



通过拉曼光谱法*In vivo*测定 化妆品的经皮吸收

一般社团法人日中化妆品国际交流协会专家委员
MT Consulting代表
美健创新（神户）有限公司 顾问
药学博士 高桥元次

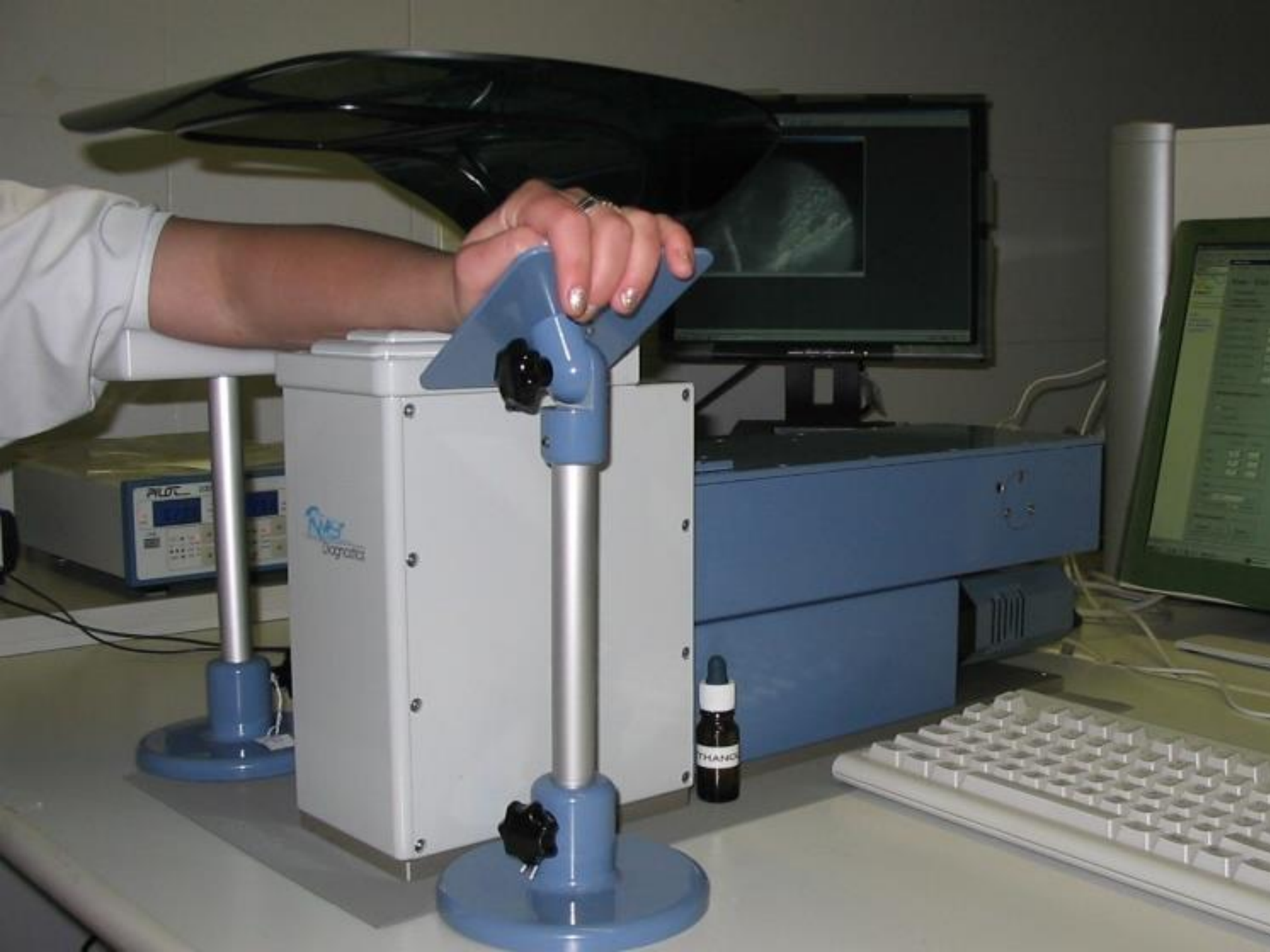
主要的*in vivo*经皮吸收测定法

方法	侵入性 or 非侵入性	原理or 配套技术	深度方向 or 三维分布	可测定部位
Tape Stripping	invasive	· 提取后化学分析 · ATR-FTIR	· 可进行深度方向上的研讨 · 难以成像	仅限角质层
		· Mass Spectrometry Imaging (DESI-MSI)	· 可通过层叠二维数据来标示疑似三维分布	
Confocal Laser Scanning Microscopy	non-invasive	荧光标记的试验物质	可成像三维分布等	角质层、表皮、真皮上层
Confocal Raman Spectroscopy	non-invasive	斯托克斯拉曼散射	可进行特定一点的皮肤深度方向的测定	角质层、表皮、真皮上层
CARS	non-invasive	反斯托克斯拉曼散射	可成像三维分布等	角质层、表皮、真皮上层
Multi-photon Microscopy	non-invasive	荧光寿命	可成像三维分布等	角质层、表皮、真皮上层

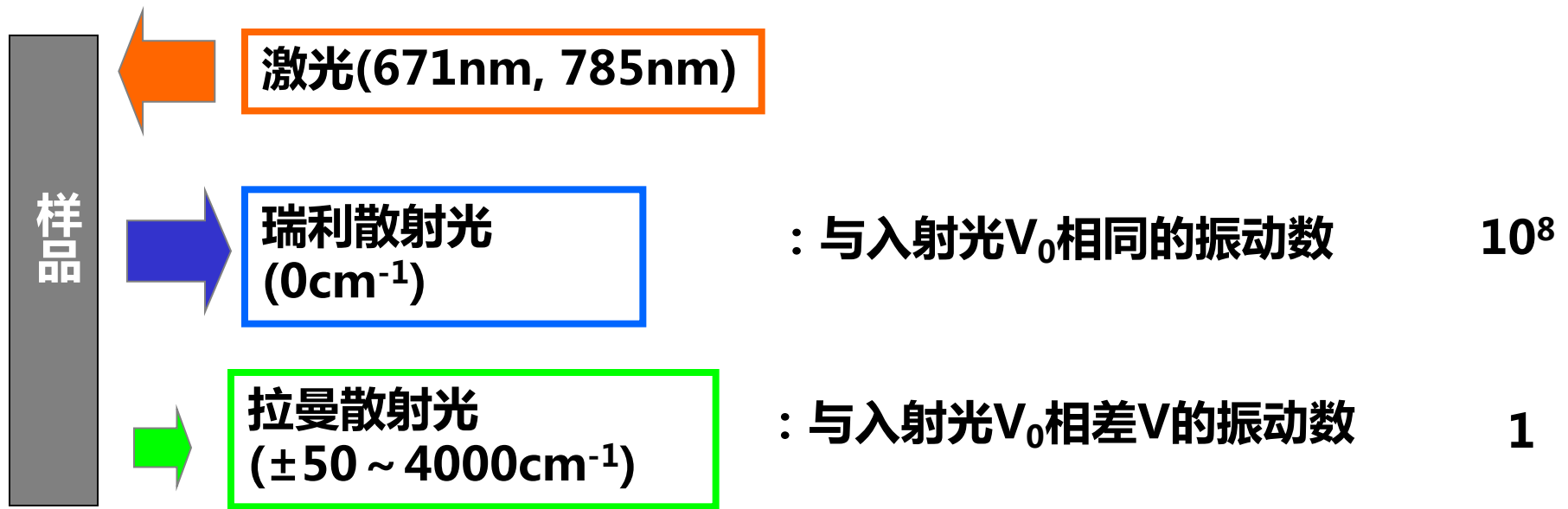
in vivo 共聚焦拉曼显微镜 (RD公司)



非侵入性地在皮肤深度方向分析药剂及生物体内成分



In vivo 拉曼显微镜



官能团特异性

用671nm照射, 查出 2500-4000cm⁻¹ : CH₃, OH : 水分量
用785 nm 照射, 查出400-2000cm⁻¹ (指纹区) : NMF

