

# Octyl Methoxycinnamate'ın Stabilitesi ve Foto-Degradasyon Ürününün Tanımlanması<sup>1</sup>

## STABILITY OF OCTYL METHOXYCINNAMATE AND IDENTIFICATION OF ITS PHOTO-DEGRADATION PRODUCT

S. PATTANAARGSON\*, P. LIMPHONG\*

\*Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, THAILAND

© Pattanaargson S, Limphong P. Stability of Octyl Methoxycinnamate and Identification of its Photo-Degradation Product. *International Journal of Cosmetic Science*, 2001; 23(3):153-160.

### Özet

C-18 HPLC kullanılarak yapılan, Octyl methoxycinnamate (OMC)'ın stabilite çalışması; OMC'nin güneş ışığına tutulduğunda yeni bir ürüne degrade olduğunu göstermiştir. Bir ay boyunca 4, 20, 32 ve 60 °C'de karanlıkta tutulduğunda, OMC'nin degradasyonu gözlenmemiştir. Online HPLC-APCI-MS; OMC ve degradasyon ürünü için benzer APCI'ye kitle spektrumu göstermiştir. Fotodegradasyon ürününün izolasyonu, yarı hazırlanmış HPLC kullanılarak yapılmıştır. OMC ve izole foto-degradasyon ürününün NMR spektrumu, bir E-octyl-p-methoxycinnamate'ın bir Z-octyl-p-methoxycinnamate'a değişmesini göstermiştir. Fraksiyone olmamış ışığa maruz kalan OMC'nin NMR spektrumu, Z-OMC'nin tek üretilen ürün olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Octyl methoxycinnamate, Foto-Degradasyon, Güneşten koruyucu

T Klin Kozmetoloji 2002, 3:41-47

### Summary

A stability study of octyl methoxycinnamate (OMC) using C-18 HPLC indicated that OMC degraded into a new product when exposed to sunlight. When kept in the dark at 4, 20, 32 and 60 °C for one month, no degradation of OMC was detected. Online HPLC-APCI-MS revealed similar APCI mass spectra for OMC and its degradation product. Isolation of the photo-degradation product was done using semi-preparative HPLC. NMR spectra of OMC and the isolated photo-degradation product indicated the change from an E-octyl-p-methoxycinnamate into a Z-octyl-p-methoxycinnamate. NMR spectra of the unfractionated-light-exposed-OMC showed that the Z-OMC was the only product generated.

**Key Words:** Octyl methoxycinnamate, Photo-Degradation, Sunscreen

T Klin J Cosmetol 2002, 3:41-47

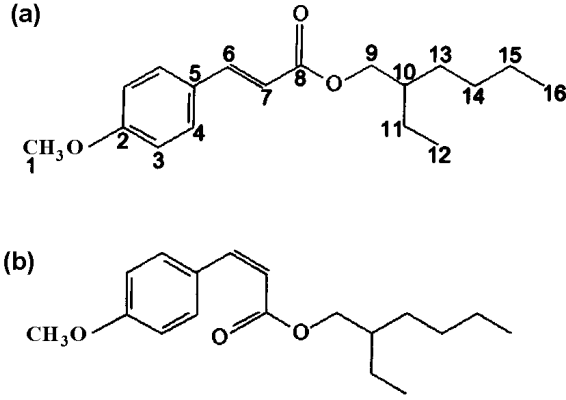
Octyl methoxycinnamate (OMC, Şekil 1), UV-B bölgesindeki değişik çözücülerdeki büyük nadir katsayısı nedeniyle değişik kozmetik formüllerde güneşten koruyucu olarak kullanılmaktadır. Bu bileşiğin, nadiren fotosensitizasyon ve/veya fotoallerjik reaksiyonlara neden olduğu rapor edilmiştir (1,2). OMC'nin kalitatif ve kantitatif analizi, geri dönüşebilir faz yüksek performans likid kromatografi (HPLC) ile yapılabilir (3-5). Bu UV filtresinin, ışığa maruz kaldığında UV absorpsiyon etkinliğinde bir azalma ile daha az sensitif olduğu gösterilmiştir (6). Bu bileşiğin ışığa maruziyetinden sonra geri dönüşebilen faz HPLC ile analizi, yeni bir ürünün birikimini gösteren yeni bir pik ortaya çıkarmaktadır (4). E'den Z konfigürasyonu değişikliğinin, ışığa maruz kalmakla oluştuğu

söylenmektedir (4,6). Bu söylem; büyük bir olasılıkla cinnamic asid ve cinnamic asid esterlerinin E'den Z fotoizomerizasyonuna dair rapora dayanmaktadır (7,8). OMC'nin fotoizomerizasyon çalışması, kararlı durum ve laser flaş fotoliz kullanılarak yapılmıştır (9). Bu makale, OMC'nin foto degradasyon ürününün HPLC izolasyonunun, OMC'nin güneş ışığına maruziyeti ile oluştuğunu sunmaktadır. Bu foto-degradasyon ürününün yapısının tanımlanması NMR ve HPLC-APCI-MS ile yapılmıştır.

