

嘉南藥理科技大學 95 年度教師研究計畫成果報告

百合美白功效之應用開發成果報告

計畫編號：CNHN9501

執行期限：95 年 1 月 1 日至 95 年 12 月 31 日

主持人：楊彩秀

摘要

百合為百合科多年生草本植物，其地下有扁形或近球狀的鱗莖及花為藥用部位，百合味甘微苦，功能潤肺止咳、清心安神等功效。但少有研究將百合應用於化妝品用途上。之前研究指出，百合具有明顯止血、提高淋巴細胞轉化率和增加自體免疫功能的活性，百合還可以抑制腫瘤的生長。但是百合萃取液是否可能為一具有美白功效潛力之植物，仍需尚待研究。故本子計畫將採用百合水-酒精萃取物以細胞培養的方式，研究其對正常皮膚細胞(人類纖維母細胞)的毒性、黑色素腫瘤細胞的生長抑制及黑色素合成(細胞內之酪胺酸酶活性)的抑制效果進行評估，本子計畫期望能開發出百合之新功效且能應用於化妝品上，並提供未來動物及人體試驗之重要參考依據，對將來植物或中草藥於保養化妝品應用開發上更具實質幫助。

前言

百合為百合科多年生草本植物，地下有扁形或近球狀的鱗莖，鱗片肉質肥厚。全世界栽種之百合有100多種，臨床上藥用的多為中國藥典收藏的3個品種(*Lilium lancifolium*, *Lilium brownii*, *Lilium pumilum*)(中國藥典，2005)。百合性寒味微苦，自古以來與人蔘的滋補功用並立，被中醫界用於寧心安神、清心除煩、補中益氣、潤膚防衰、潤肺止咳之佐藥(楊玲玲等，2000)，如本草正義介紹的「百花膏」、「百合固金湯」及「百合地黃湯」等複方，都以百合為主要原料(黃坤森等，1995)。一般中醫所使用的百合指的是百合的鱗莖，根據文獻報導百合的鱗莖富含蛋白質、多醣體、有機酸、類黃酮及酚類物質(楊玲玲等，2000；Mimaki et al., 1999)，而花藥則含有多纖維維生素、脂肪、有機酸和蛋白質等(Francis et al., 2004)。有研究分析發現，百合鱗莖中含有蛋白質、澱粉、蔗糖、粗纖維、果膠及灰分等；另外少部分之脂肪、還原糖、鈣、磷、鐵等礦物質與胡蘿蔔素、維生素B₁、B₂、C、泛酸，以及秋水仙鹼(colchicines)、秋水仙胺等多種生物鹼(Juliana, 2003)。而百合的化學成分研究，目前已分離出許多化合物，如steroidal saponins、colchicine、多醣及糖苷等(Mimaki et al., 1990; Erodgan et al., 2001; Pandalis et al., 2003; 侯秀云等，1998)。近年來百合中多種生物鹼經過研究證明是具生理功能之有效成分(Erodgan et al., 2001)。

關於百合的醫藥文獻眾多。在最近的研究，發現百合有抗氧化(苗明三，2003)、抗菌(Mucuji et al., 2002; Wang et al., 2002; Francis et al., 2004)、抗腫瘤(李廣勛，1990)、抗疲勞(楊林莎等，2002)、提升免疫力(張繼敏等，1996)的多種功能。百合具有止咳作用，給小鼠灌食百合水萃取液2μg/kg，可顯著延長SO₂引咳潛伏期，並減少咳嗽次數(李衛民等人，1990)。有藥理實驗也證明，百合有止咳作用，使肺灌流量增加，對抗組織胺引起的哮喘，有升高白細胞及止血作用(康重陽等，1991)。另外，楊等人(2002)亦證實百合可對抗組織胺所引起的動物哮喘。

