

# 科技部補助專題研究計畫成果報告

(期中進度報告/期末報告)

評估使用含甲殼素的水膠體以降低防曬乳化製劑中化學防曬劑的經皮吸收

Evaluate the use of chitosan-containing hydrogel to reduce percutaneous absorption of organic UV filter in sunscreen emulsion formulation

計畫類別：個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：MOST 107-2637-B-276-001-

執行期間： 107年 8月 1日至 108年 7月 31日

執行機構及系所：美和學校財團法人美和科技大學美容系

計畫主持人：蔡豐仁

共同主持人：

計畫參與人員： 馮家樺、林品均

本計畫除繳交成果報告外，另含下列出國報告，共 0 份：

執行國際合作與移地研究心得報告

出席國際學術會議心得報告

出國參訪及考察心得報告

中 華 民 國 108 年 9 月 14 日

## 成果報告目錄

中文摘要 .....	3
英文摘要 .....	4
報告內容 .....	5
(一) 前言與研究目的 .....	5
(二) 文獻探討 .....	5
(三) 研究方法 .....	11
(四) 結果與討論 .....	13
(五) 結論 .....	19
(六) 參考資料 .....	19
(附件二) 科技部補助專題研究計畫成果自評表.....	24

## 中文摘要

目前已知，諸多常用的化學防曬劑經皮吸收至全身系統後有不可預期的生物安全性風險產生。而目前學界對於防曬劑有一個重要的研究方向是朝向如何減少經皮吸收效率以降低對人體的潛在性傷害。本研究嘗試利用含有甲殼素的水膠體均勻塗抹於皮膚表層評估是否降低防曬劑的經皮吸收。實驗結果發現含有甲殼素水膠體的存在會明顯造成 BP3 及 PBSA 在角質層中的促進滲透現象，而這種促進的效果是偏親油性的 BP3 大於偏親水性 PBSA。而這種促進滲透現象在男、女受試組別之間並沒有顯著差異。然而，從 9 小時的試驗期間總殘留量(收集六片)的結果顯示甲殼素水膠體的存在會降低 BP3 的經皮吸收，而女組的 BP3 經皮吸收比率明顯高於男組。另外，甲殼素水膠體的對於 PBSA 的經皮吸收效應並沒有顯著影響，且女組的 PBSA 經皮吸收相對於於男組也沒有顯著差異。由這二組的試驗結果顯示，BP3 的經皮吸收是明顯高於 PBSA，這應該歸因於分子結構的屬性，我們推測跟它們的極性性質有關，偏親油性的性質是較有利於經皮吸收。我們的結論是甲殼素水膠體甲殼素水膠體會造成淺層角質層的澎潤現象使得細胞間脂質的流動性加大進而造成防曬劑的促進滲透現象，但對於較深層排列緊密的角質層所形成的障壁結構並無任何影響，且甲殼素水膠體可能會干擾偏親油性分子的經皮吸收而形成一種阻礙障蔽而導致防曬的經皮吸收效應明顯降低，但這個干擾效應對於親水性分子的影響並不顯著。因此，利用甲殼素水膠體來降低防曬劑的經皮吸收對於偏親油性分子 BP3 是有效果的，但對於偏親水性的 PBSA 是沒有顯著影響。

**關鍵詞：**光老化 / 紫外線過濾劑 / 經皮吸收 / 甲殼素

計畫英文摘要。(五百字以內)

This study found that the hydrogel containing chitosan significantly promoted the penetration of Benzophenone-3(BP3) and 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid (PBSA) in the stratum corneum, and the effect of this promotion was that the lipophilic BP3 was greater than the hydrophilic PBSA. This promotion of penetration did not differ significantly between the male and female test groups. The total residual amount (collecting six tapes) during the 9-hour test showed that the hydrogel containing chitosan reduced the percutaneous absorption of BP3, and the transdermal absorption ratio of BP3 in the female group was significantly higher than that in the male group. However, the same hydrogel had no significant effect on the percutaneous absorption of PBSA, and the transdermal absorption of PBSA in the female group was not significantly different from that in the male group. The results of these two different tests showed that the percutaneous absorption of BP3 was significantly higher than that of PBSA, which should be attributed to the properties of the molecular structure of the UV filter. We speculate that this phenomenon is related to their polar nature, and the nature of the lipophilic nature is more conducive to their transdermal absorption.

Our conclusion is that the hydrogel containing chitosan will cause the swelling of the shallow stratum corneum, further increasing the fluidity of the intercellular lipids and causing the penetration of the sunscreen. However, this phenomenon does not occur for deeper stratum layers. We believe that the hydrogel containing chitosan may interfere with the percutaneous absorption of the lipophilic UV filter, and it can form an absorption barrier that causes the transdermal absorption effect of the lipophilic filter to be significantly reduced, but the effect of this interference effect on the hydrophilic UV filter is not significant. Therefore, the effect of using the hydrogel containing chitosan to reduce the transdermal absorption of the UV filter is effective for the lipophilic molecule BP3, but has no significant effect on the hydrophilic PBSA.

**Keywords : Photo-aging / UV filter / percutaneous absorption / chitosan**

## 一、前言及研究目的

目前已知，諸多常用的化學防曬劑經皮吸收至全身系統後有不可預期的生物安全性風險產生。而

目前學界對於防曬劑有一個重要的研究方向是朝向如何減少經皮吸收效率以降低對人體的潛在性傷害。因此，嘗試使用不同種類的載體或乳化劑來降低防曬劑的經皮吸收是一種可行的方法，Golmohammadzadeh 等人(2008)使用慣用的水包油(o/w)乳液、多薄層微脂粒(multilamellar liposomes)及小單層微脂粒(small unilamellar liposomes)三種載體包覆 Octyl methoxycinnamate (OMC)進行人體測試，結果發現多薄層微脂粒有稍佳的 SPF 值且所包覆的 OMC 有較多的量停留在角質層，小單層微脂粒所包覆的 OMC 可以經皮吸收進入更深層。可見不同種類的載體的確會影響 OMC 的防曬 SPF 值及經皮吸收效率。事實上，使用不同種類的乳化劑組合所製備的水包油(o/w)乳液包覆 OMC 及 Butyl methoxydibenzoylmethane (BMDM)並進行皮膚滲透的體外試驗，也證明乳化劑的種類也會明顯影響這二種防曬劑對皮膚的滲透能力(Montenegro et al, 2008)。另外一項研究以取豬的腹部皮膚為體外試驗模式，利用水膠體(hydrogels)劑型內含甲殼素(chitosan)包覆 Benzophenone-3 (BP3)所形成的奈米膠囊(nanocapsules)進行經皮吸收的試驗，結果發現這樣的奈米膠囊可有效率地將 BP3 大部份地留在角質層，可大幅降低系統性吸收的風險(Siqueira et al, 2011)。也有一項研究使用 環糊精( $\beta$ -cyclodextrin)個別與 BP3、BMDM 及 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid (PBSA)進行結合並導入水包油(o/w)乳霜劑型，利用大鼠皮膚進行 Franz diffusion cells 的經皮吸收體外試驗方法，發現這些 UV 防曬劑的皮膚滲透量顯著降低 4~15 倍(Shokri et al, 2013)。我們認為最理想的情況是將防曬劑完全停留在角質層最外層，形成防紫外線的屏障，而不要滲入活細胞組織及體循環中。

從上述的研究可得知有些特定的包覆載體及乳化劑的應用的確可以有效降低化學防曬劑的經皮吸收。然而，我們認為從上述的包覆載體的研究數據中還是可以發現化學防曬劑仍然避免不了還是會被吸收，有的是吸收的數量被減少，有的是吸收的現象被延遲。我們認為上述的包覆載體及乳化劑的應用皆還是屬於單層或多層包覆粒徑不一的乳化微胞劑型，包括化學防曬劑在內所有載體的組成分都處於流體的狀態，而這些乳化微泡經過施力塗抹於受試皮膚時，微胞經過壓力擾動會使得乳化均相狀態受到破壞致使這些被包覆的高流動性且偏親脂性之化學防曬劑仍然有很大的機率會藉由被動擴散(passive diffusion)的方式滲入角質層細胞間質的薄片雙層(lamellar bilayers)結構中，進而進入活細胞組織及體循環中。因此，我們提出一個新的策略，先利用含有甲殼素的水膠體噴灑並均勻塗抹於皮膚表層待其水分自然蒸發後形成一層膠膜，利用甲殼素屬於陽離子多糖聚合物的特性，具備親水性質高極性又能與帶負電的生物表面(角質層)以靜電吸引力相互貼合，以形成一層具備高極性性質的阻隔障壁，隨後再進行塗抹防曬乳液，我們認為營造這一層高極性的膠膜會導致偏親脂性(非極性)的化學防曬劑被動擴散進入角質層的機率將大幅降低，甚至比上述使用特定的包覆載體及乳化劑的應用所減少的經皮吸收現象更為顯著。但可想而知這種雙劑型(水膠體及防曬乳液)先後使用的設計對消費者而言或許會感到較為繁複及麻煩，但若能藉由本研究證明這種策略對化學防曬劑能達到更低的經皮吸收效率，這對消費者而言則有更好的安全保障，是一種值倡導及推廣的一種方法。

## 二、文獻探討

目前已知在紫外線照射的皮膚組織中可誘導產生活性氧族群(Reactive oxygen species, ROS) (Scharffetter-Kochanek et al, 1997; Hanson & Clegg, 2002)。而誘導出來的 ROS 可以廣泛地攻擊各種生物分子，並且經常導致其氧化傷害，如脂質過氧化(Tanaka et al, 2001)、醯化產物(Jeanmaire et al, 2001)、蛋白質氧化(Sander et al, 2002)和 DNA 氧化(Zhang et al, 1997)。事實上，人體皮膚過度暴露於太陽紫外線輻射可能會導致一些有害的影響。它們包括紅斑形成，脫屑現象，光免疫抑制，光致癌及光老化(Wenk et al, 2001; Dumay et al, 2001; Garmyn et al, 1992)。紫外線過濾劑(UV filters)通常普遍添加在防曬商品中，消費者相信這些防曬劑可以有效防止紫外線所誘導的 ROS 對皮膚的傷害。防曬產品中通常含有化學防曬劑，也稱為有機過濾劑，並且在 UVA 區域(320~400nm)或 UVB 區域(290~320nm)有強烈吸收作用。而防曬係數(Sun protection factor, SPF)是評價和

測量防曬品的保護功能的最普遍的方法。通常，根據 UV 透射測量(從 290nm 到 400nm)方法(Diffey et al, 2000) 確定 *in vitro* 的 SPF。簡言之，通過覆蓋有防曬劑的透光基板進行並進一步置於分光光度計中，並且將 UV 透射數據用於 SPF 計算。然而，這個 *in vitro* 的測試方法最大的缺點是無法考量到化學防曬劑經皮吸收的問題，而化學防曬劑必須盡量停留在皮膚的表層才有最佳的防曬功能是可以被人理解的。而慣用的 *in vivo* SPF 測試方法通常使用最小紅斑劑量 (minimal erythral dose, MED) 來計算，會使用人造紫外線燈源在受試人皮膚照射特定劑量的紫外線並產生紅斑。然而使用這個方法通常被認為具有很大的道德問題，畢竟紅斑的產生已經實質造成受試者皮膚的傷害。因此，建立更靈敏且更安全的次紅斑(sub-erythral)的體內(*in vivo*)評估方法是就顯得相當重要且有價值。先前，我們已成功建立一套針對抗氧化成份的體內(*in vivo*)測試的有效性檢測平台，成功評估 7 種常用的抗氧化劑對皮膚的光保護效果，其成果也已刊載於 SCI 級國際專業期刊”*Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* (Tsai et al, 2012)，其原理係偵測人類皮膚角質層最外層蛋白質羰基化(protein carbonylation)數量來代表皮膚受到氧化壓力(oxidative stress)傷害之程度，是屬於一種安全性較高的次紅斑的分子偵測法。目前已知蛋白質的羰基化是氧化壓力造成生物分子受到破壞的重要證據及指標之一，蛋白質羰基可藉由 ROS 或 reactive carbonyl species(RCS)(註:RCS 是脂質受到 ROS 攻擊所產生的過氧化產物)直接攻擊氧化離胺酸(lysine)、精胺酸(arginine)、脯胺酸(proline)、組胺酸(histidine)、色胺酸(tryptophan)及蘇胺酸(threonine)殘基而產生，這是屬於胺基酸殘基修飾之氧化傷害類型(Stadtman & Levine, 2003；Zheng & Bizzozero, 2010)。其常被運用來研究人體組織受到氧化傷害甚至造成組織蛋白質功能受損的重要證據(Dalle-Donne et al, 2006；Lazarus et al, 2015；Ishida et al, 2017；Zabel et al, 2017)。我們也使用這個測試平台去測試及比較 7 種防曬商品中常使用的化學防曬劑的臨床光保護效果(張簡, 2012)，結果顯示這個方法也能鑑別及量化不同種類化學防曬劑對皮膚的光保護效率。我們認為雖然抗氧化劑與防曬劑保護皮膚的作用機制不同，但對於減少紫外線對皮膚組織的氧化傷害的目的卻是相同的。在這個試驗中我們發現 BMDM 具有高程度的防曬效果；Octocrylene (OCR)及 OMC 具有中高程度的防曬效果；而 BP3 具有中程度的防曬效果；PBSA 具有中低程度的防曬效果；Octyl salicylate (OSA) 及 Homosalate (HSA)則只有低程度的防曬效果(如圖 2.1)。這個研究中，我們也利用分光光度計測試含個別 UV filter 製備完成的乳化敷劑使用 50%酒精溶劑稀釋後的紫外線吸收光譜，藉以探討造成 UV filters 臨床光保護效率高低的因素。藉由這個實驗的結果，我們也提議若 UV filter 具有含蓋或部分含蓋吸收短波 UVA(short-wave UVA)範圍、吸收效能高、高光穩定性質及低經皮吸收效率之性質，其臨床光保護的效果也會較為顯著。我們希望藉由這研究可以開創防曬劑研究方面新的方法及新的觀點。

