

計畫編號：CNIC94-01

計畫名稱：子計畫 1：植物萃取液在化粧品上之應用

執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 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 95 年 02 月 27 日

一、摘要：

天然植物含有許多對化粧品有用之成分，本計畫評估植物萃取液應用在美白、防曬、保濕及抗老化化粧品等之可行性，本計畫實施方式採用不同植物萃取液，利用酪胺酸酶、紫外線吸收能力、DPPH、TEAC 抗氧化方法等探討其活性及產品應用之效能。在產品評估方面利用本校現有之膚質八合一 MPA580 檢測設備，評估這些原料在化粧品使用之可行性，透過科學方法之評估，提供化粧品製造業或研發單位在開發類似產品時之參考。

二、前言

中醫藥為中華民族五千年文化演進下的資產，擁有豐富的植物資源與大量的醫學文獻古籍為支撐的依據。基於文化背景與語言的優勢，則有利於進入這領域對歷史相關文獻的收尋與理解。而在研究發展過程中，研究目標來源取得容易與否及成本支出程度，皆會影響研究發展的過程與限制，故在研究所需的中草藥藥材取得容易下，且花費成本在合理範圍內，則有助於研究試驗的運用。另外，分析市場的商機與未來發展趨勢，傳統藥用植物或是民間草藥，即是中草藥植物更是具有發展的潛力。除了使用上的安全性已歷經時代的佐證外，目前全世界接受中草藥及其相關製品的人口數，更是持續增加中，年產值更是可觀。而當各國為中草藥及其製品開啟方便之門時，我們更應

該善用老祖先所遺留的智慧，配合各項優勢，好好運用發揚光大。故，當消費意識成為主導主流時，有效性與安全性已列為基本的要求，因此，主流意識訴求的“天然來源”則將成為未來另一股的風潮趨勢。

中國大陸 Hu, G 等人將菊花(*Chrysanthemum ramat*)及番紅花(*Crocus sativus* L)之酒精萃取物調製成防曬乳液，並且與化學合成之防曬成分(2-hydroxy-4-methoxybenzophenone-5-sulfonic acid)所調製成之防曬乳液比較，結果發現植物萃取液之紫外線吸收能力雖然不如化學防曬劑，但是其對於皮膚之保護能力卻與化學防曬劑相當，推論其原因是因為植物萃取液中除含有紫外線吸收物質外，同時也含有其他能使皮膚減輕發炎或曬傷的成分，所以能減少皮膚曬傷的機會，此結果令中藥在防曬化粧品的應用燃起很大的希望。此外植物萃取液在頭髮化妝品亦有很多用途，例如蘆薈、金盞花、洋甘菊、薑、金縷梅等，詳細應用例子如下表：

植物名	學名	原料名稱	主要用途
蘆薈	<i>A. barbadensis</i> Mill	Aloe vera extract	保濕、滋養主要用於頭皮乾燥
金盞花	<i>Calendula officinalis</i> L.	Calendula extract	用於頭皮刺激症狀之鎮靜與舒緩
洋甘菊	<i>Matricaria chamomilla</i> . L.	Chamomile fluid extract	具鎮靜作用，可維持頭皮之健康
薑	<i>Zingiber officinale</i>	Ginger root extract	促進血液循環，增進頭皮健康與頭髮生長
金縷梅	<i>Hamamelis virginiana</i> L.	Hamaelis extract	具收斂作用，可改善頭皮及頭髮油膩現象
迷迭香	<i>Rosmarinus</i>	Rosemary extract or oil	具收斂與抗氧化作用，可改善

	<i>officinalis L.</i>		頭皮油膩，促進頭髮生長
茶樹	<i>Melaleuca alternifolia Ch.</i>	Tea tree oil	具抗菌及消炎作用，可改善頭皮屑症狀
小麥胚芽	<i>Triticum sp.</i>	Wheat germ oil	具抗氧化及柔膚作用，可改善頭皮與頭髮乾澀

三、方法

1. 植物萃取液抗氧化能力分析：

※DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 測定法：

取 375ul 之待測 sample 乙醇溶液，再加入已配製好之 20mg/l DPPH 乙醇溶液 750ul，反應 30 分鐘後測 517nm 吸光值。

※ABTS free radical 測定法：

取 1.5ml 去離子水，再分別加入 ABTS(1000uM) 0.25ml、 H_2O_2 (500uM)0.25ml、Peroxidase (44units/ml)0.25ml、置於暗室中反應 1 小時後加入測試樣品 0.25ml，反應 10 分鐘後測 734nm 吸光值。

※Liposome system 測定法：

加入 1cc 的 Liposome(10mg/1cc 的 NaH_2PO_4 - Na_2HPO_4 緩衝液)、1cc 的 $FeCl_3$ (400uM)、1cc 的待測樣品、1cc 的 Ascorbic Acid(400uM)均勻混合後反應 36 小時，再加入 0.1cc 的 TBHQ(10mg/1cc 甲醇)、2cc 的 TCA-TBA-HCL，100°C 加熱 15

分鐘，2000rpm 離心 10 分鐘後測 535nm 吸光值。

2. 植物萃取液美白活性評估：

※體外(*in vitro*)酪胺酸酶抑制活性測定

分別取定量中藥酒精萃取物，加入 70 units mushroom tyrosinase，再加入 0.5 ml L-tyrosine (0.1 mg/ml) 中，於 37 °C 放置 60 分鐘。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。比較中藥萃取物與美白成分之酪胺酸酶體外抑制活性。