### Materyal ve Metodlar

#### Materyaller

Standard OMC Merck Co. Ltd (Bangkok, Tayland)'dan elde edildi ve 0 °C'de ışıktan koruyucu bir kapta saklandı.



Şekil 1. E-octyl-p-methoxycinnamate'in (orijinal OMC) (a) ve Z-octyl-p-methoxycinnamate'in OMC'nin foto-degradasyon ürünü (b) yapısı.

### OMC Degradasyon Çalışması

Metanol'de 1000 p.p.m. stok OMC solüsyonu hazırlandı ve bu solüsyon 4 °C'da ışıktan korunarak saklandı. Stok solüsyon iki parçaya ayrıldı; biri kapalı cam kaptan 32 °C dolayında bir ısıda güneş ışığı altında saklanırken, diğeri 32 °C'de güneş ışığından koruyucu bir kaptan saklandı. Her solüsyona uygun zamanda HPLC analizi uygulandı.

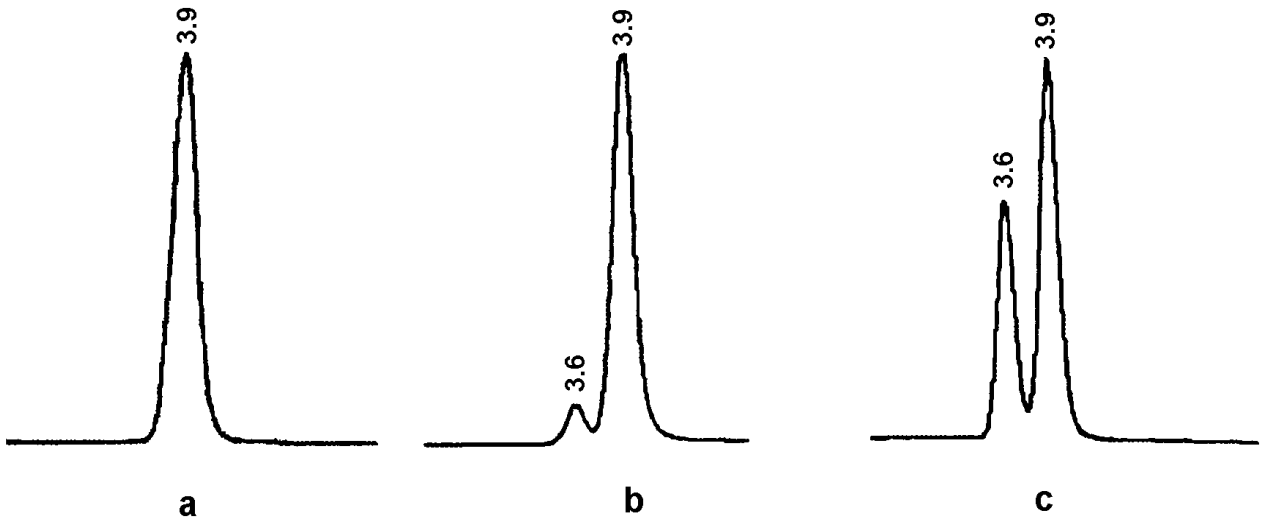
### Yüksek Performans Likid Kromatografi

