary supercritical fluid chromatography combined with atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry for the investigation of photoproduct formation in the sunscreen absorber 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate, *J Chromatogr A*, **1996** ; 732 : 101-110.
- [92] : **L.R. Gaspar, P.M.B.G. Maia Campos**, Evaluation of the photostability of different UV filter combinations in a sunscreen, *Int J Pharm*, **2006** ; 307 : 123-128.
- [93] : **Z.M.F. de Freitas, E.P. dos Santos, J.F. da Rocha, G.M. Dellamora-Ortiz, J.C.S. Gonçalves**, A new sunscreen of the cinnamate class : Synthesis and enzymatic hydrolysis of glyceryl esters of p-methoxycinnamic acid, *Eur J Pharm Sci*, **2005** ; 25 : 67-72.
- [94] : **Z.M.F. de Freitas, E.P. dos Santos, A. Verganini, J.C.S. Gonçalves**, Glyceridic esters of p-methoxycinnamic acid. A new sunscreen of the cinnamate class, *Int J Cosmet Sci*, **2001** ; 23 : 147-152.
- [95] : **Z.M.F. de Freitas, E.P. dos Santos, G.M. Dellamora-Ortiz, J.C.S. Gonçalves, P.A. Machado**, Evaluation of phototoxicity of sunscreens : 1,2,3-propanetriol-1,3-dipalmitoyl-2-p-methoxycinnamoyl and 1,2,3-propanetriol-1,3-dioctanoyl-2-p-methoxycinnamoyl, *STP Pharma Sci*, **2000** ; 10 (3) : 239-242.
- [96] : **Ph. Maillan**, Photoprotection artificielle avec des agents filtrant chimiques, « *soleil, peau et cosmétologie* », **8 Octobre 2004**, Montpellier.
- [97] : **J-L. Peyron**, Toxicité des photoprotecteurs externes, *Service de dermatologie de Montpellier*.
- [98] : **V. Sarveiya, S. Risk, H.A.E. Benson**, Liquid chromatographic assay for common sunscreen agents : application to in vivo assessment of skin penetration and systemic absorption in human volunteers, *J Chromatogr B*, **2004** ; 803 : 225-231.
- [99] : **C.G. Smyrniotakis, H.A. Archontaki**, Development and validation of a non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of four chemical UV filters in sun care formulations, *J Chromatogr A*, **2004** ; 1031 : 319-324.
- [100] : **V. Vanquerp, C. Rodriguez, C. Coiffard, L.J.M. Coiffard, Y. De Roeck-Holtzhauer**, High-performance liquid chromatographic method for the comparison of the photostability of five sunscreen agents, *J Chromatogr A*, **1999** ; 832 : 273-277.

- [101] : **P.Y. Kunz, H.F. Galicia, K. Fent**, Assessment of hormonal activity of U filters in tadpoles of frog *Xenopus laevis* at environmental concentration, *Mar Environ Res*, **2004** ; 58 : 431-435.
- [102] : **T. Soeborg, N-C. Ganderup, J.K. Kristensen, P. Bjerregaard, K.L. Pedersen, P. Bollen, S.H. Hansen, B. Halling-Sorensen**, Distribution of the UV filter 3-benzylidene camphor in rat following topical application, *J Chromatogr B*, **2006** ; 834 : 117-121.
- [103] : **M. Schlumpf, B. Cotton, M. Conscience, V. Haller, B. Steinmann, W. Lichtensteiger**, In vitro and in vivo estrogenicity of UV screens, *Environ Health Perspect*, **2001** ; 109 (3) : 239-244.
- [104] : **M. Schlumpf, P. Schmid, S. Durrer, M. Conscience, K. Maerkel, M. Henseler, M. Gruetter, I. Herzog, S. Reolon, R. Ceccateli, O. Faass, E. Stutz, H. Jarry, W. Wuttke, W. Lichtensteiger**, Endocrine activity and developmental toxicity of cosmetic UV filters-an update, *Toxicology*, **2004** ; 205 : 113-122.
- [105] : **K.U. Schallreuter, J.M. Wood, D.W. Farwell, J. Moore, H.G.M. Edwards**, Oxybenzone oxidation following solar irradiation of skin : Photoprotection versus antioxidant inactivation, *J Invest Dermatol*, **1996** ; 106 : 583-586.
- [106] : **A. Beeby, A.E. Jones**, The photophysical properties of menthyl anthralinate : a UV-A sunscreens, *Photochem Photobiol*, **2000** ; 72 (1) : 10-15.
- [107] : **H. Gonzalez Gustavsson, A. Farbrot, O. Larkö**, Percutaneous absorption of benzophenone-3, a common component of topical sunscreens, *Clin Exp Dermatol*, **2002** ; 27 : 691-694.
- [108] : **T. Maier, H.C. Korting**, Sunscreens – Which and what for ?, *Skin Pharmacol Physiol*, **2005** ; 18 : 253-262.
- [109] : **V. Sarveiya, S. Risk, H.A.E Benson**, Liquid chromatographic assay for common sunscreen agents : application to in vivo assessment of skin penetration and systemic absorption in human volunteers, *J Chromatogr B*, **2004** ; 803 : 225-231.
- [110] : **H-E. Jeon, S. Nath Sarma, Y-J. Kim, J-C. Ryu**, Toxicokinetics and metabolisms of benzophenone-type UV filters in rats, *Toxicology*, **2008** ; 248 : 89-95.
- [111] : **BASF**, Uvinul® grades, *Technical Information*, **1995**.
- [112] : **L. Warwick, M.D. Morison**, Photosensitivity, *N Engl J Med*, **2004** ; 350 (11) : 1111-1117.
- [113] : **M. Dubois, P. Gilard, P. Tiercet, A. Deflandre, M.A. Levebvre (L'OREAL)**, Photoisomerisation of the sunscreen PARSOL © 1789, *Journal de Chimie Physique et de Physico-chimie Biologique*, **1998** ; 95 (2) : 388-394.
- [114] : **D. Moyal**, Prevention of ultraviolet-induced skin pigmentation, *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, **2004** ; 20 (5) : 243-247.
- [115] : **R.P. Stockes, B.L. Diffey**, The feasibility of using fluorescence spectroscopy as a rapid, non invasive method for evaluating sunscreen performance, *J Photochem Photobiol B*, **1999** ; 50 : 137-143.

