

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC9501

計畫名稱：子計畫 1：中草藥複合式美白化粧品之開發

執行期間：95 年 1 月 1 日至 95 年 12 月 31 日

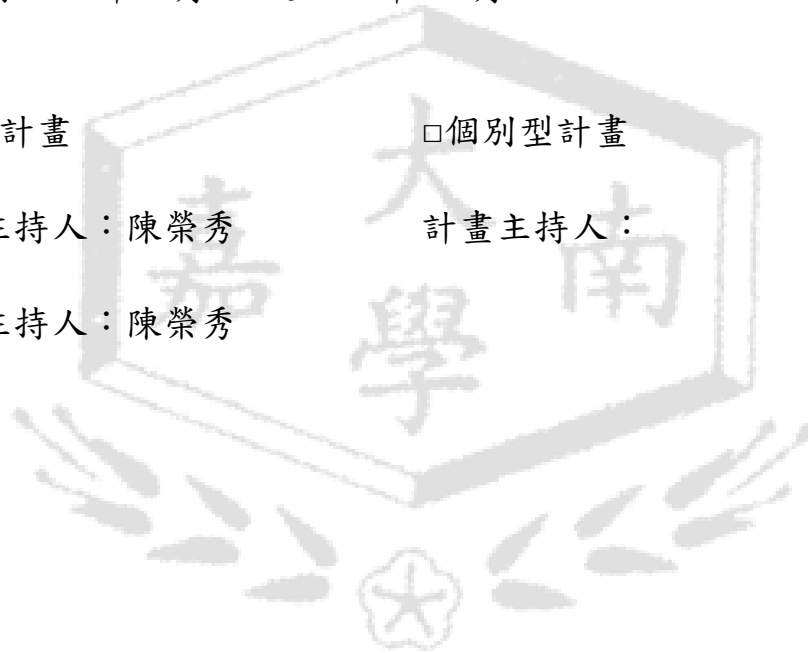
■整合型計畫

個別型計畫

計畫總主持人：陳榮秀

計畫主持人：

子計畫主持人：陳榮秀



中華民國 96 年 02 月 27 日

## (一)摘要

東方女性通常希望擁有白皙的肌膚，為了滿足消費者需求，國外許多人努力尋找具有黑色素抑制效果之成分，目前衛生署公告之美白成分中包含 vitamin C 衍生物, arbutin 及 kojic acid 等，這些成分均具有酪胺酸酶抑制活性，(酪胺酸酶是黑色素形成過程中相當重要的酵素，一般認為只要能抑制酪胺酸酶的活性，就有皮膚美白的功效)，除了這些成分外，有些中藥如甘草(*Glycyrrhiza glabra*)及桑枝(*Morus alba*)等的酒精萃取液也被發現具有酪胺酸酶抑制活性，其他中藥之類似功效，目前正在研究當中。中藥是我國珍貴的資產，因此，本計畫希望能將中藥應用到藥用化粧品，一方面可以擴大中藥的應用範圍，同時也能提高中藥的經濟價值。

## (二)研究動機與研究問題

目前衛生署雖然有公告美白成分與限量(表一)，但是其美白效果仍然與消費者的期待有很大落差，因此本計畫擬將這些已公告成分與具美白潛力之中草藥結合，成為「複合式」美白配方，希望開發更具功效之美白產品。

表一、衛生署公告美白成分表

Magnesium Ascorbyl Phosphate	限量：3% 用途：美白。
Kojic Acid	限量：2% 用途：美白。
Ascorbyl Glucoside	限量：2% 用途：美白。
Arbutin	限量：7% 用途：美白。 其他規定：製品中所含之不純物（Hydroquinone）應在20ppm以下。
Chamomile ET	限量：0.50% 用途：防止黑斑、雀斑。
Sodium Ascorbyl Phosphate	限量：3.0% 用途：美白
Ellagic Acid	限量：0.5% 用途：美白

