

The influence of increased cross-linker chain length in thermosensitive microspheres on potential sun-protection activity

WITOLD MUSIAŁ^{1,2)}, VANJA KOKOL¹⁾,
BOJANA VONCINA¹⁾

¹⁾ University of Maribor, Department for
Textile Materials and Design,
Laboratory for Chemistry Dyes
and Polymers, Slovenia

²⁾ Wrocław Medical University, Chair and
Department of Pharmaceutical Technology,
Poland

Summary

The sun protection should involve substances with protecting activity against both UVB and UVA radiation. In this research the evaluation of thermosensitive microspheres as potential molecules for sunscreen formulations was approached, using modified Boots star rating system. The microspheres, thermosensitive N-isopropylacrylamide derivatives, have potential protecting activity against UV radiation. The MX and DX microspheres, with ethylene glycol dimethacrylate and diethylene glycol dimethacrylate cross-linker respectively, due to their thermosensitivity exhibit increase in protecting activity against UV radiation when heated to 45°C. The MX microspheres have higher increase in terms of UV absorbance, comparing to DX microspheres, when heated in the 25°C to 45°C range. Studied microspheres have high potential for application as components of sun-screens used in elevated temperatures.

Wpływ długości łańcucha czynnika sieciującego w termowrażliwych mikrosferach na ich potencjalne działanie fotoochronne

WITOLD MUSIAŁ^{1,2)}, VANJA KOKOL¹⁾,
BOJANA VONCINA¹⁾

¹⁾ Uniwersytet w Mariborze,
Zakład Materiałów Włókienniczych
Laboratorium Chemii Barwników
i Polimerów, Słowenia

²⁾ Akademia Medyczna we Wrocławiu,
Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku,
Polska

Streszczenie

W ochronie przeciwsłonecznej wykorzystuje się substancje o aktywności ochronnej zarówno wobec promieniowania UVA, jak i UVB. W bieżących badaniach postanowiono przeprowadzić ocenę mikrosfer termowrażliwych, jako potencjalnych substancji do zastosowania w środkach ochrony przed promieniowaniem słonecznym, z zastosowaniem zmodyfikowanej metody Boots star rating system (BSRS). Termowrażliwe mikrosfery, pochodne N-izopropylakrylamidu, charakteryzują się potencjalną aktywnością ochronną przeciwko promieniowaniu UV. Mikrosfery serii MX i DX, pochodne odpowiednio: dimetakrylanu glikolu etylenowego oraz dimetakrylanu glikolu dietylenowego, charakteryzują się wzrostem aktywności fotoprotekcyjnej w zakresie UV, w przebiegu ogrzewania do temperatury 45°C. Mikrosfery serii MX charakteryzują się większym przyrostem absorbancji w trakcie ogrzewa-

Key words: thermosensitive microspheres, ethylene glycol dimethacrylate, diethylene glycol dimethacrylate, ultraviolet radiation, sun-screen

INTRODUCTION

The ultraviolet radiation (UV) presents specific activity, when directed on the skin. When the skin is overexposed to this factor, the sunburns, increased risk of skin cancers, and premature aging of the skin are noted [1]. The UV radiation is divided into two sections: UVA radiation; wavelength 320–400 nm, and UVB radiation; wavelength 290–320 nm. Photobiological activity seems to be more intense in the case of shorter wavelength, i.e. at 330–340 nm, so the UVA was subdivided in UVAI and UVAIL sections, with ranges respectively: 340–400 nm and 320–340 nm.

On the ground level the living cells are radiated in ca. 95% by UVA and only in ca. 5% by UVB, due to the photoprotecting activity of stratospheric ozone layer [2]. The subsection UVC with wavelength between 200 and 290 nm is observed only on very high altitudes [3]. Overexposure to UVB radiation results in good known erythema – sunburns. Also some of basal and squamous cell carcinomas are connected with direct damage of genetic material by UVB, as this kind of radiation is highly mutagenic according to the fact that nucleic acid is a chromophore for the 290–320 nm range [4].

The UVA radiation does not give directly observed effects – however due to numerous data, it may contribute to DNA damage, through the initiation of production of free radicals and reactive oxygen species. This changes may lead to increased rate of melanoma [5,6]. On the molecular level numerous factors are engaged in the biological answer to the UV radiation applied on the skin. The mitogen-activated protein kinase pathways have its role in defending the epidermis and epidermal keratinocytes from ultraviolet radiation considered to be one of the the most common and highly carcinogenic environmental stress [7]. Interestingly, the UVA and UVB radiation stimulates the expression of cyclooxygenase-2 in epidermal cells [8].

The sun protection should involve substances with protecting activity against both UVB and UVA radiation. Also the preliminary tests should reflect this aspect of characteristics of potential protective

nia od 25°C do 45°C, w porównaniu z mikrosferami serii DX. Badane mikrosfery mogą znaleźć zastosowanie jako preparaty światłochronne, stosowane w podwyższonych temperaturach.