共聚焦装置

深度变化 : 间隔2 μm ⇒ 实际分辨率 : 约4μm
最大深度 : 300 μm

***In vivo* 共聚焦拉曼测定的主要对象**

① 保湿・屏障

- ・ 水分量的皮肤（角质层）内深度分布**
- ・ NMF 的皮肤（角质层）内深度分布**

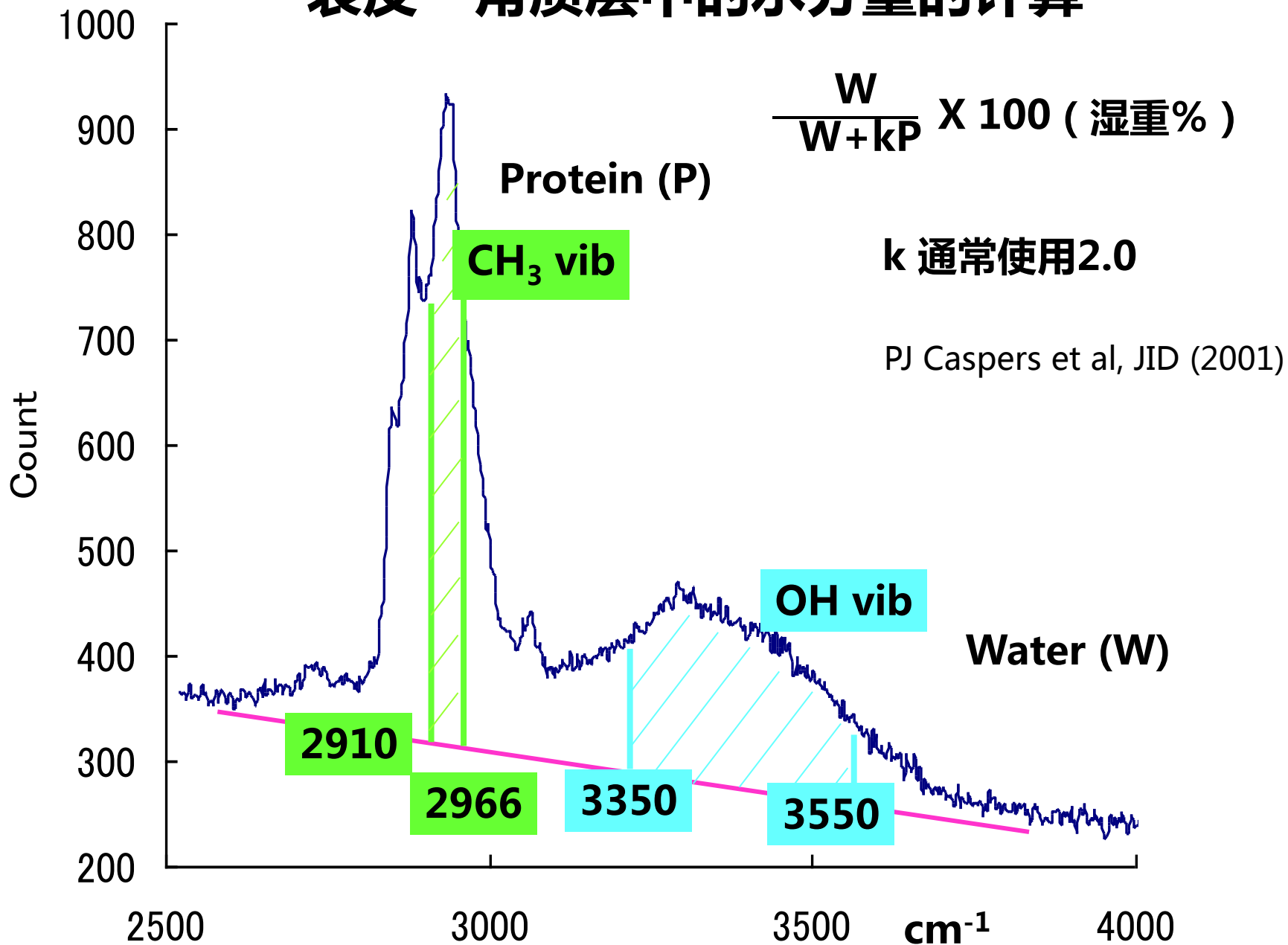
② 经皮吸收测定

ex. 视黄醇、咖啡因、PG、甘油

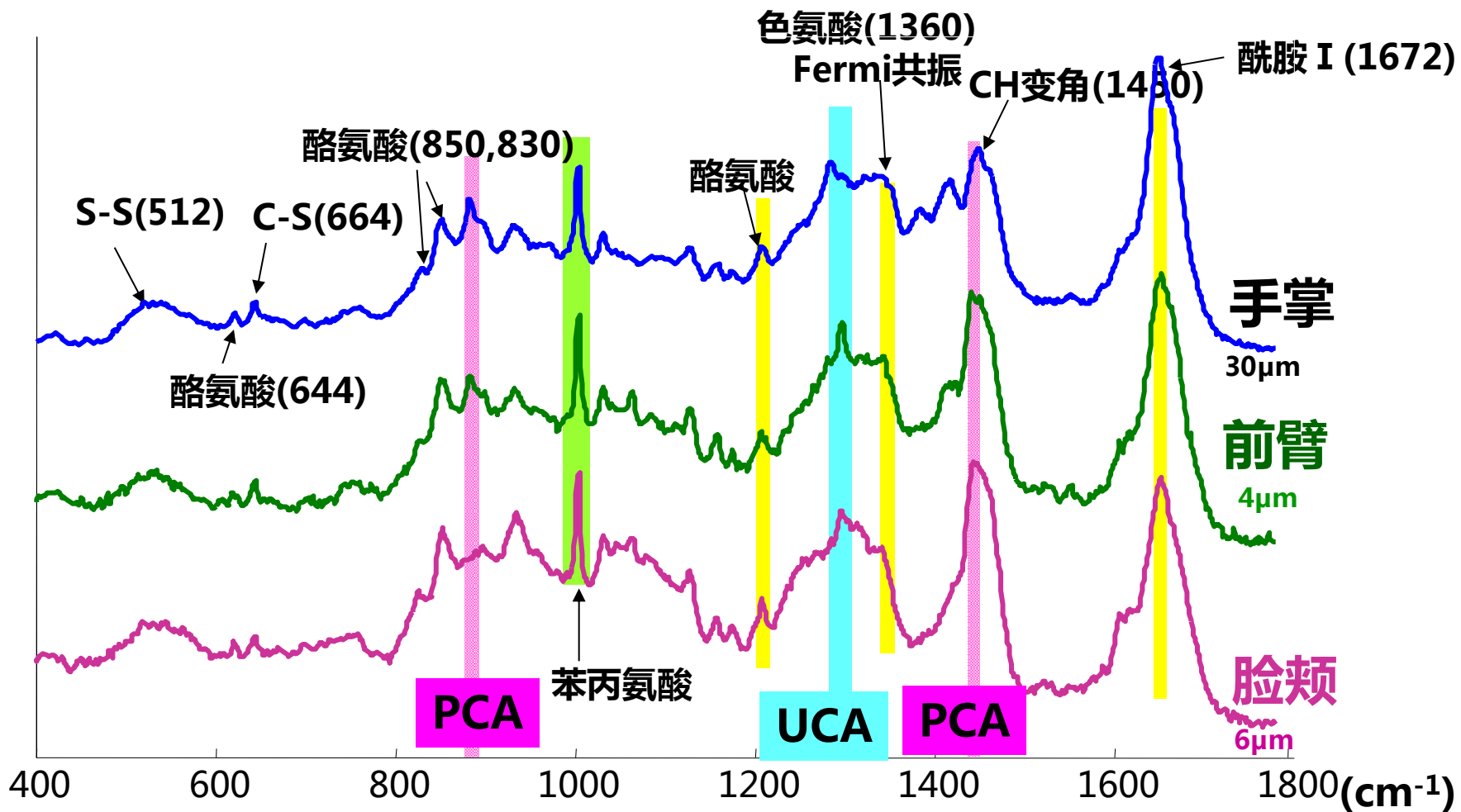
③ 皮内成分的分析