### (三)文獻回顧與探討

日、韓及中國大陸一直積極將中藥應用在化粧品，國內過去較少進行中藥應用在化粧品之研究，本實驗室為了開創中藥之新用途，於是進行中藥在美白方面應用之篩選工作，初步由 80 種中藥篩選出甘草(*Glycyrrhiza glabra*)、桑枝(twig of *Morus alba*)、桑白皮(root-bark of *Morus alba*)、牡丹皮(*Paeonia suffruticosa* ANDREWS)、木瓜(*Chaenomeles speciosa*)等具有酪胺酸酶抑制活性，這些中藥以桑枝的抑制能力最強

(表二), 不過這些中藥只有甘草屬於衛生署於 87 年 4~6 月所調查之藥廠及醫院中藥單味銷售排行第 3 名。

表二、中藥酪胺酸酶抑制活性

中藥名稱 (1mg/ml)	抑制率
桑枝	79.5 %
甘草*	75.0 %
桑白皮	72.0 %
牡丹皮	69.4 %
木瓜	47.7 %

\*屬於衛生署於 87 年 4~6 月所調查之

藥廠及醫院中藥單味銷售排行第 3 名

#### (四)研究方法與步驟

(1) **設備**: 分光光度計 Chromameter CM-508I (Minolta), *In vitro* SPF

測試儀

UV1000S (Labsphere, USA), 紫外線光譜儀

Spectrophotometer U-3200(Hitachi)

(2) 材料：

- A. 中藥材：甘草 (*Glycyrrhiza glabra*)、桑枝 (twig of *Morus alba*)、桑白皮 (root-bark of *Morus alba*)、牡丹皮 (*Paeonia suffruticosa* ANDREWS)
- B. 酪胺酸酶: mushroom tyrosinase (Sigma)
- C. 酪胺酸酶抑制劑：vitamin C, hydroquinone, arbutin, kojic acid, azelaic acid (TCI)
- D. 酪胺酸: L-tyrosine (Sigma)
- E. 細胞株: B16 mouse melanoma cell line (食品工業研究所/國家衛生院 CRCC3360)

(3) 研究設計：中藥以酒精萃取的方式處理後，以衛生署公告之美白成分作為複合添加劑，並以未添加者作為對照組進行美白效果評估，評估方法包含 *in vitro* 及 *in vivo*。

(4) 實施方法及進行步驟：

**I：中藥酒精萃取液之製備**

1. 將確認過之中藥材切細
2. 分別稱 100 克加入 1000 ml 純乙醇，浸泡 3 天

3. 減壓濃縮
4. 過濾
5. 真空乾燥，稱重備用

## II. 中藥之美白效果評估

### II-1. 體外(in vitro)酪胺酸酶抑制活性測定

1. 分別取定量複合式中藥或 vitamin C, arbutin, kojic acid 等，加入 70 units mushroom tyrosinase，再加入 0.5 ml L-tyrosine (0.1 mg/ml) 中，於 37 °C 放置 10 分鐘。
2. 利用分光光度計測量波長 475 nm 之吸收值，將未加任何藥材之吸光值減去待測藥材之吸光值除以未加任何藥材之吸光值再乘以 100 即為該藥材之酪胺酸酶體外活性抑制百分比。
3. 比較複合式中藥與 vitamin C, arbutin, kojic acid 等美白成分之酪胺酸酶體外抑制活性。
4. 分別計算其酪胺酸酶體外抑制活性之 IC<sub>50</sub>

### II-2 細胞黑色素抑制試驗

1. 培養 mouse melanoma B16 細胞至八分滿
2. 將中藥酒精萃取物或 vitamin C, arbutin, kojic acid 等材料分別加入細胞培養液中。
3. 三天後將細胞溶解(1 % Triton-X/PBS)
4. 細胞溶解液中加入 10 mM 之 L-DOPA，置於 37 °C, 60 分鐘。
5. 以分光光度計測量波長 475 nm 之吸收值，依上述方法計算其酪胺酸酶活性。