Słowa kluczowe: mikrosfery termowrażliwe, dimetakrylanu glikolu etylenowego, dimetakrylanu glikolu dietylenowego, promieniowanie ultrafioletowe, preparaty przeciwsłoneczne

WPROWADZENIE

Promieniowanie ultrafioletowe (UV) charakteryzuje się specyficzną aktywnością wobec skóry. Nadmierna ekspozycja skóry na ten czynnik środowiskowy może powodować oparzenia słoneczne, podwyższone ryzyko zachorowania na raka skóry, oraz przedwczesne starzenie skóry [1]. Promieniowanie UV dzieli się na dwa zakresy: promieniowanie UVA o długości fali 320–400 nm, oraz promieniowanie UVB o długości fali 290–320 nm. Aktywność fotobiologiczna jest prawdopodobnie bardziej intensywna przy krótszych długościach fali, tj. w zakresie 330–340 nm, stąd zakres UVA podzielono na podzakresy UVAI, oraz UVAIL, odpowiednio: 330–400 nm i 320–340 nm.

Na powierzchni ziemi komórki żywych organizmów naświetlane są w ok. 95% przez promieniowanie UVA i w ok. 5% przez promieniowanie UVB, z powodu aktywności fotoprotekcyjnej warstwy ozonu w stratosferze [2]. Podzakres UVC o długości fali pomiędzy 200 nm i 290 nm, obserwowany jest jedynie na dużych wysokościach [3]. Nadmierna ekspozycja na promieniowanie UVB przynosi efekt w postaci znanych zmian skórnych, rumieni o charakterze oparzeń słonecznych. Również niektóre nowotwory, wywodzące się z komórek podstawnych lub nabłonka płaskiego, wiąże się z bezpośrednim uszkodzeniem materiału genetycznego przez promieniowanie UVB. Stwierdzono, że ten rodzaj promieniowania jest wysoce mutagenny, bowiem kwasy nukleinowe stanowią naturalny chromofor dla promieniowania o długości fali 290–320 nm [4].

Efekty promieniowania UVA nie są zauważalne bezpośrednio. Jednak zgodnie z wynikami licznych badań mogą przyczyniać się do uszkodzenia DNA, poprzez inicjowanie powstawania wolnych rodników oraz reaktywnego tlenu. Zmiany te mogą pro-

products. The sophisticated methods used for evaluation of different factors which contribute to the cell damage are used in biochemical and pharmacological laboratories – e. g. level and function of phosphoprotein p53 [9], and immunological parameters [10].

In numerous articles the SPF factor is considered as the most useful parameter – in this method the correlation of *in vitro* measurements and *in vivo* data on erythema gives complex picture of the protective activity of assessed cream, lotion, oil, or another sun-protector in marketed formula [11]. The quality evaluation of commercial products still is developed – new study of Wang et al. shows the inconsistency in methods applied in USA, EU, and UK [12]. The new methods, proposed by researchers give some alternative to the animal testing of sunscreens and to the other traditional method, e.g. Garoli et al. proposed the Teflon plates, as alternative to the applied PMMA plates [13]. However for preliminary studies the basic information is shortened to the actual amount of absorbed UV radiation, when the substance is intended for application on the skin.

The application of Boots star rating system gives some insight into the protecting activity against the sun-light of the synthesized microgels. The results in the mentioned method rely on the measurements of absorbance/transmittance values in the range of UVA and UVB radiation. The rating is denoted in points expressed as star on the scale range between 290 nm and 400 nm. The scale is divided into two subsection – UVA range between 320 nm and 400 nm, and UVB range between 290–320 nm. Area under curve (AUC) is calculated for respective ranges. The method was modified for thermosensitive microspheres, and measurements were performed in a temperature below and over LCST expressed in Celsius degrees. The curve was evaluated in the terms of polynomial approximation, and the AUC was calculated applying respective integrals.

In contemporary studies on UV screens, the small particles, i.e. nanoparticles, were applied as sunscreens. Due to its small dimensions, the particles may attach to the skin surface, or penetrate it, exhibiting long term activity against the UV radiation. Between organic and inorganic materials applied in the form of micronized powders, the titanium dioxide, and zinc oxide play an important role [14].

In this research we approached the evaluation of thermosensitive microspheres as potential molecules for sunscreen formulations, using modified Boots star rating system.

wadzić do czerniaka [5, 6]. Na poziomie molekularnym liczne czynniki zaangażowane są w odpowiedź biologiczną, powstającą w wyniku oddziaływania promieniowania UV na skórę ludzką. Układ kinazy białkowej (Mitogen Activated Protein Kinase, MAPK) ma istotną rolę w procesach obronnych naskórka i naskórkowych keratynocytów w odpowiedzi na promieniowanie ultrafioletowe, uważane za jeden z najbardziej powszechnych i wysoko karcynogennych czynników [7]. Co ciekawe promieniowanie UVA i UVB stymuluje ekspresję cyklooksygenazy-2 w komórkach epidermalnych [8].

W ochronie przeciwsłonecznej wykorzystuje się substancje o aktywności ochronnej zarówno wobec promieniowania UVA, jak i UVB. Także testy wstępne powinny odzwierciedlać ten aspekt charakterystyki produktów przeciwsłonecznych. Skomplikowane metody są wykorzystywane w laboratoriach biochemicznych i farmakologicznych; uwzględniają one ocenę różnych czynników przyczyniających się do uszkodzenia komórki – np. poziom i funkcjonalność fosfoproteiny p53 [9], oraz parametrów immunologicznych [10].