ex. 类胡萝卜素

表皮・角质层中的水分量的计算



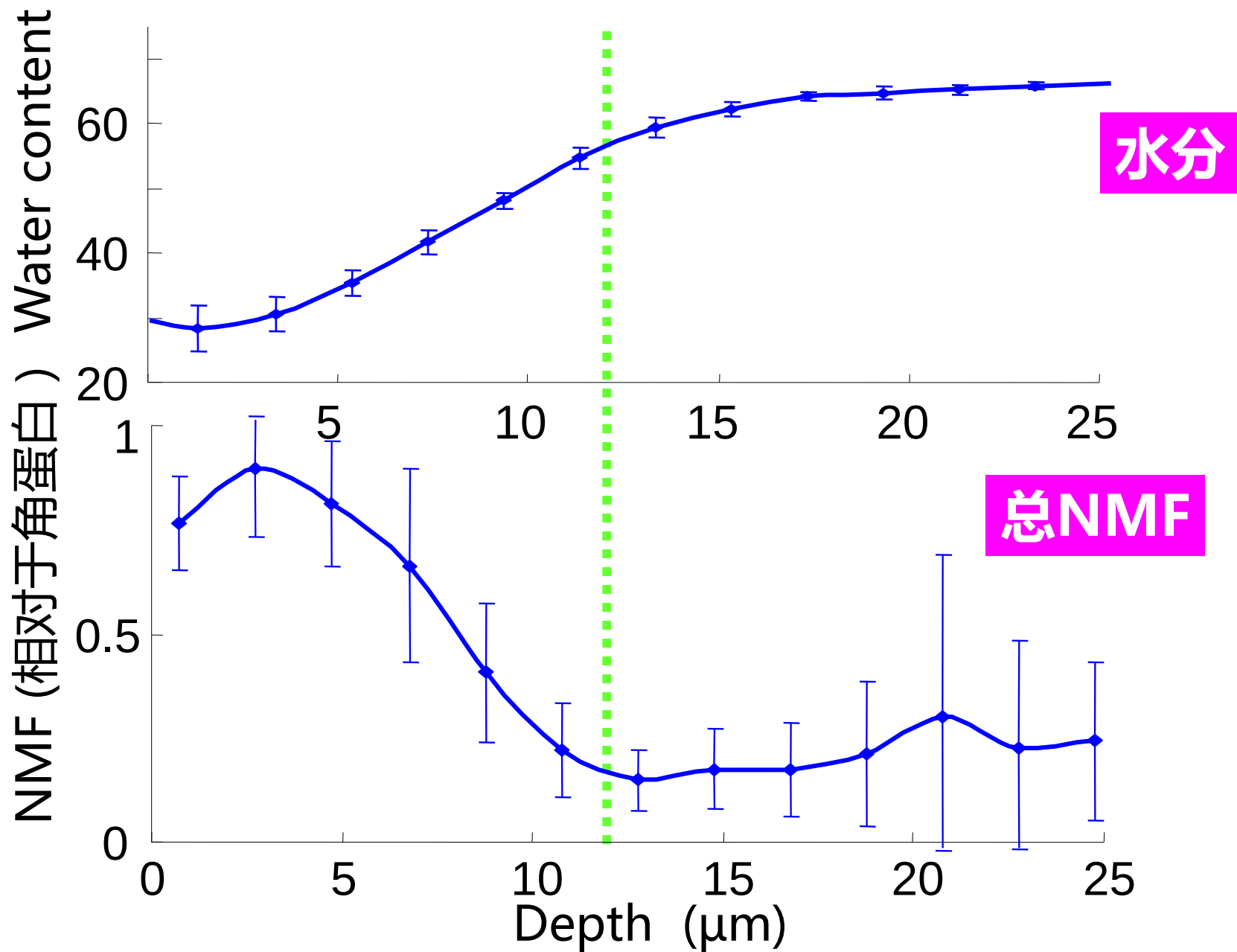
NMF及药剂的计算



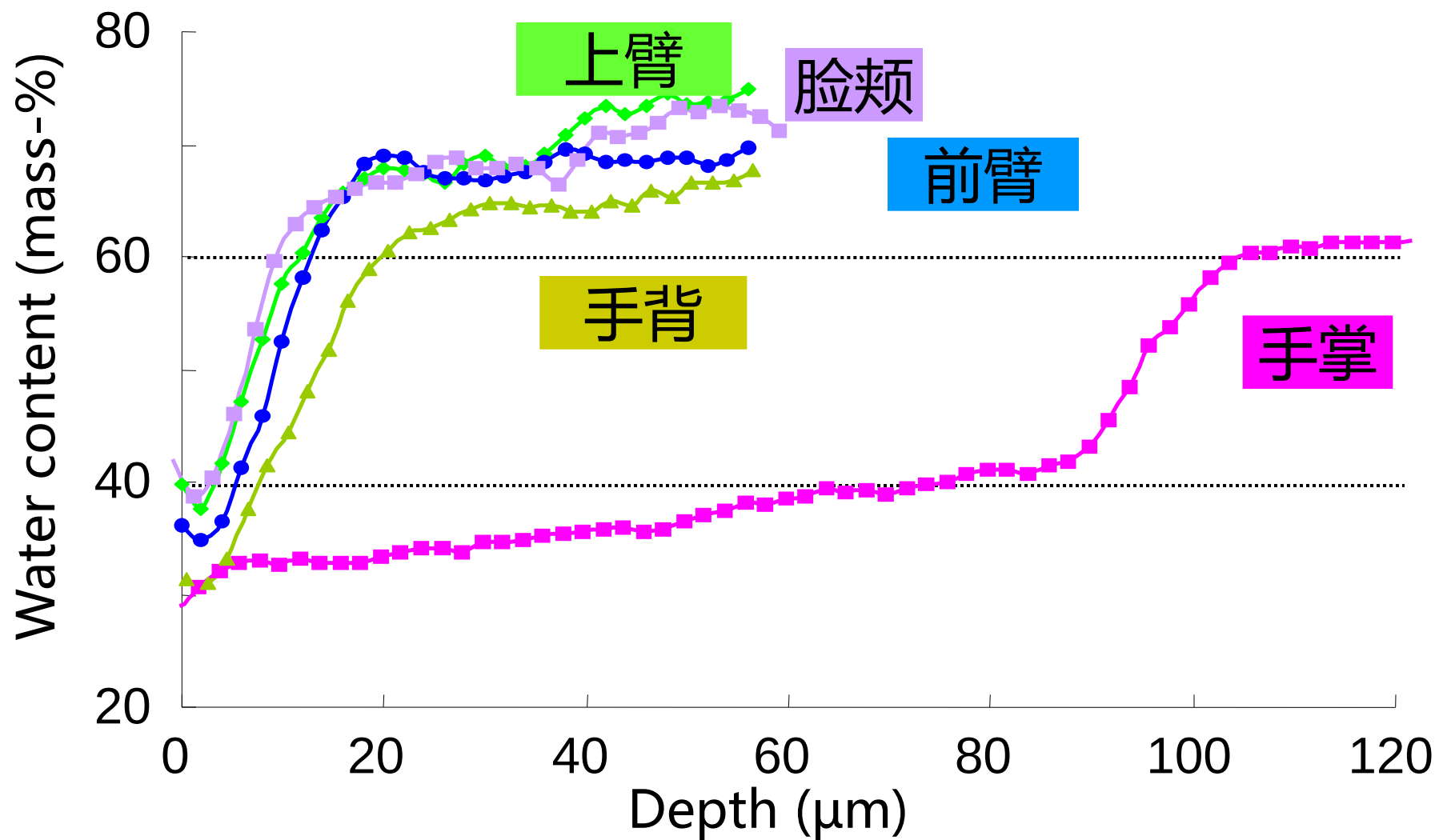
Pca, Orn, Ser, Pro, Gly, His_pH4, His_pH7, Ala, keratin, Lac_pH4, urea, tUca_pH4, tUca_pH8, ceramide4, cholesterol, quartz, optics, water

