

P-Metoksisinamik Asid'in Gliseridik Esterleri. Yeni Bir Güneş Işığında Koruyucu Sinamat Sınıfı[†]

GLYCERIDIC ESTERS OF P-METHOXYCINNAMATE ACID. A NEW SUNSCREEN OF THE CINNAMATE CLASS

Z. M. F. FREITAS*, J. C. S. GONÇALVES*, E. P. SANTOS* and A. VERGNANINI**

*Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Medicamentos, CCS, bloco K, 2º andar, Sala 50, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ. CEP 21941-590, Brazil and **UNICAMP, Rua Dr Roxo Moreira, 83 Cidade Universitária, Campinas, SP, CEP 13083-590, Brazil

©Freitas ZMF, Gonçalves JCS., Santos EP, Vergnanini A. Glyceridic Esters of P-Methoxycinnamate Acid. A New Sunscreen of the Cinnamate Class. International Journal of Cosmetic Science, 2001; 23(3):147-152.

Özet

Bu çalışmanın amacı, 1,3-diaçilgliserol parçasının, cilt unsurlarına olan eğilimi ve C-2'de düşük hidroliz hassasiyeti nedeniyle, yeni bir güneş ışığından koruyucu sinamat sınıfının ışın önleyici hareketini artırıcı gibi etki edip etmeyeceğini araştırmaktır. 1,2,3-propanetriol 1,3-dipalmitat-2-p-metoksisinamat ve 1,2,3-propanetriol 1,3-dioktanoat-2-p-metoksisinamat (2.0, 4.5 ve 7.5) için güneş ışığından koruyucu faktörler belirlendi. Güneş ışığından koruyucu olarak hazırlanmışların, sunulan SPF değerleri 4.7 ve 16 arasındaydı. Sonuçlar; gliseridik esterlerin in vitro; daha yüksek lipofilite ve enzimatik hidrolize göre daha stabil halde olmalarına karşın, sentez edilmiş triaçilgliseroller ve standart güneş ışığından koruyucu 2-etilheksil p-metoksisinamoyil (EHPM)'nin her 2 metod içinde eşdeğer SPF değerleri gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Sinamat,
SPE'nin invivo ve invitro belirlenmesi,
Güneş ışığından korunma,
Güneş ışığından koruyucu losyonlar,
Triaçilgliserol'ler

T Klin Kozmetoloji 2002, 3:129-134

Summary

The aim of this work was to investigate whether a 1,3-diacylglycerol moiety can act as enhancer of the photoprotecting action of a new sunscreen of the cinnamate class, owing to its affinity with skin constituents and lower susceptibility to hydrolysis at C-2. The sun protection factors (SPF) for 1,2,3-propanetriol 1,3-dipalmitate-2-p-methoxycinnamate and 1,2,3-propanetriol 1,3-dioktanoate-2-p-methoxycinnamate (2.0, 4.5 and 7.5%) were determined. The sunscreen preparations presented SPF values between 4.7 and 16. The results show that although glyceridic esters present higher lipophilicity and are more stable towards enzymatic hydrolysis in vitro, the synthesized triacylglycerols and the standard sunscreen 2-ethylhexyl p-methoxycinnamoyl (EHPM) showed equivalent SPF values for both methods.

Key Words: Cinnamate,
In vitro and invivo determinations of SPE,
Sunscreen,
Sunscreen lotions,
Triacylglycerols

T Klin J Cosmetol 2002, 3:129-134

İdeal bir güneş ışığından koruyucu, optik ve fiziksel özelliklerine göre sınıflandırılabilir. Optik olarak ideali; ışığı geniş bir spektrum boyunca absorbe edebilmesidir. Fizik olarak, ideal bir etken madde cilde kolayca penetre olabilmeli, cilde iyice tutunmalı, özellikle sudan etkilenmemeli ve koruyucu olabilmesi için sık sık uygulamaya gereksinim göstermemelidir (1).