W licznych pracach czynnik SPF jest uważany za najbardziej przydatny parametr oceny preparatu. W tej metodzie korelacja wyników *in vitro* i *in vivo*, obejmujących zmiany rumieniowe na skórze, pozwala na otrzymanie złożonego obrazu aktywności fotoprotekcyjnej ocenianego kremu, lotionu, oleju lub innej formy preparatu przeciwsłonecznego przeznaczonego do obrotu rynkowego [11].

Badania jakościowe produktów komercyjnych wciąż są rozwijane – nowsza publikacja Wang et al. wskazuje na rozbieżności pomiędzy metodami stosowanymi w USA, UE, oraz w Wielkiej Brytanii [12]. Nowe metody zaproponowane przez badaczy, pozwalają na uzyskanie testów alternatywnych wobec badań na zwierzętach i wobec innych dotychczas stosowanych metod, np. Garoli i wsp. zaproponowali płyty teflonowe, jako alternatywę dla dotychczas stosowanych płyt PMMA [13]. Jednakże w badaniach wstępnych, podstawową informację ogranicza się do ilości promieniowania UV absorbowanej przez substancję przeznaczoną do stosowania na skórę.

Zastosowanie metody „Boots star rating system” (BSRS), pozwala na uzyskanie informacji na temat aktywności protekcyjnej zszyntetyzowanych mikrożeli przeciwko promieniowaniu słonecznemu. Wyniki w opisywanej metodzie opierają się na pomiarach wartości absorbancji/transmitancji w zakresie promieniowania UVA i UVB. Ocena preparatu wyrażana jest w punktach („stars”), dla zakresu pomiędzy

MATERIALS

The modified thermosensitive microspheres, comparing to parallelly performed research [15] were synthesized in former study due to the method proposed i. a. by Pelton and Chibante[16], and developed by numerous authors [17,18]. The N-isopropylacrylamide polymers were synthesized with use of two different crosslinkers, and the effecting characteristics is attached in Fig. 1, as it was published before [19].

METHODS

Modified Boots star rating system

The application of Boots star rating system gives some insight into the protecting activity against the sun-light of the synthesized microgels. The results in the mentioned method rely on the measurements of absorbance/transmittance values in the range of UVA and UVB radiation. The rating is denoted in points expressed as star on the scale range between 290 nm and 400 nm. The scale is divided into two subsection – UVA range between 320 and 400 nm, and UVB range between 290–320 nm. Area under curve (AUC) is calculated for respective ranges.

The method was modified for thermosensitive microspheres, and measurements were performed in a temperature below and over LCST expressed in Celsius degrees. The curve was evaluated in the terms of polynomial approximation, and the AUC was calculated applying respective integrals.

We simplified the Boots star rating system [20, 21] using the standard 1 cm³ measurement samples in Perkin Elmer Spectrophotometer, in the ultraviolet

290 nm i 400 nm. Zakres dzieli się tutaj na dwa podzakresy – zakres UVA pomiędzy 320 nm i 400 nm, oraz zakres UVB pomiędzy 290 nm a 320 nm. Pole powierzchni pod krzywą (area under curve, AUC) jest obliczane dla odpowiednich zakresów. Metoda została zmodyfikowana dla termowrażliwych mikrosfer i pomiary prowadzono w temperaturze poniżej i powyżej LCST, wyrażonej w stopniach Celsjusza. Przebieg krzywej został przybliżony za pomocą aproksymacji wielomianowej, a AUC obliczono za pomocą odpowiednich całek w określonych granicach.

We współczesnych badaniach na temat środków ochrony przeciwsłonecznej małe cząstki, np. nanocząstki, wykorzystywano jako fotoprotektory. Dzięki ich małym rozmiarom mogą przylegać ściśle do skóry, lub penetrować jej warstwy i wykazywać długotrwałe działanie ochronne. Wśród materiałów organicznych i nieorganicznych, stosowanych w formie zmikronizowanych proszków, ważną rolę odgrywają tlenek tytanu i tlenek cynku [14].

W bieżących badaniach postanowiono przeprowadzić ocenę mikrosfer termowrażliwych, jako potencjalnych substancji do zastosowania w środkach ochrony przed promieniowaniem słonecznym, z zastosowaniem zmodyfikowanej metody BSRS.

MATERIAL

Zmodyfikowane w stosunku do równolegle prowadzonych badań [15] mikrosfery polimerowe zostały zsyntetyzowane w poprzednich badaniach, zgodnie z metodą zaproponowaną przez Pelton'a i Chibante [16], oraz rozwijaną przez licznych autorów [17, 18]. Polimer N-izopropylakryloamidu został zsyntetyzowany z zastosowaniem zróżnicowanych czyn-