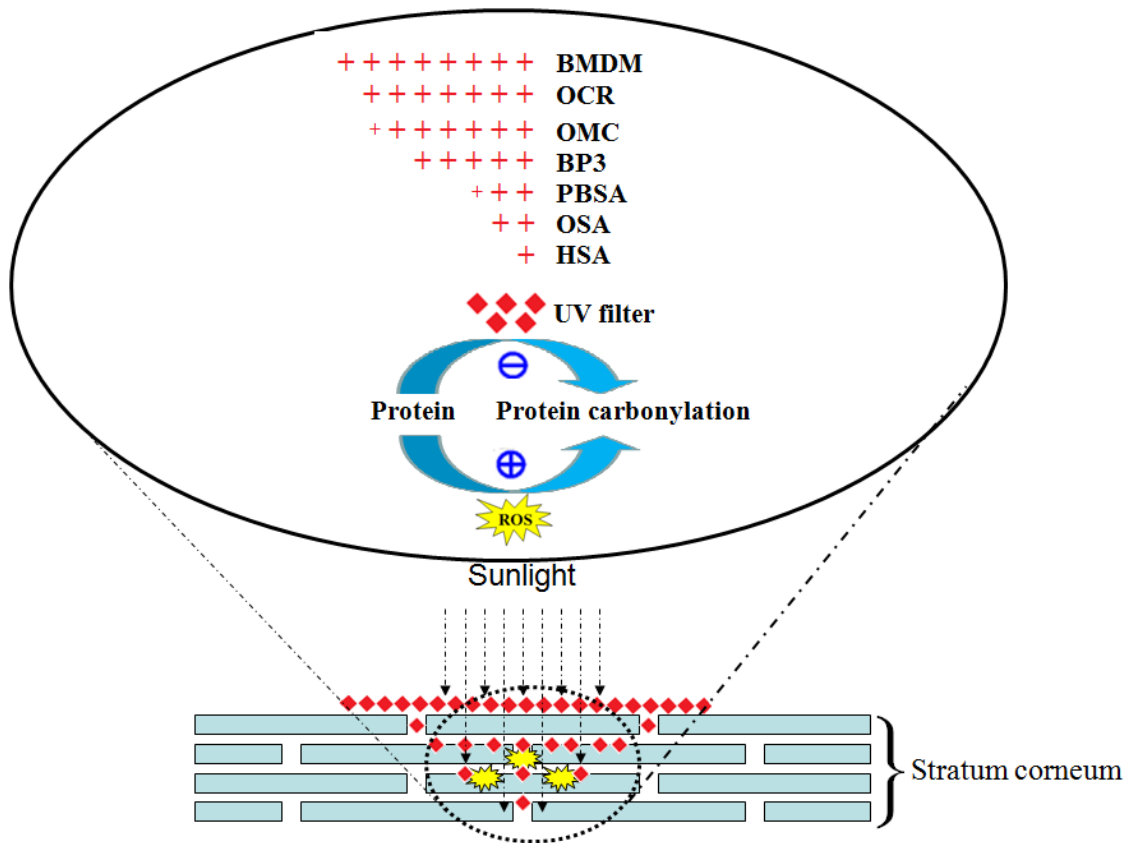


圖 2.1：7 種 UV filters 之臨床光保護效力的示意圖。

而在商品配方臨床光保護效力不變為前提下，合併使用抗氧化劑及防曬劑當作組合配方運用也是相當有潛力的發展方向，因為這樣可以有效減少防曬劑的使用量。在我們最近的研究中(林, 2015)，使用較低劑量的 2 種抗氧化劑  $\alpha$ -Vit E, Vit C；劑量:0.3 % 及 3 種防曬劑(OCR, BMDM, OMC；劑量:2.5 %) 之個別及其組合配方之光保護效力，施測的條件與上述防曬劑試驗相同，結果顯示  $\alpha$ -Vit E 與 BMDM 有顯著的光保護效力加成效果，與 OMC 沒有顯著的光保護效力加成效果，而與 OCR 則產生光保護效力相互減損的現象，我們推測在曝曬陽光的條件下 OCR 與  $\alpha$ -Vit E 會產生交互作用而相互減損兩者的光保護效力(圖 2.2)。而相同濃度的 Vit C 與這三種防曬劑並沒有顯著的光保護效力加成效果。我們認為氧化安定性差及光不穩定性的 Vit C，在低使用濃度及曝曬陽光的條件下，無法顯著地與防曬劑形成光保護效力的加成效果。

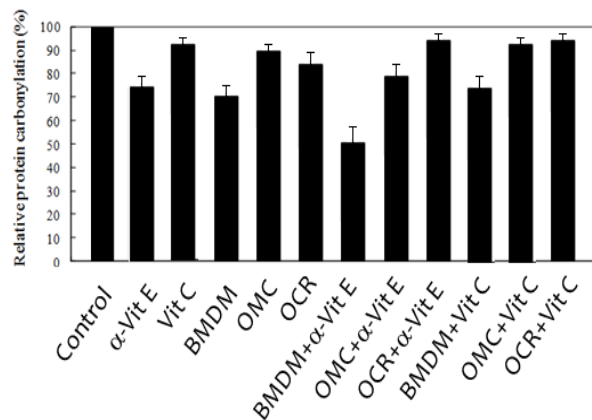


圖 2.2：各實驗劑的光保護效力比較圖

防曬劑經皮吸收後產生全身系統分佈的風險已經被證實及廣泛的討論。不論是有機或無機的防曬劑對於皮膚的經皮吸收已經被深入的研究以確定其安全性(Cross et al, 2007；Mavon et al, 2007；Sha

et al, 2015)。在張簡(2012)的研究中，我們也針對上述 7 種常用的防曬劑的生物安全性、光穩定性及經皮吸收效率進行文獻的蒐集及探討。就生物安全性而言，BP3 最引人關切的是會引發光過敏性接觸性皮炎(photoallergic contact dermatitis)，其發生的機率是明顯高於過敏性接觸性皮炎(allergic contact dermatitis)，有研究顯示在歐洲一項大規模的光貼布(photopatch)測試研究中，發現 BP3、OCR 及 BMDM 是比較容易有發生光過敏性接觸性皮炎的化學防曬劑的種類，而抗發炎藥物 ketoprofen 所引發光過敏性接觸性皮炎患者有相當高的比率也會對 BP3 及 OCR 產生光過敏性接觸性皮炎(The European Multicentre Photopatch Test Study (EMCPPTS) Taskforce, 2012)，這也意謂著 BP3、OCR 及 ketoprofen 在分子結構上有高度的關聯性。另一個相當引人關切的議題是 BP3 被認為其被身體吸收後，潛在性地扮演激素干擾器(endocrine disruptor)的角色而被強烈地被質疑使用的安全性(Szczurko et al, 1994; Knobler et al, 1989; Fisher, 1992)，特別是在以人類的乳房癌細胞的 *in vitro* 的研究模式中證實其具有雌激素活性(estrogenic activity)及抗雄激素活性(anti-androgenic activity)(Ma et al, 2003; Heneweer et al, 2005)；而在大鼠的 *in vivo* 的研究模式中證實其可增加 23 % 子宮的重量(Schlumpf et al, 2001)；在最近的研究中也顯示新生兒的先天性巨結腸症(hirschsprung's disease)推測與孕婦暴露於 BP3 有直接的關聯(Huo et al, 2016)。而在致癌的研究上，BP3 甚至會導致 B6C3F(1) 老鼠產生致癌化現象(carcinogenic activity)(Rhodes et al, 2007)。而以光穩定性而言，目前已知 BP3 在防曬劑的配方中的光穩定性相當高，其體外試驗的半衰期(half-life)高達 1500 min (Couteau et al, 2007)。在經皮吸收方面，由分子的結構性質也已被證實 BP3 容易穿透皮膚(Fernandez et al, 2002)，因此其系統性吸收現象(systemic absorption)也已經被闡明(Hayden et al, 1997; Jiang et al, 1999; Gonzalez et al, 2006; Janjua et al, 2004)，該物質明顯地可經由尿液及其它排泄路徑排出(Kadry et al, 1995; Okereke et al, 1993; Okereke et al, 1994)；進一步研究更顯示含 BP3 的化妝品塗抹於皮膚經皮吸收後 48 小時即可在尿液中偵測到 BP3(Gustavsson Gonzalez et al, 2002)。而在以大鼠的研究模式中發現 BP3 及其代謝物主要會累積在肝臟、腎臟、脾臟及睪丸中，而在腸、胃、肌肉、心臟及腎上腺的累積量是相對較少的(Okereke et al, 1994)。

相對於 BP3，OMC 的生物安全性有負面影響的證據並不多。OMC 對人類產生過敏性接觸性皮炎(allergic contact dermatitis)的例子其實並不多見，而產生光過敏性接觸性皮炎(photoallergic contact dermatitis)的機率是比前項高的，但比起 BP3 則相對偏低，其略低於 BMDM 而略高於 PBSA(Darvay et al, 2001; Rodríguez et al, 2006)。在一項以人類表皮層為實驗對象的體外試驗模式中發現使用一般市售的濃度劑量的 OMC 施用於所培育的人類表皮組織其可穿越皮膚外層進入內層的量少到不足以造成內層活的角質細胞產生細胞毒性(Hayden et al, 2005)；另一項以老鼠淋巴細胞株(L5178Y)為實驗對象利用 photo comet assay 的方式測定 OMC 是否具有基因光毒性(photogenotoxicity)，結果也發現無負面影響(Struwe et al, 2007)。然而，有項研究以人類皮膚纖維母細胞株(GM00498)及乳癌細胞株(MCF-7)的體外試驗模式中發現 OMC 確實能夠有效減少 UV 所誘導產生的環丁烷嘧啶二聚體(cyclobutane pyrimidine dimers, CPDs)數量，也能有效提高 UV 照射下細胞的存活率，然而卻無法有效減少氧化的 DNA 損害(oxidated DNA lesions)數量，OMC 甚至會影響某些與基因毒性反應(genotoxic response)有關的生物標誌(biomarker)蛋白質基因的表現而可能增加造成 DNA 的傷害(Duale et al, 2010)；此外，OMC 光裂解產生環二聚體產物( $\delta$ -truxinate 及  $\alpha$ -truxillate)也被個別分離出來並確認具有細胞毒性(Stein et al, 2017)。另外，OMC 也可能對動物具有激素干擾作用(endocrine disrupting properties)，一項研究以懷孕的 Wistar rats 母鼠為實驗對象，加以分組後每天餵食不同劑量的 OMC，結果發現 OMC 會明顯影響後代老鼠的生殖及神經系統的發育(Axelstad et al, 2011)。對於經皮吸收的研究方面，有項研究運用個別含有 BP3(10%)、OMC(10%)及 BMDM(5%)的油包水(w/o)乳化劑型塗抹於人體之全身或臉部皮膚，發現全身皮膚塗抹的經皮吸收量分別為 4744、1032 及 1036  $\mu\text{g}/\text{kg}\text{-bw}/\text{day}$ ；而臉部皮膚塗抹的經皮吸收量分別為 153、33 及 34



