ICS 71.100.70

CCS Y 42

中国香料香精化妆品工业协会   发布

2025-X-XX实施

2025-X-XX发布

化妆品经皮吸收 Franz扩散池法

技术指南

Guidelines for Franz diffusion cell method for transdermal absorption of cosmetics

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

T/CAFFCI XX—2025

团体标准

1. 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由中国香料香精化妆品工业协会提出并归口。

本文件起草单位：深圳杉海创新技术有限公司、云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司、北京华熙海御科技有限公司、诺德溯源（广州）生物科技有限公司、水羊化妆品制造有限公司、广东简莳精准生物科技有限公司、深圳市宗匠科技有限公司、深圳市千誉科技有限公司、惠州绵俪生物科技有限公司、时垠（上海）生物科技有限公司、美出莱（杭州）化妆品有限责任公司、哈尔滨敷尔佳科技发展有限公司、懿奈（上海）生物科技有限公司、广州熵增科技有限公司、百特威（上海）化妆品有限公司、深圳市容大生物科技股份有限公司、广州中妆美业化妆品有限公司、上海传美实业有限公司、广东艾粒生物科技有限公司、广州梵之容化妆品有限公司、广州梦尔达科技有限公司、上海集妍化妆品科技有限公司

本文件主要起草人：

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

化妆品经皮吸收 Franz扩散池法技术指南

* 1. 范围

本文件规定了化妆品经皮吸收Franz扩散池法的术语和定义、试验原理、试验方法、数据处理及报告内容。

本文件适用于化妆品及其原料的经皮吸收测试。

* 1. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

* + 1. 经皮吸收 transdermal absorption

应用在皮肤表面的化学物质从皮肤表面扩散到接收液的过程。

* + 1. 累积渗透量 accumulated penetration rate

指在一定时间内到达接收液的受试物的量。

* + 1. 皮内滞留量 intradermal retention

试验完成后，表面经过洗脱的皮肤中所含受试物的量。

注：不含头两层或所有胶带中受试物的量。

* + 1. 未吸收的量 unabsorbed amount

指试验完成后在皮肤表面以及实验器具上洗脱下来的受试物的量。

注：当渗透时长不到24h，应当将前两条胶带的量计入此部分，若渗透时长达到24h及24h以上，应当将包括角质层部分的所有胶带上受试物含量计入此部分。

* 1. 试验原理

将适合经皮吸收研究的皮肤模型安装在接收池和给样池之间，在给样池中定量的将受试物作用于皮肤模型表面，通过控制试验温度与搅拌速度在接收池中模拟皮下动态环境进行经皮吸收试验。在整个经皮吸收过程中，在多个时间点对接收液进行取样并测定受试物含量，还应对皮内滞留量以及未吸收的量进行测定，以此计算回收率等。

为了保证试验结果的可靠性和准确性，在选择接收液时要充分考虑受试物在接收液中的稳定性和溶解度（尤其当受试物为亲脂性成分时），通过在接收液中加入合适比例乙醇、表面活性剂等调节剂来增加受试物溶解度，在接收液中加入抗氧化剂等提高受试物稳定性。

* 1. 试验方法

除非另有说明，水为符合GB/T 6682规定的一级水。

* + 1. 扩散池

扩散池一般由给样池和接收池组成，图1为经典扩散池-Franz扩散池示意图。使用时皮肤模型固定在两部分之间，并用弹簧夹将给样池、接收池和皮肤模型固定住，保持扩散池与皮肤模型之间的密封性。接收池中的液体应与皮肤模型保持接触，同时扩散池系统温度应与人体皮肤温度一致，保持在32 ℃±1 ℃。在整个试验过程中，应使给样池保持封闭。可根据需要选用静态扩散池或循环流动式扩散池，循环流动式扩散池适用于需要对接收液连续取样，静态扩散池可以提高难以经皮吸收受试物的测试敏感性。