Güneş ışığına maruz kalmanın zararlı etkilerine karşı daha etkin bir koruma amacıyla, triaçilgliseroller gibi, güneş ışığından koruyucu-

ları sentez ettik. Bu bileşimler, C-2'de hidrolize daha az hassasken, cilt unsurlarına eğilim göstermektedir. C-2'de kromofor p-metoksisinamoyil varlığı nedeniyle, triaçilgliseroller, 1,2,3-propanetriol 1,3-dipalmitoyil-2-p-metoksisinamat (IXa) ve 1,2,3-propanetriol 1,3-dioktanoyil-2-p-metoksisinamat (IXb) gibi maddeler ultraviyole ışınlamayı 290-320 nm (UVB) arasında absorbe eder.

Triaçilgliseroller, ciltde diğer az spesifik esterazlardan daha düşük miktarlarda bulunan (2), triaçilgliserollerin C-1 ve C-3'ündeki yağ asitlerine

karşı öncelikli bir aktivite gösteren (3) spesifik esterazlardan, lipazlarla hidrolize olur. Stratum korneumda bulunan diaçilgliseroller (hidroliz reaksiyonlarının alt ürünleri), pigmentasyonun hızlanmasında katkıda bulunur (4).

Bu çalışma için sentez edilen triaçilgliseroller, sinamat sınıfının bir güneş ışığı koruyucusu olan 2-etilheksil p-metoksisinamat (EHPM)'le yapısal olarak ilişkilidir. %2.0-10 konsantrasyonlarında kullanılan EHPM ışığı 290-320 nm'de absorbe eder, maksimum absorpsiyonu 311 nm'de yapar ve UVB güneş ışığından koruyucu olarak kabul edilir (5). Farmasötik formüllerde kullanımı FDA (United States), COLIPA (European Union), ANVS/MS (Brazil) ve ARTG (Australia) tarafından izin verilmiştir (6).

1-3-diaçilgliserolün sinamat sınıfının güneş ışığından koruyucularının, koruyucu aktivitesini artırıcı olası etkisini araştırmak için, triaçilgliserollü güneş ışığından koruyucu losyonların, Güneş Koruma Faktörleri (SPF)'nin in vitro ve in vivo belirlenmeleri arasındaki bağlantı değerlendirildi.

Materyel ve Metodlar

%8 homosalat içeren güneş ışığından koruyucu losyonlar Santos ve ark. tarafından tanımlandığı gibi hazırlandı (7) ve in vitro ve in vivo SPF belirlenmeleri için 2-etilheksil p-metoksisinamat (EHPM) referans standartlar olarak kullanıldı.

İn Vitro Metod

Mansur ve ark. (8,9)'nın metoduna uyan şekilde SPF'ler in vitro belirlendi. Ek olarak, bu metod benzer deneysel şartlar kullanılarak Garcia ve ark. (10,11) tarafından da doğrulandı. Değişik konsantrasyonlarda triaçilgliserol IXa ve IXb (%2.0, 4.5 ve 7.5) içeren güneş ışığından koruyucu losyonlar hazırlandı.

Etanol'de üç katı sulandırılan, 0.2 µL mL⁻¹ son konsantrasyonunda her hazırlanmış maddenin absorbans değerleri, bir Shimadzu UV-1601 UV-visible spektrofotometre (Tokyo, Japan) kullanılarak, 5 nm aralıklarla, 290-320 nm değerleri arasında belirlendi.