$\mu\text{g}/\text{kg}\text{-bw}/\text{day}$ ，若考慮施測濃度因素則經皮吸收效率高低為  $\text{BP3} > \text{BMDM} > \text{OMC}$  (Klimová et al, 2015)。因此，與 BP3 相比較 OMC 的經皮吸收效率並不佳。以光穩定性而言，目前已知 OMC 在防曬劑的配方中的光穩定性並不佳，其體外試驗的半衰期(half-life)為 225 min(Couteau et al, 2007)。

BMDM 是常用的 UVA 防曬劑，它也算是比較容易有發生光過敏性接觸性皮膚炎的化學防曬劑的種類(The European Multicentre Photopatch Test Study (EMCPPTS) Taskforce, 2012)，而一項研究顯示 BMDM 並沒有明顯的類雌激素活性(estrogenic activity) (Schreurs et al, 2005)。而 BMDM 光不穩定的現象顯示在 1 小時的持續照光下會減少 36% 的吸收能力(CTFA letter re: Tentative Final Monograph for OTC Sunscreen)，以此數據換算成半衰期約為 97 min，屬於光穩定性偏低的防曬劑種類。而對於經皮吸收效率的研究，以培育的人類表皮組織為實驗對象的研究中顯示 BMDM 對於皮膚的穿透能力似乎並不佳，這與 OMC 及 OCR 很類似，且大部份會聚積在角質層，而 BP3 的穿透能力則相對明顯(Hayden et al, 2005)。而在 Scalia 等人(2011)所進行的臨床人體試驗中顯示使用相同的水包油(o/w) 乳化載體，OMC 似乎比 BMDM 釋放至角質層的比例會高出約 10%，表示在這個試驗的乳化載體中 OMC 的經皮吸收效率略高於 BMDM；然而，在使用油包水(w/o) 乳化劑型時卻顯示 BMDM 的經皮吸收效率略高於 OMC (Klimová et al, 2015)。可見不同的包覆載體會明顯影響不同種類化學防曬劑的經皮吸收效率。

OCR 是一種具有中等程度光穩定性的 UVB 防曬劑，其半衰期(half-life)為 515min(Couteau et al, 2007)。而就生物安全性而言，Carrotte-Lefebvre 等人(2003)最早發現 OCR 會引發光過敏性接觸性皮膚炎(photoallergic contact dermatitis)，但整體而言發生的案例並不多見。進一步的研究更顯示 OCR 所引發光過敏性接觸性皮膚炎患者與 ketoprofen(一種抗發炎藥物) 所引發光過敏性接觸性皮膚炎患者有相當高的關聯性，而且 OCR、ketoprofen 及 BP3 的分子結構及皆具有高度關聯(Avenel-Audran et al, 2010)，該作者建議對 ketoprofen 會產生光過敏性接觸性皮膚炎的患者，應避免選用含 OCR 及 BP3 的防曬商品。最近的研究更顯示在 UV 的照射下，OCR 可以跟一級胺類(primary amines)及一級醇類(primary alcohols)產生化學連結反應，這極可能就是 OCR 引發光過敏性接觸性皮膚炎的原因(Karlsson et al, 2012)。此外，在一項以乳癌細胞株(MCF-7)的體外試驗模式中發現 OCR 有類雌激素活性(estrogenic activity) (Matsumoto et al, 2005)。以經皮吸收而言，一項以豬的皮膚為研究系統的研究中，發現親脂性的 OCR 及 BP3 的經皮吸收會比親水性的咖啡因來得高，特別是在仿日光照射下更能有促進的效果(Duracher et al, 2009)。然而，有一項研究的結果卻恰好相反，以培育的人類表皮組織為實驗對象顯示 OCR 與 OMC 很類似，二者對於皮膚的穿透能力似乎不佳，大部份會聚積在角質層 (Hayden et al, 2005)。

PBSA 是一親水性的種 UVB 防曬劑，其有被發表會造成人體臉部的皮膚炎，但嚴格而言只有少數的案例(Nedorost, 2005)。PBSA 有較佳的光穩定性，其半衰期(half-life)為 1390 min (Couteau et al, 2007)。然而，有學者發現在體外(*in vitro*)試驗的模式中在 PBSA 存在下以 UVB 照射 DNA 會導致產生氧化態的鳥糞嘌呤(oxidized guanines)且是透過光敏化機制(photosensitization mechanisms)而造成(Stevenson & Davies, 1999)；這樣的結果也藉由 PBSA 的光物理學(photophysical)及光化學(photochemical)的特徵而更增強其說服力(Inbaraj et al, 2002)，他們發現 PBSA 是有能力產生活性含氧族群(reactive oxygen species, ROS)，其中包括重要的激態氧(singlet oxygen)；Shen (2015)也從光物理學角度闡明 PBSA 的光敏機制。這些結果暗示 PBSA 是一種光敏劑(photosensitizer)，在細胞中透過光敏化機制可能會傷害 DNA、蛋白質及脂質。而一項研究也顯示在體外(*in vitro*)試驗的模式中所培養的纖維母細胞在 UVB 及 UVA 的照射下，PBSA 會明顯造成細胞內 DNA 氧化態鳥糞嘌呤的產生，相反的是在 UVB 的照射下 PBSA 的存在卻會減少纖維母細胞 DNA 中環丁烷嘧啶二聚體(cyclobutane pyrimidine dimers, CPDs)的形成(Bastien et al, 2010)，作者認為 PBSA 對細胞的 DNA 有一部份具有光毒性，有一部份是具有光保護性。顯然地，目前對於 PBSA 應用於防曬商品對人體

的安全性仍存在一些爭議，有些重要的問題必須再加以釐清，雖然 PBSA 對於 UVB 有強的吸收能力，但對於活細胞的 DNA 似乎會造成若干程度的氧化傷害。

OSA 也是一種 UVB 防曬劑，它的光穩定性偏低，其半衰期(half-life)為 85 min(Couteau et al, 2007)。它有被發現會對人體產生過敏性接觸性皮炎(allergic contact dermatitis)，但祇僅見於少數的案例(Mortz et al, 2010)，而到目前對於 OSA 並沒有類雌激素活性(estrogenic activity)的報導。而從經皮吸收的角度而言，OSA 的分子結構特性似乎非常有利於對皮膚角質層的穿透，事實上有項臨床的研究顯示 OSA、HAS、OMC 及 BP3 皆有經皮吸收的能力，然而 OSA 穿越皮膚並造成系統性吸收現象是低於 BP3 (Sarveiya et al, 2004)。而 OSA 甚至也可能協助其他分子穿透皮膚角質層，有研究利用角質層脂質形成微脂粒(stratum corneum lipid liposomes)為試驗模式，顯示 OSA 可藉由干擾細胞間脂質結構(intercellular lipid domain)有促進藥物的穿透能力(El Maghraby et al, 2005)；然而，也有研究發現 OSA 及 OMC 可促進有毒物質除草劑 2,4-dichlorophenoxyacetic acid 穿透裸鼠(hairless mouse)的皮膚(Pont et al, 2004)的風險存在。

同樣是 UVB 防曬劑的 HSA，它的光穩定性比 OSA 高，其半衰期(half-life)為 300 min(Couteau et al, 2007)。它也被發現具有雌激素活性(estrogenic activity)，利用 reporter cell lines 的研究模式並依據其對雌激素接受子 ERalpha 的作用程度大小，發現其與另一個常用的防曬劑 OMC 的作用程度是差不多的，但二者還是低於 paraben 類別的抑菌劑 butylparaben 及 propylparaben (Gomez et al, 2005)，另一項與上述研究模式類似的研究顯示 HSA 甚至有對抗(antagonists)雄性激素接受子(androgen receptor)及黃體激素接受子(progesterone receptor)的現象產生(Schreurs et al, 2005)，而利用人類乳房的癌細胞 MDA-kb2 為研究系統，發現 HSA 及 BP3 也都有類似的結果(Ma et al, 2003)。在經皮吸收方面，HSA 與 OSA 皆有相當程度的經皮吸收能力(Sarveiya et al, 2004)。

上述所舉例諸多常用的化學防曬劑經皮吸收至全身系統後有不可預期的生物安全性風險產生。目前學界對於防曬劑有一個重要的研究方向是朝向如何減少經皮吸收效率以降低對人體的潛在性傷害。因此，嘗試使用不同種類的載體或乳化劑來降低防曬劑的經皮吸收是一種可行的方法，Golmohammadzadeh 等人(2008)使用慣用的水包油(o/w)乳液、多薄層微脂粒(multilamellar liposomes)及小單層微脂粒(small unilamellar liposomes)三種載體包覆 OMC 進行人體測試，結果發現多薄層微脂粒有稍佳的 SPF 值且所包覆的 OMC 有較多的量停留在角質層，小單層微脂粒所包覆的 OMC 可以經皮吸收進入更深層。可見不同種類的載體的確會影響 OMC 的防曬 SPF 值及經皮吸收效率。事實上，使用不同種類的乳化劑組合所製備的水包油(o/w)乳液包覆 OMC 及 BMDM 並進行皮膚滲透的體外試驗，也證明乳化劑的種類也會明顯影響這二種防曬劑對皮膚的滲透能力(Montenegro et al, 2008)。另外一項研究以取豬的腹部皮膚為體外試驗模式，利用水膠體(hydrogels)劑型內含甲殼素(chitosan)包覆 BP3 所形成的奈米膠囊(nanocapsules)進行經皮吸收的試驗，結果發現這樣的奈米膠囊可有效率地將 BP3 大部份地留在角質層，可大幅降低系統性吸收的風險(Siqueira et al, 2011)。也有一項研究使用 環糊精( $\beta$ -cyclodextrin)個別與 BP3、BMDM 及 PBSA 進行結合並導入水包油(o/w)乳霜劑型，利用大鼠皮膚進行 Franz diffusion cells 的經皮吸收體外試驗方法，發現這些 UV 防曬劑的皮膚滲透量顯著降低 4~15 倍(Shokri et al, 2013)。我們認為最理想的情況是將防曬劑完全停留在角質層最外層，形成防紫外線的屏障，而不要滲入活細胞組織及體循環中。

從上述的研究可得知有些特定的包覆載體及乳化劑的應用的確可以有效降低化學防曬劑的經皮吸收。然而，我們認為從上述的包覆載體的研究數據中還是可以發現化學防曬劑仍然避免不了還是會被吸收，有的是吸收的數量被減少，有的是吸收的現象被延遲。我們認為上述的包覆載體及乳化劑的應用皆還是屬於單層或多層包覆粒徑不一的乳化微胞劑型，包括化學防曬劑在內所有載體的組成分都處於流體的狀態，而這些乳化微泡經過施力塗抹於受試皮膚時，微胞經過壓力擾動會使得乳化均相狀態受到破壞致使這些被包覆的高流動性且偏親脂性之化學防曬劑仍然有很大的機率會藉

由被動擴散(passive diffusion)的方式滲入角質層細胞間質的薄片雙層(lamellar bilayers)結構中，進而進入活細胞組織及體循環中。因此，我們提出一個新的策略，先利用含有甲殼素的水膠體噴灑並均勻塗抹於皮膚表層待其水分自然蒸發後形成一層膠膜，利用甲殼素屬於陽離子多糖聚合物的特性，具備親水性質高極性又能與帶負電的生物表面(角質層)以靜電吸引力相互貼合，以形成一層具備高極性性質的阻隔障壁，隨後再進行塗抹防曬乳液，我們認為營造這一層高極性的膠膜會導致偏親脂性(非極性)的化學防曬劑被動擴散進入角質層的機率將大幅降低，甚至比上述使用特定的包覆載體及乳化劑的應用所減少的經皮吸收現象更為顯著。但可想而知這種雙劑型(水膠體及防曬乳液)先後使用的設計對消費者而言或許會感到較為繁複及麻煩，但若能藉由本研究證明這種策略對化學防曬劑能達到更低的經皮吸收效率，這對消費者而言則有更好的安全保障，是一種倡導及推廣的一種方法。

