

藥物食品檢驗局調查研究年報. 12 : 140 - 147. 1994.
Ann. Rept. NLFD Taiwan R.O.C. 12 : 140 - 147. 1994.



含維他命 A 酸軟膏之安全性評估

連淑華 魏秀義 江建勳 林嘉伯

第 二 組

摘 要

用含藥化粧品維他命 A 酸軟膏來治療青春痘和保養皮膚已逐漸被人們廣泛接受，為了解其安全性，本實驗利用白兔及天竺鼠作為動物模式，進行皮膚毒性實驗及血清生化值、血液值檢測，以評估塗抹維他命 A 酸軟膏後是否會對皮膚及動物生理功能有不良影響。實驗結果顯示在進行皮膚毒性試驗時，動物均呈現皮膚刺激性反應，塗抹 2~8 星期時其皮膚有明顯範圍之紅斑和中度至嚴重性紅斑產生，這期間內之刺激反應程度似乎沒有顯著變化，但若塗抹至 10 星期後則動物皮膚刺激性反應增加，有中度至嚴重性紅斑或嚴重性紅斑甚至有輕微疤痕產生之現象，故顯示長期塗抹維他命 A 酸軟膏後會對皮膚產生刺激作用。據推測實驗動物塗抹 0.025% 維他命 A 酸軟膏之後，只有 2.25% 會經皮膚吸收滲入體內⁽⁶⁾，其量甚小，而所測得之血清生化值和血液值皆正常，因此局部長期（10 星期）塗抹維他命 A 酸軟膏似乎不會改變動物體內器官之正常功能。

鍵語：維他命 A 酸、皮膚毒性、血清生化學、血液學

前 言

近年來含藥化粧品維他命 A 酸軟膏已被廣泛地應用於顏面皮膚保養與皮膚病治療上，因維他命 A 酸能增加皮膚上皮細胞的分化能力、促進上皮細胞再生、去除皮膚表層老死細胞、減少色素形成及減低油性皮膚毛孔被分泌物堵塞的作用⁽⁶⁾，所以美容界常以含維他命 A 酸之製劑來消除臉上的細小皺紋、色素沉澱及治療青春痘，但由於維他命 A 酸具有刺激性，可能會使皮膚產生紅腫、脫皮及角質層變薄的副作用⁽⁶⁾，所以本實驗選用含有維他命 A

酸之軟膏長期塗抹於動物皮膚上，來觀察維他命 A 酸對動物皮膚是否會產生毒性以及對動物血液值和血清生化值是否有不良影響，進而評估動物體內器官的功能是否受到影響而產生改變。

材料與方法

本實驗所使用之含藥化粧品係由市面上隨機抽購一種含維他命 A 酸（Retin-A, Retinoic acid, Tretinoin, Vitamin A acid）之軟膏，本產品含 0.025% 維他命 A 酸。實驗動物係選用體重 1.6kg - 2.6kg 之健康成年白兔

含維他命 A 酸軟膏之安全性評估

24 隻及體重 450g – 600g 之健康天竺鼠 24 隻進行維他命 A 酸軟膏對動物皮膚之毒性試驗及血清生化學、血液學等之檢測。實驗方法係參考現有之文獻^(1,10)。

一、皮膚刺激性試驗：

將白兔及天竺鼠各分成兩組塗抹不同劑量之維他命 A 酸軟膏，其中第一組 10 隻動物塗抹劑量為 0.5g，另取 2 隻動物塗抹等量凡士林作為對照組，第二組 10 隻動物塗抹劑量為 0.1g，另取 2 隻動物塗抹等量凡士林作為對照組。首先使用電動剃毛器將每隻家兔及天竺鼠脊柱兩側之軟毛剃除，使皮膚裸露，左側背部皮膚不予處理使其保持完整，右側背部皮膚則用注射針頭輕畫四條線刮破角質層，但不使其出血，其後將不同劑量之維他命 A 酸軟膏及凡士林均勻塗抹於實驗組及對照組動物之左右側背部皮膚，塗抹範圍面積約 5cm²，最後各別單獨放入動物籠裡，如此連續逐日塗抹 10 星期（例假日除外）。實驗期間逐日觀察每隻實驗動物塗抹維他命 A 酸軟膏及凡士林之部位，根據德瑞茲氏法⁽¹⁾對動物皮膚所產生的紅斑、疤痕等刺激性反應加以評分，每週將所有實驗動物稱重一次並記錄之。