- [116] : **K. Junko**, New raw materials and technologies for cosmetics. Function and development of a new UVA absorber, *Fragr J*, **2002** ; 30 (6) ; 139-144.
- [117] : **Symrise**, *UV protection. Neo Heliopan[®] AP No. 106796, Effective UVA absorber*, **2005**.
- [118] : **S. Séite, D. Moyal, S. Richard, J. de Rigal, J.L. Lévêque, C. Hourseau, A. Fourtanier**, Mexoryl SX : a broad absorption UVA filter protects human skin from the effects of repeated suberythemal doses of UVA, *J Photochem Photobiol B*, **1998** ; 44 : 69-76.
- [119] : **C. Tunchinda, H.W. Lim, U. Osterwalder, A. Rougier**, Novel emerging sunscreen technologies, *Dermatol Clin*, **2006** ; 24 (1) : 105-117.
- [120] : **A. Fourtanier**, Mexoryl SX protects against solar-stimulated UVR-induced photocarcinogenesis in mice. *Photochem Photobiol*, **1996** ; 64 : 688-93.
- [121] : **P. Krien, D. Moyal, A. Rougier**, Photoprotection against the trans to cis-urocanic acid photoconversion in human skin using a highly protective broad spectrum sunscreen, *Posters-Photodermatology Day*, **1998** ; P571.
- [122] : **F. Benech-Kieffer, W.J.A. Meuling, C. Leclerc, L. Roza, J. Leclaire, G. Nohynek**, Percutaneous absorption of Mexoryl SX in human volunteers : Comparison with in vitro data, *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*, **2003** ; 16 : 343-355.
- [123] : **J. Lamoureux, A. Dionne**, Les filtres solaires, *Québec Pharm*, **2000** ; 47(10) : 830-837.
- [124] : **L'Oreal Australia**, Phenol, 2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-methyl-6-[2-methyl-3-{1,3,3,3-tetramethyl-1-[(trimethylsilyl)oxy]disiloxanyl}propyl] ; National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme, *Full Public Report*, **2004**.
- [125] : **J. Ashby, H. Tinwell, J. Plautz, K. Twomey, P.A. Lefevre**, Lack of binding to isolate estrogen and androgen receptors, and inactivity in the immature rat uterotrophic assay, of the ultraviolet sunscreen filters Tinosorb M-active and Tinosorb S, *Regul Toxicol Pharmacol*, **2001** ; 34 : 287-291.
- [126] : **E. Chatelain, B. Gabard**, Photostabilization of butyl methoxydibenzoylmethane (Avobenzon) and ethylhexyl methoxycinnamate by bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyltriazine (Tinosorb S), a new UV broadband filter, *Photochem Photobiol*, **2001** ; 74 : 401-406.
- [127] : **J. Ashby, H. Tinwell, J. Plautz, K. Twomey, P.A. Lefevre**, Lack of binding to isolated estrogen or androgen receptors, and inactivity in the immature rat uterotrophic assay, of the ultraviolet sunscreen filters Tinosorb M-active and Tinosorb S, *Regul Toxicol Pharmacol*, **2001** ; 34 : 287-291.
- [128] : **H. Maier, G. Schauburger, K. Brunnhofer, H. Hönigsmann**, Change of ultraviolet absorbance of sunscreens by exposure to solar-stimulated radiation, *J Invest Dermatol*, **2001** ; 117 : 256-262.
- [129] : **AFSSAPS**, Produits cosmétiques de protection solaire, Rapport de synthèse élaboré par le groupe de réflexion de l'AFSSAPS sur les produits de protection solaire, **2006**.
- [130] : **F. Urbach**, The historical aspects of sunscreens, *J Photochem Photobiol B*, **2001** ; 64 : 99-104.