HPLC sistemi; bir model 662 pompa (Waters

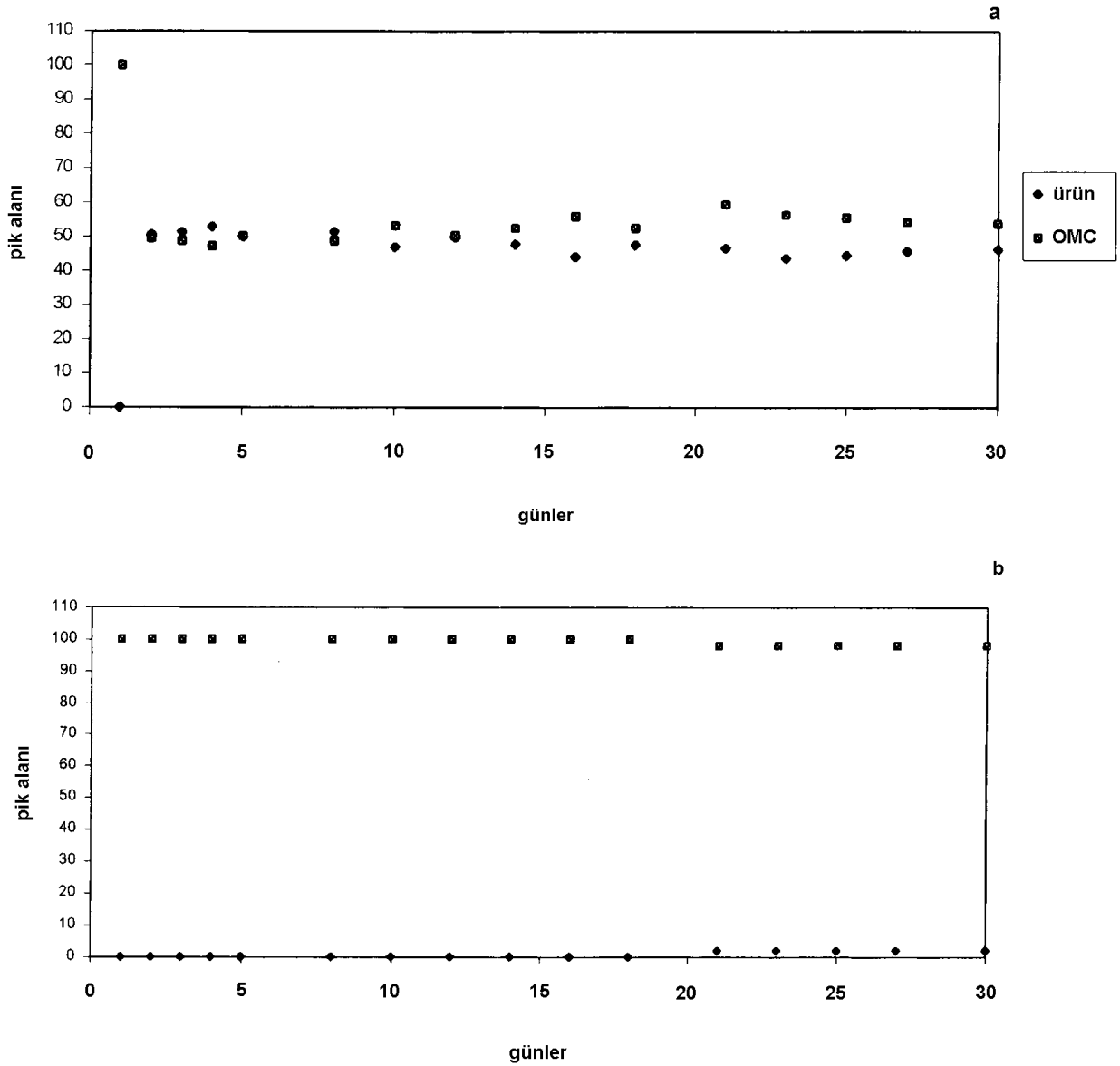
Corp., Milford, USA); bir manuel enjektör (Rheodyne, Cotaticca, USA), bir model 486 MS değışken dalga boylu UV detektör (Waters Corp.) ve bir Model 600 S kontrolör (Waters Corp.) içermektedir. Kromatogram ve pik alanı, PC 800, Version 2.0 software ile özel işleme tabi tutuldu.

HPLC ile OMC degradasyonu: OMC degradasyon çalışması sırasında analiz Nucleosil 100C analitik kolon (5 µm partikül çapında, 125x4.0 mm I.D.; VDS optilap, Berlin, Germany)'la 25 °C'de yapıldı. Kullanılan mobil faz 0.5 mL dakika<sup>-1</sup>lık bir akım hızlı saf metanoldü. UV detektör, 325 nm'de çalıştırıldı. Örnek, enjeksiyondan önce metanolla 100 kere sulandırıldı. Her analiz için; 25 µL sulandırılmış örnek enjekte edildi. Bütün deneyler, ikişer kere yinelendi.

Yarı hazırlanmış HPLC kullanılarak foto degradasyon ürününün izolasyonu: OMC ve degradasyon ürününün toplanması; 25 °C'da Lichrosorb RP 18 kolon (5 µm partikül çapı, 125x80 mm I.D.; VDS optilap, Berlin, Germany)'la gerçekleştirildi. Mobil fazda 0.5 ml/dk akım hızında metanol:su oranı şeklinde (90:10 v/v) kullanıldı. UV detektör 325 nm'de çalıştırıldı. Örnek enjeksiyon volümü 50 µl'dı. Toplanan fraksiyonların ışığa maruz kalmamasına dikkat edildi.



Şekil 2. Standard OMC'nin önce (a) ve sonra (b) ve ışığa maruz (c) kromatogramları. HPLC; 25 °C'da Nucleosil 100C analitik kolon'la yapıldı. Mobil faz'da 0.5 mL dakika<sup>-1</sup>lık bir akım hızında saf metanol kullanıldı. Enjeksiyondan önce, 1000 p.p.m. OMC stok solüsyonu metanolla 100 kere sulandırıldı. Her analiz için 25 µL sulandırılmış örnek enjekte edildi.