Tablo 1. Spektrofotometre ile SPF belirlenmesinde kullanılan ağırlık ölçümü

λ (nm)	EE (λ) x (λ)
290	0.0150
295	0.0817
300	0.2874
305	0.3278
310	0.1864
315	0.0839
320	0.0180
	1.0000

Tablo 2. Standart emülsiyon formül (7)

	Konsantrasyon (g)
Yağ fazı	
Stearik asit	2.7
Gliseril stearat SE	2.0
Mineral yağı	2.0
İzopropil miristat	1.4
Setearet-20	2.0
Propilparaben	0.1
Güneş koruyucu	X
Su fazı	
Gliserin	3.0
Trietanolamin	0.2
Metilparaben	0.1
Saf su qsp	100

SPF'yi hesaplamak için, Eq. (1) (Mansur'un matematiksel tanımlaması) ve Sayre (12) tarafından tanımlandığı gibi her dalga boyunda (EE x I) eritemojenik etki ve ışınlama yoğunluğu arasındaki ilişki kullanıldı (Tablo 1).

$$SPF = CF \cdot \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \cdot abs(\lambda) \quad (1)$$

Burada CF=10 (düzeltme faktörü), EE(λ)= λ dalga boyu ışınlanmanın eritemojenik etkisi, I(λ)= λ dalga boyunda güneş ışığının yoğunluğu, abs(λ)= λ dalga boyundaki hazırlanmış madde solusyonunun spektrofotometrik absorbans değeri idi.

Standart, %8 homosalat içeren bir losyonu (Tablo 2).

Tablo 3. İn vivo test şartları

Uygulama hızı	2.0 mg cm ⁻²
Gönüllü insanlar	16
UV doz artması	%25
SPF hesaplaması	Aritmetik ortalama
Standart referans	%8 homosalat
Maruziyetten sonraki değerlendirme	20±4 saat
Test alanı	25 cm ²
Bireysel test bölgesi	1 cm ²
Gereken zaman	3 gün

İN VIVO METOD

FDA metoduna göre, I, II ve III fototip cildi olan 16 kadın gönüllüde (18-42 yaşları arasında) solar ultravioletole simulators multiport GO1 (Solar Light Company, Philadelphia, USA) kullanılarak SPF'ler in vivo belirlendi.

SPF değerleri, korunmuş cilt üzerinde minimum bir eritemal doz (MED) veya kırmızılık oluşturmak için gereken UV enerjisi ve korunmamış cilt üzerinde MED oluşturmak için gereken enerji arasındaki oran olarak tanımlanır.

İN vivo çalışmalarda da, değişik konsantrasyonlarda triaçilgliseroller IXa ve IXb (%2.0, 4.5 ve 7.5) içeren ve in vitro testte kullanılan, aynı güneş ışığından koruyucu losyonlar kullanıldı. Örnekler, önceden belirlenen SPF değerlerine göre (grup 1, SPF 4; grup 2, SPF 9-10; grup 3, SPF 15-16), test

edilmek üzere 3 gruba ayrıldı. Grup 1 ve 3'de beş gönüllü varken, grup 2'de altı gönüllü vardı.

İSTATİSTİKLER

Deneysel veriler, ortalama ± standart sapma olarak sunuldu. Güneş ışığından koruyucu losyonların, absorbans ve SPF değerlerini karşılaştırmak için Scheffé testinin izlediği ANOVA varyans analizi kullanıldı.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

İN VITRO METOD

Standart %8 homosalat losyonu ve %2.0, 4.5 ve 7.5'lük EHPM, IXa ve IXb losyonlarının absorbans ve hesaplanmış SPF değerleri sırayla Tablo 4 ve 5'de sunulmuştur. İstatistik analizinin verilerinin gösterdiğine göre EHPM, IXa ve IXb losyonlarının in vitro SPF değerleri her olguda eşdeğerdir (Tablo 6). Sonuçların ortaya çıkardığına göre, 1,3-diaçilgliserol parçası, UV ışınlanmasının absorpsiyonundan sorumlu olan kromofor p-metoksisinnamat'ın fizikokimyasal özelliklerini etkilememektedir.

İN VIVO METOD

Analiz edilen alanlarda eritem gelişmesi, uygun olarak kabul edildi. UV ışınlanmasına maruz kaldıktan sonra eritemsiz alanların gittikçe artan eritem genişlemesi ile çevrildiği gözlemlendi.

%8 homosalat %2.0, 4.5 ve 7.5'lük EHPM, IXa ve IXb losyonlarının hesaplanmış SPF değerleri sırayla Tablo 8-9'da gösterilmektedir.

