การดูดซึมสารกรองรังสียูวีผ่านชั้นผิวหนัง

นางสาวพัชราวลัย กลิ่นอุบล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2549

ISBN 974-14-3437-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PERCUTANEOUS ABSORPTION OF UV FILTERS

Miss Patcharawalai Klinubol

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

ISBN 974-14-3437-5

Copyright of Chulalongkorn University

490253

Thesis Title	PERCUTANEOUS ABSORPTION OF UV FILTERS
By	Miss Patcharawalai Klinubol
Field of study	Biotechnology
Thesis Advisor	Associate Professor Supason Wanichweacharungruang, Ph.D
Thesis Co-advisor	Associate Professor Pravit Asawanonda, M.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master 's Degree

..... Dean of the Faculty of Science

(Professor Piamsak Menasvet, Ph.D)

THESIS COMMITTEE

..... Chairman

(Associate Professor Sirirat Kokpol, Ph.D)

..... Thesis Advisor

(Associate Professor Supason Wanichweacharungruang, Ph.D.)

..... Thesis Co-advisor

(Associate Professor Pravit Asawanonda, M.D.)

..... Member

(AssociateProfessor Nattaya Ngamrojanavanich, Ph.D.)

..... Member

(Associate Professor Sanong Ekasit, Ph.D.)

พัชราวลัย กลิ่นอุบล : การดูดซึมสารกรองรังสียูวีผ่านชั้นผิวหนัง.(PERCUTANEOUS ABSORPTION OF UV FILTERS) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.สุภศร วนิชเวชารุ่งเรือง, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.นพ. ประวิตร อัศวานนท์ 73 หน้า ISBN 974-14-3437-5

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการซึมผ่านของสารกรองรังสียูวีชนิดต่างๆในหนังลูกหนูแดง (*Mus musculus* Linn.) และหนังมนุษย์ ด้วยเทคนิคฟรานซ์ดิฟฟิวชันเซลล์ (Franz diffusion cell)และซัคชันบลิสเตอร์ (Suction blister) พบว่ามีความสอดคล้องกันระหว่างหนังลูกหนูแดงและหนังมนุษย์ การศึกษาการซึมผ่านของ ออกทิลเมททอกซีซินนาเมท, บิวทิลเมททอกซีไดเบนโซอิลมีเทน, 4-เมทิลเบนซิลลิดีนแคมเพอร์,ยูซอเล็กซ์ยูวีเพิลล์โอเอ็มซี, ได(2-เอทิลเฮกซิล-2,4,5-ไตรเมทอกซีเบนซาลมาโลเนท, 2-เอทิลเฮกซิล-2,4,5-ไตรเมทอกซีซินนาเมท, ไดเฮกซิล-2,4,5-ไตรเมทอกซีซินนาเมท, ไดเอทิล-2,4,5-ไตรเมทอกซีซินนาเมท, โพลี-(3-ไฮดรอกซี-โพรพอกซี) ซินนามิกแอซิด, โพลี-(6-ไฮดรอกซี-เฮไซโลซี) ซินนามิกแอซิด, โพลี-(11-ไฮดรอกซี-อันดีไซโลซี) ซินนามิกแอซิด, โพลีเพนตะเอทีลีนไกลคอลซินนาเมท, โพลี-(พารา-โพรพอกซีซินนาเมท)-โค-(พารา-อันดีไซโลซีซินนาเมท), โพลี [ไวนิล-2,4,5-ไตรเมททอกซี(ไวนิล แอลกฮอล์)]โคโพลิเมอร์, 4-เมทอกซีซินนาโมอิลพาทาโลอิลไดโตซาน และ 4-เมทอกซีซินนาโมอิลพาทาโลอิล เออเรดิเอท ไดโตซาน พบว่าออกทิลเมทอกซีซินนาเมท และ บิวทิลเมททอกซีไดเบนโซอิลมีเทน สามารถซึมผ่านผิวหนังได้ดี ในขณะที่ สารกรองรังสียูวีชนิดใหม่ที่ถูกพัฒนาขึ้นได้แก่ ได(2-เอทิลเฮกซิล)-2,4,5-ไตรเมทอกซีเบนซาลมาโลเนทและ2-เอทิลเฮกซิล-2,4,5-ไตรเมทอกซีซินนาเมท ไม่มีการซึมผ่านลงสู่ชั้นเดอร์มิส (dermis)

ภาควิชา.....เทคโนโลยีชีวภาพ..... ลายมือชื่อนิสิต.....พัชราวลัย กลิ่นอุบล.....