**Şekil 3.** OMC'nin ışığa maruz kalarak (a) ve kalmadan (b) degradasyonu. Degradasyon ürününün birikmesi ve orijinal OMC'deki azalma, Kromatogramlardaki (Şekil 2) 3.9 ve 3.6 dakikalık retansiyon zamanlarındaki pikler; pik alanındaki değişikliklerle gösterilmiştir.

### ***OMC ve Foto degradasyon Ürünüünün Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)***

<sup>1</sup>H NMR; Cryomagnet NMR Spektroskopi BZH 200/52 (Spectrospin, Oxford Instruments; Bruker, Germany) ile yapıldı.

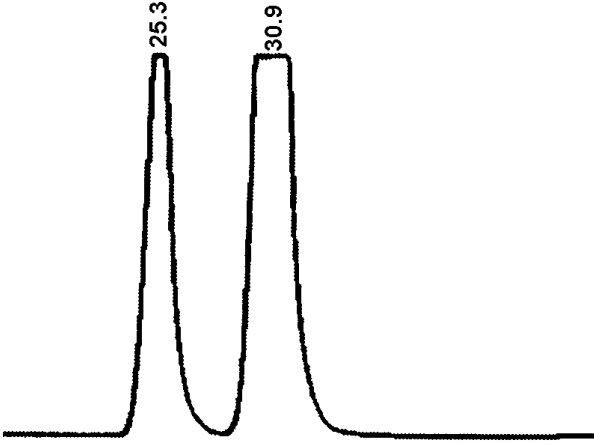
HMQC NMR; FT-NMR, JNM-A500 (JEOL, Japan) ile yapıldı.

Yarıhazırlanmış HPLC'den elde edilen izole OMC ve izole foto-degradasyon ürünü, ışığa

maruz tutularak vakum altında kurutuldu. CDCl<sub>3</sub>'de iki kurutulmuş fraksiyon eritildi ve NMR spektroskop ile incelendi.

Güneş ışığına 15 gün maruz kalmış, fraksiyone edilmemiş 1000 p.p.m. OMC stok solüsyonu da kurutuldu ve NMR spektroskop'tan önce CDCl<sub>3</sub>'de eritildi.

Standard OMC (Karanlıkta 4 °C'da saklanmış) CDCl<sub>3</sub>'de eritildi ve NMR spektroskopide incelendi.



**Şekil 4.** Orijinal ve degradasyon ürününü içeren ışığa maruz OMC solusyonunun kromatogramı. Bu ayırım, 25°C'da Lichrosorb RP 18 kolon kullanılarak yapıldı. Kullanılan mobil faz 0.5 mL dk<sup>-1</sup> akım hızındaki metanol:su (90:10 v/v)'ydu. UV detektör 325 nm'de kuruldu. Enjeksiyon örneğinin hacmi 50 mL idi.

### **HPLC-Atmosferik Basınçlı Kimyasal İyonizasyon Kitle Spektrometrisi**

HPLC-APCI-MS cihazı; Model 662 pompa (Waters Corp.); 25 µl örnek loop'lu manuel bir enjektör (Rheodyne, Cotatica, USA); bir Model 486 MS değişken dalgaboylu UV detektör (Waters Corp.), bir Model 600 S kontrolör (Waters Corp.), Lichrosorb RP18 kolon (5 µm partikül çaplı, 125x8.0 mm I.D.; VDS optilap) ve bir VGTRIO 2000 (Fisons Instruments, Altrincham, UK) APCI dört katı iyonizasyon kaynağıyla donatılmış kitle spektrometresi içeriyordu. Mobil faz, 0.5 ml dak.<sup>-1</sup> akım hızlı, metanol:su oranı (90:10 v/v) idi. Pozitif iyon kitle spektrumu, 3.5 kV corona iğne ucu voltajı akımında kaydedilmişti (30 V'da koni voltaj; 0.2 kV'da sayaç elektrod voltajı ve 120 °C'da kaynak ısısı).

