

功能材料

查耳酮衍生物接枝改性的聚硅氧烷 UVA 滤光剂

吴凡^{1,2}, 陈凤凤^{1,2}, 刘春环^{1,2}, 杨成^{1,2*}

(1. 江南大学 化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214026; 2. 合成与生物胶体教育部重点实验室, 江苏 无锡 214026)

摘要: 制备了查耳酮衍生物(*E*)-3-(4-烯丙氧基)苯基-1-苯基丙-2-烯-1-酮(Blank-Cha), (*E*)-3-(4-烯丙氧基)苯基-1-(4-羟基苯基)丙-2-烯-1-酮(Oxhydrolyl-Cha)和(*E*)-3-(4-烯丙氧基)苯基-1-(4-甲氧基苯基)丙-2-烯-1-酮(Methoxy-Cha)。再通过硅氢加成反应将Methoxy-Cha接枝到含氢硅油链上, 制备了聚硅氧烷UVA滤光剂(WPUF)。采用NMR、LC-MS及FTIR鉴定产物化学结构, 通过UV吸收光谱测试了WPUF的性能, 考察了不同取代基对查耳酮衍生物的UV吸收性能和细胞毒性的影响。结果表明, 查耳酮衍生物和WPUF已成功制备。查耳酮衍生物摩尔吸光系数>10000 L/(mol·cm), Methoxy-Cha的细胞毒性最低; 避光6个月和90 °C加热12 h后WPUF的化学结构无变化, 模拟阳光照射240 min后UVA吸收能力仅损失30.46%, 且WPUF在质量浓度≤250 mg/L下未表现出细胞毒性。体外皮肤穿透实验显示, WPUF角质层平均渗透深度为11 μm。体外测定WPUF的防晒指数为36.21, 与商用防晒剂相当。

关键词: 聚硅氧烷; 查耳酮; UVA滤光剂; 皮肤渗透; 稳定性; 细胞毒性; 功能材料

中图分类号: TQ658.24 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214(2023)09-1934-09

Chalcone derivatives graft-modified polysiloxane UVA filters

WU Fan^{1,2}, CHEN Fengfeng^{1,2}, LIU Chunhuan^{1,2}, YANG Cheng^{1,2*}

(1. School of Chemical and Materials Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214026, Jiangsu, China; 2. Key Laboratory of Synthesis and Biocolloids, Ministry of Education, Wuxi 214026, Jiangsu, China)

Abstract: Chalcone derivatives (*E*)-3-[4-(allyloxy)phenyl]-1-phenylprop-2-en-1-one (Blank-Cha), (*E*)-3-[4-(allyloxy)phenyl]-1-(4-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one (Oxhydrolyl-Cha) and (*E*)-3-[4-(allyloxy)phenyl]-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (Methoxy-Cha) were firstly prepared. Then, polysiloxane UVA filter (WPUF) was synthesized by grafting Methoxy-Cha onto polymethylhydrosiloxane chain *via* silica-hydrogen addition reaction. The chemical structures of products obtained were identified by NMR, LC-MS and FTIR, while the properties of WPUF were analyzed by UV adsorption spectrum. The effects of different substituents on the UV absorption properties and cytotoxicity of chalcone derivatives were further investigated. The results showed that the chalcone derivatives and WPUF were successfully synthesized. All chalcone derivatives exhibited a molar absorbance coefficient >10000 L/(mol·cm), and Methoxy-Cha showed the least cytotoxicity. The chemical structure of WPUF did not change after being stored in the dark for 6 months and heated at 90 °C for 12 h. The loss of UVA absorption capacity was only 30.46% after being exposed to simulated sunlight for 240 min. Moreover, WPUF did not exhibit cytotoxicity at a mass concentration ≤250 mg/L. *In vitro* penetration test revealed that an average penetration depth of 11 μm in the stratum corneum of WPUF. Sun protection factor of WPUF determined *in vitro* was 36.21, which was comparable to commercial sunscreens.

Key words: polysiloxane; chalcone; UVA filter; skin penetration; stability; cytotoxicity; function materials

收稿日期: 2022-11-24; 定用日期: 2023-02-03; DOI: 10.13550/j.jxhg.20221074

基金项目: 中国博士后科学基金面上资助项目(2021M701464); 江苏省自然科学基金青年项目(BK20221069)

作者简介: 吴凡(1997—), 男, 硕士生, E-mail: wufan9707@qq.com。联系人: 杨成(1970—), 男, 教授, E-mail: cyang@jiangnan.edu.cn。

阳光紫外线的危害众所周知,其中长波紫外线(UVA)(320~400 nm)的能量约是中波紫外线(UVB)(290~320 nm)的15倍^[1],强大的皮肤穿透能力使UVA容易到达真皮层,造成皮肤晒黑、老化,甚至细胞癌变^[2-4],UVA已成为每天潜伏在人类身边的健康杀手。但现有的防晒产品对UVA波段提供稳定保护的成分种类仍较少^[5]。常用于反射或散射UVA的纳米ZnO颗粒也由于光腐蚀作用而受到限制,纳米ZnO颗粒的大量添加会使防晒乳液不易抹匀^[6]。同时,有机防晒剂容易从膏霜中结晶析出^[7],配方相容性差,难以协调良好的肤感和充分的UVA防护^[8]。另外,小分子有机防晒剂透皮吸收进入人体循环后也可能产生不良的生理影响^[9-11]。查耳酮广泛存在于天然植物中^[12-14]。芳香醛与芳香酮衍生物经Claisen-Schmidt反应能合成查耳酮衍生物^[15-16]。查耳酮常作为杀菌、抗炎和抗氧化药物^[14,16-18],近年来多集中于其抗肿瘤活性的研究^[19-23]。LUCIA等^[24]研究发现,查耳酮衍生物在紫外区340~390 nm范围内有强吸收带,符合UVA滤光剂要求。但查耳酮结构中的 α,β -不饱和羰基易受光催化发生 $[2\pi+2\pi]$ 环加成反应(又称光交联反应)而导致UVA吸收能力在60 min内消失^[25-28],所以鲜有查耳酮作为滤光剂的报道,系统性防晒性能的研究更为罕见。查耳酮类化合物常用苯、氯代甲烷等有毒有害溶剂来溶解,在水中几乎不溶,也不易溶于化妆品配方中常用的油脂^[29-32]。所以,可从抑制查耳酮的光交联反应和改善其溶解性方面入手,制备性能优异的UVA滤光剂。