สาขาวิชา....เทคโนโลยีชีวภาพ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2549..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4772399023 : MAJOR BIOTECHNILOGY

KEYWORD : UV FILTERS/ PERCUTANEOUS ABSORPTION/ DIFFUSION CELL/ SUCTION BLISTER

PATCHARAWALAI KLINUBOL: PERCUTANEOUS ABSORPTION OF UV FILTERS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. SUPASON WANICHWEACHARUNGRUANG, Ph.D., ASS0C.PROF. PRAVIT ASAWANONDA, M.D., 73 pp. ISBN 974-14-3437-5

In this work, percutaneous absorption of UV filters through baby mice skins*(Mus musculus* Linn.) and volunteer human skins were studied by Franz diffusion cell and Suction Blister techniques. The results showed very good correlation of the absorption result between baby mice skin and human skin. Among octyl methoxycinnamate, butyl methoxy dibenzoylmethane, 4-methyl benzylidene camphor, Eusolex UV pearl OMC, di(2-ethylhexyl)-2,4,5-trimethoxybenzalmalonate, 2-ethylhexyl-2, 4,5-trimethoxycinnamate, dihexyl-2,4,5-trimethoxybenzalmalonate, diethyl-2,4,5-trimethoxy benzalmalonate, poly-(3-hydroxy-propoxy)cinnamic acid, poly-(6-hydroxy-hexyloxy)cinnamicacid, poly-(11-hydroxy-undecyloxy)cinnamic acid, poly penta ethylene glycol cinnamate, poly(*p*-propoxycinnamate)-co-(*p*-undecyloxycinnamate), poly [vinyl-2,4,5-trimethoxycinnamate(vinyl alcohol)]copolymer, 4-methoxycinamoylphthaloyl chitosan and 4-methoxycinamoylphthaloyl irradiated chitosan, only octyl methoxycinnamate and butyl methoxy dibenzoylmethane gave significant transdermal penetration results. The two newly developed UV filters di(2-ethylhexyl)-2,4, 5-trimethoxybenzalmalonate and 2-ethylhexyl-2,4,5-trimethoxycinnamate showed no trans-epidermal penetration.

Department :.....Biotechnology.....Student's Signature :.....

Field of Study :..Biotechnology.....Advisor's Signature :.....

Academic Year :..2006.....Co-advisor's Signature :.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my appreciation to my advisor, Associate Professor Dr. Supason Wanichweacharungruang, for all her value guidance, encouragement, understanding and patience throughout this research. Sincere thanks are also extended to Associate Professor Dr. Pravit Asawanonda, M.D., my co- advisor, who always give me substantial advices.

I also gratefully thanks the Faculty of Science and Graduated School, Chulalongkorn University for financial support. I also give thanks Program of Biotechnology, Chulalongkorn University for supporting materials and everything else.

My appreciation is express to all 14th floor members of my laboratory and my friends in the Program Biotechnology for their opinions and friendship. Special thanks for nurses in Dermatology clinic of King Chulalongkorn Memorial hospital, who help me doing through out this experiment. Moreover, I would like to thanks volunteers who devote their skin to my study.

Finally, I would like to express my deepest appreciation to my parents and the members of my family for their love, encouragement, understanding and insight throughout my entire study.

CONTENTS

Page

ABSTRACT IN THAI iv

ABSTRACT IN ENGLISH v

ACKNOWLEDGEMENT vi

LIST OF TABLE ix

LIST OF FIGURES x

LIST OF ABBREVIATION xi

LIST OF SYMBOLS xi

LIST OF UNIT xi

CHAPTER INTRODUCTION 1

1.1 Ultraviolet (UV) radiation 1

1.1.1 Health effect of ultraviolet (UV) radiation 2

1.2 Sunscreens 2

1.2.1 Physical blocker 2

1.2.2 Chemical absorber 3

1.3 Physiology of the skin 6

1.4 Permeation pathways 7

1.5 Diffusion cells for measuring *in vitro* permeation 9

1.6 Suction blister technique 11

1.7 Objective of the work 12

CHAPTER II EXPERIMENTAL 13

2.1 Instruments 13

2.2 Chemicals 13

2.3 Determination of percutaneous absorption of sunscreen 14

Page

2.3.1 Study of transdermal penetration of various sunscreen through baby mice skin by Franz diffusion cell method..... 14