曲线拟合法

水分及NMF的深度分布



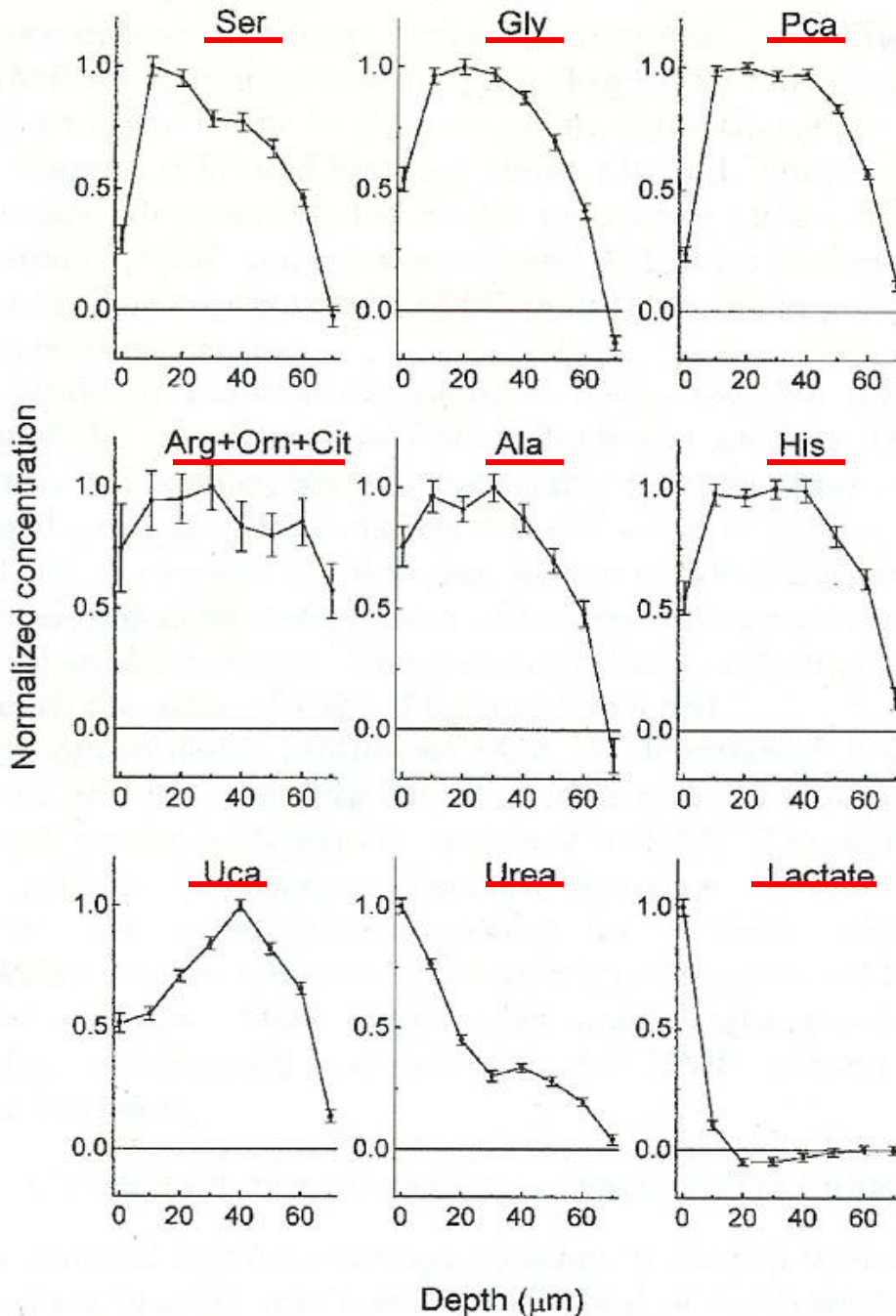
水分的深度分布（各部位的差异）



角质层水分的深度分布因部位而异

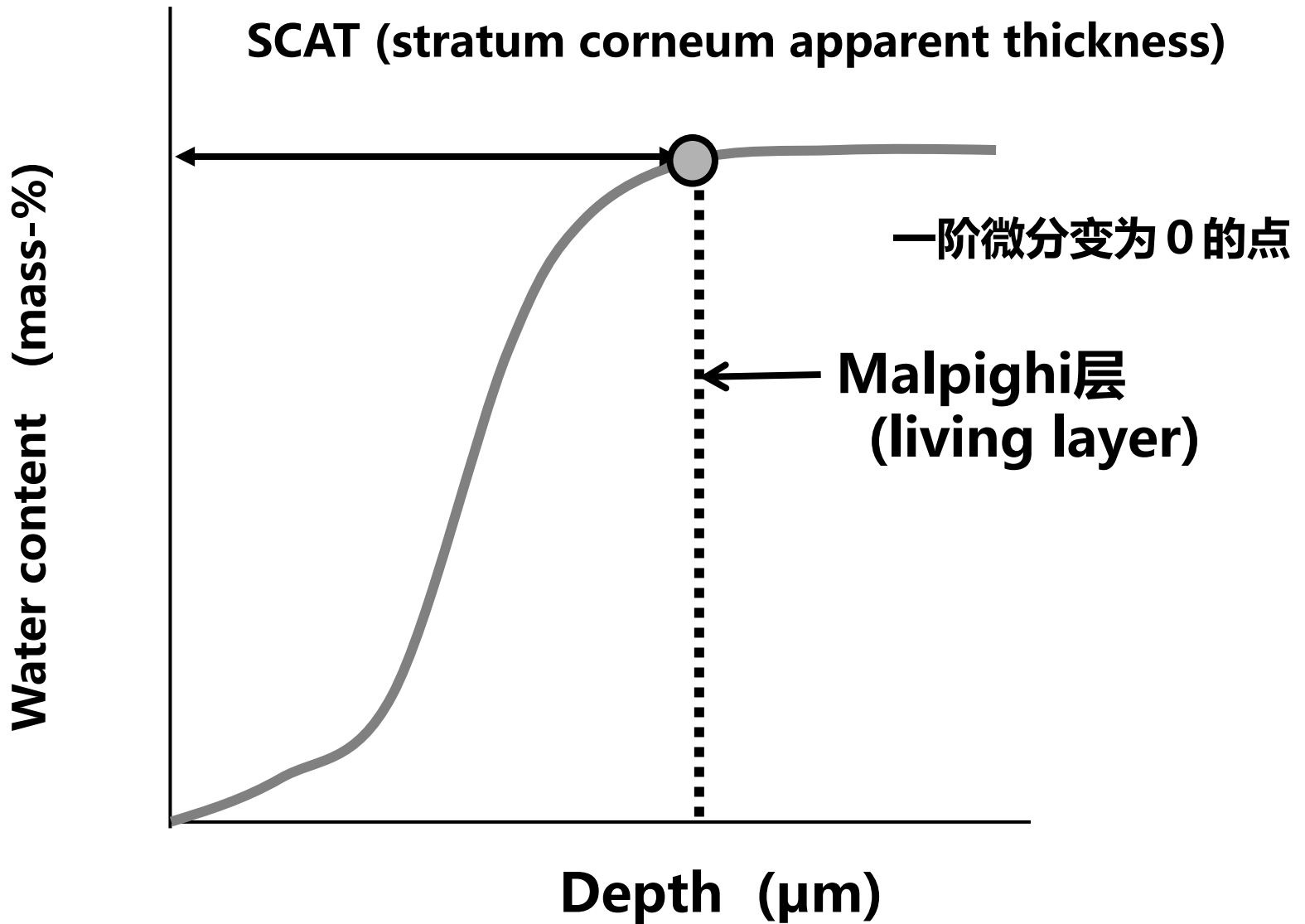
角质层中NMF的分布

部位：手掌
游离氨基酸在角质层的中央部分是最多的。
汗液的成分（尿素、乳酸）是随着由表面向内部而减少的。



Caspers, J Invest Dermatol.,
116:434,2001

外观的角质层厚度(SCAT)的求法

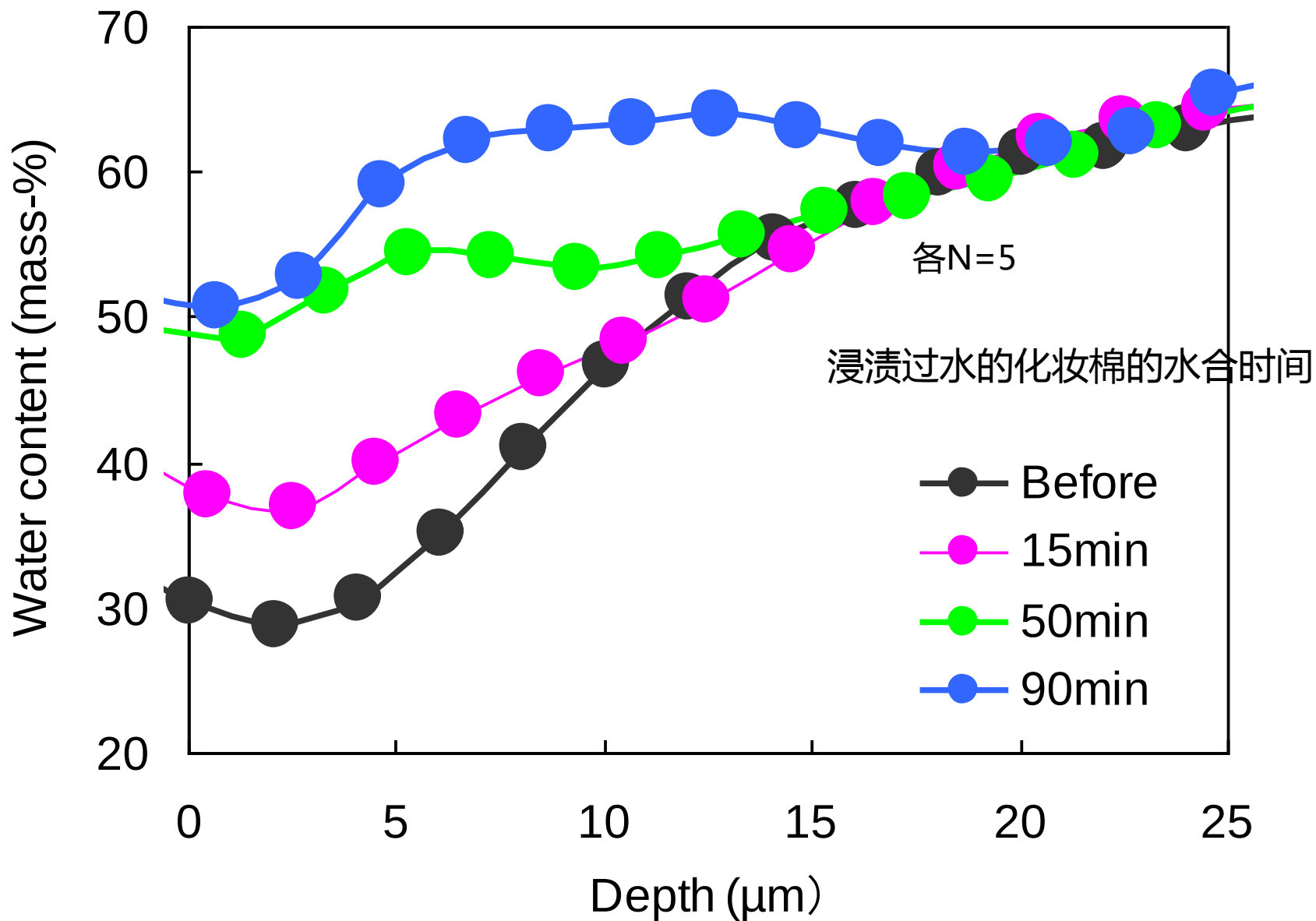


SCAT at different body sites.

	Number of subjects	Average (μm)	SD
Cheek	15	16.8	2.84
Upper arm	15	21.8	3.63
Forearm	14	22.6	4.33
Back of hand	13	29.3	6.84
Palm	15	173.0	36.96