### 三、研究方法

在上述所介紹的 7 種化學防曬劑中我們將優先選擇親脂性的 BP3 及親水性的 PBSA 來進行試驗，主要原因在於二者的光穩定性皆很高，二者的半衰期遠超過本研究試驗期間 12 小時(即 720min)(註：半衰期從高至低分別為 BP3 $\div$ 1500min > PBSA $\div$ 1390min > OCR $\div$ 515min > HSA $\div$ 300min > OMC $\div$ 225min > BMDM $\div$ 97min > OSA $\div$ 85min。)，光穩定性高代表不會輕易進行光解或裂解作用，這有利於評估經皮吸收時的濃度計量，不會因為光解或裂解作用而產生重大的減損而產生計量誤差。另一個考慮的因素是親脂性的 BP3 經皮吸收效率高代表可以在短時間即可觀察到角質層吸收數量上的變化，而使用極性性質差異較大的親水性 PBSA 是想要觀察及比較在相同的實驗條件下對照 BP3 的經皮吸收效率有何重大的差異。我們相信本試驗若能成功證明此方法可以大幅降低經皮吸收效率，對於其他化學防曬劑的使用也應該有類似的效果。

本計畫的執行內容及步驟，可區分為含甲殼素的水膠體製備、含 UV filter 防曬乳液製備、臨床皮膚經皮吸收試驗(註：採用連續貼布剝屑法)及 UV filter 分光光度計檢測法。詳細之研究方法及步驟分述如下：

#### 2.1 含甲殼素水膠體的製備方法及流程

水膠體的甲殼素製備濃度為 1%，詳細成份及其重量百分比如表 3.1。

表 3.1: 含甲殼素水膠體的組成份及其重量百分比

組成份:	
1. Chitosan	1.0 %
2. Deionized water	98.5 %
3. Lactic acid(92%)	0.5 %

配製過程如下：將甲殼素加入水中並加入 0.5% 乳酸(Lactic acid)，隨後加熱至 65°C 攪拌充分溶解，並以乳化均質機快速攪拌(6000rpm)使其均勻分散後即為成品。

#### 2.2 含 UV filter 防曬乳液的製備方法及流程

目前行政院衛福部公告 BP3 在防曬商品的使用限量為 6%；而 PBSA 使用限量則是 4%。為考量試驗條件的一致性，本研究 BP3 及 PBSA 所採用的試驗濃度為 4%。而防曬乳液製備的方法係參考張簡(2012)的作法並進行局部修改，該方法已證實所使用的其他組成份並不會造成 UV filter 主要吸收峰的干擾效應。所製備的含 UV filter 防曬乳液皆使用水包油(o/w)之乳化劑型，其係以 Glyceryl stearate、Stearic acid、Stearyl alcohol、Cetyl alcohol、Capric triglycerides、PEG-40 Hydrogenate castor oil 為油相基劑及乳化助劑；Tween-20 為乳化劑。水相成份中以 Glycerol 為保溼劑；EDTA 為金屬螯合劑，而 Methylparaben 為保存劑。防曬乳液的詳細成份及其重量百分比如表 3.2。

完整的配製過程如下：將油相及水相成份組合分開稱重並混合，各自加熱至 80°C，將油相倒入水相中混合攪拌，隨後以乳化均質機快速攪拌(6000rpm)，混合物自然降溫至 45°C 並標定 pH 值

至 6.5(以 triethanolamine 標定)；再自然降溫至室溫並加入保存劑，充分混合均勻後以離心機調速 5000 rpm 離心 10 分鐘將氣泡去除即為成品。

表 3.2: 含 UV filter 防曬乳液的詳細成份及其重量百分比

A. 油相		B. 水相	
1. Capric triglycerides	4.0 %	9. Deionized water	82.7 %
2. Stearic acid	1.0 %	10 Glycerol	2.0 %
3. Glyceryl stearate	1.5 %	11. EDTA	0.1 %
4. PEG-40 Hydrogenate castor oil	1.0 %	C. 保存劑	
5. Stearyl alcohol	1.0%	13. Methylparaben	0.2 %
6. Cetyl alcohol	1.5 %		
7. Tween 20	1.0 %		
8. UV filter	<b>4.0 %</b>		

(註:使用的 UV filter 為 BP3 及 PBSA)

## 2.3 臨床皮膚經皮吸收試驗

### 2.3.1 受測者篩選條件、施測部位、劑量及處理條件

選擇無任何皮膚病史、對試驗敷劑不會產生不適應症或過敏者及近一個月內無使用防曬商品之 10 位年齡介於 20~58 歲之自願受試者(男、女性各 5 名)，每次試驗期間為 9 小時。每位受試者兩條手臂之前臂外側皮膚角質層為測試部位，先將兩條手臂之前臂外側皮膚各平均劃分為 4 個區域並計算面積，兩條手臂之前臂試驗部位的面積必須相同，實驗組的試驗條件:將其中一條手臂之前臂在試驗部位均勻塗抹含甲殼素的水膠體(劑量為  $2.0 \pm 0.2 \text{ mg/cm}^2$ )，等待 10 分鐘後在相同部位再均勻塗抹含 UV filter 防曬乳液(劑量為  $2.0 \pm 0.2 \text{ mg/cm}^2$ )；對照組的試驗條件:將另一條手臂之前臂直接均勻塗抹含 UV filter 防曬乳液(劑量為  $2.0 \pm 0.2 \text{ mg/cm}^2$ )，不塗抹含甲殼素的水膠體。塗抹後的受試部位不能有衣服遮蓋也不要用手碰觸，受試人在試驗期間內不能直接曝曬陽光，以室內活動為主。

### 2.3.2 前臂皮膚的連續貼布剝屑(tape stripping)

貼布剝屑的方法係參考 Siqueira 等人(2011)的作法並進行局部修改。實驗組及對照組分別於第 0、3、6、9 小時分別在 4 個劃分區域依上述時間分劃進行連續貼布剝屑，以 3M 透明貼布，平整緊貼(施力要均衡)於前臂皮膚其中一個劃分區域進行剝屑，分別將第 1~6 次貼布剝屑分開收集於離心管中，每個試驗依不同的受試者分開收集樣本。

### 2.3.3 貼布剝屑樣本 UV filter 的溶離

UV filter 的溶離方法亦參考 Siqueira 等人(2011)的作法並進行局部修改。將離心管中每一片貼布剝屑樣本剪成更小之片段，加入最小特定體積量之 95% 的酒精於離心管中浸泡貼布(須完全浸埋)，使用高速震盪(vortex stirrer) 2 min 及超聲波震盪(ultrasonic bath) 15 min 將 UV filter 完全溶出，經離心機(3000 rpm)20 分鐘後取上清液，隨後進行分光光度計檢測。二種防曬劑貼布剝屑樣本的處理方式如下圖 3.1:

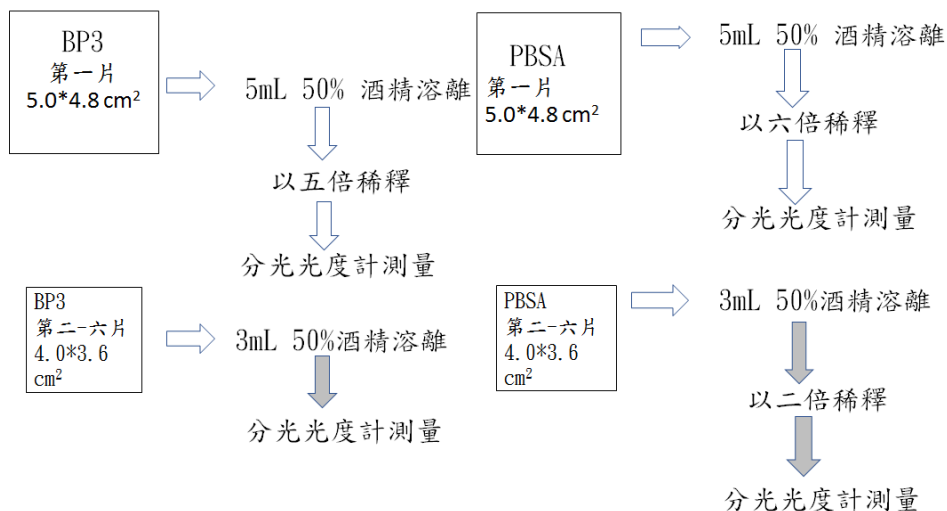


圖 3.1：貼布剝屑樣本溶離的處理條件

## 2.4 UV filter 分光光度計檢測法

根據張簡(2012)的作法，使用 Shimadzu UV-1700 雙波長 UV / Vis 分光光度計（波長準確度： $\pm 0.3\text{nm}$ ，波長重複性： $\pm 0.1\text{nm}$ ，光度重複性： $\pm 0.002\text{Abs}$ （在  $1.0\text{Abs}$ ）， $\pm 0.001\text{Abs}$  按照 UV-probe PC 軟件（Shimadzu，日本），將樣品上清液使用 95% 酒精稀釋適當倍數後，裝填於 cuvette 並插入 cell holder 然後將紫外透射測量結果（從 200nm 到 400nm，間隔 10nm）進行計量。吸光值(Rec range) 設定 0.0~3.0A(註：該範圍有較佳的線性關係)。BP3 在 287.5nm 及 350nm 有最大的吸收峰；而 PBSA 最大吸收峰為 305.5 nm。

## 2.5 防曬劑濃度及吸光值檢量線的試驗條件

BP3 檢量線的製作條件：取 0.2g BP3，加入 20mL 50 % 的酒精將之完全溶解作為原液，再將此原液用 50 % 的酒精稀釋 200 倍，再由此稀釋 200 倍溶液中取出 100 $\mu\text{L}$  BP3 溶液，分別再用 50 % 的酒精稀釋成其 3 倍至 10 倍(即原液之 600 倍至 2000 倍)後，測得其吸光值分別如表 3.3:

表 3.3：BP3 檢量線的稀釋條件及 O.D 值

稀釋倍數	濃度(mg/mL)	O.D 值
600	0.03330	3.139
800	0.02500	2.304
1400	0.01429	1.307
1600	0.01250	1.097
2000	0.01000	0.976

PBSA 檢量線的製作條件：取 0.2g PBSA，加入 20mL 50 % 的酒精將之完全溶解作為原液，再由此原液用 50 % 的酒精稀釋 200 倍，再由此稀釋 200 倍溶液中取出 100 $\mu\text{L}$  PBSA 溶液，分別再用 50 % 的酒精稀釋成其 4 倍至 20 倍(即原液之 800 倍至 4000 倍)後，測得其吸光值分別如表 3.4:

表 3.4：PBSA 檢量線的稀釋條件及 O.D 值

稀釋倍數	濃度(mg/mL)	O.D 值
800	0.02500	2.763
1000	0.02000	2.258
1600	0.01250	1.524
2000	0.01000	1.241
3000	0.00670	0.888
4000	0.00500	0.766