2.3.2 Study of transepidermal penetration of various sunscreen through volunteer human skin by suction blister method..... 18

CHAPTER III RESULTS AND DISCUSSION..... 20

3.1 Determination of percutaneous absorption by diffusion cell.....20

3.1.1 Analysis of sunscreen in receptor fluid by UV/VIS spectrophotometry.....20

3.1.2 Comparing permeability of fresh skin, -20°C frozen skin and -80°C frozen skin.....23

3.1.3 Study of transdermal penetration of various sunscreen through baby mice skin by Franz diffusion cell method.....25

3.2 Determination of percutaneous absorption by suction blister..... 29

3.2.1 Analysis of sunscreen by UV/VIS spectrophotometry..... 29

3.2.2 Study of transepidermal penetration of various sunscreen through volunteer human skin by suction blister method.....36

CHAPTER IV CONCLUSION.....39

REFERENCES.....40

APPENDICES.....45

Appendix A.....46

Appendix B.....58

Appendix C.....63

Appendix D.....70

VITA.....73

LIST OF TABLES

Tables **Page**

1.1 FDA approved sunscreen ingredients..... 3

2.1 protocol showing the preparation of sunscreen solutions for Franz diffusion cell experiments. Two hundread µl of the prepared solution were dropped onto 2.27 cm^2 baby mouse skin at the top compartment of the diffusion cell..... 14

3.1 percent penetration* of commercial sunscreens (in solution forms) through baby mice skin after 24 h.....26

3.2 percent penetration* of newly developed small organic UV filters (in solution forms) through baby mice skin after 24h.....26

3.3 percent penetration* of polymeric UV filters (in solution forms) through baby mice skin after 24 h..... 27

3.4 percent penetration of the interested UV filters (incorporated into the lotion) through baby mice after 24 h.....27

3.5 percent penetration* of UV filters through human epidermis after the skin at the suction blister roof had been applied with sunscreen lotion for 3 hr. 37

3.6 Comparing between percent penetration by diffusion cell and percent penetration by suction blister. (Lotion form).....37

3.7 Comparing between percent penetration by diffusion cell and percent penetration by suction blister. (Solvent form).....38

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1.1	Electromagnetic Spectrum	1
1.2	DNA UV mutation	2
1.3	Layer and structures of the skin	6
1.4	Possible routes for drug entry through the skin	8
1.5	Franz diffusion cell	9
1.6	The suction blister	11
2.1	A franz diffusion cell	17
2.2	A) The vacuum suction used in this technique B) The IV tube connected to the suction C) The syringe pressed against volunteer skin D) Six simultaneous suction blisters on thigh of volunteer skin.	18
3.1	UV spectrum of receptor fluid	20
3.2	UV absorption spectra of A) BMDBM B) OMC C) 4-methyl benzylidene camphor D) Eusolex UV pearl OMC in the receptor fluid	21
3.3	Calibration curves of UV spectrum of OMC, BMDBM and 4 methyl benzylidene camphor in receptor fluid	23
3.4	percent penetration of OMC in fresh skin (◆) and skin at -20°C (■) by Franz-diffusion cell	24
3.5	percent penetration of OMC in fresh skin (◆) and skin at -80°C (■) by Franz-diffusion cell	24
3.6	UV absorption spectrum of suction blister fluid	29
3.7	UV spectrum of 10 ppm sunscreens in suction blister fluid	30
3.8	Calibration curves of OMC and BMDBM in suction blister fluid (SBF) for each volunteer	31

LIST OF ABBREVIATIONS

UV	ultraviolet	UVR	ultraviolet radiation
UVA	ultraviolet A	UVB	ultraviolet B
UVC	ultraviolet C	DNA	deoxyribonucleic acid
FDA	Food and drug Administration	OMC	octyl methoxycinnamate
BMDBM	butyl methoxy dibenzoylmethane	IV	intravenous
M.W.	molecular weight	S.B.F	suction blister fluid

LIST OF SYMBOLS

%	percent
ε	molar absorption
λ	wavelength

LIST OF UNITS

°C	degree Celsius
nm	nanometer (s)
mm	millimetre
mmHg	millimetre Hg
cm^2	square centimetre
ml	milliliter (s)
M	molar
µl	microliter
hr	hour