### II-3. 複合式中藥美白乳液之人體(*in vivo*)有效性試驗

1. 選定受試者手背無色素沉積區域數個(每一區的面積為  $3 \times 3 \text{ cm}^2$ )。
2. 塗抹樣品前先以 Minolta 分光光度計測定膚色，然後每天塗抹兩次樣品。
3. 每週以 Minolta 分光光度計測定塗抹美白乳液及塗抹對照乳液部位之皮膚的  $L^*a^*b^*$  值。
4. 連續測定 8 週，然後比較  $L^*a^*b^*$  值的差異，將塗抹對照乳液部位之皮膚之 L 值減去塗抹美白乳液部位之皮膚之 L 值，其差異值每 3 點以上表示該美白乳液有明顯效果。



## (五)結果

桑枝、甘草、牡丹皮在中國臨床醫學上之應用已有數千年歷史，在臺灣已普遍種植、栽培容易且成本低廉的植物。桑枝：本草綱目記載通血氣、利五臟、治風寒濕痺諸痛；甘草：文獻記載為鎮咳祛痰藥，又用於以緩和其他藥物之刺激毒，並以矯味；牡丹皮：文獻記載為鎮靜鎮痙藥，為婦科用藥及緩和創傷痛，固肌膚；且皆可供作藥用，且無不良之副作用。

在現今時代潮流，漸漸走回復古、崇尚天然、回歸自然之風潮，不僅保養品更要跟上時尚潮流，天然的化粧品原料來源更已是重要的消費意識。

本研究目的，乃將中草藥用植物進一步開發成化粧品原料，並且應用於化粧品配方中，藉以開發出有效性、安全性、天然無污染且低成本的化粧品原料，實際運用於保養產品中。以下為本研究之藥材介紹：

桑枝 (MORI RAMULUS, Mulberry Twig) 為桑科 Moraceae 植物桑 *Morus alba* L. 之莖或枝幹。性狀：呈長圓柱形，少分枝，長短不一，直徑約 0.5~1.5 cm；表面灰黃色至灰棕色，有多數淺棕色點狀皮孔及細縱紋，並有灰白色略呈半月形的葉痕和棕黃色的小芽。質堅韌，不易折斷，斷面黃白色、具纖維性，切片厚



2~5 mm，皮部較薄木部有放射狀紋理髓部白色，海綿狀、氣微、味淡。

甘草(GLYCYRRHIZAE RADIX, Glycyrrhiza)為豆科植物甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 或其他同屬別種植物之乾燥根及根莖。性狀：呈圓柱形，直徑約 1~3 cm。未去皮者現黃棕色或灰棕色，外面有縱皺紋並常附有小芽及鄰葉。去皮者現淡黃色，外面呈纖維狀。根莖之橫切面在半徑約三分之二處有頗明顯之形成層，中心髓部甚小，木質部及韌皮部呈放射形。折斷面呈粗纖維性。臭微而特殊，味甜。

牡丹皮(MOUTAN RADICIS CORTEX, Tree Peony Bark)為毛茛科 Ranunculaceae 植物牡丹 *Paeonia suffruticosa* Andr. 之乾燥根皮。性狀：呈筒狀或半圓筒狀塊片，有縱剖開的裂縫，向內捲曲或略外翻，長短不一，通常長 5~25 cm，筒徑 0.5~1.4 cm，皮厚 2~4 mm。外表面灰褐色或黃褐色；刮根皮外表面淡灰黃色、粉紅色或淡紅棕色，有多數橫長略凹陷的皮孔痕及細根痕。內表面淡灰黃色或棕色，有明顯縱細的紋理及白色針狀、片狀或柱狀牡丹酚結晶。質硬脆，折斷面較平坦，粉性，灰白至粉紅色。有特殊香氣，味苦而澀，有麻舌感。

以上藥材經過萃取後，以適當濃度配製後，加入 B-16 黑色

素瘤培養 3 天，再測量細胞黑色素生成量，結果如表三所示，桑  
 萃取液具有較佳之抑制率。

表三、中藥萃取液對 B-16 黑色素瘤細胞黑色素生成之抑制率

藥材	萃取液濃度 (mg/ml)	抑制率 %
桑萃取	0.10	59.13 ± 1.55
	0.01	56.35 ± 2.52
甘草萃取	0.10	58.82 ± 2.19
	0.01	50.46 ± 3.31
牡丹皮萃取	0.10	58.51 ± 0.31
	0.01	48.30 ± 1.47