- [131] : **J. Westerdahl, C. Ingvar, A. Masback, H. Olsson**, Sunscreen use and malignant melanoma, *Int J Cancer*, **2000** ; 87 : 145-150.
- [132] : **J-Y. Lin, M.A. Selim, C.R. Shea, J.M. Grichnik, M.M. Omar, N.A. Monteiro-Riviere, S.R. Pinnell**, UV photoprotection by combination topical antioxydants vitamin C and vitamin E, *J Am Acad Dermatol*, **2003** ; 48 (6) : 866-874.
- [133] : **R.L. Bronaugh, H.I. Maibach**, Topical absorption of dermatological products, *Marcel Dekker*, **2002**.
- [134] : **K.A. Walters, K.R. Brain, D. Howes, V.J. James, A.L. Kraus, N.L. Teetsel, M. Toulon, A.C. Watkinson, S.D. Gettings**, Percutaneous penetration of octyl salicylate from representative sunscreen formulations through human skin in vitro, *Food Chem Toxicol*, **1997** ; 35 : 1219-1225.
- [135] : **C. Xu, A. Green, A. Parisi, P.G. Parsons**, Photosensitization of the sunscreen octyl p-dimethylaminobenzoate by UVA in human melanocytes but not in kératinocytes, *Photochem Photobiol*, **2001** ; 73 (6) : 600-604.
- [136] : **R. Ma, B. Cotton, W. Lichtensteiger, M. Schlumpf**, UV filters with antagonistic action at androgen receptors in the MDA-kb2 cell transcriptional-activation assay, *Toxicology*, **2003** ; 74 : 43-50.
- [137] : **H.M. Bolt, C. Guhe, G.H. Degen**, Comments on “In vitro and in vivo of UV screens”, *Environ Health Perspect*, **2001** ; 109 (8) : A358-A361.
- [138] : **P.Y. Kunz, K. Fent**, Multiple hormonal activities of UV filters and comparison of in vivo and in vitro estrogenic activity of ethyl-4-aminobenzoate in fish, *Aquat Toxicol*, **2006** ; 79 : 305-324.
- [139] : **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*, **2004** ; 55 : 951-963.
- [140] : **P. Foley, R. Nixon, R. Marks**, The frequency of reactions to sunscreens : results of a longitudinal population-based study on the regular use of sunscreens in Australia. *Br. J. Dermatol*, **1993** ; 128 : 512-518.
- [141] : Industry initiatives on sun protection, History of Colipa’s leading role in sun protection, **2008**.
- [142] : Australian/New Zealand Standard : Sunscreen products – Evaluation and classification, *AS/NZS 2604*, **1998**.
- [143] : **Department of Health and Human Services, FDA, USA**: Sunscreen drug products for over-the-counter human use. Final Monograph. Federal Register. 64/98, 276866-27693, May 21, 1999 (provisional).
- [144] : **H.C. Wulf, I.M. Stender, J. Lock-Anderson**, Sunscreens used at the beach do not protect against erythema : a new definition of SPF is proposed. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, **1997** ; 13 : 129-132.
- [145] : **E.M. Gil, T.H. Kim**, UV-induced immune suppression and sunscreen. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, **2000** ; 16 : 101-110.

- [146] : **H.N. Ananthaswamy, S.M. Loughlin, S.E. Ullrich, M.L. Kripke**, Inhibition of UV-induced p53 mutations by sunscreens : implications for skin cancer prevention, *J Invest Dermatol Symp Proc*, **1998** ; 3 : 52-56.
- [147] : **B.L. Diffey, J. Robson**, A new substrate to measure sunscreen protection factors throughout the ultraviolet spectrum, *J Soc Cosmet Chem*, **1989** ; 40 : 127-133.
- [148] : **AFSSAPS**, Recommandations européennes, Mise à jour portant sur les conditions d'étiquetage des produits solaires, **23 Janvier 2007**.
- [149] : **Labsphere**, AQ-00225-300, Rev. 9 UV-1000S, **2004**.
- [150] : **COLIPA** : Method for the *in vitro* Determination of UVA Protection Provided by Sunscreen Products, **2007a**.
- [151] : **C. Couteau, M. Pommier, E. Papisaris, L.J.M. Coiffard**, Study of the efficacy of 18 sun filters authorized in European Union tested *in vitro*, *Pharmazie*, **2007** ; 62 : 449-452.
- [152] : **L. Ferrero, M. Pissavini, S. Marguerie, L. Zastrow**, Efficiency of a continuous height distribution model of sunscreen film geometry to predict a realistic sun protection factor, *J Cosmet Sci*, **2003** ; 54 (5) : 463-465.
- [153] : European Commission Recommendation on the efficacy of sunscreen products and the claims made relating thereto, *OJ L 265/39*, **2006**.
- [154] : **M.F. Naylor, K.C. Farmer**, The case for sunscreens : a review of their use in preventing actinic damage and neoplasia, *Arch Dermatol*, **1997** ; 133 : 1146-1154.
- [155] : **M.F. Naylor, A. Boyd, D.W. Smith, G.S. Cameron, D. Hubbard, K.H. Neldner**, High SPF sunscreens in the suppression of actinic neoplasia, *Arch Dermatol* **1995** ; 131 : 170-175.
- [156] : **A. Green, G. Williams, R. Neale, V. Hart, D. Leslie, P. Parsons, G.C. Marks, P. Gaffney, D. Battistutta, C. Frost, C. Lang, A. Russell**, Daily sunscreen application and betacarotene supplementation in prevention of basal cell and squamous cell carcinoma of the skin : a randomised control trial, *Lancet*, **1999** ; 354 : 723-729.
- [157] : **A. Kricger, B.K. Armstrong, D.R. English, P.J. Heenan**, Does intermittent sun exposure cause basal cell carcinoma ? A case-control study in Western Australia, *Int J Cancer*, **1995** ; 60 : 489-494.
- [158] : **G. Severi, M.S. Cattaruzza, L. Baglietto, M. Boniol, J-F. Doré, A.R. Grivegnée, P. Autier**, Sun exposure and sun protection in young European children : an EORTC multicentric study, *Eur J Cancer*, **2002** ; 38 (6) : 820-826.
- [159] : **R.P. Gallagher, J.K. Rivers, T.K. Lee, C.D. Bajdik, D.I. McLean, A.J. Coldman**, Broad-spectrum sunscreen use and the development of new nevi in white children : a randomised controlled trial, *J Am Med Assoc*, **2000** ; 283 (22) : 2955-2960.
- [160] : **P. Autier, J.F. Dore, A.C. Reis**, Sunscreen use and intentional exposure to ultraviolet A and B radiation : A double blind randomized trial using personal dosimeters, *Br J Cancer*, **2000** ; 83 : 1243-1248.