为利用查耳酮的紫外吸收特性,弥补其应用缺陷,本文拟采用Williamson醚合成法和Claisen-Schmidt反应两步法来合成查耳酮衍生物,在查耳酮衍生物结构中引入烯丙氧基,其不饱和双键通过硅氢加成反应接枝到含氢硅油上,制得液态UVA高分子滤光剂WPUF,并进行系统应用研究,以期得到在UVA吸收能力、稳定性、溶解性和安全性等方面性能优异的查耳酮滤光剂,为新品种日用UVA滤光剂开发提供理论参考。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

对羟基苯甲醛、3-溴丙烯、无水 K_2CO_3 、无水 Na_2SO_4 、苯乙酮、对羟基苯乙酮、对甲氧基苯乙酮,AR,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;氯铂酸六水合物、噻唑蓝(MTT)、尼罗红、5-羧基荧光素,AR,上海阿达玛斯试剂有限公司;无水丙酮、无水乙醇、NaOH、吐温80、异丙醇、浓盐酸、二甲基

亚砷(DMSO)、氘代二甲基亚砷〔DMSO- d_6 ,含内标四甲基硅烷(TMS)〕、氘代氯仿($CDCl_3$,含TMS),AR,国药集团化学试剂有限公司;含氢量0.75%的含氢硅油(PHMS),工业级,安比亚特种有机硅有限公司;烯丙基聚醚(APEG-400),工业级,江苏海安石油化工厂;DMEM高糖培养基,磷酸盐缓冲溶液(PBS,pH=7.4,下同),胎牛血清,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;甲氧基肉桂酸乙基己酯,AR,上海麦克林生化科技股份有限公司;聚硅氧烷-15,荷兰皇家帝斯曼集团(DSM);去离子水,自制;人永生角质形成细胞(HaCaT细胞),中国科学院上海细胞库,本实验室传代保存;新鲜猪皮,无锡雪浪市场。

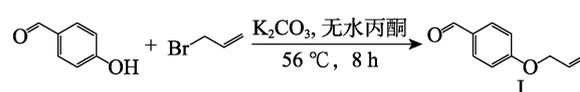
AVANCE III HD 400 MHz核磁共振波谱仪,瑞士Bruker公司;Nicolet 6700全反射傅里叶变换红外光谱仪,美国赛默飞世尔科技有限公司;UV-1800紫外-可见分光光度计,中国AOE公司;MALDI SYNAPT G2-Si MS高分辨率质谱仪,美国Waters公司;Synergy H1酶标仪,美国BioTek仪器有限公司;CM1950冷冻切片机,徕卡显微系统(上海)贸易有限公司;TCS SP8激光共聚焦显微镜,德国Leica公司;UV-2000紫外线分析仪(含有机玻璃PMMA板),美国蓝菲光学有限公司;230 V(300 W)模拟太阳灯,德国Osram照明有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 查耳酮衍生物的合成

向100 mL配有机械搅拌、蛇形冷凝管的三口烧瓶中加入对羟基苯甲醛(12.2 g, 0.1 mol),无水 K_2CO_3 (13.8 g, 0.1 mol),无水丙酮50 mL。搅拌加热回流(56 °C)后,逐滴滴加3-溴丙烯(12.1 g, 0.1 mol),保持回流反应8 h。反应结束后冷却至室温,过滤除去 K_2CO_3 ,室温旋蒸浓缩滤液后得到粗产物,用无水 Na_2SO_4 干燥后,柱层析纯化产物〔洗脱剂为 V (乙酸乙酯): V (石油醚)=1:4〕,得到浅黄色透明液体4-烯丙氧基苯甲醛(I),收率72.3%。¹HNMR($CDCl_3$, 400 MHz), δ : 9.88 (s, 1H, O=CH), 7.87~7.79 (m, 2H, Ar—H), 7.06~6.98 (m, 2H, Ar—H), 6.05 (m, J = 17.2 Hz, 1H, =CH), 5.44 (dd, J = 17.2、1.6 Hz, 1H, =CH₂), 5.33 (dd, J = 10.5、1.4 Hz, 1H, =CH₂), 4.63 (d, J = 5.3 Hz, 2H, CH₂); ¹³CNMR($CDCl_3$, 101 MHz), δ : 190.79, 163.62, 132.30, 131.96 (2C), 130.05, 118.34, 115.02 (2C), 69.01。LC-MS (ESI), m/z : [$C_{10}H_{10}O_2+H$]⁺理论值163.0681, 实测值163.0824。

合成路线如下:



1.2.2 WPUF的合成

将 1.50 g PHMS、0.294 g (0.001 mol) Methoxy-Cha、5.00 g (0.0125 mol) APEG-400 和 20 mL 异丙醇加入 100 mL 三颈烧瓶中,并在 70 °C 下搅拌 15 min。加入 0.15 mL 质量浓度为 0.5 g/L 氯铂酸异丙醇溶液,逐渐加热到 90 °C 并保持 6 h。冷却到室温后加入 0.002 mol/L 的 NaOH 溶液 0.1 mL,在 40 °C 下旋干溶剂,得到 WPUF。

1.2.3 表征方法

¹HNMR、¹³CNMR 测试:对制备的 4-烯丙氧基苯甲醛、Blank-Cha、Oxhydryl-Cha、Methoxy-Cha 进行测定,其中 Oxhydryl-Cha 使用 DMSO-*d*₆ 为溶剂,其余使用 CDCl₃ 作为溶剂,TMS 为内标。

LC-MS 测试:配制质量浓度为 0.01~0.1 g/L 的查耳酮衍生物甲醇溶液,经 LC-MS 检测。准分子离子峰作为产物结构鉴定的依据 (ESI, *m/z*)。

FTIR 测试:对 Methoxy-Cha、APEG-400、PHMS、WPUF 进行 FTIR 测试,波数范围为 4000~500 cm⁻¹,扫描 16 次。

UV 吸收光谱测试:根据 SHAATH^[33]报道的世界各国允许使用的紫外滤光剂化学光学性质测试方法,以无水乙醇为溶剂,将原料配制成 4.54×10⁻⁵ mol/L 的溶液,在波长 250~420 nm 内进行测定,绘制紫外吸收曲线,根据朗伯-比尔定律公式 (1) 分析计算各项 UV 参数:

$$A = \lg(1/T) = Kbc \quad (1)$$

式中: *A* 为吸光度; *T* 为透光率,%; *K* 为摩尔消光系数,也可用 ϵ 表示, L/(mol·cm); *b* 为吸收层厚度, cm; *c* 为待测物质的浓度, mol/L。

