

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC94-01

計畫名稱：子計畫 4：天然抗氧化化粧品原料的開發

執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

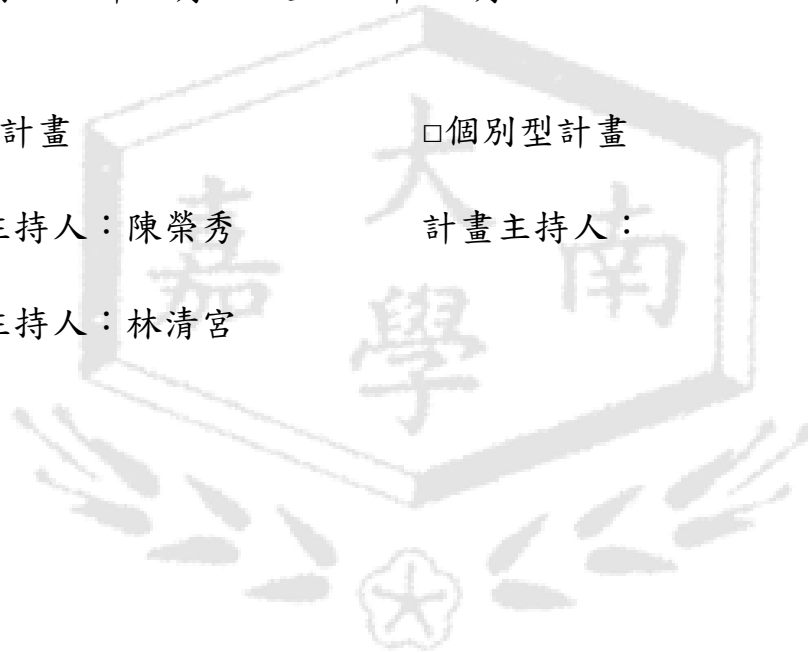
■整合型計畫

□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：林清宮



中華民國 95 年 02 月 27 日

一、摘要：

天然物中具有黃酮素或類黃酮的成分，這些成分具有很好之抗氧化能力，為了能將類似成分應用於抗老化化粧品，本計畫擬針對中草藥粗萃液進行各項抗氧化方法之評估，方法包含 DPPH、TEAC、NO 清除及 SOD 活性等。利用本計畫之研究不但能快速尋找有用的抗老化成分，同時期待能將中草藥應用在於抗老化化粧品之開發。

二、前言

近幾年，中草藥植物的開發與運用，已成為世界性的發展趨勢。主要為發展先進的萃取技術與分析技術，搭配科學性的評估與研究，探討中草藥植物的生物活性與藥理作用等。而世界各國在疾病的治療中，植物原料仍是很重要的資源。植物原料經由生藥學的研究，可以發展出新的治療藥劑。其中，中草藥溫和作用的特性常被運用在對抗微生物、抗濾過性病毒及抗氧化方面。不同臨床應用的報導顯示，中草藥中的成分如：chlorogenic acid、flavonoids、pentacyclic、triterpenes...等，有抗腫瘤和抗突變等作用。⁽¹²⁾ 除此之外，植物的藥用功效還包括增加心臟血管的健康、微血管的承受力、組織的健全、美化皮膚的外觀與增強免疫系統機能、減少動脈硬化、癌症、關節炎和腸胃疾病等風險。當

然以研究的方向而言，涵蓋各領域，包括：自由基清除能力的探討、抗發炎作用的研究、抑制微生物的能力、抗腫瘤、癌症的治療、提升免疫能力、抗胃潰瘍作用、糖尿病的治療、抗憂鬱等各種身體出現的疾病。故，研究的結果常被應用在醫藥、食品、化妝品、保健維護等領域。而最終目的則在預防與處理各種疾病、提升生活品質。在 2004 年 Renu Khanna-Chopra 等人，提出由植物產生的抗氧化酵素與其代謝產物，運用在清除及防禦活性氧的傷害與改善氧化壓力方面，具有很好的發展空間。而在植物中蘊含三種型態的 SOD，依金屬輔因子的不同有所區別。其中在葉綠體、細胞質液、過氧化體與乙醛酸小體中可發現 Cu/Zn SOD；而 Fe SOD 主要發現在葉綠體中；Mn SOD 則發現存在粒線體與過氧化體中。同年 Y. Z. Zhu 等人，更具體提出中草藥萃取液，具有清除氧自由基的論點，清除作用類似 SOD，其中川芎〈*Rhizoma ligustici*〉具有類似 SOD 活性為每克 2000 units、益母草〈*Herba leonuri*〉類似 SOD 的活性則為每克 1800 units。因此，天然產物在提高生物體抗氧化作用及經由非酵素型中和活性氧途徑方面，扮演很重要的角色。