## 四、結果與討論

### 4.1 BP3 濃度與 O.D 值的檢量線

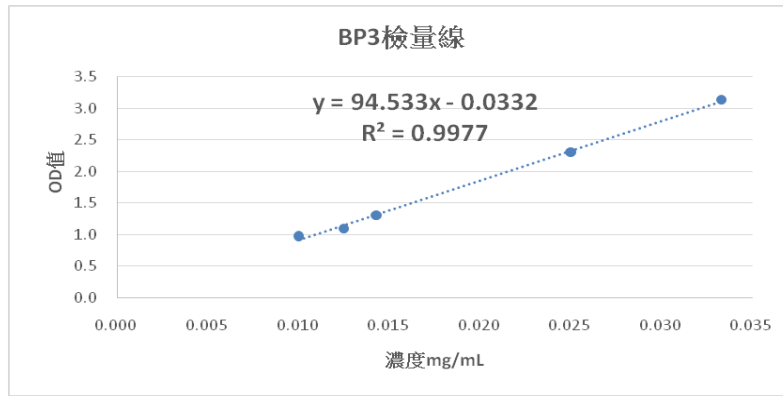


圖 4.1：BP3 檢量線

BP3 檢量線的結果(如圖 4.1)，顯示呈現理想的相關係數( $R^2$ )。將依此檢量線計算樣本的防曬劑濃度。

#### 4.2 PBSA 濃度與 O.D 值的檢量線

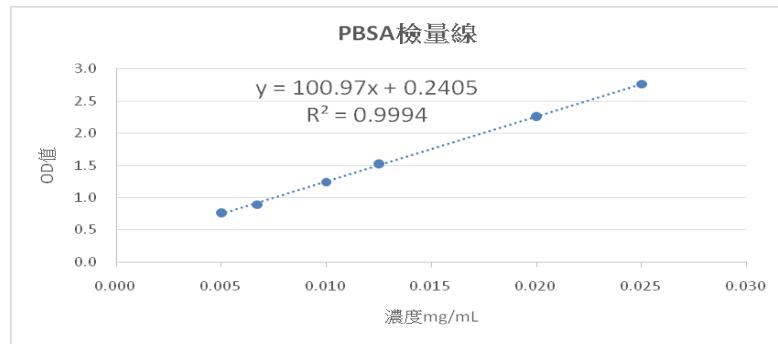


圖 4.2：PBSA 檢量線

PBSA 檢量線的結果(如圖 4.2)，也顯示呈現理想的相關係數( $R^2$ )。將依此檢量線計算樣本的防曬劑濃度。

#### 4.3 在相同的受試者及試驗條件下，所採集的第一片 BP3 及 PBSA 檢測 O.D 值的平均值及實驗誤差 (四片重複)

##### (1) BP3:

表 4.1：BP3 第一片樣本的 O.D 值(4 重複)及平均值及實驗誤差

片 數	1	2	3	4
O.D 值	2.803	2.915	3.118	2.745
平均值及 實驗誤差	2.895 ± 0.082			

##### (2) PBSA:

表 4.2：PBSA 第一片樣本的 O.D 值(4 重複)及平均值及實驗誤差

片 數	1	2	3	4
O.D 值	2.527	2.653	2.493	2.767
平均值及 實驗誤差	2.610 ± 0.063			

為測知操作過程的可能誤差範圍(包括貼布操作物差、取量誤差、塗抹誤差...等等各種可能的誤

差)，針對第一片貼布剝屑進行相同操作程序 4 次重複的試驗，結果顯示 BP3 平均值及實驗誤差為  $2.895 \pm 0.082$ (如表 4.1)，實驗誤差約為 2.83%。而 PBSA 平均值及實驗誤差為  $2.610 \pm 0.063$ (如表 4.2)，實驗誤差約為 2.41%。

#### 4.4 男生組不同片數脫屑樣本 BP3 的殘留量

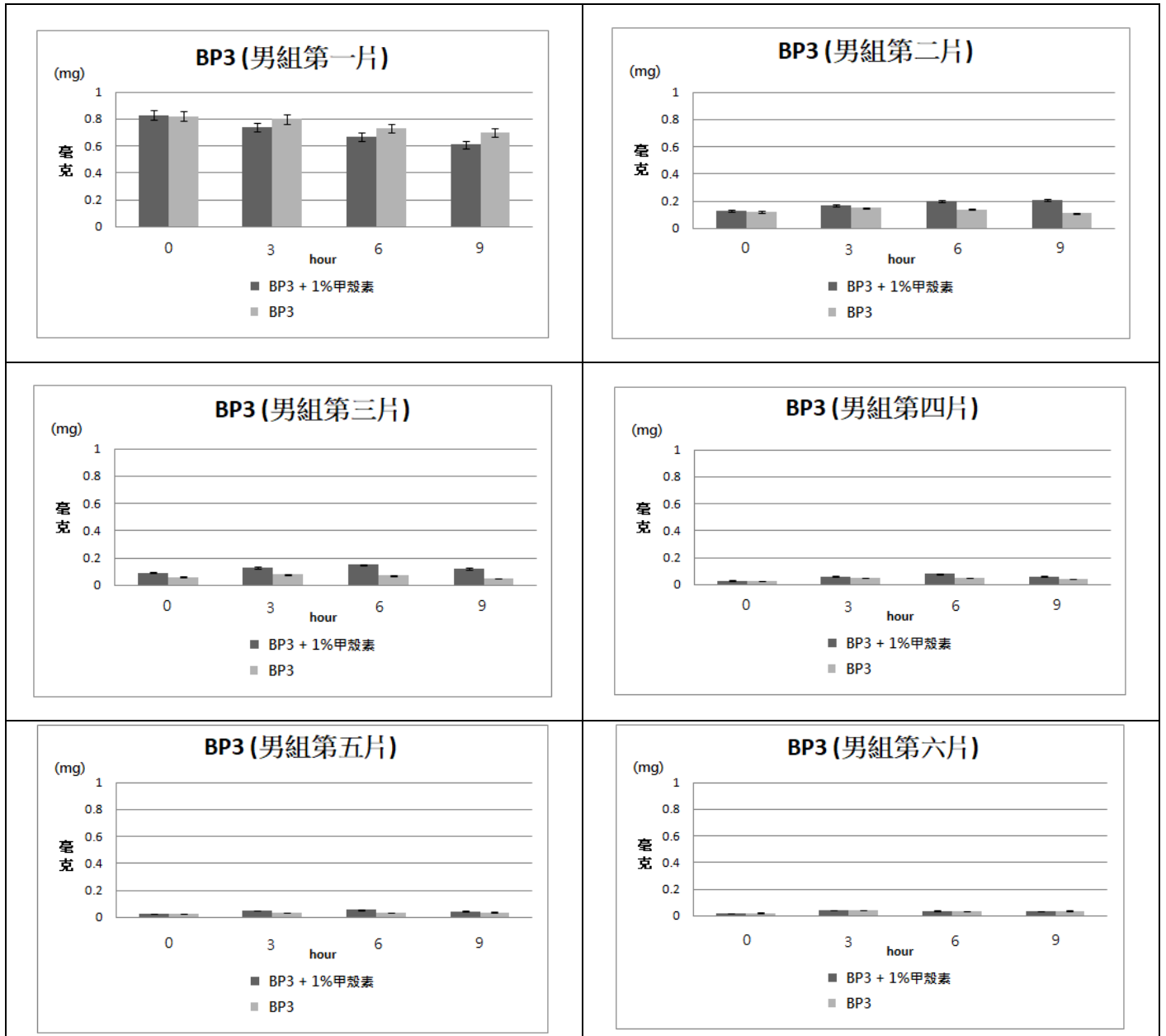


圖 4.3：BP3 男組(n=5) 不同片數脫屑樣本的殘留量

由男生組第一片 BP3 殘留量結果可顯示有塗抹 1% 甲殼素的組別在 3、6、9 小時皆明顯低於無塗抹甲殼素的組別，而在第二、三、四片有塗抹 1% 甲殼素的組別在 3、6、9 小時反而明顯高於無塗抹甲殼素的組別，其他則差異性不大。這結果顯示含有甲殼素水膠體的存在反而會明顯造成 BP3 在角質層中的促進滲透(Penetration)現象，特別是較淺層的角質層；而對於較深層的角質層則顯示無明顯的促進滲透現象(圖 4.3)。

#### 4.5 女生組不同片數脫屑樣本 BP3 的殘留量

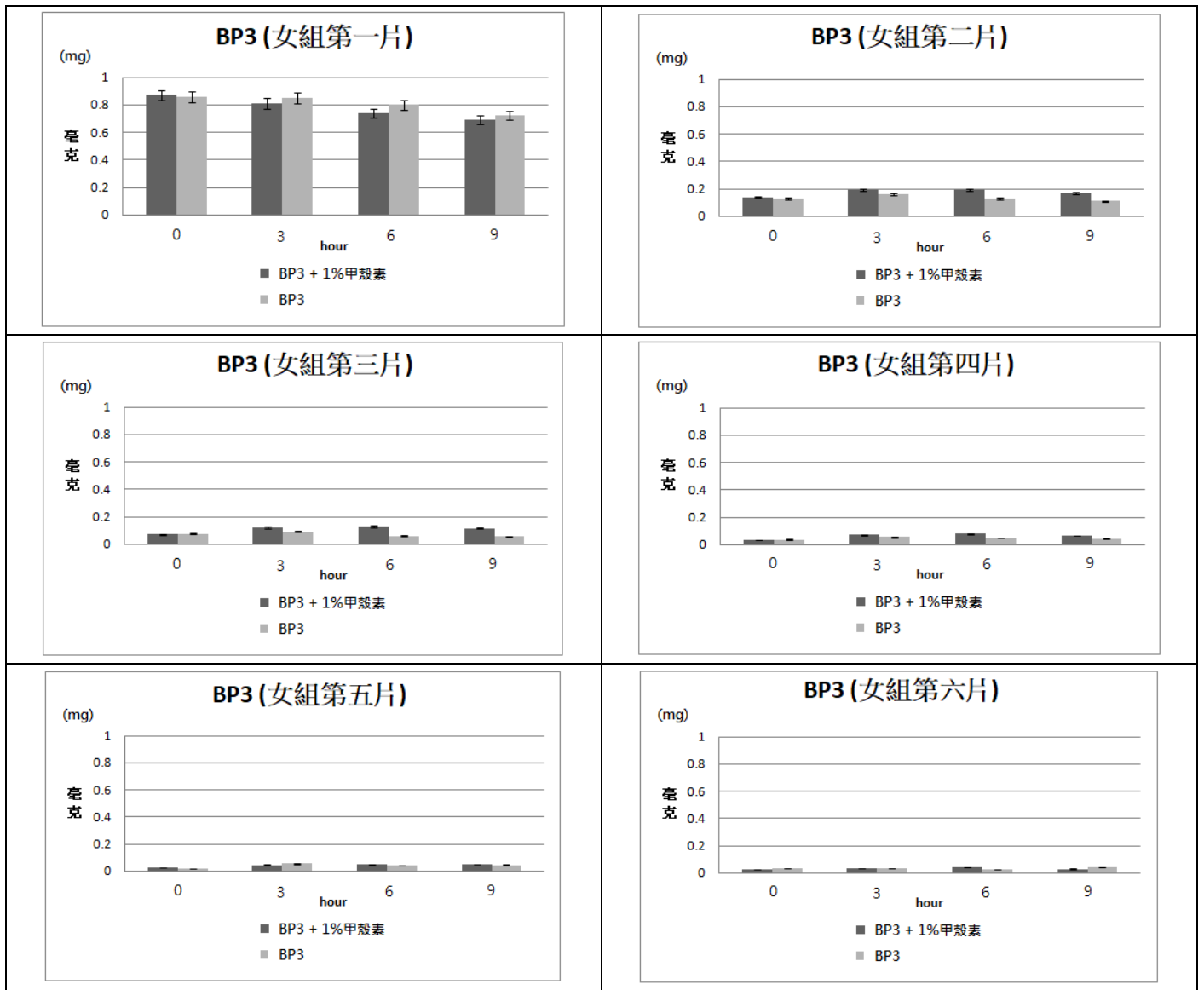
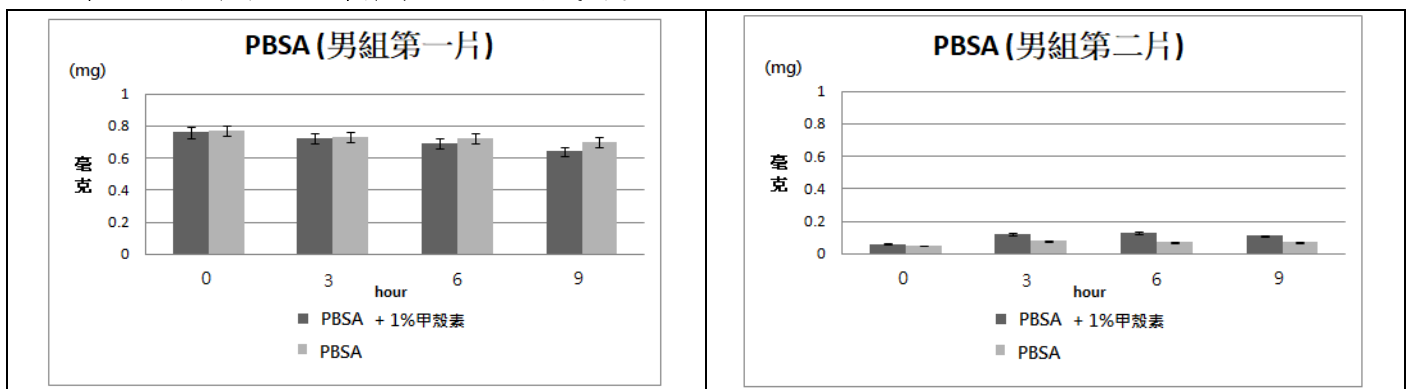