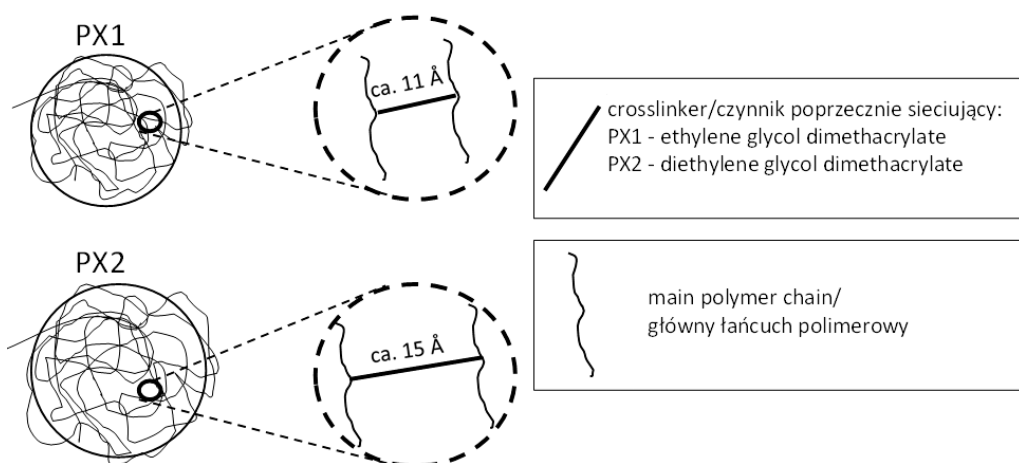


FIG. 1. Scheme of proposed characteristics of polymers applied in research

Ryc. 1. Schemat proponowanej charakterystyki badanych polimerów

let specter in the range between 290nm and 400 nm. The data were recorded and the areas under curve in spectra were calculated in following ranges: 290–320 nm for so called UVB range, and 320–400 nm in the so called UVA range. The ratio UVA/UVB was estimated after integral calculation of AUC. The Simpson rule was applied for the case. The samples of 1 cm³ and concentration of ca. 0,5% were placed in quartz quvette and analysed in the spectrophotometer – the consequent measurements were performed by every 1 nm, for increasing wavelength from 290 nm to 400 nm.

CRITICAL WAVELENGTH

The data from continuous measurements of the absorbance in the spectre range of 290–400 nm were analysed due to the modified Diffey method [22]. The wavelength of the sample, when the absorbance reached 90% of total AUC in the specified range of wavelengths, was evaluated as critical wavelength. The measurements were repeated five times and ANOVA was performed for gathered data.

RESULTS AND DISCUSSION

In Figures 2 and 3 represent the data from absorbance measurements are gathered. With the increase of the ϵ , at which the measurements were taken, the absorbance decreased. The absorbance was higher in the case of elevated temperature, and the highest difference in absorbance between low and high temperature was observed for MS1, when measured in the UVA range – Fig. 2A. The line consisting of small triangles on the abscissa represents the absorbance of another co-polymer with itaconic acid added during the polymerization. This polymer does not exhibit any significant absorbance in the assessed range, and was implemented to the graph for comparison.

The calculation of critical wavelengths enables evaluation of the obtained polymer in the terms of covering the wide range of UV spectrum. The data, gathered in the Table 1 indicate, that the assessed polymers may be considered as potential wide range sunscreens.

The results of modified Boot stars method are presented on the Fig. 4. As it is clear from the graph, the analyzed microsphere may fullfill the requirements of sun protective agents. Due to the defined rules, when the ratio of assessed UVA to assessed UVB absorbance is higher than 0,8 the preparation is

ników poprzecznie sieciujących, jak to przedstawiono na rycinie 1, zgodnie z wcześniej opublikowanymi wynikami [19].

METODY

Zmodyfikowana metoda BSRS

Zastosowanie zmodyfikowanej metody BSRS, pozwala na ocenę aktywności fotoprotekcyjnej zsynchronizowanych mikrożeli. Wyniki uzyskane w powyższej metodzie, opierają się na pomiarach wartości absorbancji/transmitancji w zakresie promieniowania UVA i UVB. Ocena wyrażana jest w punktach, oznaczanych czasem jako gwiazdki (stars), w badanym zakresie od 290 nm do 400 nm. Zakres pomiarów podzielony jest na dwa podzakresy – UVA dla długości fali pomiędzy 320 nm a 400 nm, oraz UVB dla długości fali pomiędzy 290 nm a 320 nm. Powierzchnia pod krzywą (area under curve, AUC) jest wyliczana dla odpowiednich zakresów.

Metodę zmodyfikowano dla przeprowadzenia badań z użyciem termowrażliwych mikrosfer: zastosowano dwie temperatury w czasie pomiarów, tj. poniżej i powyżej wartości LCST wyrażonej w stopniach Celsjusza. Uzyskane krzywe aproksymowano z wykorzystaniem metody wielomianowej, a następnie obliczano AUC, w celu wyznaczenia odpowiednich całek.

Metoda BSRS [20, 21] została w niniejszych badaniach uproszczona, poprzez zastosowanie próbek o objętości 1 cm³, w spektrofotometrze Perkin Elmer. Zakres długości fali wynosił 290 nm – 400 nm. Dane zbierano w dwóch zakresach długości fali; analogicznie obliczano AUC dla dwóch zakresów pomiarowych, tzn. dla zakresu 290–320 nm (zakres UVB), oraz dla zakresu 320–400 nm (zakres UVA). Stosunek UVA/UVB wyznaczano poprzez porównanie AUC obliczonych przez całkowanie w odpowiednich granicach, stosując wzór Simpsona. Próbkę o objętości ok. 1 cm³ i stężeniu ok. 0,5% umieszczano w kuwecie kwarcowej i poddawano naświetlaniu w spektrofotometrze. Pomiary prowadzono dla zakresu długości fali pomiędzy 290 nm a 400 nm, zwiększając wartość długości fali o 1 nm.