WPUF 稀释成质量浓度为 0.4 g/L 的溶液,进行 UV 吸收光谱与稳定性 UV 吸收光谱测试,临界波长用式 (2) 进行计算:

$$90\% = \frac{\int_{290}^{\lambda_c} A(\lambda)d\lambda}{\int_{290}^{400} A(\lambda)d\lambda} \quad (2)$$

式中: λ_c 为临界波长, nm; *A* 为吸光度; λ 为波长, nm。

1.2.4 WPUF 的稳定性测试

溶液配制:以无水乙醇为溶剂,将 WPUF 配制质量浓度为 0.4 g/L 的溶液待用。

储藏稳定性测试:将密封好的溶液置于避光、相对湿度 50%±10% 的室温环境下,每个月取样 1 次,使用紫外-可见分光光度计测定 250~420 nm 范围的吸光度。储存 6 个月。

热稳定性测试:将密封好的溶液置于 90 °C 的环境下加热,每隔 2 h 取样 1 次,使用紫外-可见分光光度计测定 250~420 nm 范围的吸光度。加热 12 h。

光稳定性测试:使用模拟太阳灯,以太阳强度 0.2 mW/cm² 稳定照射密封好的溶液,前 0.5 h 内每

隔 5 min 取样 1 次,0.5 h 后每隔 0.5 h 取样 1 次,使用紫外-可见分光光度计测定 250~420 nm 范围的吸光度,共照射 4 h。

1.2.5 细胞毒性实验

使用 HaCaT 细胞对 3 种不同取代基的查耳酮衍生物以及 WPUF 进行细胞毒性实验,使用的培养基为 DMEM 高糖培养基。将 HaCaT 细胞悬浮液接种于 96 孔板中,保证每孔 100 μ L,每孔细胞数量约 1×10⁴ 个。在 37 °C、体积分数 5% CO₂、相对湿度 95% 的标准培养环境下培养 24 h 后去除培养基。向分组的孔中加入配制好的梯度浓度样品的 DMEM 溶液,每孔 100 μ L,在同样的标准培养环境下继续培养 24 h 后去除培养基。最后,向每个孔里加入质量浓度 0.3 g/L MTT 的新鲜 DMEM 溶液,每孔 100 μ L,避光培养 4 h,在观察到细胞中生成蓝紫色晶体后去除培养基,每孔中加入 100 μ L DMSO,充分振荡溶解甲瓚结晶后,使用酶标仪测定每孔内甲瓚溶液在 570 nm 处的吸光度,用式 (3) 计算细胞存活率 (%):

$$\text{细胞存活率}/\% = \frac{\text{OD}_{\text{exp}}}{\text{OD}_{\text{ctr}}} \times 100 \quad (3)$$

式中: OD_{exp} 为实验组吸光度; OD_{ctr} 为对照组吸光度。

1.2.6 体外皮肤穿透实验

取一块完整的猪皮,用镊子去除表面的细毛,用手术刀去除皮下脂肪。猪皮冲洗干净后,用锡纸包裹,并在 -20 °C 下储存。处理后的猪皮用 PBS 解冻 20 min,角质层朝上, PBS 不没过角质层即可,解冻后切成所需大小 (约 2.5 cm×2.5 cm 正方形)。测试使用单层猪皮,猪皮上有角质层的一面朝向供体腔。受体室内加满 PBS (含质量分数 5% 的吐温 80)。供体腔内加入 1 g 以尼罗红标记的甲氧基肉桂酸乙基己酯和 1 g 以 5-羧基荧光素标记的 WPUF 用于测试对猪皮的渗透性。每组 3 个平行样品。受体室在 37 °C 的水浴中维持 12 h,实验期间搅拌速率为 300 r/min。12 h 后将猪皮从扩散池中取出。剩余样品通过洗涤和用脱脂棉轻轻擦拭猪皮表面去除。把猪皮用冷冻切片机切成 20 μ m 厚的切片,通过激光共聚焦显微镜对其截面荧光强度及深度进行表征分析。5-羧基荧光素激发波长为 488 nm;发射波长为 520~530 nm。尼罗红激发波长为 530 nm;发射波长为 571~741 nm。

1.2.7 防晒指数 (SPF) 测试

在特制的 PMMA 板的磨砂面上分别均匀涂抹聚硅氧烷-15 和 WPUF 试样 2 mg/cm²,避光晾干 30 min 后,在 PMMA 板上方 10 mm 处,利用紫外线分析仪在 250~450 nm 波长范围内测定板上的 5 个位置,平均值为该板上防晒剂的 SPF,每块板进行 3 次平行检测,最终平均值表示为防晒剂的最终 SPF。

2 结果与讨论

2.1 查耳酮衍生物的合成

合成查耳酮衍生物的第一步 Williamson 醚合成反应只需在 56 °C 下进行, 第二步 Claisen-Schmidt 反应在室温下即可进行。合成方法具有能耗低、操作简便的优点, 适合于大规模工业化生产。合成产物的化学结构经 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$ 和 LC-MS 鉴定。

2.2 取代基对查耳酮衍生物 UV 性能的影响

查耳酮衍生物结构中的两个芳环由共轭的羰基和碳-碳双键连接, 形成了一个长而连续共轭体系, 氧杂原子和丰富的不饱和键提供了大量 n 电子和 π 电子, 它们相互间的共轭作用大大降低了电子跃迁至 π^* 轨道所需的能量, 使电子跃迁所吸收的波长处于 UVB~UVA 波段所对应的范围内。图 1 为查耳酮衍生物的 UV 吸收光谱。

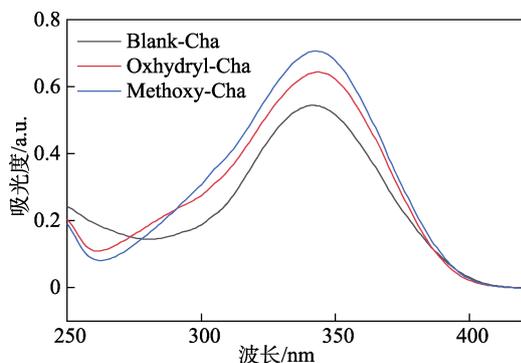


图 1 查耳酮衍生物的 UV 吸收光谱

Fig. 1 UV absorption spectra of chalcone derivatives

由图 1 可知, 处于最大吸收波长 (λ_{\max}) 附近的吸收带是查耳酮衍生物所特有的 E 吸收带, 是由 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁而产生的强吸收带^[24,34], 这种电子跃迁形式是跃迁概率较大或中等的允许跃迁, 其产生的吸收直到接近 400 nm 处才基本消失, 在几乎整个 UVA 范围内都有吸收能力, 覆盖范围广。同时在 250~320 nm 内, 这类查耳酮衍生物同样具有吸收效果, 这种稍弱的吸收主要来自于羰基中氧原子的 $n \rightarrow \pi^*$ 禁阻跃迁和共轭导致苯环 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁的 B 吸收带红移至此发生叠加的结果。整体而言, 查耳酮衍生物在 UVB~UVA 波段内吸收范围宽, 属于广谱吸收, 这一特性使其具有了作为紫外线吸收剂的应用潜力。