### **Sonuçlar ve Tartışma**

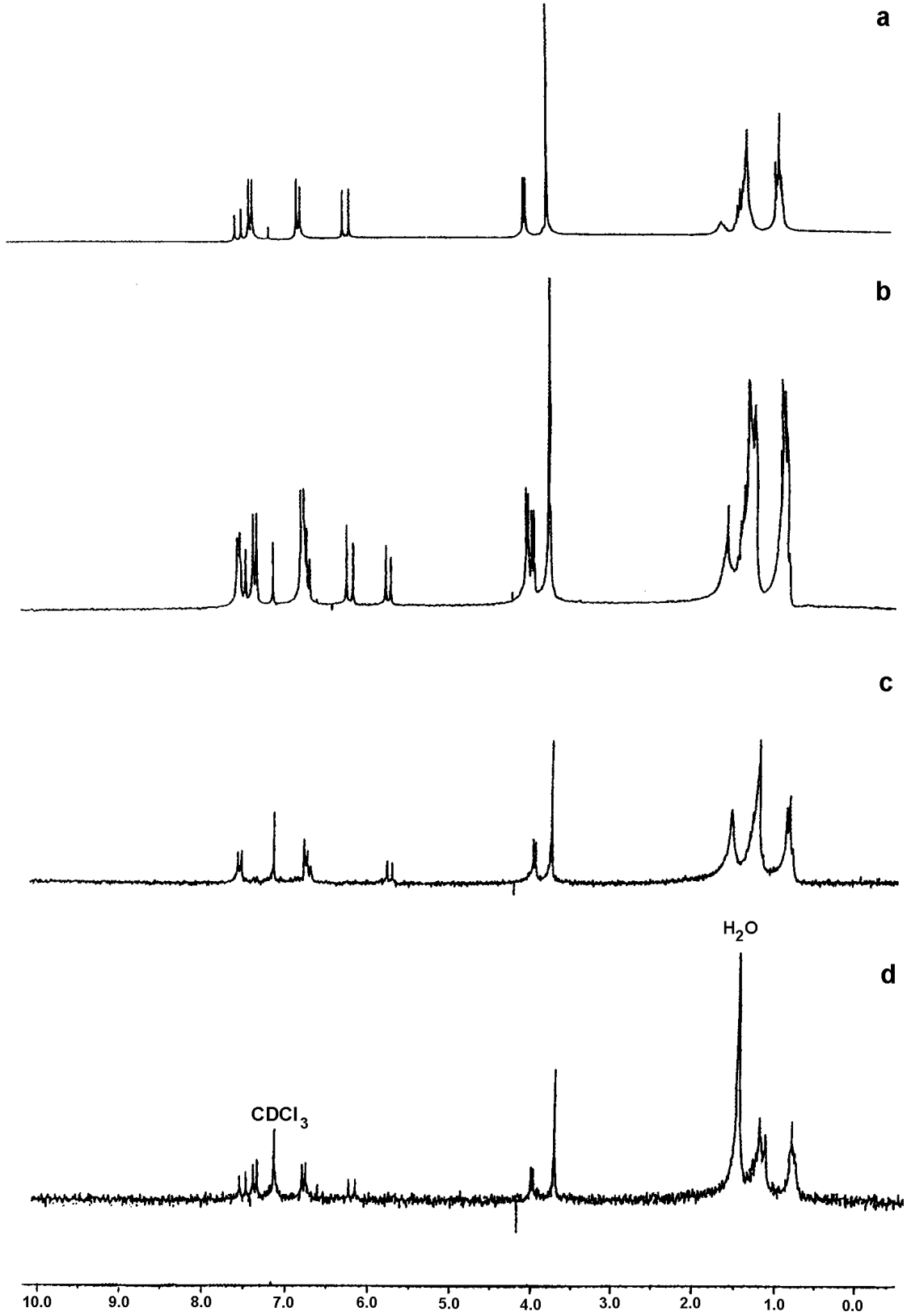
#### **OMC Degradasyon Çalışması**

Şekil 2; standard OMC'nin ışığa maruziyetinden önceki ve sonraki kromatogramlarını göstermektedir. Degradasyon ürününün birikiminin görülmesi; 3.6 dk civarında bir retansiyon zamanında yeni pik boyutunda artmasıyla görülebilir. Işığa maruz kalan OMC'nin degradasyonundan sonra, standard OMC solusyonu güneş ışığına kondu ve uygun zamanlarda HPLC analizi için geri çekildi. Şekil 3;