KRYTYCZNA DŁUGOŚĆ FALI

Wyniki otrzymane z pomiarów absorbancji w zakresie od 290–400 nm analizowano zgodnie z metodą podaną przez Diffey'a [22]. Kiedy wartość

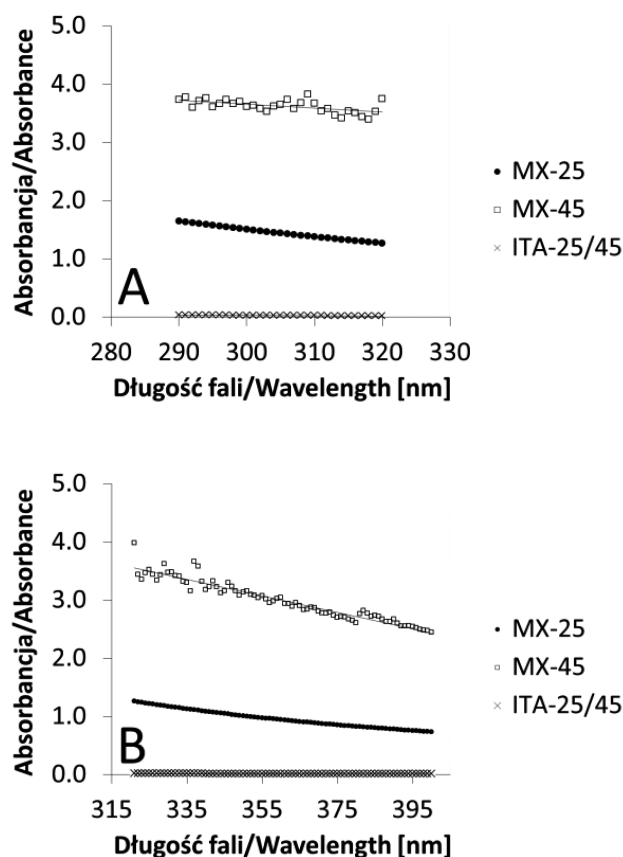


FIG 2. UV radiation absorbance by MX microspheres at temperature below and over LCST value. A – at UVB radiation, B – at UVA radiation

RYC. 2. Absorbancja promieniowania ultrafioletowego o zróżnicowanej długości fali przez rozproszenie mikrosfer typu MX w temperaturze poniżej oraz powyżej LCST. A – w zakresie promieniowania UVB. B – w zakresie promieniowania UVA

TABLE 1. Critical wavelength evaluated for assessed microspheres MX and DX, and for the ITA polymer at various temperatures

TABELA 1. Krytyczna długość fali obserwowana dla badanych mikrosfer MX i DX oraz dla polimeru ITA w zróżnicowanych temperaturach

Mikrosfery/ Microspheres	Temperature [°C]	
	25	45
MX	384 nm	386 nm
DX	383 nm	383 nm
ITA	382 nm	382 nm

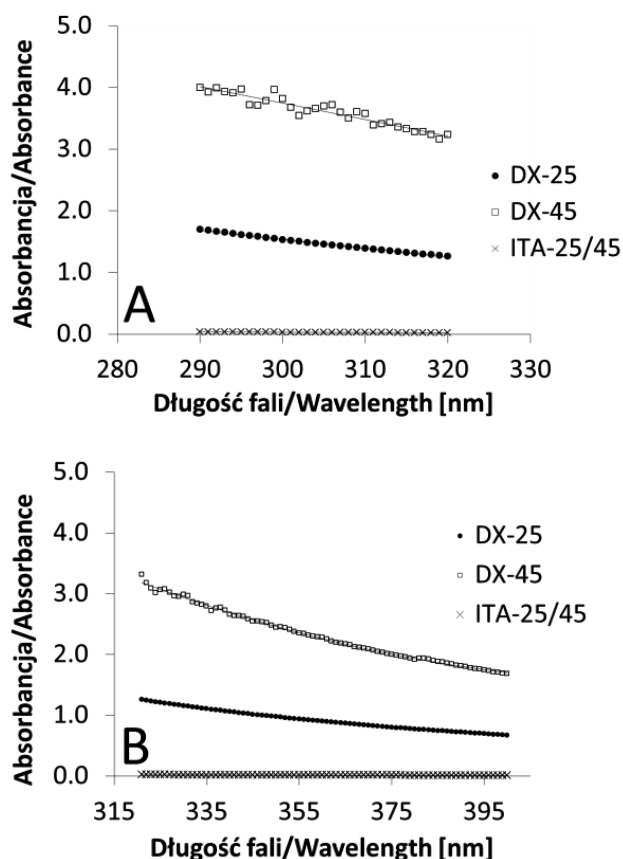


FIG. 3. UV radiation absorbance by DX microspheres at temperature below and over LCST value. A – at UVB radiation, B – at UVA radiation

RYC. 3. Absorbancja promieniowania ultrafioletowego o zróżnicowanej długości fali przez rozproszenie mikrosfer typu DX w temperaturze poniżej oraz powyżej LCST. A – w zakresie promieniowania UVB. B – w zakresie promieniowania UVA

absorbancji wyznaczonej w podany powyżej sposób osiągała 90% w stosunku do całości obliczonej absorbancji, w rozumieniu pola pod krzywą przyjmowano, że została osiągnięta wartość krytycznej długości fali (critical wavelength). Pomiary powtarzano pięciokrotnie i przeprowadzono dla nich analizę wariancji ANOVA.