表 1 为所合成的 3 种查耳酮衍生物的各项 UV 参数。其中, $E_{1,1}$ 为 λ_{\max} 下的比消光系数, 表示质量分数 1% 防晒剂溶液 (或悬浮液) 下 1 cm 光程分散体系的消光系数, 100 mL/(g·cm); K 值为防晒制品工业用作比较化学防晒剂效率的数值, 是质量浓度为 1 g/L 乙醇溶液在 1 cm 厚样品池的最大吸收值; a_i 为单个防晒剂分子的有效吸收截面积, cm^2 。

表 1 3 种查耳酮衍生物的 UV 参数

Table 1 UV parameters of three chalcone derivatives

取代基	λ_{\max}/nm	$\varepsilon/[\text{L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})]$	$E_{1,1}/[100\text{ mL}/(\text{g}\cdot\text{cm})]$	K 值	$a_i/(\times 10^{-17}\text{ cm}^2)$
无	341	12004	456	46	4.59
羟基	343	14163	505	51	5.42
甲氧基	343	15573	529	53	5.96

由表 1 中各项参数变化规律可知, 当苯乙酮衍生物的苯环上有助色团时, 分子在 λ_{\max} 处的吸收值明显增强, 有效吸收截面积也相应增大。甲氧基的助色能力比羟基强, 因为甲氧基的给电子能力强于羟基。从图 1 还可以看到, 合成的查耳酮衍生物中的助色团增强了 λ_{\max} 处的吸收强度, 但红移效应不显著, 这可能是由于所研究的助色团的电子共轭效应较弱。查耳酮衍生物摩尔吸光系数 $> 10000\text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$ 。

理想的紫外线吸收剂不仅需要较强的吸收能力, 而且细胞毒性也不宜过高。图 2 为 3 种查耳酮衍生物的细胞毒性测试结果。

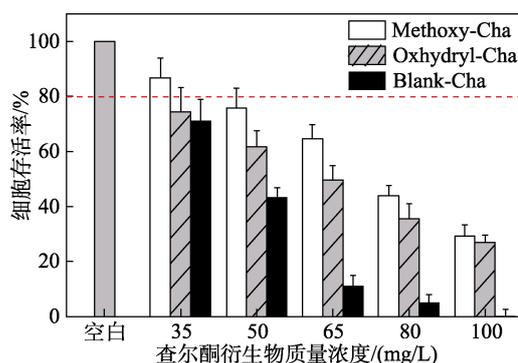


图 2 查耳酮衍生物的细胞毒性

Fig. 2 Cytotoxicity of chalcone derivatives

由图 2 可知, 在相同质量浓度下, Methoxy-Cha 处理的样本显示出最高的细胞存活率。在 Methoxy-Cha 质量浓度为 35 mg/L 时, 细胞存活率在 80% 以上, 说明 Methoxy-Cha 的质量浓度在 35 mg/L 以下没有表现出明显的细胞毒性。

细胞毒性的差异与取代基有关。亲脂性强的裸露苯环与活细胞接触后, 容易刺穿细胞膜, 参与生化反应。如果苯环上有取代基, 在共轭作用的影响下, 生化反应更容易发生在取代基上, 所以酚羟基可以转化为诱发突变的物质, 但由于其有一定亲水性, 更难进入细胞^[35-40]。由图 2 还可以发现, 甲氧基取代的查耳酮衍生物表现出最低的细胞毒性。由于 Methoxy-Cha 的 $\lambda_{\max}=343\text{ nm}$, $\varepsilon=15573\text{ L}/(\text{mol}\cdot\text{cm})$, 综合考虑紫外吸收性能和细胞毒性, 选择其进一步制备 WPUF。

2.3 WPUF 的合成和表征

利用硅氢加成反应制备 WPUF。并通过 FTIR 和 ^1H NMR 对原料和产物的化学结构进行表征。图 3 为各原料和产物 WPUF 的 FTIR 谱图。

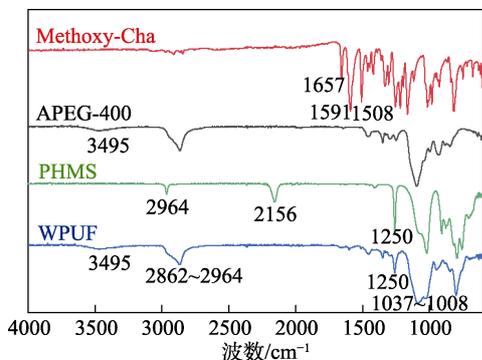


图 3 Methoxy-Cha、APEG-400、PHMS 与 WPUF 的 FTIR 谱图

Fig. 3 FTIR spectra of Methoxy-Cha, APEG-400, PHMS and WPUF

由图 3 可见, WPUF 中没有出现 PHMS 在 2156 cm^{-1} 处的 Si—H 键的吸收峰, 而出现了归属于查耳酮衍生物的 C=C 键和苯环的 1657 、 1591 和 1508 cm^{-1} 的特征吸收峰, 表明查耳酮衍生物已经成功接枝在 PHMS 上。另外, WPUF 位于 3495 cm^{-1} 处的吸收峰是由—OH 产生的, 表明 APEG-400 也已接枝在 PHMS 上; 这一结论也可以通过 $1008\sim 1037\text{ cm}^{-1}$ 处的 C—O—C 和 Si—O—Si 键的特征吸收峰的拓宽得到验证。

图 4 为 WPUF 的 ^1H NMR 谱图。

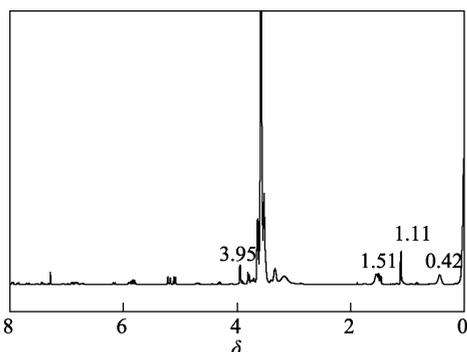


图 4 WPUF 的 ^1H NMR 谱图

Fig. 4 ^1H NMR spectrum of WPUF

由图 4 可见, 只有当 Methoxy-Cha 和 APEG-400 接枝上 PHMS 时, 才会出现 $\delta=0.42$ 、 1.11 、 1.51 和 3.95 氢质子化学位移。这与 WPUF 的 FTIR 测试结果一致。Methoxy-Cha 是疏水的结晶粉末, 也难溶于大多数化妆品油脂。然而, WPUF 是一种透明液体易溶于水, 改善了查耳酮衍生物溶解性差而难以分散的缺陷。