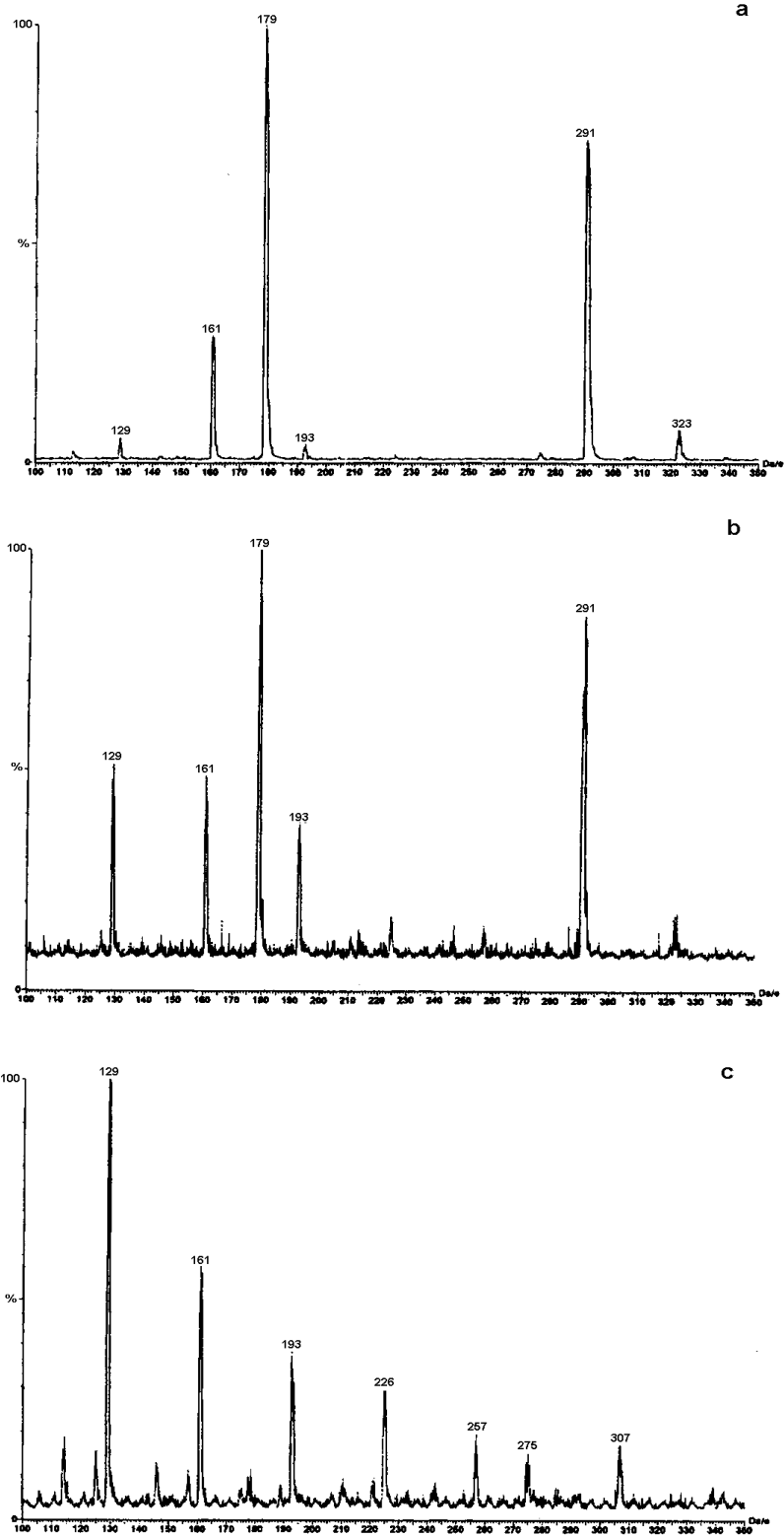
degradasyon ürününün birikimini ve orijinal OMC'deki azalmayı, ayrı ayrı 3.9 ve 3.6 dakikadaki retansiyon zamanlarındaki pikler pik alanındaki değişikliklerle göstermektedir. OMC'nin ışık altında stabil olmadığı gayet açıktır; sadece yarım gün oda ısısında güneş ışığı altında durmakla, bileşim yeni bir ürüne değişmektedir. Güneş ışığı olmadan, oda ısısında OMC'nin degradasyonu gözlenmez (Şekil 3b). Bileşim; 1 ay boyunca 4, 25, 32 ve 60°C'da ışıktan uzak tutulduğunda; OMC'de degradasyon gözlenmedi.