二、血液學及血清生化學檢驗

每隔二星期以隨機方式各別對 2 隻塗抹不同劑量維他命 A 酸軟膏之家兔及天竺鼠以內含 0.05ml EDTA K 之採血器採取 5ml 血液，以進行血清生化學及血液學檢測⁽⁵⁾，將採取之血液離心後，取上清液以微電腦生化分析儀（Microlab 100, Merck）測定總蛋白（Total Protein, TP）、麩草酸轉胺基酵素（Glutamic – Oxalacetic Transaminase, GOT）、麩丙酮轉胺基酵素（Glutamic – Pyruvic Transaminase, GPT）、心肌酵素（Lactic Dehydrogenase, LDH）、血糖（Glucose, GLU）、白蛋白（Albumin）及血尿蛋白氮（Blood Urea Nitrogen, BUN）等血清生化學值。另將實驗動物抽取之血液以全血細胞計數儀（Complete Blood Cell Count, CBC, Sysmex M – 2000, 山東）測定血球容積比（Hemato-

crit, HCT）、血色素（Hemoglobin, HGB）、紅血球數（Red Blood Count, RBC）、白血球數（White Blood Count, WBC）、平均紅血球血紅素濃度（Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration, MCHC）、平均血球容積（Mean Corpuscular Volume, MCV）等血液學值，最後將實驗組及對照組動物所測得之各項血清生化學及血液學數值，加以歸納比較。

結 果

一、皮膚刺激性觀察：

(一)白兔：

白兔背部完整及刮傷角質層之皮膚經塗抹維他命A酸軟膏後，均呈現皮膚刺激性反應，其皮膚刺激性反應依據德瑞茲氏法⁽¹⁾加以評估（表 1）。

表1 德瑞茲氏法皮膚刺激性試驗評估表

紅斑與疤痕形成	評分
無紅斑	0
極輕度紅斑(幾乎看不出)	1
明顯範圍紅斑	2
中度至嚴重性紅斑	3
嚴重性紅斑至輕微疤痕產生(深部受傷)	4

連續塗抹劑量 0.1g 軟膏於白兔完整皮膚和刮傷角質層之皮膚 2、4、6、8 及 10 星期後，發現其皮膚刺激性反應皆相似，均產生範圍明顯的紅斑（圖 2），其皮膚刺激性反應之積分為 2（表 2），但在塗抹相同劑量之軟膏於刮傷角質層之皮膚 2 星期後，皮膚刺激性反應較大，呈現中度至嚴重性紅斑（圖 3），皮膚刺激性反應之積分為 3（表 2）。

連續塗抹劑量 0.5g 維他命A酸軟膏於白兔完整皮膚和刮傷角質層之皮膚 2、4、6 及 8 星期時，其皮膚刺激性反應均呈現中度至嚴重性紅斑（圖 3），皮膚刺激性反應積分為 3（表 2），但在塗抹刮傷角質層之皮膚 2 星期後及塗抹完整皮膚和刮傷角質層之皮膚 10 星期後，其皮膚刺激性反應增大，皆產生嚴重

性紅斑至輕微疤痕形成（深部受傷）（圖4），皮膚刺激性反應積分爲4（表2）。

由上述皮膚刺激性反應評分可知白兔塗抹0.5g 維他命A酸軟膏較塗抹0.1g 軟膏會產生較嚴重的皮膚刺激性反應，而且在塗抹第10星期時，皮膚又再度出現紅斑而呈現較嚴重現象。而塗抹相同劑量凡士林之對照動物，其完整皮膚及刮傷角質層皮膚均無刺激性反應（圖1）。