3. 植物萃取液防曬活性測定

※取 2 ml 之 0.01 % 稀釋液 (0.123 mg/ 5 ml 溶於 12.5 g methylene chloride, 37.5 g cyclohexane, 50 g isopropanol) 置於紫外線光譜儀測試管中，然後以紫外線光譜儀在 250~400 nm 之光源進行樣品紫外線吸收測定。

※防曬係數測定

※經過背景校正後，將含中藥產品 (2 mg/cm²)均勻塗抹在貼有特製材質(TransporeTM tape) 之測試石英板上，再以 *In vitro* SPF 測試儀(型式 UV1000S)，任選五個區域測量 280~400 nm 之紫外線的穿透率，由電腦計算各種波長之紫外線的穿透率及 SPF 值，重複測定三次求取平均值。

4. 植物萃取液之抗老化效果評估：

將不同濃度之植物萃取液 extracts加入纖維母細胞培養液中，3天後將細胞固定，再以膠原蛋白I及III型之抗體進行膠原蛋白誘導能力之偵測驗，以評估植物萃取液之抗老化效果。

四、結果：

本計畫初步篩選出多種具有抗氧化能力之中草藥，例如五倍子、丁香、牡丹皮等，另外也由 30 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；在防曬方面則由 30 種常用中藥篩選出甘草(*Glycyrrhiza glabra* L.)、陳皮(*Citrus reticulata* Blanco)、黃芩(*Scutellaria baricalensis* GEORGI)、金銀花(*Lonicera japonica* Thunb)、黃連(*Coptis chinensis* Franch)、丹參(*Salvia*

miltiorrhiza Bge)、黃柏(*Phellodendron chinense* schneid)等具有紫外線吸收能力，其中以黃連、黃芩及陳皮的效果最好。此外紫草在抗老化方面也具有潛力。

五、結論：

中草藥應用在護膚、美容上流傳已久，古代人已將天然動植物應用於化粧上：如用鳳仙花染指甲、指甲花染髮、無患子洗髮、動物油脂護膚；後來隨著科技的進步，更能由天然物中取得有效成分，且將中草藥應用於化粧品符合當今世界化粧品發展的潮流，加上國人有許多人對於中草藥研發具有豐富經驗，因此有潛力能將天然物加以研究製造出一系列無毒、無害、無副作用、具有營養和療效的化粧品，以提昇產業水準，並將具我國祖先藥學智慧之化粧品推向國際舞台。

六、參考文獻

1. Bernard, P. and Berthon, J. Y. 2000. Resveratrol: an original mechanism on tyrosinase inhibition. *International journal of Cosmetic Science*. 22, 219-226.
2. Boots the chemist Ltd. The guide to practical measurement of UVA/UVB ratios. The Boots Chemist, PLC, Nottingham, England.
3. 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.
4. Cosmetics & toiletries 1996. Natural and Botanical products formulary. Vol 111, 81-94.
5. Easton, A. Women have deadly desire for paler skin in the

- Philippines. *The Lancet* 352, 555.
6. Fitzpatrick, T. B. 1995. Pathophysiology of hypermelanoses. *Clin. Drug. Invest.* 10 (suppl. 2)
 7. Goihman-Yahr, M. 1996. Skin aging and photoaging: an outlook. *Clinics in Dermatology*. 14,153-160.
 8. 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.
 9. Lin, C.-G., Kao, Y.-T., Liu, W.-T., Huang, H.-H., Chen, K.-C. and Lin, H.-C. 1996. Cytotoxic effects of *Bacillus anthracis* lethal toxin on macrophage-like cell line. *Current Microbiology* 33, 224-227.
 10. Luckewicz, W. 1990. Determination of ascorbyl dipalmitate in cosmetic whitening powders by differential scanning calorimetry. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 41. 359-367.
 11. Maeda K. et al. 1991. In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *J. Soc. Cosm. Chem.* 42, 361-368.
 12. Masuda, M. et al. 1996. Skin lighteners. *Cosmet. Toil.* 111, 65-75.
 13. Melo, P. S., Duran, N., and Haun, M. Cytotoxicity of prodigisin and benznidazole on V79 cells. 2000. *Toxicology letters* 116, 237-242.
 14. 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.
 15. Motoyoshi, K., Ota, Y., Takuma, Y. and Takenouchi, M. 1998. Wrinkles from UVA exposure. 113, 51-56.
 16. Phillips, B. J. 1996. Development of cell culture techniques for assessment of the toxicity of plant products. *Toxicology in vitro* 10, 69-76.
 17. Schallreuter, K. U. et al. 1994. Regulation of melanin biosynthesis in the human epidermis by tetrahydrobiopterin. *Science* 263. 1444-1446.
 18. Shin, N. H. et al. 1998. Oxyresveratrol as the potent inhibitor on dopa oxidase activity of mushroom tyrosinase. *Biochemical And Biophysical Research Communications*. 243, 801-803.
 19. Shiota, S. et al. 1994. Tyrosinase inhibitors from crude drugs. *Biol. Pharm. Bull.* 17, 266-269.

20. Smith, J. 1996. State of the industry: the Asia-Pacific cosmetics and toiletries sector, 1995. *DCI*. 24-34.
21. Stern, M. Klausner, M., Alvarado, R., Renskers, K., and Dickens, M. 1998. Evaluation of the EpiOcular tissue model as an alternative to the Draize eye irritation test. *Toxicology in vitro* 12, 455-461.