Tablo 4. %8 homosalat (HSA) ve %2.0'lik EHPM, IXa ve IXb losyonların absorbans ve in vitro SPF değerleri (ortalama ± standart sapma)

λ	Kontrol	HSA ^a	EHPM ^b	IXa ^b	IXb ^b
290	0.014±0.002	0.2918±0.0002	0.4312±0.001	0.4392±0.0006	0.4411±0.001
295	0.014±0.002	0.3882±0.0005	0.4555±0.0005	0.4683±0.0008	0.4658±0.0008
300	0.015±0.000	0.4785±0.0005	0.4664±0.0006	0.4723±0.0004	0.4764±0.0006
305	0.015±0.000	0.5404±0.0009	0.4707±0.0004	0.4800±0.0002	0.4807±0.0004
310	0.014±0.001	0.5418±0.0007	0.4794±0.0008	0.4898±0.0002	0.4883±0.0008
315	0.013±0.000	0.4839±0.0009	0.4432±0.0006	0.4519±0.0007	0.4532±0.0006
320	0.011±0.000	0.3727±0.0008	0.3677±0.0005	0.3760±0.0006	0.3778±0.0005
SPF	0.1±0.02	5.0±0.07	4.6±0.05	4.7±0.03	4.7±0.03

^aMolar konsantrasyon: 0.0305 M, ^bMolar konsantrasyon: 0.0689 M.

Tablo 5. %8 homosalat (HSA) ve %4.5'luk EHPM, IXa ve IXb losyonların absorbands ve in vitro SPF değerleri (ortalama \pm standart sapma)

λ	Kontrol	HSA ^a	EHPM ^b	IXa ^b	IXb ^b
290	0.014 \pm 0.002	0.2918 \pm 0.0002	0.8351 \pm 0.001	0.8219 \pm 0.0006	0.8225 \pm 0.0006
295	0.014 \pm 0.002	0.3882 \pm 0.0005	0.9055 \pm 0.002	0.9064 \pm 0.001	0.9035 \pm 0.001
300	0.015 \pm 0.000	0.4785 \pm 0.0005	0.9655 \pm 0.003	0.9608 \pm 0.0008	0.9622 \pm 0.0008
305	0.015 \pm 0.000	0.5404 \pm 0.0009	0.9953 \pm 0.002	0.9966 \pm 0.0006	0.9978 \pm 0.0006
310	0.014 \pm 0.001	0.5418 \pm 0.0007	1.0534 \pm 0.0002	1.0529 \pm 0.0004	1.0549 \pm 0.0004
315	0.013 \pm 0.000	0.4839 \pm 0.0009	1.0265 \pm 0.0001	1.0217 \pm 0.0005	1.0237 \pm 0.0005
320	0.011 \pm 0.000	0.3727 \pm 0.0008	0.8956 \pm 0.002	0.8970 \pm 0.0002	0.8963 \pm 0.0002
SPF	0.1 \pm 0.02	5.0 \pm 0.07	9.9 \pm 0.01	9.9 \pm 0.03	9.9 \pm 0.03

^aMolar konsantrasyon: 0.0305 M, ^bMolar konsantrasyon: 0.1546 M.

Tablo 6. %8 homosalat (HSA) ve %7.5'luk EHPM, IXa ve IXb losyonlarının absorbands ve in vitro SPF değerleri (ortalama \pm standart sapma)