在白兔塗抹維他命A酸軟膏實驗期間，每週稱重一次，發現其體重變化不大，除了第一星期增加約0.1kg~0.2kg外，其餘平均每星期約增加0.2kg~0.3kg左右（圖10），顯然動物在實驗期間並不因爲實驗操作因素而影響其體重。

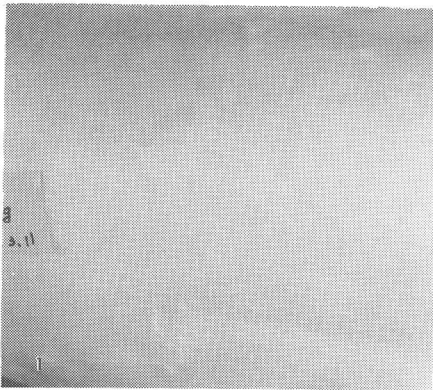


圖1 塗抹凡士林之白兔皮膚，是爲對照組，塗抹維他命A酸軟膏後，無刺激性反應出現。

(二)天竺鼠：

塗抹維他命A酸軟膏於天竺鼠背部皮膚後，其所呈現之皮膚刺激性反應與白兔皮膚刺激性反應在程度上有差異。

連續塗抹劑量0.1g 軟膏於天竺鼠完整皮膚和刮傷角質層之皮膚2、4、6、8星期後，發現所有動物之皮膚均有明顯範圍的紅斑產生（圖6），皮膚刺激性反應之積分爲2（表3），但在塗抹刮傷角質層之皮膚4星期及塗抹完整皮膚和刮傷角質層之皮膚10星期後，其皮膚刺激性反應則較大，皆產生中度至嚴重性紅斑（圖7），皮膚刺激性反應之積分爲3（表3）。