圖 4.4：BP3 女組(n=5) 不同片數脫屑樣本的殘留量

由女生組不同片數 BP3 殘留量結果可顯示與男生組的結果相近，男女之間並無顯著差異(圖 4.4)。

#### 4.6 男生組不同片數脫屑樣本 PBSA 的殘留量





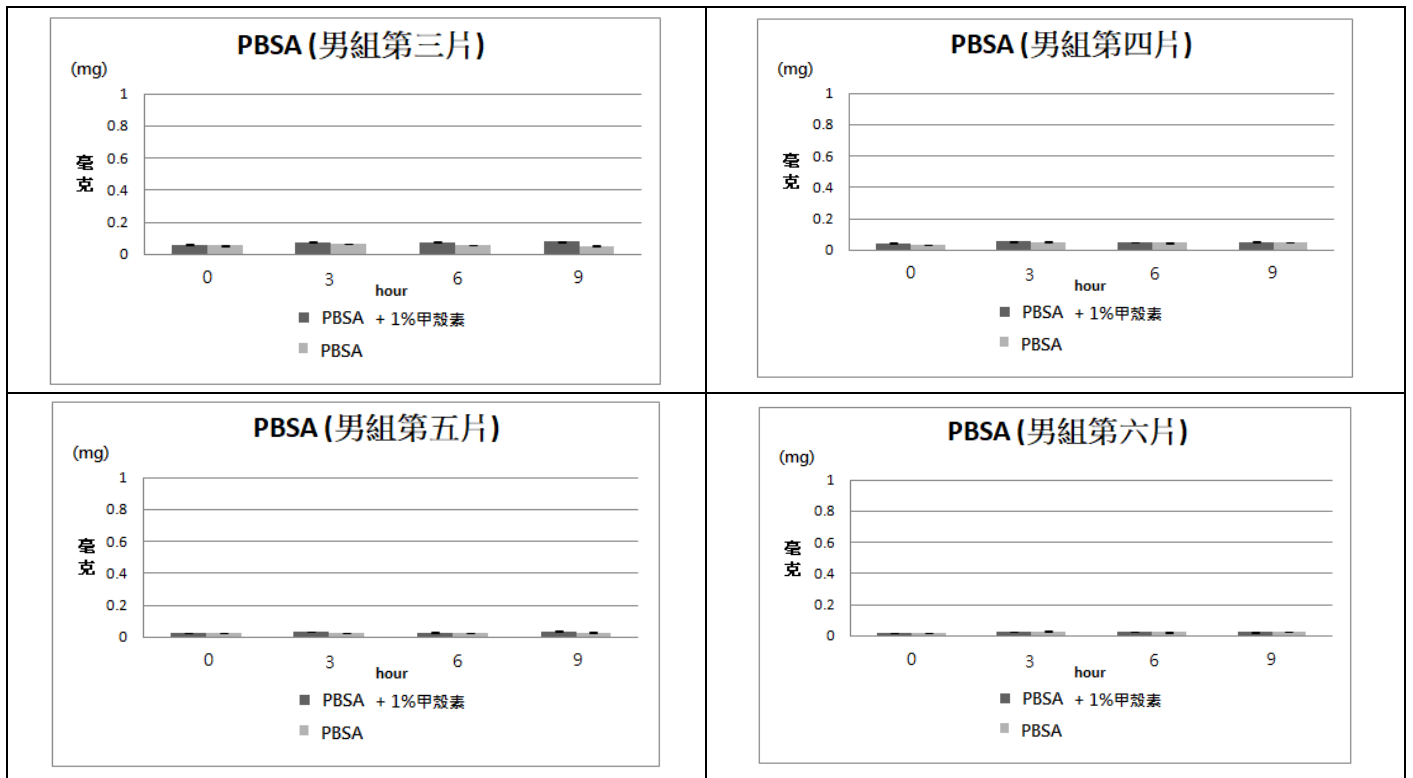
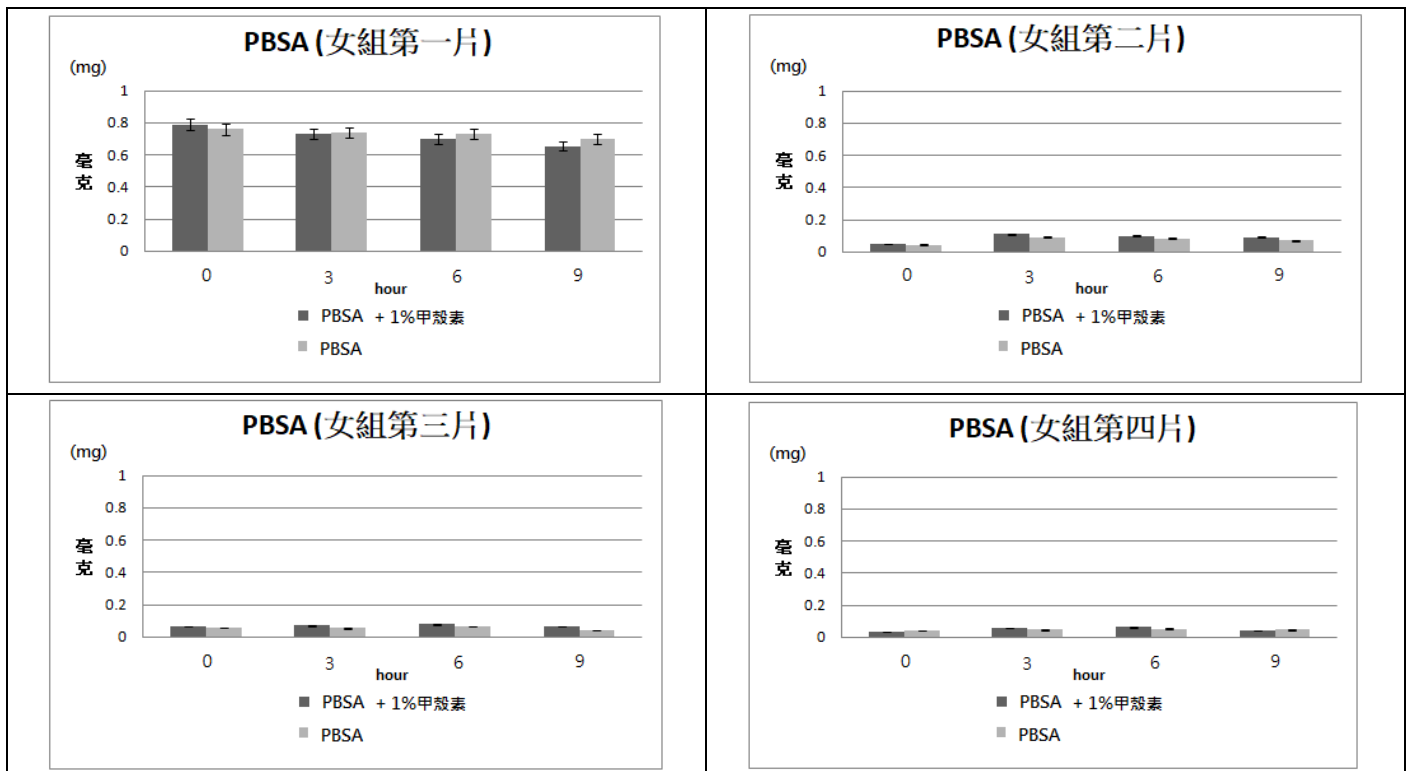


圖 4.5：PBSA 男組(n=5) 不同片數脫屑樣本的殘留量

由男生組第一片 PBSA 殘留量結果可顯示有塗抹 1% 甲殼素水膠體的組別在 3、6、9 小時皆明顯低於無塗抹甲殼素的組別，而在第二、三片有塗抹 1% 甲殼素的組別在 3、6、9 小時反而明顯高於無塗抹甲殼素的組別，其他則差異性不大(圖 4.5)。由這結果顯示含有甲殼素水膠體的存在也會明顯造成 PBSA 在角質層中的促進滲透現象，特別是較淺層的角質層；而對於較深層的角質層也顯示無明顯的促進滲透現象。另從前述的結果作比較，PBSA 促滲透的現象稍低於 BP3 男生組的結果，顯示甲殼素水膠體對於 BP3 的促滲透效應是高於 PBSA。