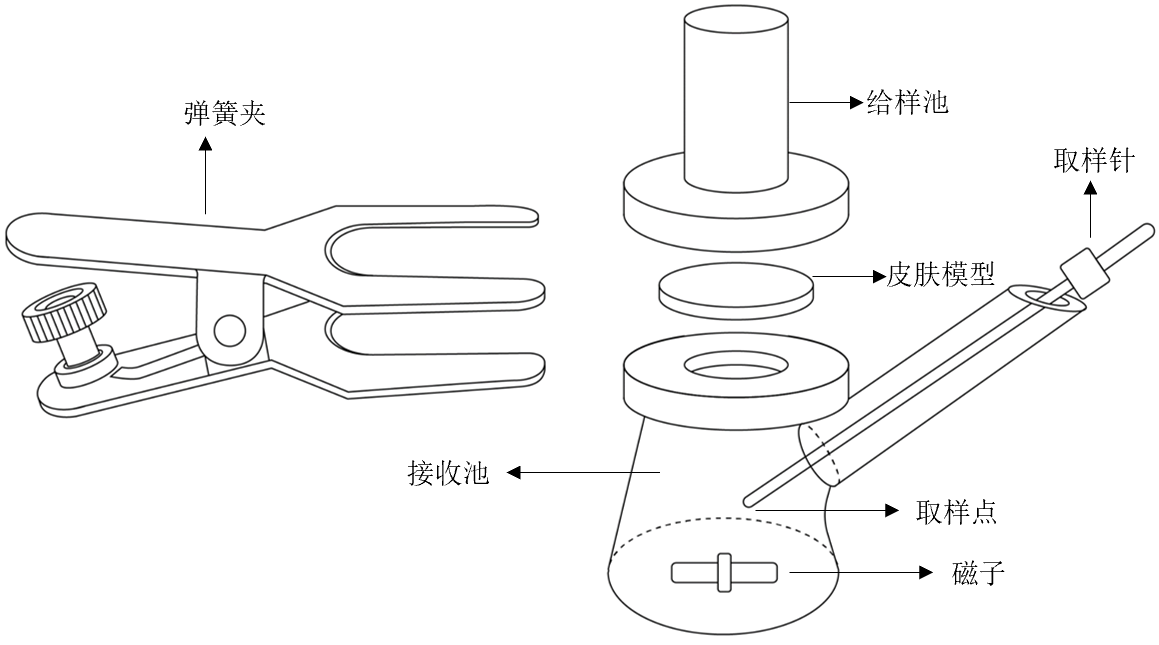


图1Franz扩散池的示意图

* + 1. 接收液

选择的接收液应不影响皮肤完整性，并能最大限度保护皮肤生理活性。接收液还应满足受试物在试验过程中所需的溶解度，对于水溶性成分，接收液可以选用pH=7.4的生理盐水或磷酸盐缓冲液；当受试物为亲脂性成分，接收液中可添加一定比例的（不超过50%）乙醇或6%聚氧乙烯月桂醚等改性剂增加溶解度，但应保证添加的改性剂不会破坏皮肤完整性且不会干扰后续的分析过程。

为了保证试验结果的准确性与可靠性，应充分考察受试物在接收液中溶解度以及稳定性。

* + - 1. 溶解度的考察

应详细了解受试物物理化学性质（分子量、LogP值、溶解性等），对于缺乏证据表明具备较好水溶性的受试物或亲脂性成分要充分考察其在接收液中的溶解性。将受试物添加至接收液直至饱和或达到足够高的浓度后，测定溶液中受试物浓度，判断接收液对受试物的溶解度是否满足试验需求。接收液中受试物的量在整个试验过程中不应超过饱和浓度的10%，以减小对受试物自由扩散的干扰。

* + - 1. 受试物在接收液中稳定性的考察

使用接收液配制高浓度和低浓度受试物溶液，于32 ℃储存0 h、2 h、4 h、8 h、24 h、48 h，同新配制的同一浓度标液一同测定，考察试验条件下受试物在接收液中的稳定性。

* + 1. 漏液检测

搭建好给样池-皮肤模型-接收池装置后，添加适量体积的缓冲溶液或一级水于给样池中，保持10 min后检查是否有液体溢出给样池；在整个试验过程中，应持续关注是否存在漏液现象并保持弹簧夹紧绷；试验结束后，观察皮肤上受试物是否溢出给样池边界。如存在漏液，应重新搭建新的扩散池。

* + 1. 试验环境

实验室温度设定为10 ℃~30 ℃，相对湿度30%~70%。

经皮扩散仪温度设定为32 ℃± 1 ℃，搅拌速度设定为350 rpm ± 10 rpm。

* + 1. 试验设计

可根据实际情况设置实验组、空白对照组、阳性对照组。

实验组应设置至少4次重复试验。

* + 1. 皮肤模型

人类皮肤是最优的皮肤模型，相关使用需要符合国家和国际伦理学委员会条约的规定。也可以选用合适的动物皮肤进行经皮吸收试验。大鼠皮肤的渗透性是人类皮肤的2~10倍，一般不推荐使用，建议使用与人类皮肤基本渗透特性相似的猪皮，可以选用猪耳、腹部等部位皮肤作为皮肤模型，例如8周龄巴马小香猪腹部皮肤。

注：人工膜和3D细胞皮肤模型可参考执行；除本文件外的其他适用于本文件的皮肤模型需经评估后再使用本方法。

* + - 1. 皮肤制备

皮肤模型可以是表皮、全皮或经过分离的皮肤。将离体皮肤去掉肌肉和结缔组织，使用手术刀小心刮去皮下脂肪，直到观察到真皮层的网状纤维（厚度约为1.0 mm），使用电动剃须刀将表面毛发剔除至≤3 mm，即得全皮。将全皮在60 ℃水中放置1 min~2 min，使用镊子剥离表皮，或使用化学分离（2M 溴化钠），使用蛋白酶或细菌胶原酶等进行酶分离来制备表皮层。选用经过分离的皮肤，厚度一般在200 μm~400 μm，全厚皮肤在1 mm左右。