百合之止咳作用可能是百合中的糖苷類所致(侯秀云等, 1998)。同時百合可明顯延長小鼠游泳時間, 具抗疲勞之功效(李衛民, 1991)。李等人(1990)也發現百合可延長戊巴比妥鈉縮短睡眠時間, 有明顯的助眠效果, 因此具清心安神功效; 亦指出在“肺氣虛”模式動物實驗下, 百合具有改善肺氣虛的症狀, 滋陽潤肺作用。百合對2,4硝基氯苯所致遲發型過敏反應的影響, 百合顯著具有抗過敏之功效(李衛民, 1991)。研究認為百合中可能因其有富含精胺酸與麩胺酸的polypeptide, 進而達到抗菌之功效(Wang, 2002)。

除上述研究之外, 百合的其他功效亦被確認。百合中含有水溶性多醣, 能夠促進細胞之免疫功能, 提升小鼠體內免疫能力(張繼敏等, 1996; 姜茹等, 1998)。Vachalkova等人(2000)從百合中分離出10種生物鹼, 發現這些生物鹼的腫瘤抑制率可達70%以上。同時百合生物鹼中可分離得到colchicine。許多研究指出colchicine, 能抑制癌細胞的增殖, 可抑制許多癌症如乳癌(Verdier-Pinard, 1998)、攝護腺癌(Fakih, 1995)等。另外, 有學者認為在小鼠注射肺癌細胞株引發腫瘤模式下, 將百合多醣分離出後, 餵食8天後, 可使小鼠之腫瘤抑制達40%(趙國華等, 2002)。同時百合酒精萃取液的清除羥自由基能力與抗壞血酸相同(何純蓮等, 2003)。滕等人(2003)指出百合多醣對超氧陰離子與羥自由基的清除能力高, 可抑制因H₂O₂誘發人類紅血球溶血現象及脂質過氧化, 降低MDA含量。在衰老小鼠的動物模式下, 餵食百合多醣可顯著增加小鼠體內SOD與GSH peroxidase活性, 降低血漿、肝與腦中的脂質過氧化程度(苗明三, 2001)。臨床上百合在中藥材的使用業已相當明確。百合可用於百日咳症狀之改善(楊林莎, 2002)。還有用於外敷治療潰瘍及疱疹(肖孝葵, 1998)。

雖然百合在醫學上研究與使用非常的多, 但除了具有傳統已知功效外, 應尚有一些新的功效未被發現。百合萃取液是否可能為一具有美白功效潛力之植物, 仍需尚待研究。故本子計畫將採用百合水-酒精萃取物以細胞培養的方式, 研究其對正常皮膚細胞(人類纖維母細胞)的毒性、黑色素腫瘤細胞的生長抑制及黑色素合成(細胞內之酪胺酸酶活性)的抑制效果進行評估, 本子計畫期望能開發出百合之新功效且能應用於化妝品上, 並提供未來動物及人體試驗之重要參考依據, 對將來植物或中草藥於保養化妝品應用開發上更具實質幫助。

研究方法與步驟

a. 百合水-酒精萃取物製備及細胞培養

本計畫預計以水-酒精萃取。將百合鱗莖清洗乾燥後以粉碎機研磨成細末, 過200號篩後, 於低溫下密封貯存。取百合粉末加入水與酒精, 進行熱水迴流, 離心取上清液, 在真空濃縮後, 得到水-酒精萃取物粉末。實驗設計所使用的細胞株: 人類正常皮膚細胞株(Hs68細胞)、黑色素瘤細胞株(B16細胞)。

b. 細胞存活率分析(MTT viability assay)

將細胞置於24孔的微量平盤, 每孔有1 ml之新鮮的培養液及約10⁴ cells, 培養隔夜後, 經過不同的處理再進行細胞存活力之測定。在測定前, 先將MTT以未含有FBS的DMEM培養液稀釋成0.2 mg/ml, 將1 ml之MTT稀釋液加入每孔細胞中, 於37°C下培養1小時, 於倒立顯微鏡下可觀察到細胞內藍色結晶的生成。將24孔的微量平盤倒蓋, 移去培養液, 再以1 ml之DMSO加以溶解, 搖晃5分鐘直到看不到晶體後, 在492 nm讀取其吸光值。