#### 4.7 女生組不同片數脫屑樣本 PBSA 的殘留量



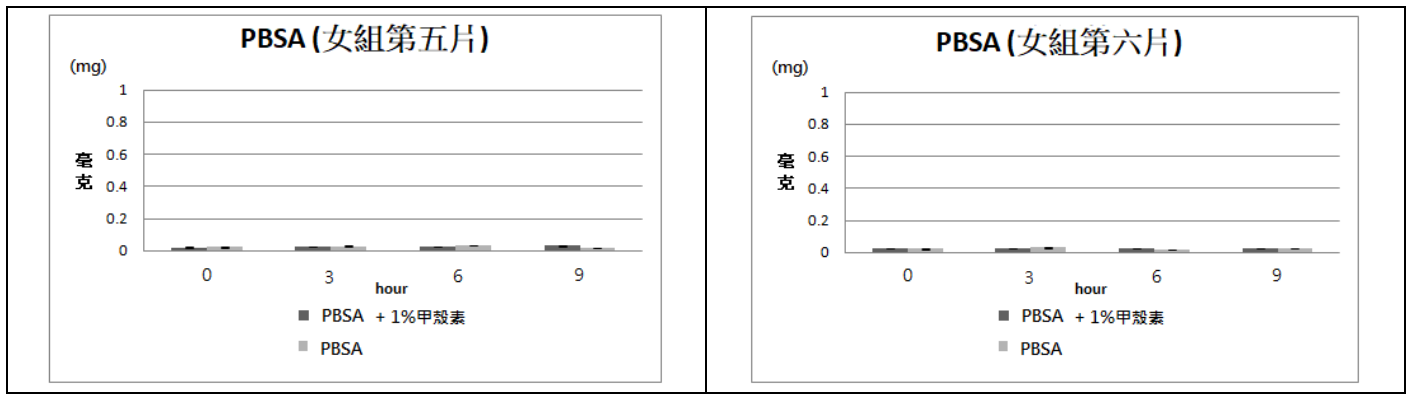


圖 4.6：PBSA 女組(n=5) 不同片數脫屑樣本的殘留量

由女生組不同片數 PBSA 殘留量結果顯示與男生組的結果相近，男女之間並無顯著差異(圖 4.6)。

#### 4.8 BP3 及 PBSA 總殘留量(六片總合)

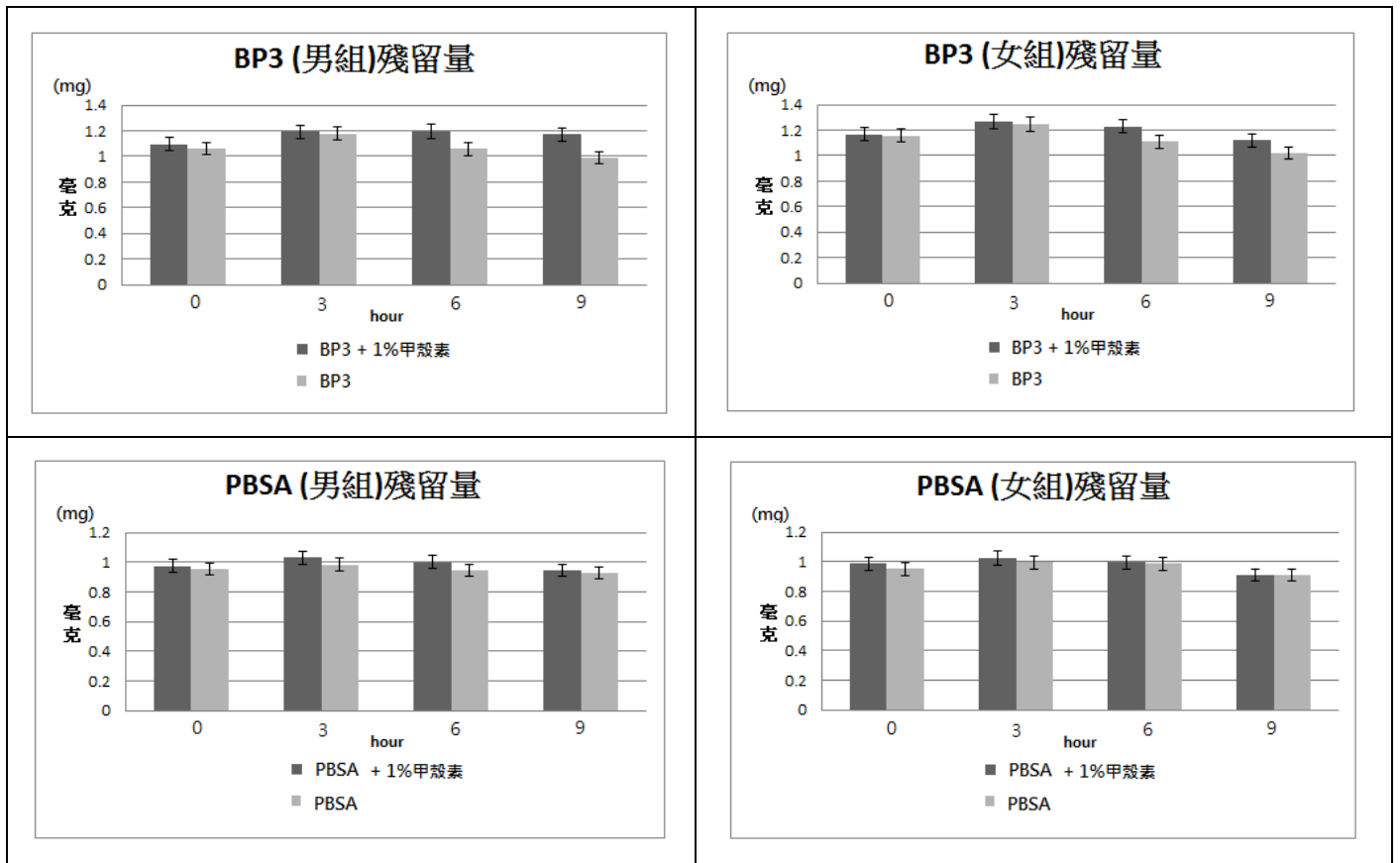


圖 4.7：不同試驗時數的防曬劑的總殘留量(六片總合)

我們收集第 0 小時連續六片貼布剝屑的樣本的防曬劑的殘留量來計算防曬劑的回收率，透過溶離的實驗方法 BP3 的回收率約為 58.5%，PBSA 約為 49.4%，顯示這個溶離方式對於 BP3 有較好的回收率。而從不同時數總殘留量(收集六片)的結果(圖 4.7)顯示塗抹 1% 甲殼素水膠體的 BP3 男組及女組的 BP3(在 9 小時實驗期間)經皮吸收比率分別約為  $-0.03 \pm 2.83\%$  及  $8.04 \pm 2.83\%$ ；而沒有塗抹甲殼素的 BP3 男組及女組的 BP3 經皮吸收比率分別約為  $12.01 \pm 2.83\%$  及  $15.33 \pm 2.83\%$ 。這結果暗示甲殼素水膠體的存在會降低 BP3 的經皮吸收，而女組的 BP3 經皮吸收比率明顯高於男組。我們推測高極性(帶正電)的甲殼素水膠體可能會干擾偏非極 BP3 分子的經皮吸收而形成一種阻礙障蔽，至於是基於何種原因則需進一步驗證。而由 PBSA 的結果顯示塗抹 1% 甲殼素水膠體的 PBSA 男組及女組的 PBSA(在 9 小時實驗期間)經皮吸收比率分別約為  $5.79 \pm 2.41\%$  及  $9.41 \pm 2.41\%$ ；而沒有塗抹甲殼素的 PBSA 男組及女組的 PBSA 經皮吸收比率分別約為  $4.33 \pm 2.41\%$  及  $6.42 \pm 2.41\%$ 。若考慮誤差範圍則這個結果顯示甲殼素水膠體的對於 PBSA 的經皮吸收效應並沒有顯著影響，且女組的

PBSA 經皮吸收相對於於男組也沒有顯著差異。然而，從 BP3 及 PBSA 二組的試驗結果顯示，BP3 的經皮吸收是明顯高於 PBSA，這應該歸因於分子結構的屬性，我們推測跟它們的極性性質有關，偏非極性的性質是較有利於經皮吸收。

## 五、結論

由本研究發現含有甲殼素水膠體的存在會明顯造成 BP3 及 PBSA 在角質層中的促進滲透現象，而這種促進的效果是偏親油性的 BP3 大於偏親水性 PBSA。而這種促進滲透現象在男、女受試組別之間並沒有顯著差異。然而，從 9 小時的試驗期間總殘留量(收集六片)的結果顯示甲殼素水膠體的存在會降低 BP3 的經皮吸收，而女組的 BP3 經皮吸收比率明顯高於男組。我們推測高極性(帶正電)的甲殼素水膠體可能會干擾親油性 BP3 分子的經皮吸收而形成一種阻礙障蔽，至於是基於何種原因則需進一步驗證。另外，甲殼素水膠體的對於 PBSA 的經皮吸收效應並沒有顯著影響，且女組的 PBSA 經皮吸收相對於於男組也沒有顯著差異。由 BP3 及 PBSA 二組的試驗結果顯示，BP3 的經皮吸收是明顯高於 PBSA，這應該歸因於分子結構的屬性，我們推測跟它們的極性性質有關，偏非極性的性質是較有利於經皮吸收。我們的結論是甲殼素水膠體甲殼素水膠體會造成淺層角質層的澎潤現象使得細胞間脂質的流動性加大進而造成防曬劑的促進滲透現象，但對於較深層排列緊密的角質層所形成的障壁結構並無任何影響，且高極性(帶正電)的甲殼素水膠體可能會干擾親油性分子的經皮吸收而形成一種阻礙障蔽而導致防曬的經皮吸收效應明顯降低，但這個干擾效應對於親水性分子的影響並不顯著。因此，利用甲殼素水膠體來降低防曬劑的經皮吸收對於親油性分子 BP3 是有效果的，但對於親水性的 PBSA 是沒有顯著影響。

## 六、參考資料

- 張簡美新 (2012) 評估市售常用防曬劑對人類皮膚角質層蛋白質羰基化的影響。美和科技大學健康與生技產業研究所碩士論文。
- 林依婷 (2015) 臨床評估含抗氧化劑(VitE 或 Vit C)及化學防曬劑組合配方的光保護加成效果。美和科技大學健康與生技產業研究所碩士論文。
- 余勝壹, 黃守潔, 陳玉盆, 闕麗卿, 施養志 (2012) 利用高效液相層析法定量化粧品中多種防曬劑成分。食品藥物研究年報。 3: 257-266
- Avenel-Audran M, Dutartre H, Goossens A, Jeanmougin M, Comte C, Bernier C, Benkalfate L, Michel M, Ferrier-Lebouëdec MC, Vigan M, Bourrain JL, Outtas O, Peyron JL, Martin L (2010) Octocrylene, an emerging photoallergen. *Arch Dermatol.* 146(7):753-7.
- Axelstad M, Boberg J, Hougaard KS, Christiansen S, Jacobsen PR, Mandrup KR, Nellemann C, Lund SP, Hass U (2011) Effects of pre- and postnatal exposure to the UV-filter octyl methoxycinnamate (OMC) on the reproductive, auditory and neurological development of rat offspring. *Toxicol Appl Pharmacol.* 250(3):278-90.
- Bastien N, Millau JF, Rouabhia M, Davies RJ, Drouin R (2010) The sunscreen agent 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid photosensitizes the formation of oxidized guanines in cellulose after UV-A or UV-B exposure. *J Invest Dermatol.* 130(10):2463-71.

- Carrotte-Lefebvre I, Bonnevalle A, Segard M, Delaporte E, Thomas P** (2003) Contact allergy to octocrylene. *Contact Dermatitis*. 48(1):46-47.
- Couteau C, Pommier M, Papis E, Coiffard LJ** (2007) Study of the efficacy of 18 sun filters authorized in European Union tested *in vitro*. *Pharmazie*. 62(6):449-52.
- Cross SE, Innes B, Roberts MS, Tsuzuki T, Robertson TA, McCormick P** (2007) Human skin penetration of sunscreen nanoparticles: in vitro assessment of a novel micronized zinc oxide formulation. *Skin Pharmacol Physiol*. 20:148-154.
- Dalle-Donne I, Aldini G, Carini M, Colombo R, Rossi R, Milzani A** (2006) Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *J. Cell. Mol. Med*. 10:389–406.
- Darvay A, White IR, Rycroft RJ, Jones AB, Hawk JL, McFadden JP** (2001) Photoallergic contact dermatitis is uncommon. *Br J Dermatol*. 145(4):597-601
- Diffey BL, Tanner PR, Matts PJ, Nash JF** (2000) In vitro assessment of the broad-spectrum ultraviolet protection of sunscreen products, *J. Am. Acad. Dermatol*. 43 (6):1024-1035.
- Duale N, Olsen AK, Christensen T, Butt ST, Brunborg G** (2010) Octyl methoxycinnamate modulates gene expression and prevents cyclobutane pyrimidine dimer formation but not oxidative DNA damage in UV-exposed human cell lines. *Toxicol Sci*. 114(2):272-84.
- Dumay O, Karam A, Vian L, Moyal D, Hourseau C, Stoebner P, Peyron J L, Meynadier J, Cano J P, Meunier L** (2001) Ultraviolet AI exposure of human skin results in Langerhans cell depletion and reduction of epidermal antigen-presenting cell function: partial protection by a broad-spectrum sunscreen. *Br J Dermatol*. 144(6):1161-1168.
- El Maghraby GM, Campbell M, Finnin BC** (2005) Mechanisms of action of novel skin penetration enhancers: phospholipid versus skin lipid liposomes. *Int J Pharm*. 305(1-2):90-104.
- Fernandez C, Nielloud F, Fortuné R, Vian L, Marti-Mestres G** (2002) Benzophenone-3: rapid prediction and evaluation using non-invasive methods of *in vivo* human penetration. *J Pharm Biomed Anal*. 28(1):57-63.
- Fisher A A** (1992) Sunscreen dermatitis: part III – the benzophenones. *Cutis*. 50:331-332
- Garmyn M, Yaar M, Boileau N, Backendorf C, Gilchrest B A** (1992) Effect of aging and habitual sun exposure on the genetic response of cultured human keratinocytes to solar-simulated irradiation. *J Invest Dermatol*. 99(6):743-748.
- Golmohammadzadeh S, Jaafarixx MR, Khalili N** (2008) Evaluation of liposomal and conventional formulations of octyl methoxycinnamate on human percutaneous absorption using the stripping method. *J Cosmet Sci*. 59(5):385-98.
- Gomez E, Pillon A, Fenet H, Rosain D, Duchesne MJ, Nicolas JC, Balaguer P, Casellas C** (2005) Estrogenic activity of cosmetic components in reporter cell lines: parabens, UV screens, and musks. *J Toxicol Environ Health A*. 68(4):239-51.
- Gonzalez H, Farbrot A, Larkö O, Wennberg AM** (2006) Percutaneous absorption of the sunscreen benzophenone-3 after repeated whole-body applications, with and without ultraviolet irradiation, *Br. J. Dermatol*. 154 (2):337-340.
- Gustavsson Gonzalez H, Farbrot A, Larkö O** (2002) Percutaneous absorption of benzophenone-3, a common component of topical sunscreens. *Clin Exp Dermatol*. 27(8):691-4.
- Hanson KM, Clegg RM** (2002) Observation and quantification of ultraviolet-induced reactive oxygen species in ex vivo human skin, *Photochem. Photobiol*. 76 (1): 57-63.