* + - 1. 皮肤储存及完整性

切除的新鲜皮肤可以立即使用或冷冻保存。有研究表明，储存在-20 ℃的皮肤与新鲜皮肤的渗透性没有显著变化，但存储在-80 ℃环境中会导致皮肤渗透性增加。为了便于储存和后续试验，建议在储存前去除皮下组织，并且不应反复对皮肤冷冻和解冻，会导致皮肤渗透性增加。因此，在运输过程中，皮肤应处于4 ℃以下，并可以长期储存在-20 ℃环境下。但为了保证试验结果的可靠性，皮肤在使用前都应该进行完整性检查。

保持皮肤表面干燥，评估角质层经皮失水（TEWL）值是否在正常范围内；或评估最高2 V交流电在皮肤内电阻值是否处于皮肤类型的正常范围内；或评估皮肤对标准物质（氚化水）的渗透是否是正常的。

* + 1. 受试物

当受试物为半固体或液体时，可以直接上样；当受试物为固体时，可以模拟皮肤被汗水浸润的情况，将固体受试物研磨至粉末状，然后尽量使用最小体积的水或生理盐水等将受试物润湿，制成糊状后进行试验，但应避免使用有机溶剂进行润湿。或者根据自身试验需求，选取其他合理受试物制备方式。

* + 1. 受试物使用量

根据试验需要，受试物使用量可以分为有限剂量和无限剂量，当受试物为固体、半固体，其有限剂量应不超过10 mg/cm2，无限剂量可使用超过10 mg/cm2；当受试物为液体制剂，其有限剂量应不超过10 μL/cm2，无限剂量可使用超过100 μL/cm2。受试物应均匀涂抹于皮肤表面，对于黏附在涂布器上的受试物，应该从使用量中减去这部分的量以获得实际使用量。

* + 1. 试验时长

为了充分考察受试物的渗透特性，整个渗透过程应不超过24 h，并在试验过程中设置至少6个间隔适当的采样点。也可根据实际情况进行时间延长，但要充分考虑时间延长对皮肤完整性的影响。对一些不需要在皮肤长时间停留的受试物，可根据实际使用情况设置接触时长，并在受试物冲洗后再对接收液进行取样测量。例如对于染发剂，建议至少与皮肤接触30 min后，模拟消费者使用习惯冲洗干净，并对接收液的采样时间持续到24 h。

* + 1. 皮肤胶带剥离处理

试验结束后，皮肤从扩散池取下，将皮肤表面剩余受试物冲洗干净。可根据试验要求对皮肤进行胶带剥离，重复剥离15层~25层，每层胶带应施加相同压力。

一般认为前两条胶带上受试物是附着在即将脱落皮肤，不会被生物利用。当试验时间达到24h及24h以上，应将包括角质层部分所有胶带上的受试物不计入可吸收剂量当中。

* + 1. 测定方法
       1. 定量方法

可使用高效液相色谱法、气相色谱法、气相质谱法、液质联用法等。

以高效液相色谱法为例：

1. 标准品溶液的配置：使用容量瓶称取适量标准品，定容后摇匀并依次稀释得到5个及以上浓度梯度的标准工作溶液。
2. 仪器条件：依据标准物质的检测条件来确定，包括流动相、色谱柱、洗脱程序等。
3. 测试方法：分别将标准工作溶液注入高效液相色谱仪，在色谱条件下测定标准溶液，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。将处理好的待测试样溶液注入高效液相色谱仪，在色谱条件下进行测定，根据保留时间和紫外吸收光谱图定性，受试物峰面积代入标准曲线计算受试物浓度C，随后按照公式（1）计算累积渗透量*Q*n，按照公式（2）计算皮内滞留量*Q*皮，按照公式（3）计算未吸收的量*Q*未，按照公式（4）计算渗透速率*K*p，按照公式（5）计算渗透通量*J*，按照公式（6）计算回收率*W*。具体计算公式详见8.1~8.6。
   * + 1. 定性或半定量方法

可使用共聚焦显微镜法、荧光显微镜法等。

以荧光显微镜法为例：在皮肤组织中加入冷冻液，放入冷冻切片机内冷冻包埋，随后使用冷冻切片机切片，皮肤组织的厚度为50 μm~100 μm，选取皮肤中部的皮肤进行切片，粘附于载玻片上即可。将上述得到的皮肤组织切片放置于荧光显微镜中，调试仪器参数后，开始进行拍照。