λ	Kontrol	HSA ^a	EHPM ^b	IXa ^b	IXb ^b
290	0.014 \pm 0.002	0.2918 \pm 0.0002	1.4145 \pm 0.0006	1.4189 \pm 0.0009	1.4209 \pm 0.0007
295	0.014 \pm 0.002	0.3882 \pm 0.0005	1.4986 \pm 0.0004	1.5009 \pm 0.0007	1.5013 \pm 0.0004
300	0.015 \pm 0.000	0.4785 \pm 0.0005	1.5450 \pm 0.0003	1.5463 \pm 0.0003	1.5214 \pm 0.0006
305	0.015 \pm 0.000	0.5404 \pm 0.0009	1.5498 \pm 0.0004	1.5510 \pm 0.0002	1.5603 \pm 0.0006
310	0.014 \pm 0.001	0.5418 \pm 0.0007	1.5823 \pm 0.0006	1.5832 \pm 0.0001	1.5910 \pm 0.0008
315	0.013 \pm 0.000	0.4839 \pm 0.0009	1.4689 \pm 0.002	1.4695 \pm 0.0006	1.4665 \pm 0.0007
320	0.011 \pm 0.000	0.3727 \pm 0.0008	1.2180 \pm 0.0006	1.2184 \pm 0.0008	1.2147 \pm 0.001
SPF	0.1 \pm 0.02	5.0 \pm 0.07	15.3 \pm 0.002	15.4 \pm 0.002	15.3 \pm 0.004

^aMolar konsantrasyon: 0.0305 M, ^bMolar konsantrasyon: 0.2583 M.

İstatistiki analiz verileri; EHPM, IXa ve IXb losyonlarının in vivo SPF değerlerinin her olguda eşdeğer olduğunu göstermektedir ($p>0.05$) (Tablo 11).

Sentez edilen triaçilgliseroller ve standart güneş ışığından koruyucu EHPM, gliseridik esterlerin daha lipofilik ve EHPM'den, in vitro enzimatik hidrolize doğru daha stabil gösterilmesine rağmen, her metod için eşdeğer SPF değerleri göstermektedir (12).

İn vitro ve in vivo metodlarla belirlenen güneş ışığından koruyucu losyonların SPF değerleri karşılaştırıldı. Sonuçlar, Tablo 12 ve Şekil 1'de sunulmaktadır.

EHPM'nin %2.0'lik losyonları için in vitro ve in vivo SPF değerlerinin belirgin olarak farklı

Tablo 7. Scheffé testiyle losyonların istatistiki analizi

Losyonlar	Scheffé testi ^a
E ₁ -PMEH, E ₁ -IXa and E ₁ -IXb	SPF eşdeğeri
E ₂ -PMEH, E ₂ -IXa and E ₂ -IXb	SPF eşdeğeri
E ₃ -PMEH, E ₃ -IXa and E ₃ -IXb	SPF eşdeğeri

^a $p>0.05$

olmasına rağmen ($p>0.05$), bütün diğer losyonlar eşdeğer SPF değerleri gösterdi. Bu sonuç, ileri derecede pahalı in vivo metoddan uzak durarak; in vitro metodun, yeni güneş ışığından koruyucuların SPF'lerinin başlangıç değerlendirmeleri için kullanılabilceğini göstermektedir.

Tablo 8. %8 homosalat (HSA) ve %2.0'lık EHPM, IXa ve IXb losyonlarının in vivo SPF değerleri

Gönüllü	HSA ^a	EHPM ^b	IXa ^b	IXb ^b
1	5.1	5.1	5.1	5.1
2	5.1	5.1	5.1	5.1
3	4.9	4.9	4.9	4.9
4	4.9	4.9	4.9	4.9
5	5.1	5.1	5.1	4.0
SPF	5.0±0.1	5.0±0.1	5.0±0.1	4.8±0.5

^aMolar konsantrasyon: 0.0305 M, ^bMolar konsantrasyon: 0.0689 M.

Tablo 9. %8 homosalat (HSA) ve %4.5'lük EHPM, IXa ve IXb losyonlarının in vivo SPF değerleri

Gönüllü	HSA ^a	EHPM ^b	IXa ^b	IXb ^b
1	5.1	8.0	8.0	10.0
2	5.1	8.0	8.0	10.0
3	4.9	12.5	12.5	9.9
4	4.9	7.9	9.9	9.9
5	5.1	9.9	9.9	7.9
6	4.9	12.5	12.5	9.9
SPF	5.0±0.1	9.8±2.2	10.1±2.0	9.6±0.8

^aMolar konsantrasyon: 0.0305 M, ^bMolar konsantrasyon: 0.1546 M.