- Hayden CG, Roberts MS, Benson HA** (1997) Systemic absorption of sunscreen after topical application, *Lancet*. 350 (9081):863-864.
- Hayden, C. G. J.; Cross, S. E.; Anderson, C.; Saunders, N. A.; Roberts, M. S.** (2005) "Sunscreen Penetration of Human Skin and Related Keratinocyte Toxicity after Topical Application". *Skin Pharmacology and Physiology* 18 (4): 170–174.
- Heneweer M, Muusse M, van den Berg M, Sanderson JT** (2005) Additive estrogenic effects of mixtures of frequently used UV filters on pS2-gene transcription in MCF-7 cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 208(2):170-7.
- Huo W, Cai P, Chen M, Li H, Tang J, Xu C, Zhu D, Tang W, Xia Y** (2016) The relationship between prenatal exposure to BP-3 and Hirschsprung's disease. *Chemosphere*. 144:1091-7.
- Inbaraj JJ, Bilski P, Chignell CF** (2002) Photophysical and photochemical studies of 2-phenylbenzimidazole and UVB sunscreen 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid, *Photochem. Photobiol*. 75 (2):107-116.
- Ishida YI, Kayama T, Kibune Y, Nishimoto S, Koike S, Suzuki T, Horiuchi Y, Miyashita M, Itokawa M, Arai M, Ogasawara Y** (2017) Identification of an argpyrimidine-modified protein in human red blood cells from schizophrenic patients: A possible biomarker for diseases involving carbonyl stress. *Biochem Biophys Res Commun*. 493(1):573-577.
- Janjua NR, Mogensen B, Andersson AM, Petersen JH, Henriksen M, Skakkebaek NE, Wulf HC** (2004) Systemic absorption of the sunscreens benzophenone-3, octyl-methoxycinnamate, and 3-(4-methyl-benzylidene) camphor after whole-body topical application and reproductive hormone levels in humans, *J. Invest. Dermatol*. 123 (1) : 57-61.
- Jeanmaire C, Danoux L, Pauly G** (2001) Glycation during human dermal intrinsic and actinic ageing: an in vivo and in vitro model study. *Br J Dermatol*. 145:10-18.
- Jiang R, Roberts MS, Collins DM, Benson HA** (1999) Absorption of sunscreens across human skin: an evaluation of commercial products for children and adults, *Br. J. Clin. Pharmacol*. 48 (4):635-637.
- Kadry AM, Okereke CS, Abdel-Rahman MS, Friedman MA, Davis RA** (1995) Pharmacokinetics of benzophenone-3 after oral exposure in male rats. *J Appl Toxicol*. 15(2):97-102.
- Karlsson I, Persson E, Mårtensson J, Börje A** (2012) Investigation of the Sunscreen Octocrylene's Interaction with Amino Acid Analogs in the Presence of UV Radiation. *Photochem Photobiol*. 88(4):904-12.
- Klimová Z, Hojerová J, Beránková M** (2015) Skin absorption and human exposure estimation of three widely discussed UV filters in sunscreens--In vitro study mimicking real-life consumer habits. *Food Chem Toxicol*. 83:237-50.
- Knobler E, Almeida L, Ruzkowski A M, Held J, Harber L, DeLeo V** (1989) Photoallergy to benzophenone. *Arch Dermatol*. 125(6):801-4.
- Lazarus R C, Buonora J E, Jacobowitz D M, Mueller G P** (2015) Protein carbonylation after traumatic brain injury: cell specificity, regional susceptibility, and gender differences. *Free Radic Biol Med*. 78:89-100.
- Ma R, Cotton B, Lichtensteiger W, Schlumpf M** (2003) UV filters with antagonistic action at androgen receptors in the MDA-kb2 cell transcriptional-activation assay. *Toxicol Sci*. 74(1):43-50.
- Matsumoto H, Adachi S, Suzuki Y** (2005) [Estrogenic activity of ultraviolet absorbers and the related compounds]. *Yakugaku Zasshi*. 125(8):643-52. Article in Japanese.

- Mavon A, Miquel C, Lejeune O, Payre B, Moretto P** (2007) In vitro percutaneous absorption and in vivo stratum corneum distribution of an organic and a mineral sunscreen. *Skin Pharmacol Physiol.* 20:10–20.
- Montenegro L, Carbone C, Paolino D, Drago R, Stancampiano AH, Puglisi G** (2008) *In vitro* skin permeation of sunscreen agents from O/W emulsions. *Int J Cosmet Sci.* 30(1):57-65.
- Mortz CG, Thormann H, Goossens A, Andersen KE** (2010) Allergic contact dermatitis from ethylhexyl salicylate and other salicylates. *Dermatitis.* 21(2):E7-10.
- Nedorost S** (2005) Ensulizole (phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid) as a cause of facial dermatitis: two cases. *Dermatitis.* 16(3):148.
- Okereke CS, Kadry AM, Abdel-Rahman MS, Davis RA, Friedman MA** (1993) Metabolism of benzophenone-3 in rats. *Drug Metab Dispos.* 21(5):788-91.
- Okereke CS, Abdel-Rhaman MS, Friedman MA** (1994) Disposition of benzophenone-3 after dermal administration in male rats. *Toxicol Lett.* 73(2):113-22.
- Pont AR, Charron AR, Brand RM** (2004) Active ingredients in sunscreens act as topical penetration enhancers for the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Toxicol Appl Pharmacol.* 195(3):348-54.
- Rhodes MC, Bucher JR, Peckham JC, Kissling GE, Hejtmancik MR, Chhabra RS** (2007) Carcinogenesis studies of benzophenone in rats and mice. *Food Chem Toxicol.* 45(5):843-51.
- Rodríguez E, Valbuena MC, Rey M, Porras de Quintana L** (2006) Causal agents of photoallergic contact dermatitis diagnosed in the national institute of dermatology of Colombia. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 22(4):189-92.
- Sander CS, Chang H, Salzmann S, Muller CS, Ekanayake-Mudiyanselage S, Elsner P, Thiele JJ** (2002) Photoaging is associated with protein oxidation in human skin *in vivo*. *J Invest Dermatol* 118:618-625.
- Sarveiya V, Risk S, Benson HA** (2004) Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 803(2):225-31.
- Sarveiya V, Risk S, Benson HA** (2004) Liquid chromatographic assay for common sunscreen agents: application to *in vivo* assessment of skin penetration and systemic absorption in human volunteers. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 803(2):225-31.
- Scalia S, Mezzena M, Ramaccini D** (2011) Encapsulation of the UV filters ethylhexyl methoxycinnamate and butyl methoxydibenzoylmethane in lipid microparticles: effect on *in vivo* human skin permeation. *Skin Pharmacol Physiol.* 24(4):182-9.
- Scharffetter-Kochanek K, Wlaschek M, Brenneisen P, Schauen M, Blaudschun R, Wenk J** (1997) UV-induced reactive oxygen species in photocarcinogenesis and photoaging. *Biol Chem* 378:1247-1257.
- Schlumpf M, Cotton B, Conscience M, Haller V, Steinmann B, Lichtensteiger W** (2001) *In vitro* and *in vivo* estrogenicity of UV screens. *Environ Health Perspect.* 109(3):239-44.
- Schreurs RH, Sonneveld E, Jansen JH, Seinen W, van der Burg B** (2005) Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. *Toxicol Sci.* 83(2):264-72.
- Sha B, Gao W, Cui X, Wang L, Xu F** (2015) The potential health challenges of TiO<sub>2</sub> nanomaterials. *J Appl Toxicol.* 35(10):1086-101.
- Shen L** (2015) Photophysical and photosensitizing characters of 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid.

A theoretical study. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 150:187-9.

**Shokri J, Hasanzadeh D, Ghanbarzadeh S, Dizadji-Ilkhchi M, Adibkia K** (2013) The effect of Beta-cyclodextrin on percutaneous absorption of commonly used Eusolex® sunscreens. *Drug Res (Stuttg).* 63(11):591-6.

**Siqueira NM, Contri RV, Paese K, Beck RC, Pohlmann AR, Guterres SS** (2011) Innovative sunscreen formulation based on benzophenone-3-loaded chitosan-coated polymeric nanocapsules. *Skin Pharmacol Physiol.* 24(3):166-74.

**Stadtman E R, Levine R L** (2003) Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino acids.* 25:207-218.

**Stein HV, Berg CJ, Maung JN, O'Connor LE, Pagano AE, MacManus-Spencer LA, Paulick MG** (2017) Photolysis and cellular toxicities of the organic ultraviolet filter chemical octyl methoxycinnamate and its photoproducts. *Environ Sci Process Impacts.* 19(6):851-860.

**Stevenson C, Davies RJ** (1999) Photosensitization of guanine-specific DNA damage by 2-phenylbenzimidazole and the sunscreen agent 2-phenylbenzimidazole-5-sulfonic acid, *Chem. Res. Toxicol.* 12 (1):38-45.

**Struwe M, Greulich KO, Suter W, Plappert-Helbig U** (2007) The photo comet assay--a fast screening assay for the determination of photogenotoxicity *in vitro*. *Mutat Res.* 632(1-2):44-57

**Szczurko C, Domp Martin A, Michel M, Moreau A, Leroy D** (1994) Photocontact allergy to oxybenzone: ten years of experience. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 10(4):144-7.

**Tanaka N, Tajima S, Ishibashi A, Uchida K, Shigematsu T** (2001) Immunohistochemical detection of lipid peroxidation products, protein-bound acrolein and 4-hydroxynonenal protein adducts, in actinic elastosis of photodamaged skin. *Arch Dermatol Res.* 293:363-367.

**Tsai FJ, Wang YD, Chen CC, Hsieh C, Cheng ZJ, Wu YJ** (2012) Evaluation of the antioxidative capability of commonly used antioxidants in dermocosmetics by *in vivo* detection of protein carbonylation in human stratum corneum. *J Photochem Photobiol B.* 112: 7-15.

**Wenk J, Brenneisen P, Meewes C** (2001) UV-induced oxidative stress and photoaging. In: Thiele J, Elsner P, eds. *Oxidants and Antioxidants in Cutaneous Biology, Current Problems in Dermatology*, Vol. 29. Basel: Karger. pp 83-94.

**Zabel M, Nackenoff A, Kirsch WM, Harrison FE, Perry G, Schrag M** (2017) Markers of oxidative damage to lipids, nucleic acids and proteins and antioxidant enzymes activities in Alzheimer's disease brain: A meta-analysis in human pathological specimens. *Free Radic Biol Med.* 115:351-360.

**Zhang X, Rosenstein B S, Wang Y, Lebwohl M, Wei H** (1997) Identification of possible reactive oxygen species involved in ultraviolet radiation-induced oxidative DNA damage. *Free Radic Biol Med.* 23(7):980-985.

**Zheng J, Bizzozero O A** (2010) Accumulation of protein carbonyls within cerebellar astrocytes in murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neurosci. Res.* 88 :3376–3385.

### 科技部補助專題研究計畫成果自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現（簡要敘述成果是否具有政策應用參考價值及具影響公共利益之重大發現）或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以 100 字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形(請於其他欄註明專利及技轉之證號、合約、申請及洽談等詳細資訊)

論文：已發表未發表之文稿 撰寫中 無

專利：已獲得申請中 無

技轉：已技轉洽談中 無

其他：(以 200 字為限)

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性，以 500 字為限）。

對於學術研究而言，科學家對於防曬劑的使用已越來越重視生物安全性，本研究可提供一個更安全的使用策略並能充分證明這個策略是有效的則對於防曬劑的學術研究有重要的實用價值。在國家的產業發展方面，目前國內真正具有化妝品配方開發及臨床安全性及有效性的評估技術能力之化妝品業者並不多，主要原因在於國內業者還是以中小企業為主，大多無能力負擔龐大之研發費用。本研究的成果未來可移轉給國內化妝品業者，以協助業者開發更安全及更具確效性的防曬商品，這對於提升國內業者的國際競爭力是有諾大的幫助。

4. 主要發現

本研究具有政策應用參考價值：否 是，建議提供機關\_\_\_\_\_（勾選「是」者，請列舉建議可提供施政參考之業務主管機關）

本研究具影響公共利益之重大發現：否 是

說明：(以 150 字為限)