- [161] : **E. Thieden, P.A. Philipsen, J. Sandby-Moller, H.C. Wulf**, Sunscreen use related to UV exposure, age, sex and occupation based on personal dosimeters readings and sun-exposure behavior diaries, *Arch Dermatol*, **2005** ; 141 : 967-973.
- [162] : **A.S. Boyd, M. Taylor, G.S. Cameron, A.D. Pearse, S.A. Gaskell, K.H. Neldner**, The effects of chronic sunscreen use on the histologic changes of dermatoheliosis, *J Am Acad Dermatol*, **1995** ; 33 : 941-946.
- [163] : **C. Couteau, A. Faure, J. Fortin, E. Paparis, L.J.M. Coiffard**, Study of the photostability of 18 sunscreens in creams by measuring the SPF *in vitro*, *J Pharm Biomed Anal*, **2007** ; 44 : 270-273.
- [164] : **Labsphere**, A discussion of optical geometry and measurement effects using the Labsphere UV-1000S Ultraviolet Transmittance Analyser, *Technical note*, **1998**.
- [165] : **B. Choquenot, C. Couteau, E. Paparis, L.J.M. Coiffard**, Adaptation of the protocol for determining *in vitro* the sun protection factor of anti-solar sticks, *Int J Cosmet Sci*, **2008** ; 30 : 361-365.
- [166] : **Colipa Guidelines**, Guidelines for evaluating sun product water resistance, **2005**.
- [167] : **B. Choquenot, C. Couteau, E. Paparis, L.J.M. Coiffard**, Development of an *in vitro* test to determine the water-resistance of sunscreens, *Pharmazie*, **2008** ; 63 (7) : 525-527.
- [168] : **D.C. Steinberg**, Global regulation of sunscreens, *IFSCC magazine*, **2007** ; 10 (1) : 5-6.
- [169] : **B.G. Swanson**, Tannins and polyphenols. *Encyclopedia of food and nutrition*, 2nd edition, *Academic Press*, **2003**, 5729-5733.
- [170] : **S.K. Katiyar**, UV-induced immune suppression and photocarcinogenesis : chemoprevention by dietary botanical agents, *Cancer Letters*, **2007** ; 255 : 1-11.
- [171] : **A. Wojdylo, J. Oszmianski, R. Czemerys**, Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, *Food Chemistry*, **2007** ; 105 : 940-949.
- [172] : **A.I. Rey, A. Hopia, R. Kivikari, M. Kahkonen**, Use of natural food/plant extracts : cloudberry (*Rubus Chamaemorus*), beetroot (*Beta Vulgaris* "Vulgaris") or willow herb (*Epilobium angustifolium*) to reduce lipid oxidation of cooked pork patties, *LWT*, **2005** ; 38 : 363-370.
- [173] : **I. Erlund**, Review of flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioactivities, bioavailability and epidemiology, *Nutrition Research*, **2004** ; 24 : 851-874.
- [174] : **M. Friedman, H.S. Jurgens**, Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2000** ; 48 : 2101-2110.
- [175] : **I. Gülcin**, Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid), *Toxicol*, **2006** ; 217 : 213-220.
- [176] : **M.R. Olthof, P.C.H. Hollman, M.B. Katan**, Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in human, *J Nutr*, **2001** ; 131 : 66-71

- [177] : **M-H. Kweon, H-J Hwang, H-C Sung**, Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*), *J Agric Food Chem*, **2001** ; 49 (10) : 4646-4655.
- [178] : **L.W. Morton, R.A.A. Caccettah, I.B. Puddey, K.D. Croft**, Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, **2000** ; 27 (3) : 152–159.
- [179] : **S.A.A. Jassim, M.A. Naji**, Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective, *Journal of Applied Microbiology*, **2003** ; 95 (3) : 412–427.
- [180] : **K.L. Johnston, M.N. Clifford, L.M. Morgan**, Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine, *Am J Clin Nutr*, **2003** ; 78 (4) : 728-733.
- [181] : **D. A. Vatter, K. Shetty**, Biological function of ellagic acid : a review, *Journal of Food Biochemistry*, **2005** ; 29 : 234–266.
- [182] : **E. Graf**, Antioxydant potential of ferulic acid, *Free Rad Bio Med*, **1992** ; 13 : 435-448.
- [183] : **F.H. Lin, J.Y. Lin, R.D. Gupta, J.A. Tournas, J.A. Burch, M.A. Selim, N.A. Monteiro-Riviere, J.M. Grichnik, J. Zielinski, S.R. Pinnell**, Ferulic acid stabilizes a solution of vitamins C and E and doubles its photoprotection of skin, *J Invest Dermatol*, **2005** ; 125 (4) : 826-832.
- [184] : **S. Mathew, T.E. Abraham**, Ferulic acid: an antioxidant found naturally in plant cell walls and feruloyl esterases involved in its release and their applications, *Crit Rev Biotechnol*, **2004** , 24 : 59-83.
- [185] : **B.S. Kaphalia, G.A. Ansari**, Fatty acid ethyl esters and ethanol-induced pancreatitis, *Cell Mol Biol*, **2001** ; 47 : 28-31.
- [186] : **H. Kikuzaki, M. Hisamoto, K. Hirose, K. Akiyama, H. Taniguchi**, Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds, *J Agri Food Chem*, **2002** ; 50 : 2161-2168.
- [187] : **B. Choquenot, C. Couteau, E. Papis, L.J.M. Coiffard**, Interest of ferulic acid ethyl ester in photoprotective creams : Measure of efficacy by *in vitro* method, *Nat Prod Res*, **2008** ; 22 (16) : 1467-1471.
- [188] : **D.O. Kim, C.Y. Lee**, Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship, *Critical Review Food Science and Nutrition*, **2004** ; 44 (4) : 253-273.
- [189] : **B. Choquenot, C. Couteau, E. Papis, L.J.M. Coiffard**, Flavonoids and polyphenols, molecular families with sunscreen potential : determining effectiveness with an *in vitro* method, *Nat Prod Comm*, **2008** ; 4 (2) : 227-230.
- [190] : **B. Choquenot, C. Couteau, E. Papis, L.J.M. Coiffard**, Quercetin and rutin as potential sunscreen agents : determination of efficacy by an *in vitro* method, *J Nat Prod*, **2008** ; 71 (6) : 1117-1118.