Tablo 10. %8 homosalat (HSA) ve %7.5'lük EHPM, IXa ve IXb losyonlarının in vivo SPF değerleri

Gönüllü	HSA ^a	EHPM ^b	IXa ^b	IXb ^b
1	5.1	19.0	19.0	19.0
2	5.1	19.0	15.0	12.0
3	4.9	19.0	15.0	10.0
4	4.9	12.0	19.0	12.0
5	5.1	10.0	12.0	15.0
SPF	5.0±0.1	15.8±4.4	16.0±3.0	13.6±3.5

^aMolar konsantrasyon: 0.0305 M, ^bMolar konsantrasyon: 0.2583 M.

Kararlar

Gliseridik esterler, alkil esterlerle karşılaştırıldığında koruyucu etkiyi uzatmada kabiliyetlidir.

Tablo 11. Scheffé testiyle losyonların SPF'lerinin istatistiki analizi

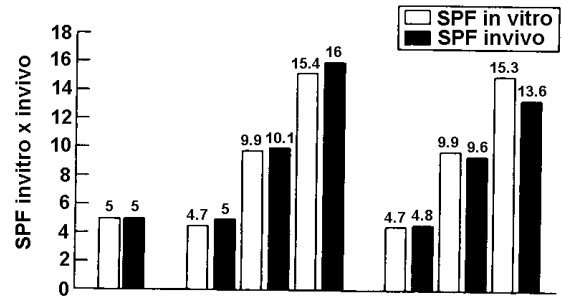
Losyonlar	Scheffé testi ^a
E ₁ -PMEH, E ₁ -IXa and E ₁ -IXb	SPF eşdeğeri
E ₂ -PMEH, E ₂ -IXa and E ₂ -IXb	SPF eşdeğeri
E ₃ -PMEH, E ₃ -IXa and E ₃ -IXb	SPF eşdeğeri

^ap>0.05

Tablo 12. Güneş ışığından koruyucu losyonların in vitro ve in vivo SPF değerleri

Losyon	SPF		Scheffé testi İn vitro x İn vivo SPF'ler
	İn vitro	İn vivo	
%8 HSA	5.0±0.1	5.0±0.1	Eşdeğer
%2.0 EHPM	4.6±0.05	5.0±0.1	Belirgin olarak farklı
%4.5 EHPM	9.9±0.01	9.8±2.2	Eşdeğer
%7.5 EHPM	15.3±0.002	15.8±4.4	Eşdeğer
%2.0 IXa	4.7±0.03	5.0±0.1	Eşdeğer
%4.5 IXa	9.9±0.03	10.1±2.0	Eşdeğer
%7.4 IXa	15.4±0.002	16.0±3.0	Eşdeğer
%4.5 IXb	9.9±0.03	9.6±0.8	Eşdeğer
%7.5 IXb	15.3±0.004	13.6±3.5	Eşdeğer

^ap>0.05

**Şekil 1.** Güneş ışığından koruyucu losyonların in vitro ve in vivo SPF değerleri.

Alkil esterler, başlıca esterazlarla hidroliz edilirken, ciltte diğer daha az spesifik esterazlardan daha büyük miktarlarda bulunan, spesifik esterazlardan lipazlarla hidrolize edilir. Bu enzimlerin hidrolitik aktivitesi, triaçilgliserollerin C-1 ve C-3'deki yağ asidlerine doğru öncelikli bir aktivite gösterir. Bu gerçek, güneş ışığından korunmanın C-2 yerleşiminde olduğuna, böylece in

vivo koruyucu aktivitesi uzattığına, triaçilgliserollerin retansiyon zamanının artmasına katkıda bulunur.