WYNIKI I DYSKUSJA

Na rycinach 2 i 3 zebrane zostały dane z pomiarów absorbancji. Wraz ze wzrostem długości fali, przy których wykonywano pomiary, odczytywana absorbancja obniżała się. Absorbancja przybierała wyższe wartości w trakcie pomiarów prowadzonych w podwyższonej temperaturze, a największe różnice

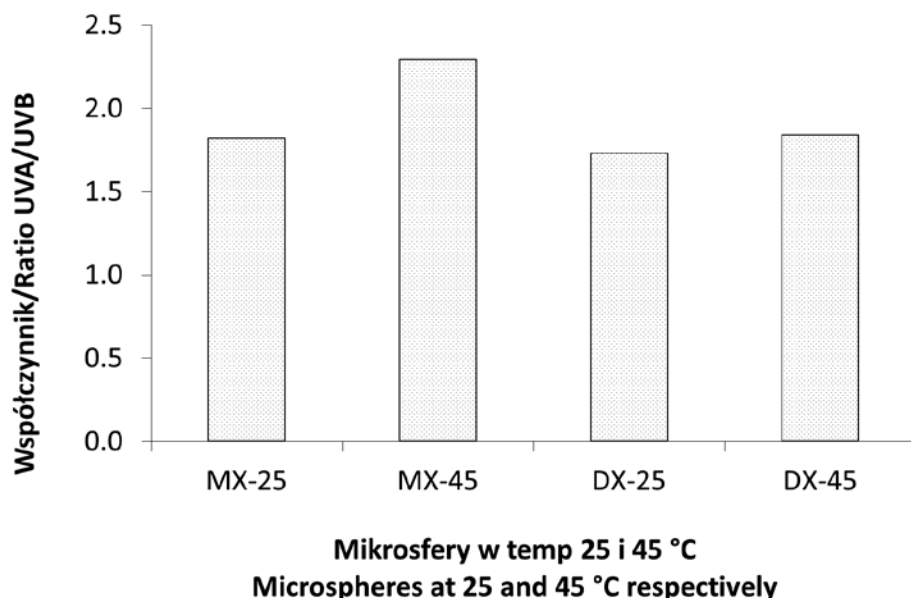


FIG. 4. Graphical representation of UVA/UVB ratio developed due to modified Boot's stars method for MX and DX microspheres

Ryc. 4. Graficzne przedstawienie stosunku UVA/UVB wyznaczonego wg zmodyfikowanej metody Boot Stars dla mikrosfer MX i DX

assigned as “four stars”, or “maximum” category [23]. The ratio increases when the polymer dispersion is heated, slightly more in the case of MX, comparing to DX.

The microspheres in aqueous dispersion exhibited potential protection activity against UV radiation in the terms of UV radiation absorbed by the dispersion. To facilitate the interpretation of data specific partial ratios were calculated: AUC for absorbance of UVA at 45°C to AUC for absorbance of UVA at 25°C, AUC for absorbance of UVB at 45 to AUC of absorbance of UVB at 25°C, and the common coefficient for the total assessed absorbance, i.e. AUC at 45°C to AUC at 25°C. Respective coefficients are presented in Table 2

The partial ratio for UVA indicates, that the protection activity of MX microspheres increases in higher extent comparing to the DX, when the temperature is elevated over LCST, from 25°C to 45°C. Oppositely, the increase of absorbed UVB light does not differ significantly, comparing heated MX microspheres, and heated DX microspheres. The summarized ratio indicates, that there is a slight difference between the two kinds of microspheres – the MX microspheres with shorter cross-linker chain seem to be more efficient in the terms of protective activity against the UV light.

TABLE 2. Selected parameters for description UV radiation absorbance by MX and DX preparations

TABELA 2. Wybrane parametry opisujące absorancję promieniowania nadfioletowego przez badane preparaty MX i DX

Mikrosfery/Microspheres		MX	DX
Parametr/ Parameter	UVA45/UVA25	3.34	2.51
	UVB45/UVB25	2.56	2.44
	UV45/UV25	2.99	2.54

między absorancją zanotowaną pomiędzy niską, a wysoką temperaturą pomiarów, zanotowano dla polimeru MX1 w zakresie pomiarów UV (ryc. 2A). Linia zaznaczona za pomocą trójkątów na poziomie osi X odpowiada wynikom absorancji, uzyskanych dla kopolimeru z dodatkiem kwasu itakonowego. Ten polimer nie wykazywał w badanym zakresie specyficznej absorancji i został umieszczony na wykresie dla porównania.

Obliczenia krytycznej długości fali umożliwiają ocenę otrzymanych polimerów w kontekście pokrycia szerokiego zakresu widma UV aktywnością ochronną. Dane zebrane w tabeli 1 wskazują, że badane polimery mogą mieć zastosowanie jako preparaty o szerokim zakresie działania ochronnego.