Listes des figures

Figure 1: Spectre électromagnétique du soleil.....	8
Figure 2 : Rayonnement solaire à la surface terrestre	10
Figure 3 : Variation du flux des UVA et des UVB aux différentes heures de la journée un 21 Juin (50° Nord de latitude).....	11
Figure 4 : Structure schématique de la peau	12
Figure 5 : Structure de l'épiderme	13
Figure 6 : Unité épidermique de mélanisation.....	14
Figure 7 : Du mélanocyte au kératinocyte.....	14
Figure 9 : Migration des mélanocytes.....	17
Figure 10 : Pénétration des rayonnements solaires en fonction de la longueur d'onde	19
Figure 11 : Les vitamines D ₂ et D ₃	20
Figure 12 : Formation de la vitamine D ₃ à partir du cholestérol.....	21
Figure 14 : Structure de la mélatonine	23
Figure 15 : Différentes manifestations du psoriasis.....	24
Figure 16 : Manifestations cutanées du lupus érythémateux	25
Figure 17 : Exemple d'érythème actinique.....	26
Figure 19 : Carcinome basocellulaire pagétoïde	30
Figure 20 : Carcinome spinocellulaire.....	30
Figure 21 : Mélanome malin	31
Figure 22 : Structure chimique de l'acide urocanique	32
Figure 23 : Exemple de réaction phototoxique à la bergamote	33
Figure 24 : Structure du 8-méthoxy-psoralène.....	33
Figure 25 : Photoallergie de contact	34
Figure 26 : Lucite estivale bénigne	35
Figure 27 : Rides, lentigos actiniques et kératoses séborrhéiques.....	37
Figure 28 : Exemple de nuque rhomboïdale.....	37
Figure 29 : Structure des vitamines C et E (α -tocophérol).....	38
Figure 30 : Logo proposé par l'ARPANSA pour indiquer l'UPF d'un vêtement.....	41
Figure 33 : Formation d'un peroxyde par réaction d'un radical avec de l'oxygène.....	48
Figure 34 : Formation d'un oxygène singulet.....	48
Figure 35 : Formule générale des dérivés du PABA, avec R ₁ , R ₂ et R ₃ = H dans le cas du PABA	48
Figure 36 : Formule semi-développée du Padimate O	49
Figure 37 : Structure chimique du 2-éthylhexyl 4-méthylaminobenzoate et du 4-formylméthylamino benzoate	50
Figure 38 : Structure chimique du PEG-25 PABA	50
Figure 39 : Structure chimique du trans-OMC ou octinoxate	51
Figure 40 : Photoisomérisation cis-trans de l'octinoxate.....	52
Figure 41 : Structure chimique du cinoxate	53

Figure 43 : Structure chimique du salicylate de TEA	54
Figure 44 : Structure de l'octocrylène	55
Figure 45 : Structure chimique de l'ensulizole	55
Figure 46 : Structure chimique du 4-méthylbenzylidène camphre.....	56
Figure 47 : Structure chimique du 3-benzylidène camphre.....	57
Figure 48 : Structure de l'éthylhexyle triazone et du diéthylhexyle butamido triazone.....	58
Figure 49 : Structure chimique du polysilicone-15.....	59
Figure 50 : Structure chimique de l'oxybenzone.....	60
Figure 51 : Photoréaction de l'oxybenzone	61
Figure 52 : Photoxydation de l'oxybenzone, suivie de l'addition de Michael sur les groupes thiolates de molécules épidermiques	61
Figure 53 : Structures chimiques des benzophénones-4 et 5	62
Figure 54 : Structure chimique des benzophénone-8 et -9	63
Figure 55 : Structure chimique de l'avobenzone.....	63
Figure 56 : Photoréaction de l'avobenzone	64
Figure 57 : Formation d'un complexe coloré entre deux molécules d'avobenzone et un métal de transition. M = Fe ²⁺ , Zn ²⁺	65
Figure 58 : Structure de l'antranilate de menthyle.....	66
Figure 59 : Structure chimique du diéthylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate.....	67
Figure 60 : Structure chimique du disodium phényl dibenzimidazole tétrasulfonate	68
Figure 61 : Structure chimique du Mexoryl SX [®]	69
Figure 62 : Structure du Mexoryl XL [®]	70
Figure 63 : Structure du Tinosorb M [®]	71
Figure 64 : Structure chimique du Tinosorb S [®]	71
Figure 65 : Différentes voies de passage transcutanée	76
Figure 66 : Schéma de la cellule de Franz modifiée par J.P. Marty	77
Figure 68 : Protocole de mesure du SPF <i>in vivo</i>	84
Figure 69 : Courbe d'efficacité érythématogène selon le CIE, les radiations globales mesurées à Davos, et leur produit ; selon Schulze	85
Figure 70 : Courbes de transmittance obtenues pour les trois plaques (8 % d'HMS)	92
Figure 71 : Logo du COLIPA traduisant le caractère protecteur.....	94
Figure 72 : Coups de soleil après un étalement inhomogène d'un produit solaire.....	97
Figure 73 : Réalisation d'une émulsion antisolaires	102
Figure 75 : Dépôt et étalement du produit sur la plaque de PMMA.....	105
Figure 76 : Différentes phases de l'étalement du produit	105
Figure 77 : Localisation des points de mesure sur la plaque	106
Figure 78 : Spectrophotomètre à sphère d'intégration	106
Figure 80 : Composants internes et externes de la tête d'optique	108
Figure 81 : Simulateur solaire Suntest CPS+	109
Figure 82 : Protocole de fabrication des sticks solaires.....	111