Significant differences ($p<0.001$) between the palm and cheek, palm and upper arm, palm and forearm, and palm and back of hand were seen.

因皮肤水合而产生的水分的经皮吸收



Change in SCAT at volar forearm after hydration for 15, 50, and 90 min with water-soaked cotton wool.

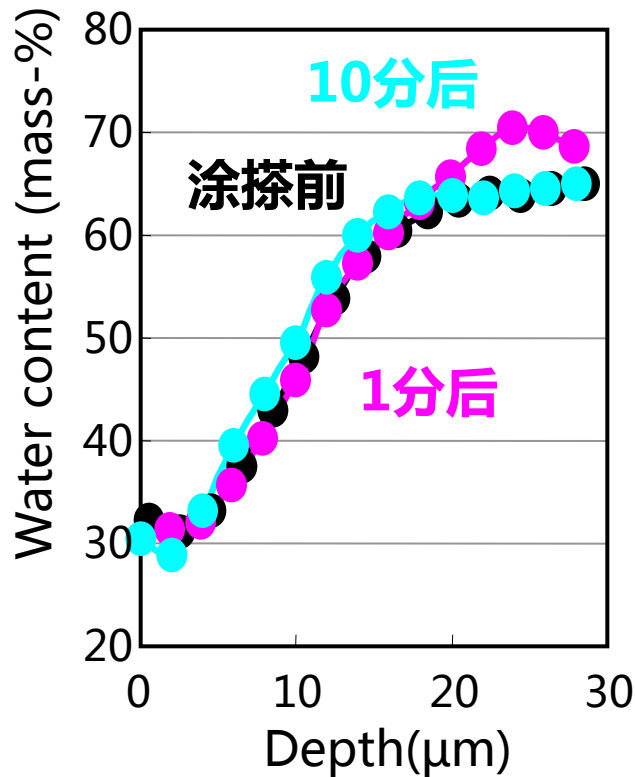
Hydration period (min)	Initial (μm)	After hydration (μm)	Ratio *
15	18.4	19.1	1.04
50	18.1	25.3	1.40
90	18.7	36.6	1.95

*** Ratio of SCAT after hydration against initial SCAT.**

因化妆行为产生的变化

通常涂抹

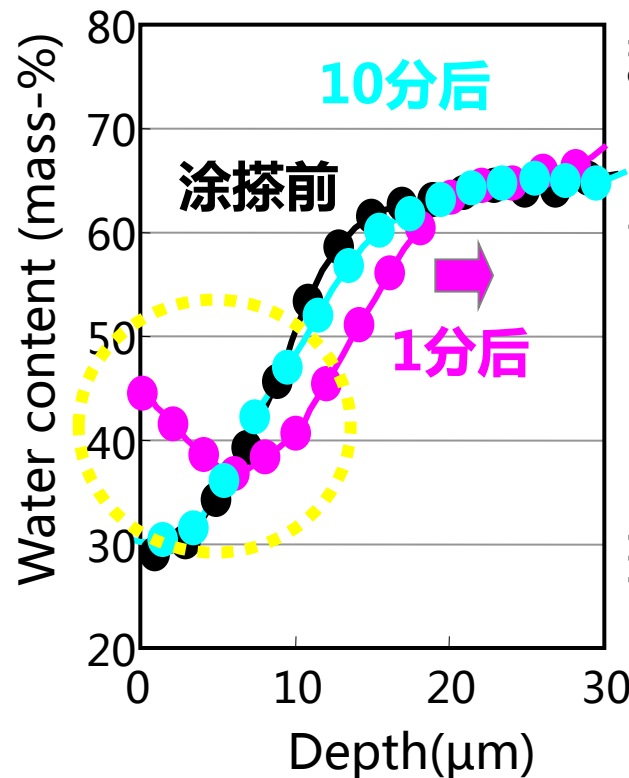
2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$