### **Foto-Degradasyon Ürününün İzolasyonu ve Tanımlanması**

Yukardaki sonuca göre; OMC'nin güneş ışığına maruz kalmasıyla, foto-degradasyon ürününün oluştuğu gayet açıktır. Bununla beraber Şekil 3 (a)'da görülebileceği gibi, kullanılan koşullarda, OMC'nin hepsi degradasyon ürününe değişmez. Böylece, iki bileşimi ayırmak için, orijinal OMC ve degradasyon ürününü içeren ışığa maruz kalan OMC solusyonu, deneysel bölümde anılan şartlar kullanılarak yarı hazırlanmış HPLC etkisi altında bırakılır. Sonuç Şekil 4'de gösterilmektedir. Mobil fazın saf metanolden; metanol:su oranı 90:10'luk (V/V)'ya değiştirilmesinin; iki pik arasındaki rezolusyonu artırmak için yapıldığı bildirilmiştir. 2 pikin fraksiyon toplanması sırasında; iki bileşim arasında kontaminasyon olmayacağından emin olunmalıdır. Dahası, iki pikin iyi ayırımı, online HPLC-APCI-MS uygularken çapraz etkiyi önleyerek, iki bileşimin temiz APCI kitle spektrometresini sunacaktır. OMC'nin (Şekil 4'de 30.9 dk'luk retansiyon zamanında piki) ve degradasyon ürününün (Şekil 4'de 25.3 dk'luk retansiyon zamanındaki piki) toplanması gerçekleştirildi ve her fraksiyon için NMR spektrumu elde edildi. Şekil 5 (a-d) Standart OMC, ışığa maruz OMC, izole foto-degradasyon ürününün (Şekil 4'deki kromatogram'ın 25.3 dk retansiyon zamanındaki pik'le) ve izole OMC'nin (Şekil 4'deki kromatogramın 30.9 dk'da pik) <sup>1</sup>H NMR'sını göstermektedir. İzole OMC (d) ve Standart OMC (a) <sup>1</sup>H NMR'si arasındaki benzerlik; 30.9 dk'da retansiyon zamanındaki pik'in orijinal yapıdaki OMC'yi gösterdiğini doğrulamaktadır. <sup>1</sup>H NMR ve HMQC NMR (gösterilmiyor) verilerinin analizi,



**Şekil 5 (a)-(d).** (a) standard OMC; (b) ışığa maruz OMC; (c) izole foto degradasyon ürünü (Şekil 4'de 49 dk'lık retansiyon zamanında pik) ve (d) izole OMC (Şekil 5'de 57 dk'lık retansiyon zamanında pik)'nın <sup>1</sup>H NMR'sını göstermektedir. Bütün bu <sup>1</sup>H NMR spektrumları; (Cryomagnet NMR spectroscopy B2H 200/52 (Spectroscopin, Oxford Instruments; Bruker, Germany)'dan elde edildi.



**Şekil 6 (a,b).** Ayrı ayrı 30.9 ve 25.3 dk'lık retansiyon zamanlarındaki Resim 4'deki kromatogramdan piklerin APCI kitle spektrumu. (c) mobil fazın APCI kitle spektrumu. Online HPLC-APCI-MS, APCI iyonizasyon kaynağıyla dört katı güçlendirilmiş kitle spektrometresiyle bağlantılı Lichrosorb RP 18 kolon kullanılarak yapıldı. Enjeksiyon volümü 25 ml'di. Mobil faz; 0.5 mL dk<sup>-1</sup> akım hızlı metanol:su oranı (90:10 v/v)'du. Pozitif iyon kitle spektrumu; 3.5 kV corona iğne ucu voltajı akımı'nda kaydedilmiştir (30 V'da koni voltajı, 0.2 kV'da sayaç elektrod voltajı ve 120 °C'da kaynak ısıtı).

**Tablo 1.** Standart OMC (E-octyl-p-methoxycinnamate) ve izole foto degradasyon ürününün (2-octyl-p-methoxycinnamate) 1H ve 13C-NMR spektral verileri (HMQC-NMR'den)

Yer	E-octyl-p-methoxycinnamate		Z-octyl-p-methoxycinnamate	
	$\delta$ H	$\delta$ C	$\delta$ H	$\delta$ C
1	3.81 (3H, s)	55.3	3.81 (3H, s)	55.3
2	-	162.1	-	161.0
3	6.87 (2H, d, J=7 Hz)	114.3	6.80 (2H, d, J=7 Hz)	113.3
4	7.40 (2H, d, J=7 Hz)	129.7	7.66 (2H, d, J=7 Hz)	132.0
5	-	127.2	-	127.2
6	7.61 (1H, d, J=16 Hz)	143.1	6.80 (1H, d, J=12 Hz)	144.2
7	6.29 (1H, d, J=16 Hz)	115.8	5.82 (1H, d, J=12 Hz)	117.5
8	-	167.5	-	167.5
9	4.09 (2H, d, J=6 Hz)	66.8	4.09 (2H, d, J=6 Hz)	66.7
10	1.63 (1H, br m)	38.9	1.63 (1H, br m)	38.8
11	1.34 (2H, br m)	28.9	1.34 (2H, br m)	28.9
12	0.91 (3H, br t)	14.1	0.91 (3H, br t)	14.1
13	1.36 (2H, m)	30.5	1.36 (2H, m)	30.5
14	1.41 (2H, m)	23.8	1.41 (2H, m)	23.7
15	1.34 (2H, br m)	23.0	1.34 (2H, br m)	23.0
16	0.94 (3H, t)	11.0	0.94 (3H, t)	11.0