Figure 83 : SPF et FP-UVA des sticks du commerce testés (masse résiduelle = 15 mg)	113
Figure 84 : SPF et FP-UVA des sticks du commerce testés (masse résiduelle = 20 mg)	114
Figure 85 : SPF et FP-UVA des sticks du commerce testés (masse résiduelle = 25 mg)	115
Figure 86 : SPF et FP-UVA des sticks du commerce testés (masse résiduelle = 30 mg)	115
Figure 87 : Evolution du SPF en fonction de la masse résiduelle pour les sticks du commerce testés	117
Figure 88 : Résultats obtenus avec une masse résiduelle de 15 mg de stick ou d'émulsion formulés à base d'homosalate, d'isoamyl p-méthoxycinnamate, d'octyl méthoxycinnamate et de diéthylhexyl butamidotriazone.....	119
Figure 89 : Protocole de fabrication des poudres solaires.....	121
Figure 90 : Courbe SPF = f (masse résiduelle) dans le cas des poudres.....	124
Figure 91 : SPF et FP-UVA des poudres du commerce testées (masse résiduelle = 12,5 mg).....	125
Figure 92 : SPF et FP-UVA des poudres du commerce testées (masse résiduelle = 15 mg).....	126
Figure 93 : Système expérimental de détermination <i>in vitro</i> de la résistance à l'eau d'un produit solaire	129
Figure 94 : SPF et FP-UVA du standard COLIPA contenant des filtres lipo ou hydrosolubles	134
Figure 95 : Evolution du SPF des produits du commerce testés avant et après immersion	136
Figure 96 : Evolution du FP-UVA des produits du commerce testés avant et après immersion	136
Figure 98 : Viscosimètre DV-II+ et pHmètre pH/Cond 340i.....	141
Figure 99 : Evolution de la viscosité des émulsions au cours de l'étuvage à 50°C pendant un mois	142
Figure 100 : Evolution du SPF des émulsions 1, 2, 3, 4 et 5 au cours d'une période d'un mois d'étuvage	143
Figure 101 : Evolution du SPF des émulsions 6, 7, 8, 9 et 10 au cours d'une période d'un mois d'étuvage	144
Figure 102 : Evolution du FP-UVA des émulsions 1, 2, 3, 4 et 5 au cours d'une période d'un mois d'étuvage.....	146
Figure 103 : Evolution du FP-UVA des émulsions 6, 7, 8, 9 et 10 au cours d'une période d'un mois d'étuvage.....	146
Figure 104 : Photostabilité dans le domaine UVB des 10 émulsions sélectionnées	149
Figure 105 : Photostabilité dans le domaine UVA des 10 émulsions sélectionnées	150
Figure 106 : Spectrophotomètre à double faisceau, Hitachi UV-visible, U-2000	160
Figure 107 : Structure de l'acide caféïque.....	161
Figure 108 : Structure de l'acide chlorogénique	161
Figure 109 : Structure de l'éthyle p-méthoxycinnamate	162
Figure 110 : Structure de l'acide ellagique.....	162
Figure 111 : Influence de la concentration en extrait sur le SPF	162
Figure 112 : Influence de la concentration en extrait sur le FP-UVA.....	163
Figure 113 : Comparaison de la photostabilité dans le domaine UVB de différents extraits végétaux	164
Figure 114 : Comparaison de la photostabilité dans le domaine UVA de différents extraits végétaux	165
Figure 115 : Structure de l'acide férulique.....	166
Figure 116 : Comparaison des structures moléculaires de l'éthylférulate et de l'OMC.....	167
Figure 117 : Influence de la concentration en éthylférulate et en acide férulique sur le SPF	168
Figure 118 : Influence de la concentration en éthylférulate et en acide férulique sur le FP-UVA	169

Figure 119 : Photodégradation de l'éthylfêrulate.....	170
Figure 120 : Influence de la concentration en flavones, isoflavones et polyphénols sur le SPF	173
Figure 121 : Influence de la concentration en flavanones, flavonols et flavanonols sur le SPF	174
Figure 122 : Influence de la concentration en flavones, isoflavones et polyphénols sur le FP-UVA.....	175
Figure 123 : Influence de la concentration en flavanones, flavonols et flavanonols sur le FP-UVA.....	176
Figure 124 : Photostabilité des flavonoïdes et des polyphénols testés dans le domaine UVB	178
Figure 125 : Photostabilité des flavonoïdes et des polyphénols testés dans le domaine UVA	179
Figure 126 : Influence de la concentration en quercétine et en avobenzone sur le SPF et le FP-UVA.....	181
Figure 127 : Association de la rutine et de la quercétine avec du dioxyde de titane ou de l'oxyde de zinc	181

