

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En esta invención se han encontrado 4 materiales constituyentes de la piel que son susceptibles a daño por la radiación UV, a saber: colesterol, colágeno, elastina y ácido hialurónico (AH). Éste último es un glicosaminoglicano de origen natural que consiste en un polímero lineal de peso molecular de 50.000-13.000.000 daltons. Es un polisacárido hecho a partir de unidades repetidas de ácido glucurónico y N-acetil-glucosamina, unidas por enlaces β 1-3 y β 1-4 alternantes. El HA utilizado en esta invención y al que llamaremos sustrato, fue adquirido de fuente comercial y corresponde a un polvo fino, blanco y de olor característico con peso molecular dentro del rango anteriormente descrito.

Gracias a sus características fisicoquímicas y de formación de película fue posible obtener el sustrato en dos estados a la misma concentración: Líquido como dispersión acuosa traslúcida y ligeramente viscosa, y sólido como película delgada transparente. Ambos estados son susceptibles a la radiación.

Para la elaboración del sustrato en estado líquido, se prepara una dispersión acuosa con una concentración inferior al 1% p/v de AH (la cual está relacionada con la cantidad de AH presente en la piel, la respuesta frente a la radiación y el manejo del material), a una temperatura entre 17 y 21°C y agitación en un rango de 1200 a 1500 rpm durante 1 hora. Para el estado sólido, con la preparación descrita se realiza un vertimiento sobre un molde de poliestireno con dimensiones de 1.6 × 1.1 cm y mediante el método casting, dejando secar durante 3 horas a una temperatura entre 45 - 55 °C. Posteriormente, las películas se retiran de los moldes y se almacenan a una temperatura entre 17 y 21°C y una humedad relativa entre 18 y 22% hasta su posterior uso.

El primer montaje para la evaluación del sustrato en estado sólido (Figura 1) consiste en una película delgada de AH en la base del portamuestras, sobre ésta va una película delgada de soporte cuyo material, polimetilmetacrilato (PMMA), es inerte a la radiación; sobre ésta última se aplica homogéneamente el producto que va a servir de protector para el AH frente a la radiación UV.

El segundo montaje corresponde a la evaluación del sustrato en estado líquido (Figura 2), que consiste en utilizar directamente la dispersión de AH incorporado dentro de una celda de cuarzo estándar, material que es transparente a la radiación UV y por lo tanto es utilizado como soporte para aplicar homogéneamente el producto que va a servir de protector para el AH.

Ambos montajes permiten ser expuestos a condiciones de radiación UV controladas en cuanto a tiempo y tipo de radiación ya que durante la investigación se logró definir que la degradación del AH es dependiente de la longitud de onda a la cual se expone y del tiempo de exposición. Una vez terminada la exposición de los montajes a la radiación UV, se evalúa el efecto de la radiación sobre el AH mediante la verificación de su transmitancia en el rango UV del espectro electromagnético. Para esto, se puede utilizar tanto la película delgada como la dispersión acuosa, teniendo en cuenta que se

comportan de igual manera frente a la radiación y que el portamuestras del aparato permite la utilización de uno u otro indistintamente.

En resumen, dependiendo el montaje que se vaya a usar, la muestra a la cual se le va a determinar el FPS, se aplica así: para el primer montaje, el portamuestras (PM) es una película de polimetilmetacrilato (PMMA) y para el segundo montaje el PM es una de las caras de la celda de cuarzo.

Adicionalmente, cada uno de los montajes pueden ser expuestos a la radiación, la cual sigue el siguiente recorrido: llega perpendicularmente a la muestra, seguida del soporte, seguida del sustrato y finalmente llega al espectrofotómetro donde se registra el cambio generado sobre el sustrato.

Las medidas de transmitancia del AH se realizan utilizando el sistema óptico que se muestra en la figura 3. Se utiliza incidencia normal del haz de luz para el rango de longitudes de onda entre los 200 - 400 nm.