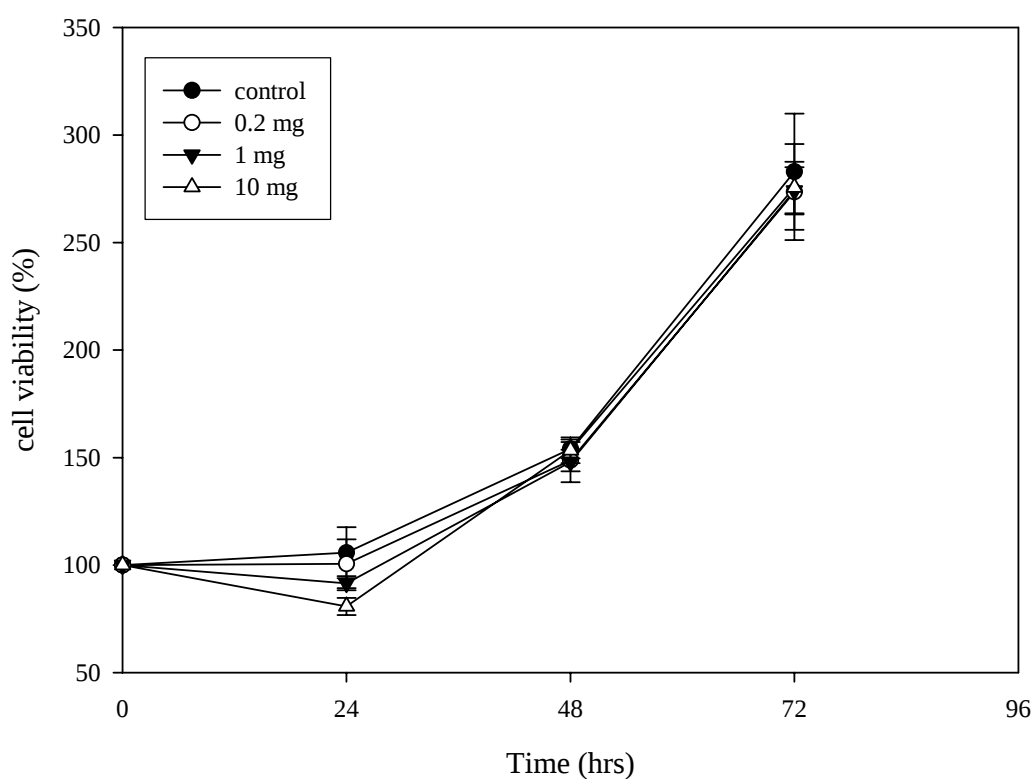
c. 酪胺酸酶分析(tyrosinase assay)

將細胞以 3×10^4 /well 之密度培養於 96-well 培養盤中，並在 37°C 、5% CO_2 培養箱中至少生長 16 小時以上，接著分別加入不同濃度的萃取物於指定的時間作用後，以免疫酵素分析儀測定波長 508 nm 吸光值。

結果與討論

本計畫以百合水-酒精萃取物培養於人類正常皮膚細胞株(Hs68 細胞)，研究顯示不具細胞毒性(見圖一)。且針對黑色素瘤細胞株(B16 細胞)能顯著的抑制 tyrosinase 活性(見圖二)。故未來應能具體開發出百合萃取物的新藥用資源(美白功效)，可應用於化妝品用途。

圖一、百合水-酒精萃取物對人類正常皮膚細胞株(Hs68 細胞)存活率之影響



圖二、百合水-酒精萃取物對黑色素瘤細胞株(B16 細胞)tyrosinase 活性之影響