Wynik oceny z zastosowaniem zmodyfikowanej metody BSRS, przedstawiono na rycinie 4. Jak wynika z wykresu, badane mikrosfery mogą być ocenione jako czynniki o potencjalnym działaniu fotoprotekcyjnym. Zgodnie z określonymi zasadami, kiedy sto-

CONCLUSIONS

1. The microspheres, thermosensitive N-isopropylacrylamide derivatives, have potential protecting activity against UV radiation.
2. The MX and DX microspheres, derivatives of ethylene glycol dimethacrylate and diethylene glycol dimethacrylate respectively, due to their thermosensitivity exhibit increase in protecting activity when heated to 45°C.
3. The MX microspheres have higher increase in terms of UV absorbance, comparing to DX microspheres, when heated in the 25 to 45°C range.
4. Studied microspheres may be applied as components of sun-screens used in elevated temperatures.

This research was financed by a Marie Curie Transfer of Knowledge Fellowship of the European Community 6th Frame Program under contract no. MTKD-CT-2005-029540-POLYSURF, and made at the University of Maribor.

LITERATURE

- [1] KLIGMAN L. H., AKIN F. J., KLIGMAN A. M.: The contribution of UVA and UVB to Connective Tissue Damage in Hairless Mice. *J. Invest. Derm.* (1985), 3, 215–227.
- [2] HARGREAVES A., TAIWO F.A., DUGGAN O., KIRK S.H., AHMAD S.I.: Near-ultraviolet photolysis of b-phenylpyruvic acid generates free radicals and results in DNA damage. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* (2007), 89, 110–116.
- [3] DIFFEY B. L.: Sources and measurement of ultraviolet radiation. *Methods.* (2002), 28, 4–13.
- [4] ROSENSTEIN B. S., MITCHELL D. L.: Action spectra for the induction of pyrimidine(6–4)pyrimidine photoproducts and cyclobutane pyrimidine dimers in normal human skin fibroblasts. *Photochem. Photobiol.* (1987), 45, 775–780.
- [5] HAYWOOD R., WARDMAN P., SANDERS R., LINGE C.: Sunscreens Inadequately Protect Against Ultraviolet-A Induced Free Radicals in Skin: Implications for Skin Aging and Melanoma? *J. Invest. Dermatol.* (2003), 121, 862–868.
- [6] CEMELI E., BAUMGARTNER A., ANDERSON D.: Antioxidants and the Comet assay. *Mutat. Res.* (2009), 681, 51–67.
- [7] HILDESHEIM J., FORNACE A. J. Jr.: The dark side of light: the damaging effects of UV rays and the protective efforts of MAP kinase signaling in the epidermis. *DNA Repair* (2004), 3, 567–580.

sunek absorpcji w badanym preparacie dla zakresów odpowiednio UVA do UVB jest wyższy niż 0,8, preparat uzyskuje określenie „cztery punkty” („four stars”) lub kategorię maksymalną („maximum”) [23]. Współczynnik ten wzrasta wraz z podgrzewaniem dyspersji polimeru, nieco mniej w przypadku polimeru MX, porównując do DX.

Mikrosfery w rozproszonych wodnych wykazywały potencjalne działanie ochronne wobec promieniowania UV, zgodnie z wynikami absorpcji promieniowania UV przez badane dyspersje. W celu poszerzenia interpretacji otrzymanych danych obliczono cząstkowe współczynniki: stosunek pola pod krzywą (area under curve, AUC) dla UVA przy 45°C do AUC dla UVA przy 25°C, stosunek AUC dla UVB przy 45°C do AUC dla UVB przy 25°C, oraz wspólny współczynnik dla sumarycznego zakresu absorpcji, tj. stosunek AUC dla UV przy 45°C do AUC dla UV przy 25°C. Odpowiednie współczynniki zestawiono w tabeli 2.

Współczynnik cząstkowy dla zakresu UVA wskazuje, że aktywność ochronna mikrosfer MX wzrasta w większym stopniu niż mikrosfer DX wraz z podwyższaniem temperatury z 25°C do 45°C. Natomiast różnica pomiędzy wzrostem absorpcji po ogrzaniu w zakresie UVB jest niewielka, porównując mikrosfery MX i DX. Sumaryczny współczynnik wskazuje, że istnieje niewielka różnica pomiędzy aktywnością fotoprotekcyjną mikrosfer – MX, ze środków sieciującym o krótszym łańcuchu wydaje się być bardziej efektywny w sensie aktywności ochronnej wobec promieniowania UV.

WNIOSKI

1. Termowrażliwe mikrosfery, pochodne N-izopropylakrylamidu, charakteryzują się potencjalną aktywnością ochronną przeciwko promieniowaniu UV.
2. Mikrosfery serii MX i DX, pochodne odpowiednio: dimetakrylanu glikolu etylenowego oraz dimetakrylanu glikolu dietylenowego, charakteryzują się wzrostem aktywności fotoprotekcyjnej w zakresie UV, w przebiegu ogrzewania do temperatury 45°C.
3. Mikrosfery serii MX charakteryzują się większym przyrostem absorpcji w trakcie ogrzewania od 25°C do 45°C, w porównaniu z mikrosferami serii DX.
4. Badane mikrosfery mogą znaleźć zastosowanie jako preparaty światłoochronne stosowane w podwyższonych temperaturach.