* 1. 试验结果

应对试验系统各个部分的受试物进行测定，包括给样池、皮肤表面清洗液、皮肤（胶带、表皮、真皮等）、接收液等。所有测得受试物的回收率应达到100% ±15%，对于过大的回收率偏差应给出合理的解释。

* 1. 实验室质量控制

要定期评估实验室的技术能力以及试验方法的可靠性，每年至少两次在实验室对咖啡因、苯甲酸等参比化合物进行经皮吸收试验，相关试验结果要呈现在每一份报告中。经皮吸收结果要以均值±标准差来表示。

* 1. 计算方法
     1. 累积渗透量

按式（1）计算累积渗透量*Q*n，以μg表示

 …………………（1）

式中：

*Q*n——第n次取样时的累积渗透量，单位为微克（μg）；

*C*n——第n次取样时接收液中受试物的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

*C*i——第1次至第n-1次取样时接收液中受试物的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

*V*0——每次取样体积，单位为毫升（mL）；

*V*——接受池中接收液的总体积，单位为毫升（mL）；

*n*——取样次数。

结果保留两位小数。

* + 1. 皮内滞留量

按式（2）计算皮内滞留量*Q*皮，以μg表示

…………………………………………（2）

式中：

*Q*皮——皮内滞留量，单位为微克（μg）；

*C*皮——皮内受试物提取液浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

*V*皮——皮内受试物提取液体积，单位为毫升（mL）。

结果保留两位小数。

* + 1. 未吸收的量

按式（3）计算未吸收剂量*Q*未，以μg表示

……………………………………（3）

式中：

*C洗*——皮肤表面、给样池器具上冲洗下来的受试物浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

*V洗*——皮肤表面、给样池器具上冲洗下来的受试物样液体积，单位为毫升（mL）；

*C胶*——对皮肤角质层剥离的胶带（1条~2条或1层~∞层），单位为微克每毫升（μg/mL）；

*V胶*——胶带提取液体积，单位为毫升（mL）。

结果保留两位小数。

* + 1. 渗透系数

按式（4）计算渗透系数*Kp*，以μg/h表示

 ……………………………………（4）

式中：

*Kp*——渗透速率，单位为微克每小时（μg/h）；

*Qn*——累积渗透量，单位为微克（μg）；

*b*——截距，无单位；

*t*——渗透时间，单位为小时（h）。

结果保留两位小数。

* + 1. 渗透通量

按式（5）计算渗透通量J，以μg/cm2·h表示

……………………………………………（5）

式中：

*J*——渗透通量，单位为微克每平方厘米每小时（μg/cm2·h）；

*Qn*——当前时间点的累积渗透量，单位为微克（μg）；

*S*——上样区域的面积，单位为平方厘米（cm2）；

t——渗透时长，单位为小时（h）。

结果保留两位小数。

* + 1. 回收率

按式（6）计算回收率W，以%表示

………………………………………（6）

式中：



*Q*原——总上样量，单位为微克（μg）；

*Q*总——受试物总回收量，单位为微克（μg）；

*W*——回收率，单位为百分百（%）。

结果保留两位小数。

* 1. 试验报告

试验报告应对试验方案进行详细说明，应包含以下内容：

* + 1. 受试物

1. 受试物产品名称、生产批号、产品剂型及制备方法等信息；
2. 受试物中测试受试物含量、名称以及相关理化性质等信息。
   * 1. 试验方法
3. 皮肤来源、制备方法、储存条件以及皮肤完整性等信息；
4. 扩散池的类型、接收液的配制、受试物在接收液中溶解度和稳定性、转子转速、实验温度等信息；
5. 试验持续时间及取样时间点等信息；
6. 使用的受试物的量；
7. 试验结束后对皮肤的处理方法（包括冲洗、胶带剥离与提取等）以及对器具冲洗操作等信息；
8. 检测方法、方法检出限等信息；
   * 1. 结果
9. 受试物在各部分测试结果（接收液中、胶带中、皮肤冲洗和给样池清洗、活性皮肤中）；
10. 各扩散池受试物回收率；
11. 经皮吸收数据（渗透量、渗透率、渗透速率等）；
    * 1. 结论

应包含年度内实验室质控结果信息。

**参考文献**

[1] OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 2004b. Guideline for the testing of chemicals (No. 428): Skin absorption: in vitro method. Adopted 13 April 2004, OECD, Paris, 8 pp.

[2] OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 2004c. Guidance document for the conduct of skin absorption studies. OECD Series on Testing and Assessment, No. 28. OECD, Paris, 31 pp.

[3] SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), 2010. Basic criteria for the in vitro assess -ment of dermal absorption of cosmetic ingredients. Adopted 22 June 2010, 14 pp.

[4] EFSA (European Food Safety Authority), 2017.Guidance on dermal absorption. Adopted 24 May 2017,60 PP.