aynı pozisyondaki izole foto degradasyon ürünü (Şekil 1b) için standart OMC'nin bir E-konfigurasyonu ve bir Z-konfigurasyonu (Şekil 1a) göstermektedir. Işığa maruz kalan OMC'nin (Şekil 1b) 1H NMR'si; sadece E-octyl-p-methoxycinnamate ve Z-octyl-p-methoxycinnamate'i gösterirken; OMC'nin ışığa maruz kalışında başka bir foto degradasyon ürünü saptanamamıştır. Z-cinnamate'ların truxillic asid türevlerine dimerize olabileceği bilinmesine rağmen (10,11), fraksiyone olmamış ışığa maruz kalan OMC'nin 1H NMR ve HMQC NMR'sinde E ve Z cinnamate'lardan başka pik görülmemiştir. Dahası, ışığa maruz OMC'nin kromatogramı sadece yeni bir pik (Z-DMC) göstermiştir. Tablo 1; E-octyl-p-methoxycinnamate ve Z-octyl-p-methoxycinnamate'ın NMR spektral verilerini yorumlar. Her 2 bileşiminde izomer olduğunu doğrulamak için, ışığa maruz OMC'nin HPLC-APCI-MS deneyi yapıldı. Şekil 6 (a,b); ayrı ayrı 30.9 ve 25.3 dk'daki retansiyon zamanında piklerin APCI kitle spektrumlarını göstermektedir (Şekil 4'deki kromatogram'a bakınız). Her iki spektrum da; 291 m/z'de  $[\text{CH}_3\text{O C}_6\text{H}_4 \text{CH}=\text{CH C}(\text{O}) \text{C}_8\text{H}_{18}] \text{H}^+$ , proton moleküler piki göstermekteydiler. İyonizasyon kaynağındaki ester bağındaki fragmantasyon, protone methoxy cinnamic asid  $[\text{CH}_3\text{O C}_6\text{H}_4 \text{CH}=\text{CH C}(\text{O}) \text{OH}] \text{H}^+$  ile uyumlu 179 m/z'de pik gösterdi. İki APCI spektrum arasındaki benzerlik, her 2 bileşimin izomer konfigürasyonunu doğruluyordu.

Spektrumdaki diğer piklerin; mobil fazın birleşim iyonlarıyla uyumlu olduğunun bildirilmesinde yarar vardır (Şekil 6c'deki mobil faz spektrumu'nu görün).

#### KAYNAKLAR

- Kimura K & Katoh T. Photoallergic contact dermatitis from the sunscreen ethylhexyl-, p-methoxycinnamate (Parsol MCX). *Contact Dermat* 1995; 32:304-5.
- Schauder S, and Ippen H. Contact and photocontact sensitivity to sunscreens. Review of a 15-year experience and of the literature. *Contact Dermat* 1997; 37:221-32.
- Jiang R, Hayden CGI, Pranker RJ, Roberts MS, and Benson HAE. High-performance liquid chromatographic assay for common suncreening agents in cosmetic products, bovine serum albumin solution and human plasma. *J Chromatogr B* 1996; 682:137-45.
- Meijer J, and Loden M. Stability analysis of three UV-filters using HPLC. *J Liq Chromat* 1995; 18:1821-32.
- Ikeda K, Suzuki S, and Watanabe Y. Determination of sunscreen agents in cosmetic products by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Chromatography* 1989; 21:240-5.
- Tarras-Wahlberg N, Stenhagen G, Larko O, Rosen A, Wennberg AM, and Wennerstrom O. Changes in ultraviolet absorption of sunscreens after ultraviolet irradiation. *J Invest Dermatol* 1999; 113:548-53.
- Hocking MB. Photochemical and thermal isomerizations of cis- and trans-cinnamic acids, and their photo-stationary state. *Can J Chem* 1969; 47:4567-76.
- Ishigami TK, Nakasato MV, and Endo T. Marked dependence of multiplicity in direct Z, E photoisomerization of a series of methylcinnamates on their parasubstituents. *Tetrahedron Lett* 1979; 10:863-5.
- Morliere P, Avicé O, Melo TSE, Dubertret L, Giraud M, and Santus R. A study of the photochemical properties of some cinnamate sunscreens by steady state and laser flash photolysis. *Photochem Photobiol* 1982; 36:395-9.
- Ito Y, Borecka B, Trotter J, and Scheffer JR. Control of solid-state photodimerization of trans-cinnamic and by double salt formation with diamines. *Tetrahedron Lett* 1995; 36:6083-6.
- Nakamura T, Takagi K, Itoh M, Fujita K, Katsu H, Imae T, and Sawaki Y. Photodimerization of cinnamic acids controlled by molecular assemblies of surfactant amine N-oxides. *J Chem Society-Perkin Trans* 1997; 2:2751-5.

<sup>†</sup>Orijinal İngilizce şekilden 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.