离子交换水	85.0
乙醇	10.0
1,3-丁二醇	5.0

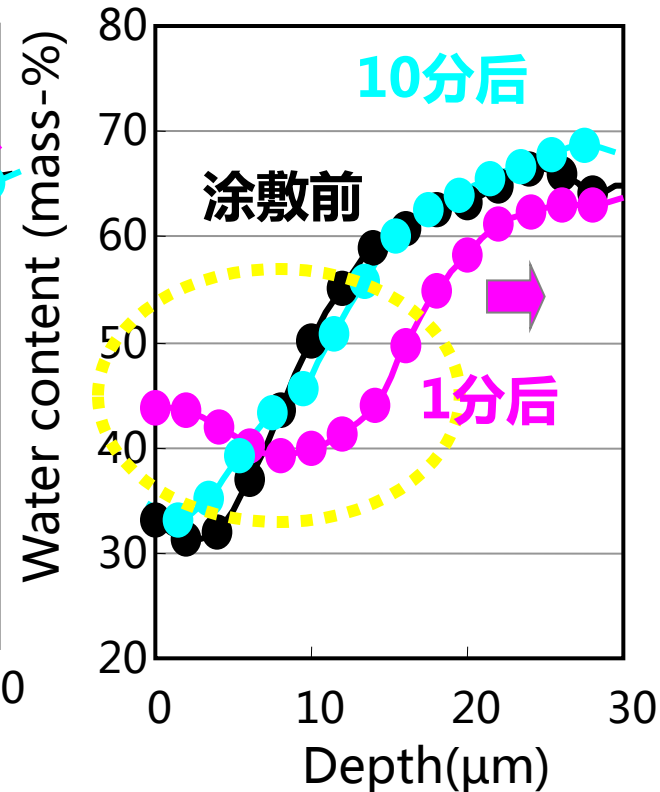
Patting

化妆棉浸含3 mL, 2分钟 面膜浸含5 mL, 10分钟



Mask

面膜浸含5 mL, 10分钟



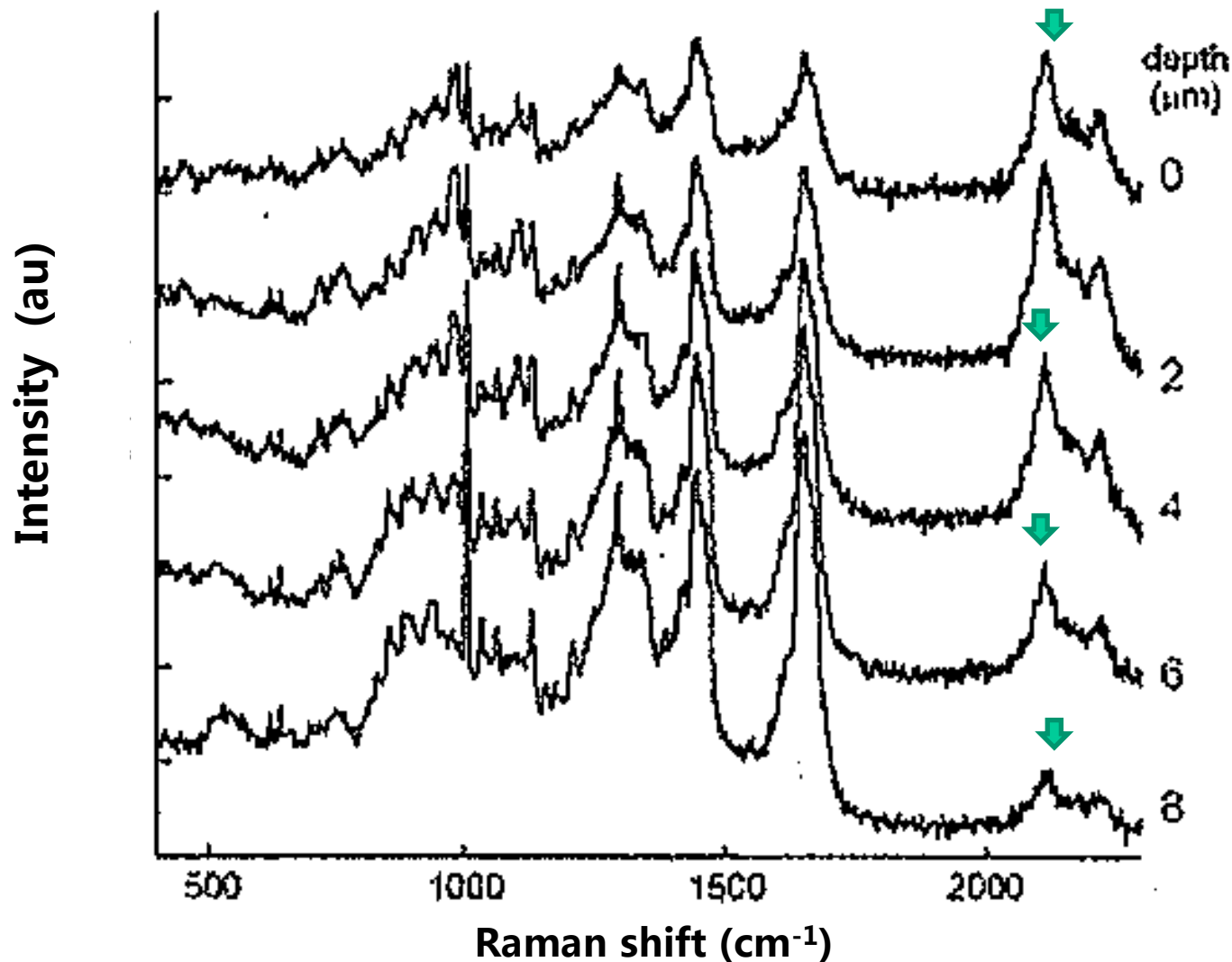
Patting · Mask $\Rightarrow$ 水蓄积在角质层上部

n=2的代表例

从文献看皮肤测定、经皮吸收测定的拉曼信号一览表

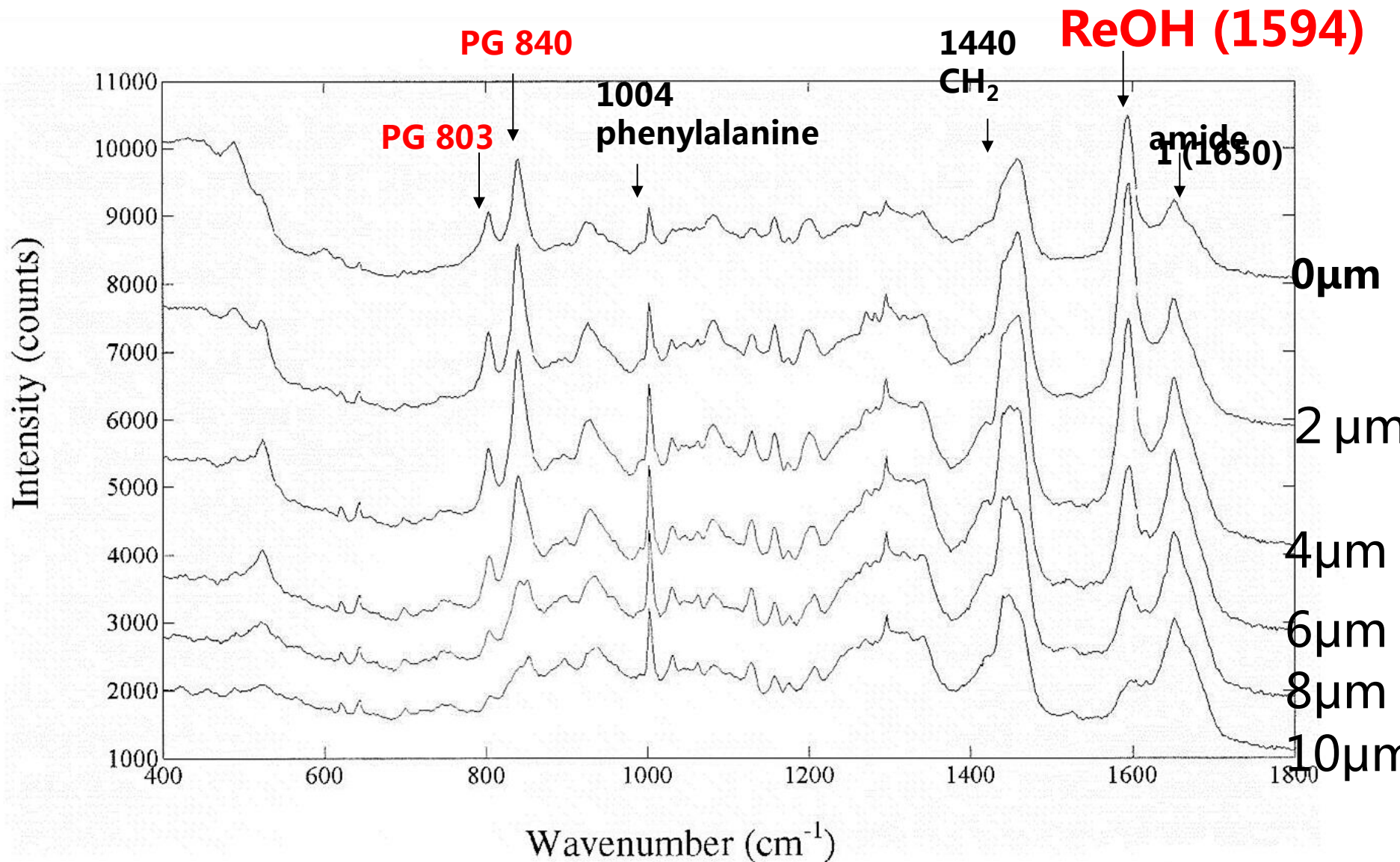
化学结合	波数(cm-1)	文献
脂质的CH ₂	2820-2900	J Dermatol Sci.,50:135,2008
胶蛋白的CH ₂	2910-2965	同上
水的OH	3350-3550	同上
Amide I	1650	Appl Spectrosc., 61:804,2007
CH ₂	1440	同上
Amide II	1240-1320	同上
phenylalanine	1004	同上
retinol	1594	同上
Propylene Glycol	803 840	同上
cartenoid	1159, 1524	J Invest Dermatol.,115:441,2000
Deuterated glycerol	2200 以上	Microsc Microanal 11(Suppl2):790-791,2005
urea	1000 附近	Pharmaceutical Res., 2007
lactate	850 附近	Pharmaceutical Res., 2007