Liste des tableaux

Tableau 1: Les différents rayonnements du spectre électromagnétique solaire	9
Tableau 2 : Les différents phototypes selon Fitzpatrick, avec IPD : Immediate Pigment Darkening, pigmentation immédiate de la peau due aux UVA	18
Tableau 3 : Radiations ultraviolettes et effets sur la peau humaine	20
Tableau 4 : « L'abécédaire du mélanome » ou les cinq critères de diagnostic précoce	31
Tableau 5 : Phototoxicité et photoallergie	36
Tableau 6 : Facteurs modifiant la protection des vêtements vis-à-vis des UV	40
Tableau 7 : Catégories de protection des vêtements selon leurs UPF	41
Tableau 8 : Filtres UVB autorisés en Australie (Aus), dans l'Union Européenne (UE) et aux Etats-Unis (EU, monographie de la FDA)	43
Tableau 9 : Filtres UVA et inorganiques autorisés en Australie (Aus), dans l'Union Européenne (UE) et aux Etats-Unis (EU, monographie de la FDA)	44
Tableau 10 : Les différentes dénominations des dérivés du PABA	49
Tableau 11 : Les différentes dénominations des cinnamates	51
Tableau 12 : Les différentes dénominations de l'homosalate et de l'octyl salicylate	53
Tableau 13 : Les différentes dénominations de l'octocrylène	55
Tableau 14 : Les différentes dénominations de l'ensulizole	55
Tableau 15 : Les différentes dénominations du 4-méthylbenzylidène camphre	56
Tableau 16 : Les différentes dénominations de l'éthylhexyle triazone et du diéthylhexyle butamido triazone	58
Tableau 17 : Les différentes dénominations du polysilicone-15	58
Tableau 18 : Les différentes dénominations des benzophénones	60
Tableau 19 : Les différentes dénominations de l'avobenzone	63
Tableau 20 : Les différentes dénominations de l'antranilate de menthyle	66
Tableau 21 : Les différentes dénominations du diéthylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoate	67
Tableau 22 : Les différentes dénominations du disodium phényl dibenzimidazole tétrasulfonate	67
Tableau 23 : Les différentes dénominations des Méxoryl®	68
Tableau 24 : Les différentes dénominations des Tinosorb®	70
Tableau 25 : Tableau comparatif des avantages et inconvénients des filtres organiques et inorganiques ..	72
Tableau 26 : Activités hormonales de différents filtres organiques	80
Tableau 27 : Caractéristiques comparatives de l'irritation et de l'allergie	82
Tableau 28 : Classification de la protection UVA des produits solaires par le « Boots Star rating system »	89
Tableau 29 : Formule de l'émulsion de base L/H	90
Tableau 30 : SPF des émulsions à base d'homosalate, mesuré <i>in vivo</i>	91
Tableau 31 : Influence de la masse résiduelle de produit sur le SPF mesuré <i>in vitro</i>	91
Tableau 32 : Mesure de l'efficacité de produits du commerce	92
Tableau 33 : Récapitulatif des méthodes de mesures des indices de protection solaire	93

Tableau 34 : Comparaison des catégories d'étiquetage des produits solaire suivant le COLIPA ou la Commission Européenne	93
Tableau 35 : Recommandation européenne en matière d'étiquetage des produits solaires	94
Tableau 36 : Caractéristiques des filtres solaires employés	103
Tableau 37 : Fournisseurs des différents filtres solaires	104
Tableau 38 : Composition de la formule de base des sticks utilisée	110
Tableau 39 : Sticks antisolaires du commerce testés	112
Tableau 40 : Produits non conformes en termes de protection UVA	116
Tableau 41 : Produits conformes en termes de protection UVA	116
Tableau 42 : Comparaison des valeurs de SPF obtenues pour les émulsions et les sticks formulés au laboratoire à partir de filtres organiques	118
Tableau 43 : Comparaison des valeurs de SPF obtenues pour les émulsions et les sticks formulés au laboratoire à partir de filtres inorganiques	118
Tableau 44 : Formule de base des poudres compactes réalisées au laboratoire	120
Tableau 45 : Filtres incorporés dans les poudres formulées au laboratoire	122
Tableau 46 : Poudres commerciales testées.....	122
Tableau 47 : Influence de la masse résiduelle sur le SPF dans le cas des poudres.....	123
Tableau 48 : Comparaison des valeurs de SPF obtenues pour les émulsions et les poudres formulées au laboratoire (masse résiduelle de 12,5 mg).....	124
Tableau 49 : Indice de conformité des poudres du commerce testées.....	126
Tableau 50 : Composition du standard « Water resistant » proposé par le COLIPA.....	130
Tableau 51 : Filtres liposolubles ou hydrosolubles incorporés dans le standard « Water resistant » proposé par le COLIPA.....	131
Tableau 52 : Influence du mode d'immersion sur la détermination de la résistance à l'eau d'une crème solaire.....	132
Tableau 53 : Mise en œuvre du test de résistance à l'eau avec le standard COLIPA et le témoin négatif	133
Tableau 54 : Influence de la nature du filtre sur le caractère de résistance à l'eau de l'émulsion	134
Tableau 55 : Vérification de la condition d'acceptabilité de la mesure pour les produits du commerce ..	135
Tableau 56 : Détermination des indicateurs de conformité des produits du commerce testés avant et après immersion	137
Tableau 57 : Combinaisons de filtres employées pour la mise au point de standards	139
Tableau 58 : Caractéristiques des dioxydes de titane utilisés dans la formulation des standards à hauts SPF	140
Tableau 59 : Vitesses de rotation et modules de mesure utilisés pour la détermination de la viscosité relative	142
Tableau 60 : Evolution du pH des émulsions après étuvage à 50°C pendant un mois.....	143
Tableau 61 : Etude de l'efficacité dans l'UVB des formules après une période d'étuvage d'un mois.....	145
Tableau 62 : Variation de l'efficacité dans l'UVA des formules après une période d'étuvage d'un mois.	147
Tableau 63 : Evolution des critères de validité des 10 formules stables au cours de l'étuvage à 50°C	148
Tableau 64 : Evolution des critères de validité après irradiation des émulsions testées.....	151