連續塗抹劑量0.5g 維他命A酸軟膏於天竺鼠完整皮膚和刮傷角質層之皮膚於第2星期



圖2 白兔皮膚，塗抹0.1g 軟膏2星期後有明顯範圍紅斑產生。



圖3 白兔皮膚，塗抹0.5g 軟膏6星期後有中度至嚴重性紅斑產生。

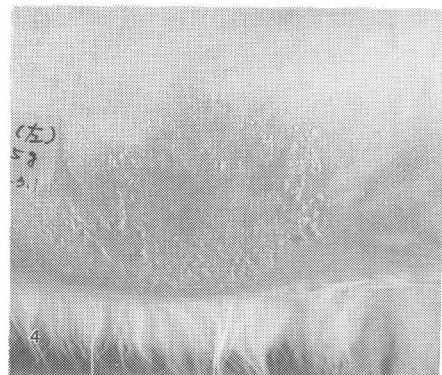


圖4 白兔皮膚，塗抹0.5g 軟膏10星期後有嚴重性紅斑至輕微疤痕形成。

含維他命 A 酸軟膏之安全性評估

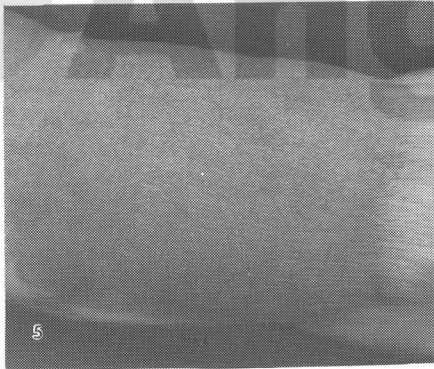


圖5 塗抹凡士林之天竺鼠皮膚，是為對照組，塗抹維他命A酸軟膏後，無刺激性反應出現。

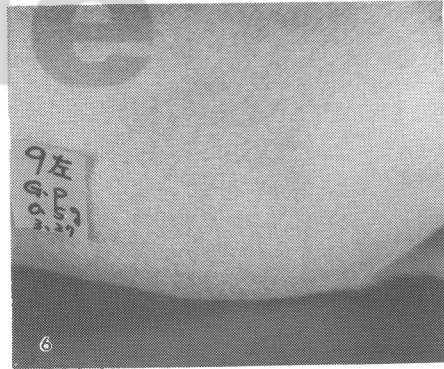


圖6 天竺鼠皮膚，塗抹0.5g軟膏2星期後有明顯範圍紅斑產生。



圖7 天竺鼠皮膚，塗抹0.1g軟膏4星期後有中度至嚴重性紅斑產生。

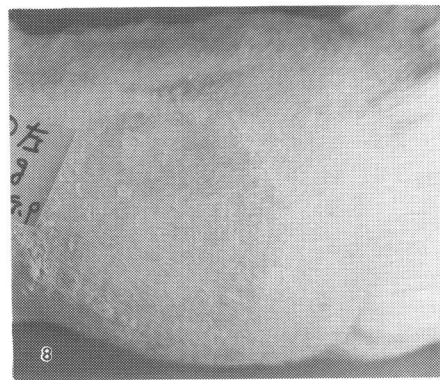


圖8 天竺鼠皮膚，塗抹0.5g軟膏4星期後有嚴重性紅斑至輕微疤痕形成。

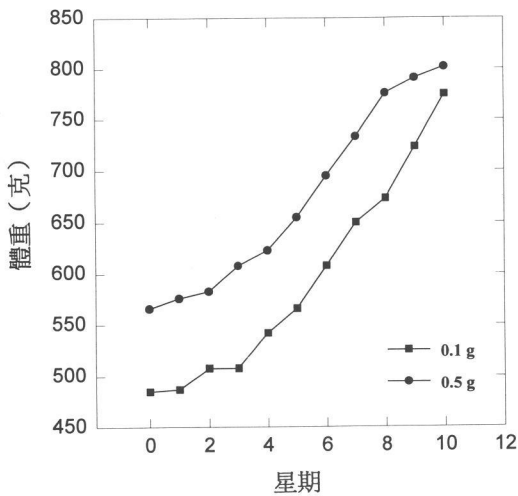


圖9 天竺鼠皮膚塗抹0.1g及0.5g軟膏十星期之體重生長曲線圖。

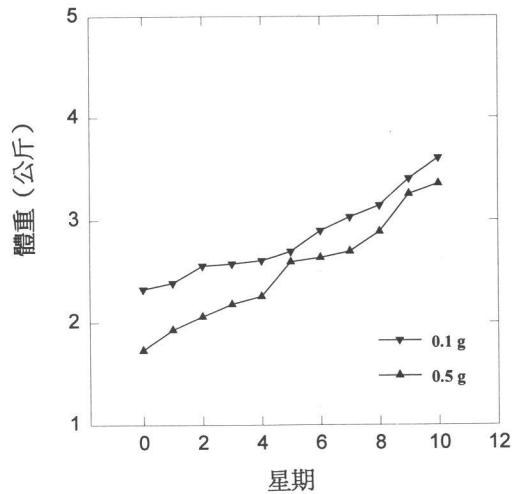


圖10 白兔皮膚塗抹0.1g及0.5g軟膏十星期之體重生長曲線圖。

藥物食品檢驗局調查研究年報(Ann. Rept. NLFD)

表2 白兔皮膚塗抹含維他命A酸軟膏後之皮膚刺激性反應

塗抹劑量	塗抹時間									
	2星期		4星期		6星期		8星期		10星期	
	完整皮膚	刮傷皮膚	完整皮膚	刮傷皮膚	完整皮膚	刮傷皮膚	完整皮膚	刮傷皮膚	完整皮膚	刮傷皮膚
0.1g	2	3	2	2	3	2	2	2	2	2
0.5g	3	4	3	3	3	3	3	3	4	4