Una fuente de voltaje (1) permite encender la lámpara o fuente de radiación UV (2). La luz proveniente de la lámpara (2) llega al monocromador (4). Antes de que la luz llegue al monocromador (4) ésta se hace pasar por el chopper o estroboscopio (3), el cual pulsa la luz a una determinada frecuencia y es controlada por el amplificador Lock-in (9). En el monocromador (4), la luz se descompone en sus longitudes de onda fundamentales y esta luz monocromática pasa a través de una rendija (5), para finalmente incidir perpendicularmente sobre la superficie de la película o la celda respectivamente. El montaje es colocado en el portamuestras (6), de manera que la luz transmitida por éste es recogida en el detector (7). La señal de salida (después de detector) es amplificada en el preamplificador (8) y analizada por el amplificador Lock-in (9).

El portamuestras (6) es intercambiable y por esta razón permite medir la intensidad de la luz transmitida para ambos montajes (película delgada y dispersión).

La metodología está enmarcada en la determinación de un valor estimado de FPS a través de una correlación matemática entre el valor FPS “in vivo” de cada producto y un porcentaje de protección al AH ofrecido por dichos productos. El método incluye los siguientes aspectos:

1) caracterización de propiedades físicas tanto del soporte de PMMA como del AH (en sus dos estados) en términos de espesor, rugosidad, densidad, estabilidad frente a medios oleosos y acuosos.

2) Definición de las características de ensayo: Longitud de onda de exposición y tiempo de exposición. Estandarización del método de aplicación de las formulaciones de referencia y prueba sobre el montaje soporte – sustrato teniendo en cuenta cantidad por unidad de área, forma de aplicación, presión de aplicación, tiempo de secado, tiempo de radiación, periodo entre el momento de la exposición a la radiación y la medida espectrofotométrica.

3) Evaluación del efecto de la radiación sobre el AH en términos de porcentaje de degradación a las condiciones descritas con el fin de obtener una referencia del grado máximo de degradación.

4) Utilización de los productos a evaluar y cálculo en términos de porcentaje de protección respecto a la referencia obtenida, para determinar la capacidad que tienen éstos protectores solares de evitar la degradación del AH, es decir cuánto impiden la degradación a partir del máximo alcanzado.

Bajo las condiciones descritas, el máximo de degradación que alcanza el AH sin ningún tipo de protección es superior al 30%, valor utilizado como referencia para el cálculo del porcentaje de protección que ofrecen los productos de protección solar.

Estandarización y validación de la metodología

Para darle validez a la metodología propuesta, previamente se llevaron a cabo una serie de ensayos que permitieron evidenciar el comportamiento del AH frente a la radiación, dependiendo de la concentración de filtros solares y estandarización de las condiciones de ensayo en cuanto a tiempo de exposición y aplicación del producto. Se utilizaron dos filtros estándares reportados por la literatura por separado (uno de tipo barrera física y otro químico), vehiculizados en un sistema de emulsión tipo w/o a concentraciones progresivas para evaluar la respuesta del método a las condiciones de evaluación. Como filtro químico se utilizó el Homosalato en concentraciones de 2 – 20 % y como filtro físico se utilizó dióxido de Titanio en concentraciones de 2 – 15 %. Se estableció un modelo de correlación polinómico de orden 3 de valores de protección para el AH en función de la concentración del filtro correspondiente para ambos casos. Así mismo, se encontró reproducibilidad en las determinaciones y precisión adecuada con coeficientes de variación inferiores al 3%.

Una vez establecida la respuesta del método a las condiciones de estudio, se evaluaron diferentes productos de protección solar comercializados en el ámbito nacional y cuyo rotulado reportaba valores de FPS entre 15 y 100. Luego de las determinaciones y mediante un análisis estadístico, se estableció el modelo de correlación para el porcentaje de protección del AH en función del FPS etiquetado, encontrando que responde a una función polinómica de orden 3 con un coeficiente de determinación $R^2 = 0,9$.

Unas de las principales determinaciones para la validación de la metodología, fue la evaluación de la repetibilidad y la precisión intermedia, la cual fue establecida para productos con FPS bajo, medio y alto con mediciones intradía e interdía, obteniéndose coeficientes de variación inferiores al 4.5%.

Finalmente, se establece un modelo de correlación entre los niveles de protección alcanzados para el AH y los valores de FPS a los cuales corresponde dicha protección. Esto confirma, que la metodología propuesta es una herramienta útil para la estimación alternativa de FPS a partir de la evaluación del efecto de la radiación sobre la degradación del AH como sustrato de estudio.