- [8] MAHNS A., WOLBER R., STÄB F., KLOTZ L.-O., SIES H.: Contribution of UVB and UVA to UV-dependent stimulation of cyclooxygenase-2 expression in artificial epidermis. *Photochem. Photobiol. Sci.* (2004), 3, 257–262.
- [9] DAVENPORT V., MORRIS J. F., MOTAZED R., CHU A. C.: p53 induction in normal human skin in vitro following exposure to solar simulated UV and UV-B irradiation. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* (1999), 49, 177–186.
- [10] COOPER K.D., FOX P., NEISIS G., KATZ S.I.: Effects of ultraviolet radiation on human epidermal cell alloantigen presentation: initial depression of Langerhans' cell-dependent function is followed by the appearance of T6-Dr+ cells that enhance epidermal alloantigen presentation. *J. Immunol.* (1985), 134, 129–137.
- [11] WENDEL V., KLETTE E., WITTERN K.-P., GERSBARLAG H.: Pomiar stopnia ochrony przed promieniowaniem UVA. *SOFW-Journal.* (2002), 128, 20–23.
- [12] WANG S., STANFIELD J., OSTERWALDER U.: In vitro assessments of ultraviolet A light protection by popular sunscreens available in the United States. *J. Am. Acad. Dermatol.* (2008), 59, 934–942.
- [13] GAROLI D., GUGLIELMINA PELIZZO M., BERNARDINI B., NICOLOSI P., ALAIBAC M.: Sunscreen tests: Correspondence between in vitro data and values reported by the manufacturers. *J. Dermatol. Sci.* (2008), 52, 193–204.
- [14] CROSS S. E., INNES B., ROBERTS M. S., TSUZUKI T., ROBERTSON T. A., McCORMICK P.: Human Skin Penetration of Sunscreen Nanoparticles: In-vitro Assessment of a Novel Micronized Zinc Oxide Formulation. *Skin Pharmacol. Physiol.* (2007), 20, 148–154.
- [15] MUSIAŁ W., KOKOL V., VONCINA B.: Evaluation of thermosensitive microspheres as potential components for sun-protectors. *Polim. Med.* (2010), in print.
- [16] PELTON, R. H., CHIBANTE P.: Preparation of aqueous lattices with N-isopropylacrylamide. *Coll. Surf.* (1986), 20, (3), 247–256.
- [17] SNOWDEN M. J., VINCENT B.: The temperature-controlled flocculation of crosslinked 708 latex particles. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* (1992), 16, 1103–1105.
- [18] SAUNDERS B.R., VINCENT B.: Microgel particles as model colloids: theory, properties and applications. *Adv Colloid Interface Sci.* (1999), 80, 1–25.

Badanie zostało wykonane w ramach programu Marie Curie Transfer of Knowledge Fellowship of the European Community 6th Frame Programme, kontrakt nr MTKD-CT-2005-029540-POLYSURF, w Uniwersytecie w Mariborze.

Adres autorów

Uniwersytet w Mariborze
Wydział Materiałów Włókienniczych
Laboratorium Chemii Barwników i Polimerów
2000 Maribor, Smetanova 17, Słowenia
Tel: +386 2 220-7500, Fax: +386 2 220-7990
E-mail: bojana.voncina@uni-mb.si

Akademia Medyczna we Wrocławiu
Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku
50-139 Wrocław, ul. Szewska 38, Polska
Tel: +48 71 784-03-15, Fax +48 71 784-03-17
E-mail: witold@ktpl.am.wroc.pl

Author's address

University of Maribor
Department for Textile Materials and Design
Laboratory for Chemistry Dyes and Polymers
2000 Maribor, Smetanova Str. 17, Slovenia
Tel: +386 2 220-7500, Fax: +386 2 220-7990
E-mail: bojana.voncina@uni-mb.si

Wroclaw Medical University
Chair and Department of Pharmaceutical Technology
50-139 Wrocław, Szewska Str. 38, Poland
Tel: +48 71 784-03-15, Fax +48 71 784-03-17
E-mail: witold@ktpl.am.wroc.pl

- [19] MUSIAŁ W., VINCENT B., SZUMNY A., VONCINA B.: The morphological characteristics of modified freeze-dried N-1 isopropylacrylamide microspheres. *Chem. Pap.* (2010), in press.
- [20] Measurement of UVA:UVB ratio according to the Boots star rating system (2008 revision). Nottingham (UK): Boots UK Ltd; 2008.
- [21] BROWN M.: Of Cassiopeia and five stars.: 2010-A Sun Odyssey. 2005, London (UK)
- [22] DIFFEY B.: A method for broad-spectrum classification of sunscreens. *Int. J. Cosmet. Sci.* (1994), 16, 47–52.
- [23] SPRINGSTEEN A., YUREK R., FRAZIER M., CARR K. F.: In vitro measurement of sun protection factor of sunscreens by diffuse transmittance. *Analyt. Chim. Acta.* (1999), 380, 155–164.