In vivo 因共聚焦拉曼光谱而产生的甘油的经皮吸收



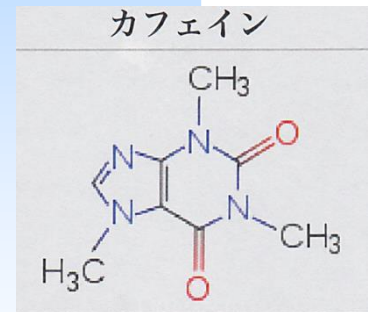
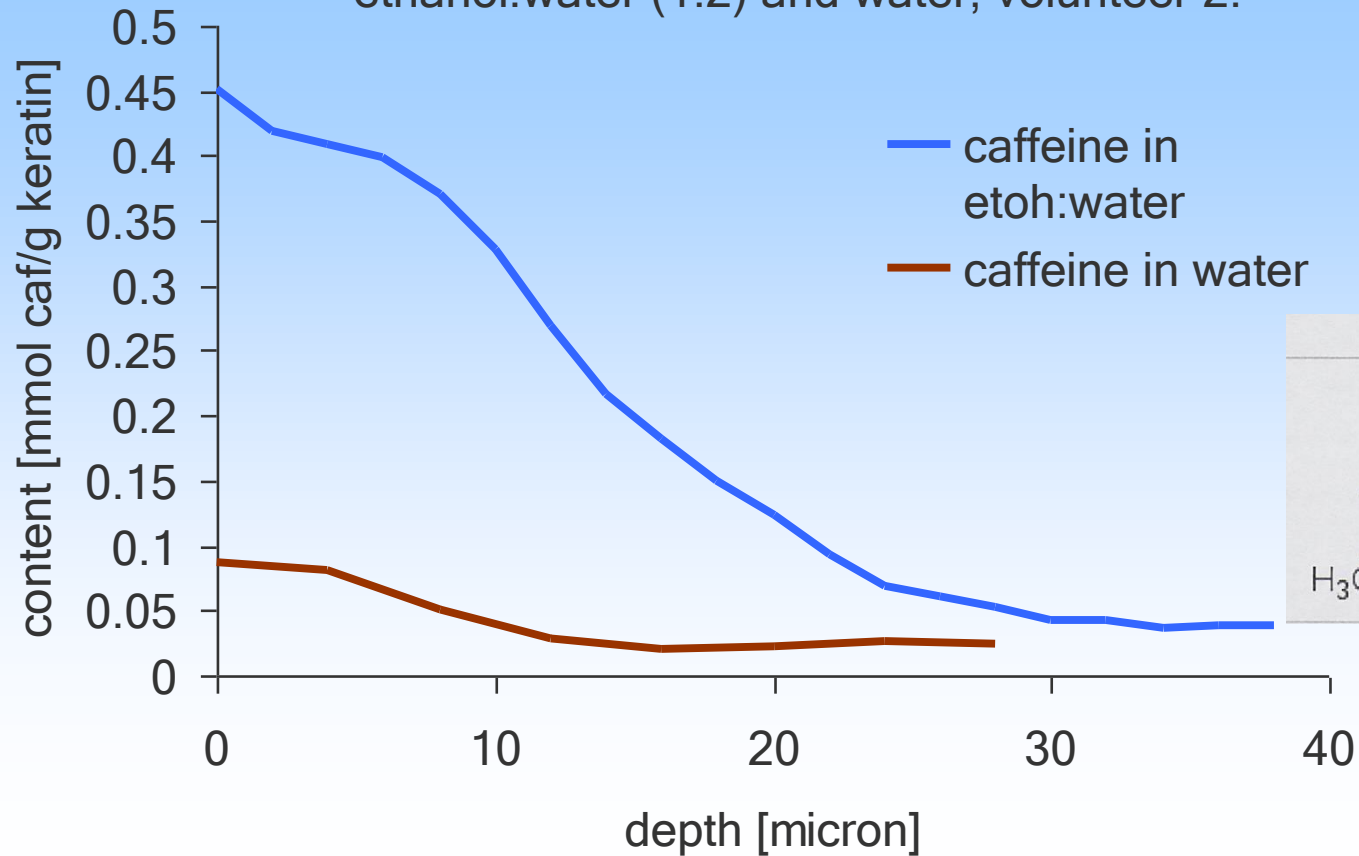
将氘化甘油添加在化妆品中、涂搽，3小时后测定

(Zhang , Microsc Microanal 11:Suppl2, 790-791,2005)