表3 天竺鼠皮膚塗抹含維他命A酸軟膏後之皮膚刺激性反應

塗抹劑量	塗抹時間									
	2星期		4星期		6星期		8星期		10星期	
	完整皮膚	刮傷皮膚	完整皮膚	刮傷皮膚	完整皮膚	刮傷皮膚	完整皮膚	刮傷皮膚	完整皮膚	刮傷皮膚
0.1g	2	2	2	3	2	2	2	2	3	3
0.5g	2	2	3	4	3	3	2	2	3	3

和第 8 星期後，其皮膚刺激性反應為有明顯範圍的紅斑產生（圖 6），皮膚刺激性反應之積分為 2（表 3），但在塗抹刮傷角質層之皮膚第 4 星期後，其皮膚呈現嚴重紅斑至輕微疤痕產生（深部受傷）（圖 8），皮膚刺激性反應積分為 4（表 3），但在塗抹完整皮膚和刮傷角質層之皮膚第 6 星期和第 10 星期後，則皮膚恢復至中度至嚴重性紅斑產生（圖 7），皮膚刺激性反應積分為 3（表 3）。

由此可知塗抹 0.5g 維他命 A 酸軟膏比塗抹 0.1g 維他命 A 酸軟膏對天竺鼠皮膚產生較大的刺激性作用。塗抹兩種劑量軟膏於第 10 星期後，天竺鼠皮膚又再度出現紅斑而呈現較嚴重之刺激性反應現象。而塗抹相同劑量凡士林之對照動物，其完整皮膚及刮傷角質層皮膚均無刺激性反應（圖 5）。

在實驗期間，每週將所有天竺鼠稱重一次，發現天竺鼠每週體重平均約增加 20g~30g 左右（圖 9），表示天竺鼠在此實驗期間並不受實驗操作因素影響體重之增加。

二、血清生化學：

每隔兩週，對於塗抹不同劑量維他命 A 酸軟膏之白兔及天竺鼠採血進行血清生化學檢測

⁽⁹⁾，結果發現白兔及天竺鼠血清中之總蛋白值各為（5.3~7.9g/dl 及 4.6~6.2g/dl）、麩草酸轉胺基酵素值各為（36~48u/l 及 36~48u/l）、麩丙酮轉胺基酵素值各為（32~38u/l 及 32~38u/l）、心肌酵素值各為（193~293u/l 及 200~300u/l）、血糖值各為（75~150mg/dl 及 60~125mg/dl）、白蛋白值各為（2.4~4.6g/dl 及 2.1~3.9g/dl）及血尿蛋白氮值各為（9.17~31.73mg/dl 及 9.0~31.5mg/dl），沒有顯著變化，測試值也皆落於正常值之內^(2,3,4)，所以長期塗抹維他命 A 酸軟膏應該不會改變白兔和天竺鼠肝臟與腎臟之功能⁽¹²⁾。

每隔兩週，對實驗動物白兔及天竺鼠採血進行血液學檢測後，發現塗抹兩種劑量維他命 A 酸軟膏不同時期後，其血液學檢測結果沒有顯著變化，檢出之血球容積比值各為（29.8~42.7% 及 37~48%）、血色素值各為（9.4~13.8gm/dl 及 11~15gm/dl）、紅血球值各為（3.86~5.82×10⁶/mm³ 及 4.75~6.05×10⁶/mm³）、白血球值各為（4.0~13×10³/mm³ 及 6.93~12.87×10³/mm³）、平均紅血球血紅素濃度值各為（26.4~33.6% 及

含維他命 A 酸軟膏之安全性評估

26.44~33.6%)、平均血球容積值各為(76.95~85.05 μm^3 及76.95~85.05 μm^3)等項目後，其測試值都落於白兔及天竺鼠的血液學正常值之內^(2,3,4)，所以長期塗抹維他命 A 酸軟膏對白兔及天竺鼠之造血功能應無影響⁽¹³⁾。