图 5 为 WPUF 的 UV 吸收光谱。

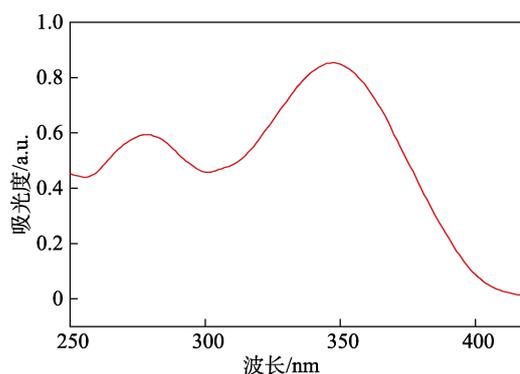


图 5 WPUF 的 UV 吸收光谱

Fig. 5 UV absorption spectrum of WPUF

由图 5 可见, 在 280 nm 左右有一个新的峰, 这是因为查耳酮衍生物的部分 α,β -不饱和羰基被催化发生硅氢加成^[41]。这种反应破坏了原来的共轭结构, 导致吸收峰部分蓝移到此处。因此, 与小分子查耳酮衍生物相比, 接枝增强了 WPUF 在 UVB 范围内的吸收, 从而提高了 WPUF 的全光谱保护。由于自身苯环和链上相邻的 APEG-400 的空间位阻, λ_{max} 仍位于 342 nm , 说明 WPUF 依旧具有较强的 UVA 吸收能力。WPUF 在 $290\sim 400\text{ nm}$ 区间积分计算得 $\lambda_{\text{c}}=376\text{ nm}$ 。对于防晒产品来说, $\lambda_{\text{c}}\geq 370\text{ nm}$ 可以被标示为广谱防晒剂, 因此 WPUF 可以被视为广谱防晒剂。

考虑到查耳酮衍生物的高摩尔吸收率和 α,β -不饱和羰基的不稳定结构, 有必要研究 PHMS 链上不同接枝比例对 WPUF 性能的影响。图 6 为不同质量分数 Methoxy-Cha 的 WPUF 的 UV 吸收光谱。图 6 中在 UVA 范围内的吸收峰 1 最高点处的吸光度用 IP_1 表示, 在短波紫外线 (UVC) ~UVB 范围内的吸收峰 2 最高点处的吸光度用 IP_2 表示。

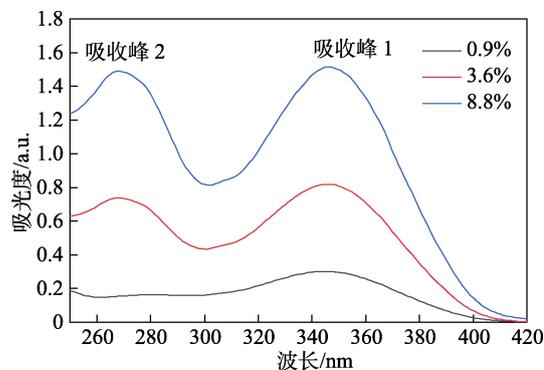


图 6 不同查耳酮衍生物质量分数的 WPUF 的 UV 吸收光谱

Fig. 6 UV absorption spectra of WPUF with different mass fractions of chalcone derivatives

由图 6 可见, 随着 Methoxy-Cha 质量分数的增加, IP_1/IP_2 的比值下降, IP_2 逐渐增加, 接近 IP_1 。

当 Methoxy-Cha 的质量分数为 8.8% 时, IP_1/IP_2 的比值接近 1。为确保 UVA 范围内的吸收能力不受影响, WPUF 中 Methoxy-Cha 的质量分数应 $\leq 8.8\%$ 。

2.4 WPUF 的稳定性

图 7~9 为 WPUF 在室温、高温和模拟阳光照射下的 UV 吸收光谱。图 7 为室温下储存稳定性的探究结果。

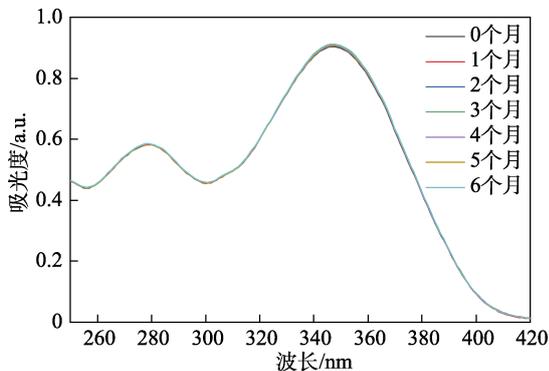


图 7 室温下储存 6 个月 WPUF 的 UV 吸收光谱
Fig. 7 UV absorption spectra of WPUF stored at room temperature for six months

由图 7 可见, 室温避光条件下不同储存时间 (0~6 个月) 对应的谱线几乎重叠, 表明在该储存条件下, WPUF 具有良好的结构稳定性。

图 8 为 WPUF 在 90 °C 下稳定性的实验结果。

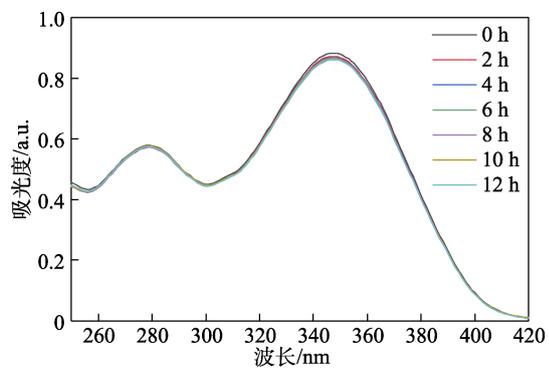


图 8 WPUF 在 90 °C 下加热不同时间的 UV 吸收光谱
Fig. 8 UV absorption spectra of WPUF at 90 °C heating for different time

由图 8 可见, WPUF 在 90 °C 下加热不同时间 (0~12 h) 的 UV 吸收光谱几乎重叠。此外, 在正常生产、日常使用和储存的条件下, 几乎不存在如此苛刻的条件。因此, 可以认为 WPUF 的化学结构具有良好的热稳定性。