除此之外，根據文獻資料顯示，許多中草藥針對不同屬性的自由基，分別有不同強弱的清除能力。如：貫葉連翹〈*Hypericum*

perforatum L.〉萃取液可有效清除 DPPH 自由基與超氧陰離子，抑制小鼠肝臟微粒體的脂質過氧化。蓮花葉〈*Nelumbo nucifera* Gertn.〉甲醇萃取液可清除氫氧自由基及降低金屬離子鍵結的能力，進而達到保護細胞的作用。枸杞〈*Lycium barbarum*〉萃取液則對超氧陰離子有很強的清除作用，可預防脂質過氧化。黃芩〈*Scutellaria baicalensis*〉萃取液可直接清除過氧化氫、氫氧自由基及超氧陰離子。而用 80 % 的甲醇萃黃牛木〈*Cratoxylum cochinchinense*〉，經 TEAC 等試驗結果顯示，相對於 Trolox 其具有很強的抗氧化能力，且針對超氧陰離子也有清除的作用。白花蛇舌草〈*Hedyotis diffusa*〉與繖花龍吐珠〈*Hedyotis corymbosa*〉萃取液發現具有清除超氧陰離子的能力，而粟米草〈*Mollugo pentaphylla*〉則有清除氫氧自由基的作用，若針對抗脂質過氧化能力的評估，則白花蛇舌草>繖花龍吐珠>粟米草。欖仁樹〈*Terminalia catappa*〉萃取液在抗氧化方面試驗結果，顯示可預防老鼠肝臟脂質過氧化，並具有類似 SOD 的活性每克有 2.57×10^5 unit。另外，台灣金線連〈*Anoectochilus formosanus*〉萃取液在體內、體外的試驗，顯示能清除超氧陰離子與氫氧自由基及抑制低密度脂蛋白的氧化作用。而運用甲醇為溶劑萃取大根老鸛草〈*Geranium macrorrhizum*〉及金露梅〈*Potentilla fruticosa*〉的萃取

液，在 DPPH 與 TEAC 的分析中，也顯示很強的清除 DPPH 自由基及 ABTS⁺ 自由基的能力。其他種類の中草藥萃取液如：山楂〈*Crataegus pinnatifida*〉、兔絲子〈*Cuscuta chinensis*〉、鎖陽〈*Cynomorium songaricum*〉、箭葉淫羊藿〈*Epimedium sagittatum*〉，覆盆子〈*Rubus chingii*〉等，在抗氧化方面試驗，其抗氧化能力皆比 Vitamin E 強。植物組織中蘊含豐富不同具有抗氧化作用的成分，包括：多酚類成分〈flavonoids、phenolic acid〉、氮類成分〈alkaloids、chlorophyll derivatives、amino acids、amines〉、類胡蘿蔔素、木質素、松稀油等，根據文獻報告指出這些成分有抗氧化作用及抑制鏈鎖反應的開始或擴散。

三、方法

一、中草藥萃取：

1. 將確認過之中草藥切細。
2. 分別稱100 克加入2000 ml 純乙醇或適當溶劑，浸泡3 小時
3. 加熱refluxing 萃取三次、過濾
4. 真空濃縮
5. 乾燥，稱重備用

二、中草藥 extracts 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， $100^{\circ}C$ 加熱 15 分鐘，2000rpm 離心 10 分鐘後測 535nm 吸光值。

四、結果

中草藥萃取液抗氧化試驗結果 TCE 萃取液在抗氧化試驗方面有不錯的自由基清除反應，其清除 ABTS 陽離子自由基能力 SC_{50} 為 0.92 mg/ml、清除 DPPH 自由基的 SC_{50} 為 0.96 mg/ml、清除 Nitric oxide 自由基的 SC_{50} 為 0.78 mg/ml、清除氫氧自由基