討 論

維他命 A 酸 (Ainol, Retin-A, Retinoic Acid, Tretinoin, Vitamin A Acid) 化學結構方面可分為 All trans-Retinoic acid, 9-cis-Form Retinoic acid 及 13-cis-form, Isotretinoin⁽⁷⁾，本實驗選用之維他命 A 酸軟膏其化學結構係屬於 All trans-Retinoic acid。維他命 A 酸臨床應用上可治療青春痘、消除臉上細小的皺紋和色素沉澱等皮膚疾病，初期治療青春痘時，由於維他命 A 酸會將堵塞於毛孔內的油脂舒鬆並驅出皮膚表面，以致表面皮膚症狀有趨於更惡化的短暫現象產生⁽⁸⁾，這可能是初期塗抹維他命 A 酸在 3~5 日時其皮膚刺激反應較大的原因，如繼續塗抹於患部後，則因皮膚表皮已能忍受維他命 A 酸的刺激。本實驗結果顯示實驗動物於塗抹 2~8 星期期間，有明顯範圍之紅斑和中度至嚴重性紅斑產生，而在這期間皮膚刺激性反應沒有顯著的變化，但皮膚卻有漸漸去角質化和呈現皮膚剝落之現象，若繼續塗抹至第 10 星期後，則皮膚角質層變薄而脆弱且敏感度增加，使得皮膚產生中度至嚴重性紅斑甚至有輕微疤痕形成。臨床治療青春痘使用維他命 A 酸軟膏量少且為局部點狀治療，因此推測可能較不會有嚴重皮膚刺激性反應的現象產生，而本實驗塗抹軟膏的劑量為 0.5g 及 0.1g 且塗抹面積較大，故會有顯著的紅斑、脫皮、角質層變薄等刺激性反應出現，如果使用維他命 A 酸軟膏劑量太大則會造成表皮皮膚的傷害，而由本實驗結果可知塗抹劑量 0.5g 之皮膚其刺激性反應較塗抹劑量 0.1g 之反應嚴重。塗抹期間在括破角質層皮膚之部位塗抹本藥後隔天就有紅斑症狀出現，而完整皮膚須塗抹 2~3 日後才會有相似症狀，顯示維他命 A 酸軟膏塗抹在括傷角質層之皮膚時其刺激性較大，可能因為

吸收較易之原故。

皮膚毒性試驗所選用的動物一般分為兩種，一種是齧齒類，另一種是非齧齒類⁽¹⁾，故本實驗選擇白兔及天竺鼠作為實驗動物。實驗結果顯示這兩種動物在皮膚刺激性反應的強度及發生時間上有所不同，白兔在塗抹維他命 A 酸軟膏第 2 星期時即有中度至嚴重性紅斑產生，而天竺鼠則在第 4 星期時才有相似之反應，推測可能因為白兔皮膚表皮較天竺鼠薄且敏感性高，所以白兔在後產生皮膚刺激性反應的時間及強度較天竺鼠高，有報告顯示兔子皮膚對化學物質的刺激反應較天竺鼠更為敏感⁽¹⁾

由實驗得知動物經長期塗抹維他命 A 酸後所測得之血清生化值和血液值並沒有顯著差異，可能係維他命 A 酸軟膏為局部塗抹於動物皮膚，且維他命 A 酸吸收滲入體內量很小，根據文獻記載塗抹含 0.1% 維他命 A 酸於人體皮膚，有 50% 維持在皮膚表面，而只有 9% 維他命 A 酸會滲入角質層，僅有少量維他命 A 酸會穿透表皮層和真皮層而被吸收，且經 56 小時之後才有 6% 被排泄至尿液中⁽⁶⁾，又皮膚經塗抹 0.1% 維他命 A 酸後，利用放射線來標識其含量，結果發現在血漿中並沒有測到放射線標識的活性⁽⁶⁾，因本實驗用含 0.025% 維他命 A 酸塗抹，估計只有 2.25% 會經皮膚吸收而進入體內，因此實驗結果顯示塗抹維他命 A 酸應不致影響動物血清生化值和血液值的變化，即不影響動物體內各相關器官之功能。