图 9 为 WPUF 的光稳定性实验结果。由图 9 可以发现, UVA 波段的吸收能力在光照的前 5 min 内急剧下降, 5 min 后减缓, 240 min 后在 λ_{max} 处的最大值减少了 30.46%。同时, UVB 和 UVC 波段的吸收增强, 这是由于查耳酮衍生物中两个 α,β -不饱和

羰基在紫外线照射下发生了如图 10 所示的 $[2\pi+2\pi]$ 环加成反应^[42-44], 所以可推测同一链上邻近的 Methoxy-Cha 分子可能在前 5 min 内基本消耗。反应结束后, 侧链的阻碍使剩余的 Methoxy-Cha 难以相互接触, 在一定程度上保持空间相对独立, 有效减缓了剧烈的环加成反应, 增强了光稳定性, 所以 UVA 吸收能力不会在 60 min 内耗尽。WPUF 的结构抑制了小分子查耳酮的光交联反应。据文献^[45-47]报道, 典型的商用 UVA 吸收剂阿伏苯宗在光照 60 min 后的剩余吸收能力仅 30% 左右, 而且大量的分子发生光降解反应。WPUF 则因其空间结构和化学特性而避免了这种问题。

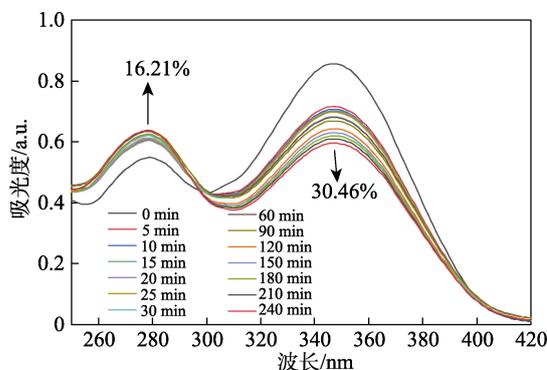


图 9 0.2 mW/cm² 紫外强度下辐照不同时间的 WPUF 的 UV 吸收光谱

Fig. 9 UV absorption spectra of WPUF irradiated at 0.2 mW/cm² for different time

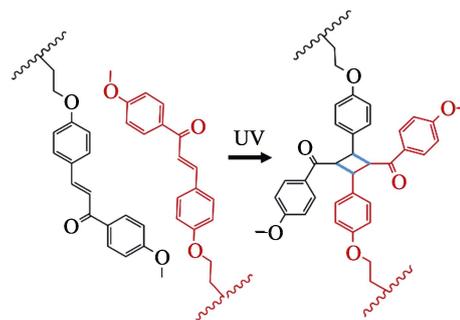


图 10 WPUF 中查耳酮衍生物的光交联反应示意图
Fig. 10 Schematic diagram of photo-crosslinking reaction of chalcone derivatives in WPUF

2.5 WPUF 的透皮能力和细胞毒性测定

用 5-羧基荧光素染色后, 通过皮肤渗透实验评价 WPUF 的皮肤渗透能力, 并与用尼罗红染色的甲氧基肉桂酸乙基己酯进行比较。图 11 为皮肤渗透实验猪皮切片样品的激光共聚焦显微镜照片。

用 Image J 软件处理图像后可知, WPUF 的平均渗透深度为 11 μm , 而小分子甲氧基肉桂酸乙基己酯的渗透深度则 $>60 \mu\text{m}$ 。人类角质层的平均厚度约为 15~20 μm 。因此, WPUF 不会穿透角质层。活

体皮肤的屏障能力高于离体皮肤, 应用于活体时, 渗透深度可能更低。

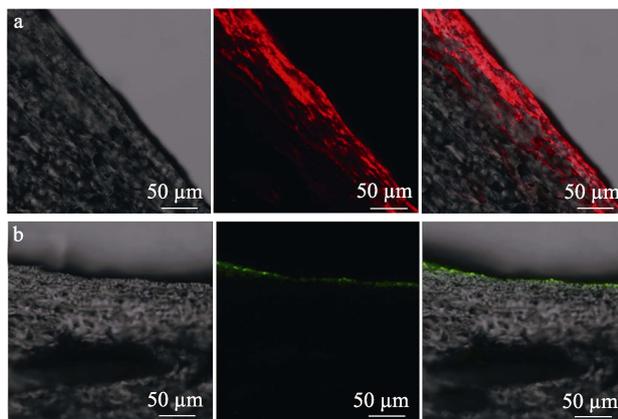


图 11 经甲氧基肉桂酸乙基己酯 (a) 和 WPUF (b) 处理 12 h 后尼罗红和 5-羧基荧光素在皮肤切片中的分布 (z 轴) 激光共聚焦扫描显微镜照片

Fig. 11 Confocal laser scanning microscopy images of Nile red and 5-carboxyfluorescein distribution in a skin section (z-axis) after 12 h treatment with ethylhexyl methoxycinnamate (a) and WPUF (b)

图 12 为 WPUF 的细胞毒性测试结果。

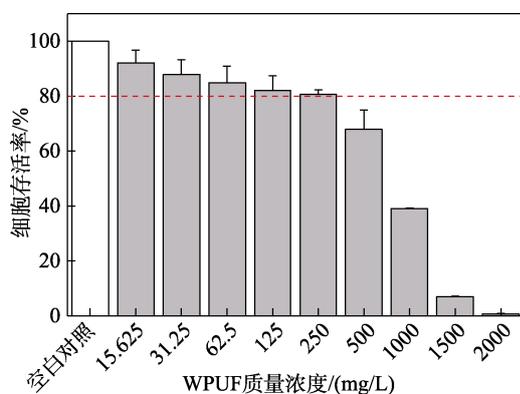


图 12 WPUF 的细胞毒性
Fig. 12 Cytotoxicity of WPUF

由图 12 可见, 在 WPUF 质量浓度 ≤ 250 mg/L 时, 细胞存活率 $> 80\%$, 未表现出细胞毒性。

2.6 SPF 测试

SPF 是评价防晒化妆品保护皮肤避免发生日晒红斑或晒伤的防护指标, 其值越大, 表明防护效果越好。由于测量原理不同, 人体法和仪器法测得的 SPF 通常存在差异。防晒剂的 SPF 应以人体法获得的结果为准。然而, 由于伦理要求, WPUF 还没有被批准用人体法进行测量防晒指数。因此, WPUF 的 SPF 采用仪器法测量, 并选择 DSM 的商用防晒剂聚硅氧烷-15 作为参考物质。表 2 为根据 ISO 24443—2012 标准进行的仪器测量结果^[48]。