的 SC_{50} 為 0.55 mg/ml。因此，進一步探討 TCE 萃取液清除超氧陰離子的能力，即為類似 SOD 的活性，經由實驗結果顯示，TCE 萃取液中含有類似 SOD 的活性為 5385.04 U/mg。另外，GCE 萃取液雖只在清除氫氧自由基的反應上有 SC_{50} 為 0.57 mg/ml 的能力，但是其在類似 SOD 的活性試驗方面卻高達 15885.42 U/mg 的活性含量(data not shown)。至於 PME 萃取液則是在清除 Nitric oxide 自由基與氫氧自由基的能力表現較突出，其 SC_{50} 分別為 0.60 mg/ml 與 0.69 mg/ml。而 CFE 萃取液則是在氫氧自由基方面有 SC_{50} 為 0.64 mg/ml 的清除能力。

Comparison of SC_{50} values. (mg / mL)

Samples	Scavenging activity of assay methods			
	ABTS (ABTS ⁺)	DPPH (DPPH [·])	Nitric oxide (NO)	Hydroxyl Radical (HO [·])
Sample1	1.07	1.09	0.60	0.69
Sample2	0.92	0.96	0.78	0.55
Sample3	1.84	1.20	1.65	0.64
Sample4	1.50	1.06	1.61	0.57
Trolox	1.24	ND	ND	ND
Vitamin E	ND	1.06	ND	ND
Vitamin C	ND	ND	ND	0.56

ND, not done

五、結論

近年來化粧品市場流行天然植物風潮，許多國際大廠紛紛推出以植物萃取為主的化粧品，消費者的反應也相當良好，因此若國內廠商能鎖定中草藥化粧品推出具地方或民族特色的化粧品，相信此特色能使國內廠商在國際舞台佔有一席之地。

以藥品開發研究而言，需投入很長的時間、大量的人力及龐大的資金，所以經濟部技術處中草藥推動辦公室提出，建議廠商在經營策略的規劃方向中，應將計畫分為短程及長程的考量。以短程研發成果，厚植長程實力。而短程方面以進入消費者市場、加速新產品開發、取得現金流量三項為目標。從中藥健康食品、中藥藥貼布、中藥化妝品、中藥藥酒等具潛力且易開發的產品切入市場，不失為一個可行的方向。其中，含中藥的化妝品將成為新一代天然化妝品配方的趨勢。因中草藥萃取液蘊含豐富的活性成分，有益皮膚的協調作用，而外用含有中草藥萃取液的化粧品，則可增加肌膚的保護作用，對抗內、外因性的傷害，如：人蔘萃取液據研究報告顯示可促進血液循環、激勵細胞再生，使皮膚的新陳代謝正常化、及增加皮膚的保水能力和柔軟度、減緩皺紋現象與提高膚色的白皙度等。而人蔘成份中的人蔘皂素更可清除自由基與抑制脂質的過氧化，進而達到抗老的功效。

六、參考文獻

1. W. L.Li , et al. "Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus" , Journal of Ethnopharmacology 92 , 1-21 , 2004.
2. Yeong-Deug Yi , et al. "An Overview of Traditional Chinese Herbal Formulae and a Proposal of a New Code System for Expressing the Formula Titles" , Advance Access Publication 4 , 125-132 , 2004.
3. Andrew P. Winterstein , et al. "Herbal Supplements : Considerations for the Athletic Trainer" , Journal of Athletic Training 36 (4) , 425-432 , 2001.
4. Nobutaka Suzuki , et al. "Complementary and Alternative Medicine : a Japanese Perspective" , Advance Access Publication 21 , 113-118 , 2004.
5. Talal Aburjai , et al. " Plants Used in Cosmetics" ,Phytotherapy research 17 , 987-1000 , 2003.
6. Hu Fenglin , et al. "Free radical scavenging activity of extract prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plants" , Fitoterapia 75 , 14-23 , 2004.
7. Rachel W. Li , et al. "Anti-inflammatory activity of Chinese

medicinal vine plants” ,Journal of Ethnopharmacology 85 ,
61-67 , 2003.

8. Pavel Dra sar , et al. “Recent advances in analysis of Chinese
medical plants and traditional medicines ” ,Journal of
Chromatography B 812 , 3-21 , 2004.