將所獲得之萃取液進一步搭配衛生署公告之美白原料製備  
 成乳液，再進行酪胺酸酶抑制試驗，結果如表四所示，複合式美  
 白具有較佳之酪胺酸酶抑制活性，此結果與人體試驗結果相符。

表四、複合美白樣品之酪胺酸酶抑制活性

測試樣品	抑制率 %
對照組	0.00
桑萃取	13.41
甘草萃取	18.01
牡丹皮萃取	13.22
Whitening agents	60.73
桑萃取複合美白	79.50
甘草複合美白	78.74
牡丹皮複合美白	80.08

## (六) 結論

中藥複合式美白化粧品，具有較佳之美白功效，例如甘草 (*Glycyrrhiza glabra*)、桑枝 (*Morus alba*) 及牡丹皮 (*Paeonia suffruticosa* ANDREWS) 等的酒精萃取液，其他中藥亦有類似功效，目前正在研究當中。中藥是先人之智慧結晶，因此，未來希望能繼續將中藥應用到其他化粧品類別，一方面可以擴大中藥的應用範圍，同時也能提高中藥的經濟價值。

## (七) 參考文獻

- Cabanes, J. et al. 1994. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J. Pharm. Pharmacol.* **46**, 982-985.
- Cosmetics & toiletries 1996. Natural and Botanical products formulary. Vol **111**, 81-94.
- Easton, A. Women have deadly desire for paler skin in the Philippines. *The Lancet* **352**, 555.
- Fitzpartrick, T. B. 1995. Pathophysiology of hypermelanoses. *Clin. Drug. Invest.* **10** (suppl. 2)
- Fourtanier, A. 1996. Mexoryl SX protects against solar-stimulated UVR-induced photocarcinogenesis in mice. *Photochemistry & Photobiology.* **64**, 688-693.
- Goihman-Yahr, M. 1996. Skin aging and photoaging: an outlook. *Clinics in Dermatology.* **14**, 153-160.
- Hidalgo, M. E. et al. 1998. Boldine as a sunscreen. *Cosmet. Toil.* **113**, 59-66.
- Hu, G. and Wang, X. 1998. Research on a natural sunscreen from Chinese herbs. *International Journal of Cosmetic Science.* **20**, 175-181.
- Kelley, K. A., Laskar, P. A., Ewing, G. D., Dromgoole, S. H.,

- Lichtin, J. L. and Sakr, A. A. 1993. *In vitro* sun protection factor evaluation of sunscreen products. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **44**, 139-151.
- Lee, K. T. et al., 1997. Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (I): inhibitory activities of tyrosinase and DOPA auto-oxidation. *International Journal of Cosmetic Science.* **19**, 291-298.
- Luckewicz, W. 1990. Determination of ascorbyl dipalmitate in cosmetic whitening powders by differential scanning calorimetry. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **41**, 359-367.
- Maeda K. et al. 1991. In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *J. Soc. Cosm. Chem.* **42**, 361-368.
- Masuda, M. et al. 1996. Skin lighteners. *Cosmet. Toil.* **111**, 65-75.
- Merot, F., Seniuta, R., Benita, G. and Masson, Ph. 1992. Method for quantifying cutaneous pigmentation in animals and preliminary study in humans. *International Journal of Cosmetic Science.* **14**, 173-182.
- Pathak, M. A. 1996. Sunscreens: progress and perspectives on photoprotection of human skin against UVB and UVA radiation. *Journal of Dermatology.* **23**, 783-800.
- Schallreuter, K. U. et al. 1994. Regulation of melanin biosynthesis in the human epidermis by tetrahydrobiopterin. *Science* **263**, 1444-1446.
- Shirota, S. et al. 1994. Tyrosinase inhibitors from crude drugs. *Biol. Pharm. Bull.* **17**, 266-269.
- Smith, J. 1996. State of the industry: the Asia-Pacific cosmetics and toiletries sector, 1995. *DCI.* 24-34.
- Speisky, H. et al. Boldo and boldine: An emerging case of natural drug development. *Pharmacol Res.* **29**, 1-5.