表 2 聚硅氧烷-15 与 WPUF 的 SPF
Table 2 SPF of polysiloxane-15 and WPUF

UV 滤光剂	SPF	UVA/UVB 比值均值	UVAPF
聚硅氧烷-15	36.04	0.298	×
WPUF	36.21	1.158	√

根据上述标准, 当 $\lambda_c > 370$ nm 且 UVA/UVB 比值均值 $> 1/3$ 时, 该产品可被视为具有 UVA 保护作用 (可标注 UVAPF)。由表 2 可知, 聚硅氧烷-15 是一种 UVB 吸收剂, 其 UVA/UVB 均值为 0.298, $< 1/3$ 。WPUF (UV 滤光剂) 的紫外吸收光谱显示 $\lambda_c = 376$ nm, UVA/UVB 均值为 1.158, $> 1/3$, 且其 SPF 为 36.21, 说明 WPUF 完全满足标准中对 UVA 防护的规定。

3 结论

本研究成功合成了 3 种查耳酮衍生物, 并讨论了取代基类型对 UV 吸收光谱的影响。通过比较紫外吸收性能和细胞毒性结果, 选择甲氧基取代的 Methoxy-Cha [$\lambda_{\max} = 343$ nm, $\epsilon = 15573$ L/(mol·cm)] 作为 UVA 吸收剂, 进一步制备 WPUF。

WPUF 具有广谱紫外线吸收能力 ($\lambda_c = 376$ nm)、优异的储存和热稳定性, 光照稳定性也符合要求。通过调整 Methoxy-Cha 的接枝率, 可以调节 UV 吸收强度和主要吸收带范围。

WPUF 的平均角质层渗透深度为 11 μ m, 在质量浓度 ≤ 250 mg/L 未表现出细胞毒性, 具有良好的使用安全性。SPF 结果表明, WPUF 具有与商用防晒剂相当的 UVA 吸收能力。

综上所述, WPUF 的性能与本文预期相符, 具有不同于目前所用的 UVA 滤光剂的独特优势, 有望作为一种新型滤光剂在日化工业中应用。

参考文献

- [1] CAO L, YUE X P, ZHAO Y H, *et al.* Mechanisms of broad-band UVB irradiation induced itch in mice[J]. Journal of Investigative Dermatology, 2021, 141(10): 2499-2508.
- [2] MICHAEL D H, EMILY L H, LOUIS M M M, *et al.* Towards symmetry driven and nature inspired UV filter design[J]. Nature Communications, 2019, 10: 4748.
- [3] KEIJI S, MARIKO S. Suppressed of UV skin radiation changes (erythema and pigmentation) around site of skin injury: A case report[J]. Clinical & Experimental Dermatology Research, 2018, 9(6): 1-2.
- [4] KLIMOVÁ Z, HOJEROVÁ J, PAŽOUREKOVÁ S. Current problems in the use of organic UV filters to protect skin from excessive sun exposure[J]. Acta Chimica Slovaca, 2013, 6(1): 82-88.
- [5] PANDIKA M. Looking to nature for new sunscreens[J]. ACS Central Science, 2018, 4(7): 788-790.
- [6] MUEEN R, MORLANDO A, QUTAISH H, *et al.* ZnO/CeO₂ nanocomposite with low photocatalytic activity as efficient UV filters[J]. Journal of Materials Science, 2020, 55(16): 6834-6847.