Tableau 65 : Détermination du SPF et du FP-UVA des émulsions par un panel d'expérimentateurs.....	151
Tableau 66 : Détermination de la longueur d'onde critique et du ratio SPF/FP/UVA par un panel d'expérimentateurs	152
Tableau 67 : Les flavones testées	154
Tableau 68 : Les flavanones, flavanonols et flavonols testés	155
Tableau 69 : Les polyphénols et isoflavones testés	156
Tableau 70 : Occurrence des flavonoïdes dans les produits naturels.....	157
Tableau 71 : Concentration en molécules actives des extraits végétaux testés	158
Tableau 72 : Origine des molécules purifiées testées.....	158
Tableau 73 : Caractéristiques des filtres inorganiques utilisés en association avec la rutine et la quercétine	159
Tableau 74 : Capacité photoprotectrice des différents extraits végétaux testés.....	160
Tableau 75 : Evolution des critères de validité des extraits naturels après irradiation	165
Tableau 76 : Caractéristiques spectrophotométriques de l'éthylfêrulate et de différents cinnamates.....	167
Tableau 77 : Ratio SPF/FP-UVA et longueur d'onde critique de l'éthylfêrulate et de l'acide fêrulique ..	169
Tableau 78 : Détermination des $t_{50\%}$ et $t_{90\%}$ pour l'éthylfêrulate dans les domaines UVB et UVA	170
Tableau 79 : Photostabilité de l'acide fêrulique	171
Tableau 80 : Caractéristiques spectrophotométriques des flavonoïdes et des polyphénols testés	172
Tableau 81 : Longueurs d'onde critiques et SPF/FP-UVA obtenus avec les flavonoïdes et les polyphénols	177
Tableau 82 : Critères de validité des formules associant de la rutine et de la quercétine avec des filtres inorganiques.....	182
Tableau 83 : Capacités photoprotectrices des extraits lichéniques testés	183

MISE EN PLACE DE PROTOCOLES IN VITRO POUR LA DÉTERMINATION DE L'EFFICACITÉ DE PRODUITS SOLAIRES.
VALORISATION DE MOLÉCULES D'INTÉRÊT.

Les méthodes *in vivo* employées pour la détermination de l'efficacité des produits solaires peuvent poser un certain nombre de problèmes : elles sont contraignantes et coûteuses à mettre en place, et discutables d'un point de vue éthique. Mon travail expérimental a consisté à mettre au point des protocoles *in vitro* de détermination du Sun Protection Factor (SPF) et du Facteur de Protection UVA (FP-UVA) de produits solaires en vue du remplacement des protocoles *in vivo* existants. Deux méthodes ont ainsi été développées : d'une part une technique permettant de déterminer l'efficacité de produits solaires sous deux formes galéniques anhydres, les sticks et les poudres ; d'autre part, un protocole permettant de déterminer la résistance à l'eau des produits solaires. De plus, des produits à hauts indices ont été formulés. Ceux-ci pourront servir de standards tant *in vitro* qu'*in vivo*.

Dans un second temps, l'efficacité antisolaire de différents extraits naturels et molécules a été déterminée. Certains flavonoïdes, combinés à des filtres inorganiques comme le dioxyde de titane, permettent de formuler des émulsions présentant de hauts indices de protection sur l'ensemble du spectre UV et pourraient venir remplacer les filtres les plus critiquables.

Mots clefs : Photoprotection, SPF, FP-UVA, Méthode *in vitro*, Résistance à l'eau, Flavonoïdes.

DEVELOPMENT OF IN VITRO PROTOCOLS FOR THE EFFICACY OF SUN PRODUCTS.
SCREENING OF INTEREST MOLECULES.

The *in vivo* methods used for the efficacy determination of sun products may cause various problems: they are not easy to realized, expensive, non-ethical. My experimental work consisted in developing *in vitro* protocols to determine the Sun Protection Factor (SPF) and the Protection Factor UVA (PF-UVA) of sun products, in order to replace the existing *in vivo* protocols. Thus, two methods have been developed: at first, a technique allowing to determine the efficacy of sun products in two galenic forms, sticks and powders; then, a protocol which permit to measure the water resistance of sun products. Furthermore, highly protective products were realized. They could be used as *in vitro* or *in vivo* standards.

Then, the anti-solar efficacy of different natural extracts and molecules was determined. Some flavonoids, combined to inorganic filters, had enabled us to formulate emulsions presenting high protective factors throughout the UV spectrum. These molecules might replace the most questionable UV filters.

Key words: Photoprotection, SPF, PF-UVA, In vitro protocol, Water resistance, Flavonoids.