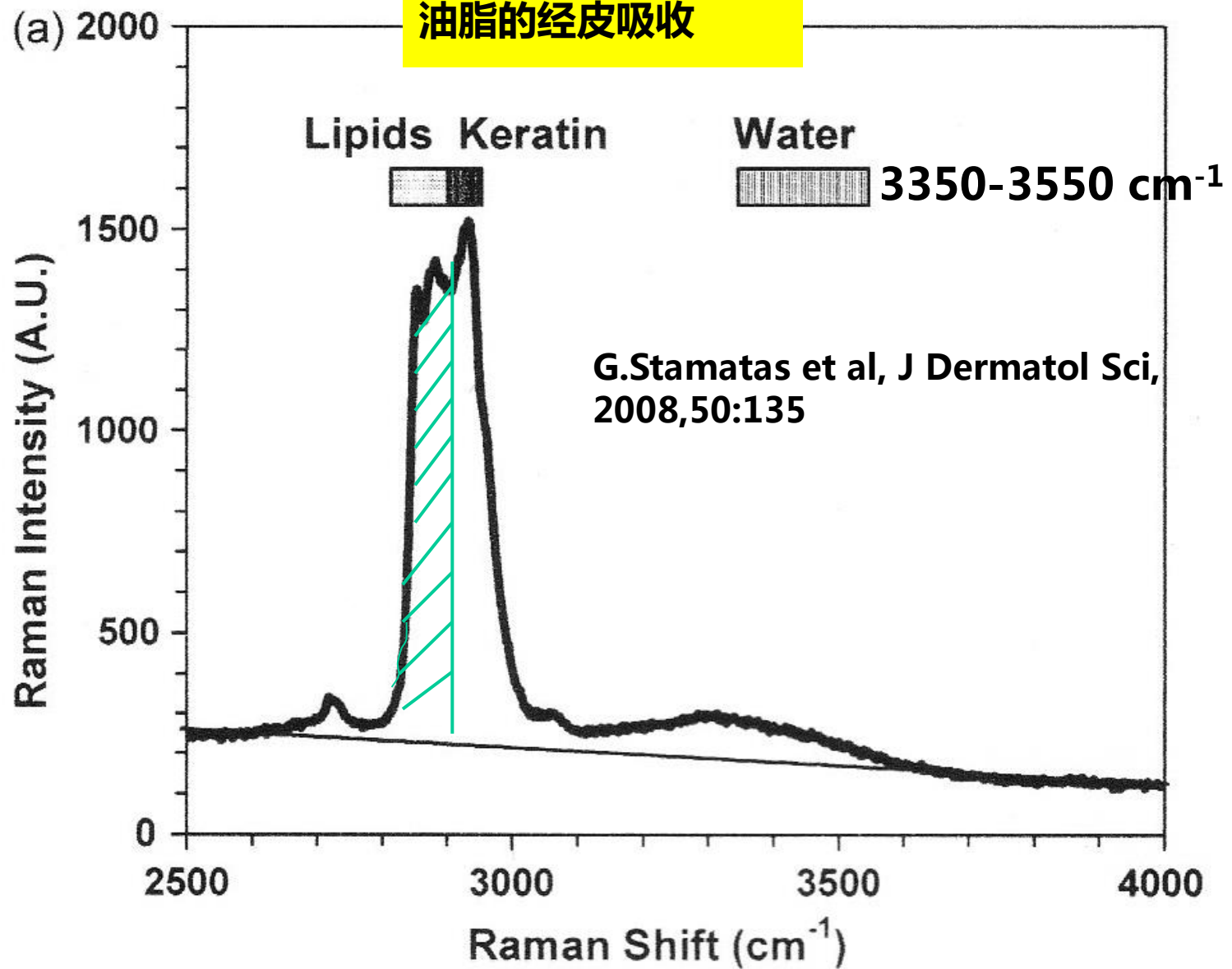
涂抹了**0.3% 视黄醇 in PG (30%)/乙醇(70%)**时皮肤深度方向的拉曼光谱 70μL/ 4x4cm²

Caffeine contents after application (1 hour) of solution in ethanol:water (1:2) and water, volunteer 2.

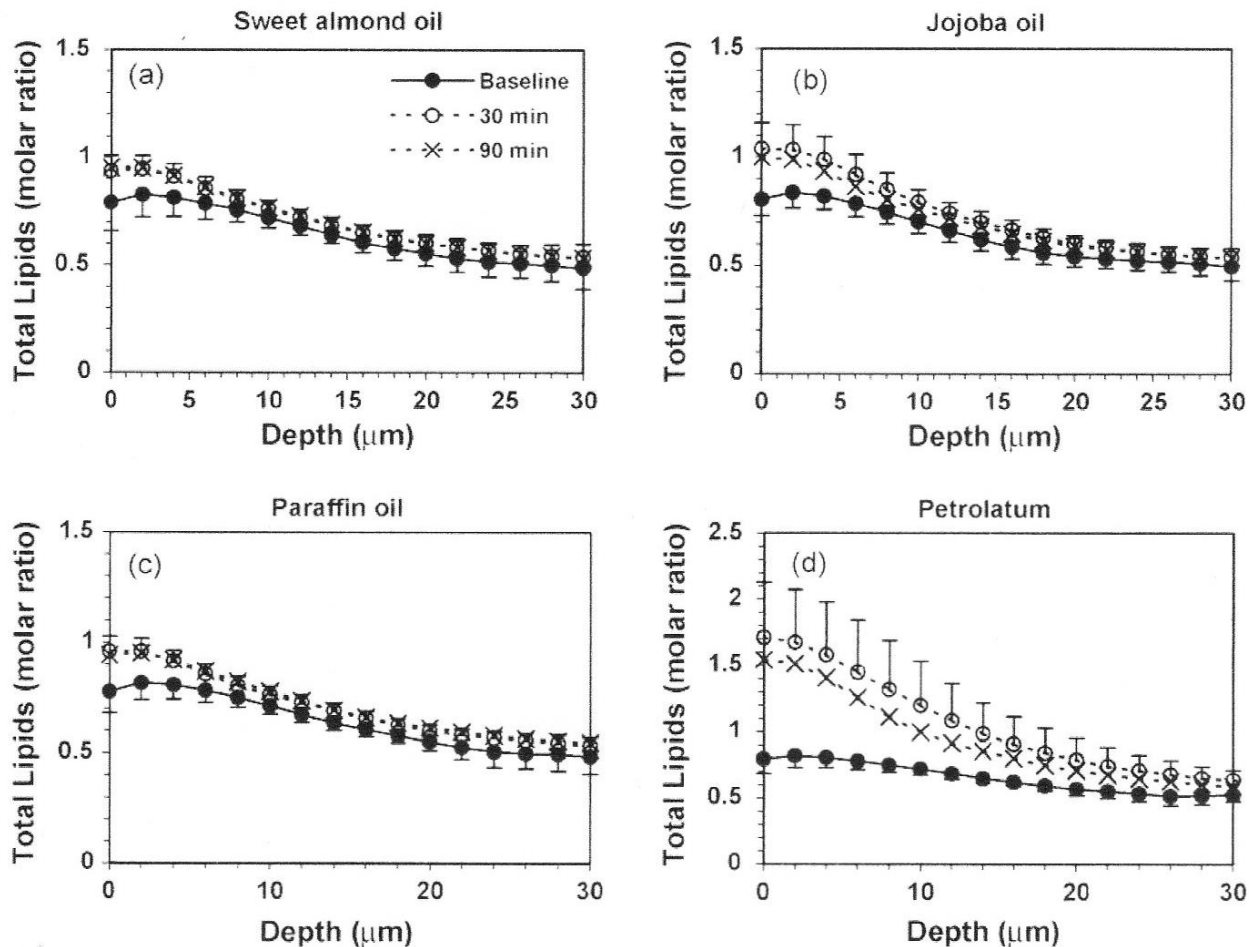


in vivo 因共聚焦拉曼光谱产生的咖啡因的经皮吸收测定

(未发表数据 : G.J.Puppels River Diagnostics)



Lipids : 2820-2900 cm^{-1} : 通过涂擦油脂, 信号变强
keratin : 2910-2965 cm^{-1} : 未受到涂擦的影响



因OIL不同而产生的角质层渗透性的差异

Mean $\pm$ 1.5 SD。90分钟后的数据没有波动。图中，total lipid 表示“涂搽的OIL + 角质层中的脂质”的量。与其他的油脂相比，Vaseline的经皮吸收性较高。植物油和矿物油没有差异。

主要的 *in vivo* 经皮吸收测定法

方法	侵入性 or 非侵入性	原理or 配套技术	深度方向 or 三维分布	可测定部位
Tape Stripping	invasive	· 提取后化学分析 · ATR-FTIR	· 可进行深度方向上的研讨 · 难以成像	仅限角质层
		· Mass Spectrometry Imaging (DESI-MSI)	· 可通过层叠二维数据来标示疑似三维分布	
Confocal Laser Scanning Microscopy	non-invasive	荧光标记的试验物质	可成像三维分布等	角质层、表皮、真皮上层
Confocal Raman Spectroscopy	non-invasive	斯托克斯拉曼散射	可进行特定一点的皮肤深度方向的测定	角质层、表皮、真皮上层
CARS	non-invasive	反斯托克斯拉曼散射	可成像三维分布等	角质层、表皮、真皮上层
Multi-photon Microscopy	non-invasive	荧光寿命	可成像三维分布等	角质层、表皮、真皮上层

谢谢大家！