參考文獻

1. Draize, J.H., Wood, G., and Calvery, H. O. (1994) Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. J. Pharmacol. Exp. Ther., 82:377-390.
2. Harold, M. K. and Edward, H. T. (1979) Laboratory Procedures Using the Rabbit and Essential Procedures. in "The Rabbit: a Model for the Principles of

藥物食品檢驗局調查研究年報(Ann. Rept. NLFD)

- Mammalian Physiology and Surgery”, pp.3-150, Academic Press, Inc., New York.
- 3.Harkness, J. E. and Wagner, J. E. (1983) Biology and Husbandry, in “The Biology and Medicine of Rabbits and Rodents”, pp.7-24., 2nd edition, Lea and Febiger, Philadelphia.
 - 4.Joseph, E. and Wagner, P.J. (1976) Physiology. in “The Biology of the Guinea pig”, Dudley, B. S. (ed.), pp.63-92, Academic Press, Inc., New York.
 - 5.“Laboratory Procedure Manual” (1991) Clinical Biochemistry Laboratory Department of Laboratory Medicine, Veterans General Hospital, Taipei, ROC.
 - 6.McEvoy, G. K. (1987) Cell Stimulants and Proliferants. in “Drug Information”, pp.1913-1914 American hospital formulary service, Bethesda.
 - 7.The Merck Index, 10th edition, (1983), pp. 1178, Merk & Co., Inc. Rahway.
 - 8.Rumsfield, J. A., and Dennis, P.W., (1988) Skin Disorders. Part II, Acne, Psoriasis, Photosensitivity, Photoallergy, Fungal in “Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drug”, pp.1417-1420, 4th edition.
 - 9.Steven, H., Weisbroth, R. E., Flatt, A. L. (1974) The Anatomy, Physiology, and the Biochemistry of the Rabbit. in “The Biology of the Laboratory Rabbit”, Carlos, K., Macklin, W., Cummins, L. M., and Mauer, R. (eds.), pp.50-69, Academic Press, Inc., New York.
 - 10.江建勳，賈東明，林嘉伯。101 毛髮再生精急性皮膚毒性實驗。274-277 頁。行政院衛生署藥物食品檢驗局調查研究年報第九號。民國 81 年。
 - 11.行政院環境保護署。毒物學概論。134-141 頁。民國 80 年。
 - 12.沈永紹。獸醫實驗診斷學提要。1-51 頁。華香園出版社。民國 72 年。
 - 13.游世規。臨床診斷檢查法。第六版。113-130 頁。文鐘出版社。民國 72 年。

含維他命 A 酸軟膏之安全性評估

EVALUATION OF THE SAFETY OF VITAMIN A ACID-CONTAINING LINIMENT

SHWA-HWA LIAN, SHIOW-YIN WEY, CHIENG-HSUN CHIANG
AND CHIA PO LIN

DIVISION OF PHARMACOBIOLOGY

ABSTRACT

Using medicinal cosmetics, such as vitamin A acid-containing liniment, to treat acne and to preserve skin health is gradually accepted by the public. To determine their safety, this study adopted rabbits and guinea-pigs as animal models to conduct dermal toxicity tests and to measure values of blood chemistry and hematology to evaluate the skin reactions and physiological functions after application of the liniment. The results show that all experimental animals revealed skin irritation reactions in varying degrees. During the local dermal application of liniment for two to eight weeks, the skins of both kinds of animals produce erythema, with obvious demarcation to erythema of a severe degree. After application

of the liniment for 10 weeks, the degree of skin irritation reaction worsened. Erythema of a severe degree, even with scar formation was observed. It is clear, that local application of vitamin A acid-containing liniment over a long term will induce skin irritation reactions of different degrees. It is estimated that after application topically with 0.025% vitamin A acid-containing liniment, only 2.25% of the liniment will be absorbed into the body through the skin. The values of blood chemistry and hematology of experimental animals did not differ significantly from the normal. Local application of this liniment to the skin for 10 weeks did not change the normal physiological function of animals tested.