- [7] NASCIMENTO L, SANTOS E, AGUIAR A. Organic sunscreens. Research, innovation and the organic synthesis importance[J]. *Revista Virtual de Química*, 2014, 6(2): 190-223.
- [8] LIONETTI N, RIGANO L. The new sunscreens among formulation strategy, stability issues, changing norms, safety and efficacy evaluations[J]. *Cosmetics*, 2017, 4: 15.
- [9] MONTI D, BRINI I, TAMPUCCI S, *et al.* Skin permeation and distribution of two sunscreens: A comparison between reconstituted human skin and hairless rat skin[J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2008, 21(6): 318-325.
- [10] KLIMOVÁ Z, HOJEROVÁ J, BERANKOVA M. Skin absorption and human exposure estimation of three widely discussed UV filters in sunscreens-*in vitro* study mimicking real-life consumer habits[J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2015, 83: 237-250.
- [11] CAMERON G J, MICHAEL S R, HEATHER A E B. Systemic absorption of sunscreen after topical application[J]. *Lancet*, 1997, 350(9081): 863-864.
- [12] MEIER D, HERNÁNDEZ M V, VAN GEELEN L, *et al.* The plant-derived chalcone xanthoangelol targets the membrane of gram-positive bacteria[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2019, 27(23): 1-30.
- [13] CAO Y Y, XU W X, HUANG Y Y, *et al.* A chalcone derivative from glycyrrhiza inflata, as a multifunctional agent for the treatment of alzheimer's disease[J]. *Natural Product Research*, 2020, 34(5): 736-739.
- [14] EDEN W T, ALIGHIRI D, WIJAYATI N, *et al.* Synthesis of chalcone derivative from clove leaf waste as a natural antioxidant[J]. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 2021, 55(3): 269-274.
- [15] RIZWAN A, MANISH R, SHAMA Y, *et al.* Facile synthesis of chalcone derivatives as antibacterial agents: Synthesis, DNA binding, molecular docking, DFT and antioxidant studies[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2020, 1208(C): 127905.
- [16] MELLADO M, MADRID A, MARTÍNEZ Ú, *et al.* Hansch's analysis application to chalcone synthesis by Claisen-Schmidt reaction based in DFT methodology[J]. *Chemical Papers*, 2017, 72(3): 703-709.
- [17] OUYANG Y, LI J J, CHEN X Y, *et al.* Chalcone derivatives: Role in anticancer therapy[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(6): 894.
- [18] AYANDA I Z, OGUNYEMI O O, CUAN K, *et al.* Synthesis, structure and *in vitro* anti-trypanosomal activity of non-toxic arylpyrrole-based chalcone derivatives[J]. *Molecules*, 2020, 25(7): 1668.
- [19] MICHELINI L, CASTRO M, CUSTODIO J, *et al.* A novel potential anticancer chalcone: Synthesis, crystal structure and cytotoxic assay[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2018, 1168: 309-315.
- [20] RAGHAVENDER M, KUMAR A, SUNITHA V, *et al.* Synthesis and cytotoxicity of chalcone based 1, 2, 3-triazole derivatives[J]. *Russian Journal of General Chemistry*, 2020, 90(4): 697-702.
- [21] ARINA N, MUSTOFA M, INDWIANI A, *et al.* Cytotoxic activity of methoxy-4' amino chalcone derivatives against leukemia cell lines[J]. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, 2019, 3(1): 34-43.
- [22] FRIMAYANTI N, ISKANDAR B, PUTRI R D. Docking studies of chalcone analogue compounds as inhibitors for breast cancer MCF7 cell line[J]. *Der Pharma Chemica*, 2019, 11(2): 31-35.
- [23] STANTLIFF T M, KRZYSIAK A J. Investigations of the mechanism of action for lung cancer cell death by a 4'-trifluoromethoxy substituted chalcone derivative[J]. *The FASEB Journal*, 2019, 33(S1): 417-418.
- [24] LUCIA W W, RESPATI T S, WONKOO L, *et al.* Synthesis and evaluation of chalcone derivatives as novel sunscreen agent[J]. *Molecules*, 2021, 26: 2698.
- [25] EGERTON P, PITTS E, REISER A. Photocycloaddition in solid poly(vinyl cinnamate). The photoreactive polymer matrix as an ensemble of chromophore sites[J]. *Macromolecules*, 1981, 14(1): 95-100.
- [26] FURUMI S, ICHIMURA K, SATA H, *et al.* Photochemical manipulation of discotic liquid crystal alignment by a poly(vinyl cinnamate) thin film[J]. *Applied Physics Letters*, 2000, 77(17): 2689.
- [27] ZHANG J (张洁), LONG Y (龙泳), XUAN W M (宣为民), *et al.* Preparation and photocrosslinking properties of polyacid-chalcone hybrid molecules[J]. *Chinese Science Bulletin (科学通报)*, 2017, 62(7): 685-692.
- [28] HUSNA N, FATIHAH J, MOHD N, *et al.* Synthesis, structural investigation and computational analysis on a new chalcone derivative: (*E*)-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-3-(2-chloro-6-fluorophenyl)prop-2-en-1-one[J]. *Chemical Data Collections*, 2021, 38: 100821.
- [29] OSTI S N, SOUZA S L, PALUDETTO S, *et al.* Structure and interaction roles in the release profile of chalcone-loaded liposomes[J]. *Biophysical Chemistry*, 2023, 292: 106930.
- [30] KUMAR S M, SHUBHAM J, SANDIP P, *et al.* Base-catalyzed traceless silylation and deoxygenative cyclization of chalcones to cyclopropanes[J]. *The Journal of Organic Chemistry*, 2022, 87: 6695-6709.
- [31] CHUKHLANTSEVA A N, DMITRIEV M V, MAIOROVA O A, *et al.* Synthesis and optical properties of new chalcones containing 4-[bis(2-hydroxyethyl)amino]phenyl fragment[J]. *Mendeleev Communications*, 2022, 32(2): 274-277.
- [32] SANTOS A C, MARTO J, CHÁ-CHÁ R, *et al.* Nanotechnology-based sunscreens-A review[J]. *Materials Today Chemistry*, 2022, 23: 100709.
- [33] SHAATH N A. The encyclopedia of ultraviolet filter[J]. *Journal of Applied Cosmetology*, 2008, 26(2): 94-96.
- [34] ZAINURI D A, RAZAK I A, ARSHAD S. Crystal structures, DFT studies and UV-visible absorption spectra of two anthracenyl chalcone derivatives[J]. *Acta Crystallographica Section E: Crystallographic Communications*, 2018, 74(10): 1491-1496.
- [35] XIAO Q F (肖乾芬), DAI X L (戴玄吏), WANG X D (王晓栋), *et al.* Quantitative structure-genotoxicity of substituted benzene on human cells[J]. *China Environmental Sciences (中国环境科学)*, 2005, 25(1): 18-22.
- [36] KHADIKAR P, MATHER K, SINGH S, *et al.* Study on quantitative structure-toxicity relationships for benzene derivatives acting by narcosis[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2002, 10(6): 1761-1766.
- [37] ZENGER K, DUTTA S, WOLFF H, *et al.* *In vitro* structure-toxicity relationship of chalcones in human hepatic stellate cells[J]. *Toxicology*, 2015, 336: 26-33.
- [38] SINGH G, SINGH J, MANGAT S, *et al.* Synthetic approach towards α -lická modified chalcone based organotriethoxysilanes; UV-Vis study[J]. *RSC Advances*, 2014, 4(105): 60853-60865.
- [39] SCHULTZ T, YARBROUGH J. Trends in structure-toxicity relationships for carbonyl-containing α , β -unsaturated compounds[J]. *SAR and QSAR in Environmental Research*, 2004, 15(2): 139-146.
- [40] OLEXANDR I, BAKHTIYOR R, LEONID G, *et al.* Structure-toxicity relationships of nitroaromatic compounds[J]. *Molecular Diversity*, 2006, 10(2): 233-245.
- [41] LAI G Q (来国侨), XING S M (幸松民). Synthesis technology and application of organosilicon products[M]. Beijing: Chemical Industry Press (化学工业出版社), 2009.
- [42] BALDWIN S. ChemInform Abstract: Synthetic aspects of 2+2 cycloadditions of α , β -unsaturated carbonyl compounds[J]. *Chemischer Informationsdienst*, 1981, 12(44): 123-225.
- [43] SCHUBERT W, SWEENEY W. The effect of ring strain on the ultraviolet spectra of α , β -unsaturated carbonyl compounds[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1955, 77(8): 2297-2300.
- [44] RANGASWAMI S, RAO V, SESHADRI T. Reactivity of the double bond in coumarins and related α , β -unsaturated carbonyl compounds[J]. *Proceedings-Mathematical Sciences*, 1938, 7(5): 312-318.
- [45] HANSON K M, CUTULI M, RIVAS T, *et al.* Effects of solvent and micellar encapsulation on the photostability of avobenzone[J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2020, 19(3): 390-398.
- [46] SIMONE D, ALESSANDRA A, LUCIA C, *et al.* Environmentally friendly sunscreens: Mechanochemical synthesis and characterization of beta-CD inclusion complexes of avobenzone and octinoxate with improved photostability[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2020, 8(35): 13215-13225.
- [47] ANKITA P, RAJASHREE S M, ARCHANA S P, *et al.* Microsponge gel approach to increase the stability and efficacy of avobenzone as a sun-protective agent[J]. *Journal of Pharmaceutical Innovation*, 2022, 17(4): 1347-1359.
- [48] Cosmetics-Sun protection test methods-*In vivo* determination of sunscreen UVA protection: ISO 24443—2012[S]. Switzerland, 2012: 2-10.