Triaçilgliserol IXa, triaçilgliserol IXb (SPF=13.6) ile bağlantılı olarak, %7.5'da (SPF=16.0) yüksek bir SPF göstermiştir. Öncekinin yüksek SPF değeri büyük olasılıkla, bu gliseridik esterin lipofilitesini artıran palmitoyil grubuna bağlıdır.

Gönüllülerin hiçbirinde, yan etki gözlenmedi. Test edilen güneş ışığından koruyucu losyonların in vitro ve in vivo belirlenmeleri arasında sonuçlar iyi bir bağlantı olduğunu gösterdi. İn vitro metod daha hızlıdır ve kullanan gönüllülerden daha az pahalıdır ve ürün performansı için güvenilir bir rehberdir.

KAYNAKLAR

1. Horwitz MD, Phillip Frost MD and Steven N. Newer sunscreens. In: Principles of cosmetics for dermatologists. CV Mosby London, 1982.
2. Paris GY, Garmaise DL and Cimon DG. Glycerides as prodrugs. 3.Synthesis and anti-inflammatory activity of [1-(, p-chloro-benzoyl)-5-methoxy-2-methylindole-3-acetyl glycerides] (Indomethacin glycerides). J Med Chem 1980; 23, 9-12.
3. Mead JF, Alfin-Slate RB, Howton DR and Popjak. Digestion and absorption of lipids in lipids. In: Chemistry, biochemistry and nutrition. Plenum, New York, 1986.
4. Friedmann PS, Wren FE and Matthews. Ultra-violet stimulated melanogenesis by melanocytes is augmented by diacylglycerol but not TPA. J Cell Physiol 1990; 142, 334-41.
5. Klein K. Encyclopedia of UV absorbers for sunscreen products. Cosmet Toilet 1995; 7, 47-58.
6. Steinberg DC. Sunscreen encyclopedia regulatory update. Cosmet Toilet 1996; 111, 77-86.
7. Santos EP, Freitas ZM, Souza KR, Garcia S and Vergnanini A. In vitro and in vivo determinations of sun protection factors of sunscreen lotions with octylmethoxycinnamate. Int J Cosmet Sci 1999; 21, 1-5.
8. Mansur JS, Breder MNR, Mansur MCA, et al. Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. An Bras Derm 1986; 61, 121-4.
9. Mansur JS, Breder MNR, Mansur MCA, et al. Correlação entre de determinação do fator do proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. An Bras Derm 1986; 61, 167-72.
10. Garcia S, Santos EP, Lima MTL, Bacaltch MYP and Chiavegatto LFS. Avaliação do FPS (Factor de Proteção Solar) de produtos comerciais por Método "in vitro". Revista Brasileira Farmácia 1990; 71(4):99.
11. Garcia S, Santos EP, Lima MTL and Ramos MFS. Avaliação do Fator de Proteção Solar por Método "in vitro". Revista Brasileira Farmácia 1991; 72(2), 39-41.
12. Sayre RM, et al. A comparison of in vivo and in vitro testing of sunscreens formulas. Photochem Photobiol 1979; 29, 559-66.
13. Department of Health Education and Welfare, Food and Drug Administration. Federal Register 1978; 43(166), 38206-269.
14. Freitas ZMF, Santos EP, Dellamora-Ortiz GM and Gonçalves JCS. Hidrólise de triaçilgliceróis potencialmente ativos como filtros solares for lipase de Rhizomucor miehei. Anais da XX Reunião Anual da SBQ, QB16, 1997.

**Orijinal İngilizce şeklinde Türkiye Klinikleri tarafından tercüme edilmiştir. Türkçeye tercümesinin doğruluğundan Türkiye Klinikleri sorumludur, Blackwell Science Limited veya Society of Cosmetic Chemists sorumluluk kabul etmemektedir.*

Translated by Türkiye Klinikleri Publishing House from the original English language version. Responsibility for the accuracy of the translation in the Turkish language rests solely with Türkiye Klinikleri Publishing House and is not the responsibility of Blackwell Science Limited or the Society of Cosmetic Chemists.