

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC94-02

計畫名稱：化妝品成分之檢測與評估方法研究

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：楊朝成

計畫主持人：

子計畫主持人：楊朝成、陳榮秀

洪偉章、林維炤

林清宮、王詠騰

李淵博

中華民國 95 年 2 月 28 日

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC94-02 (子計畫 1)

計畫名稱：樟芝菌絲體胞外多醣應用於化妝品上之研究

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：楊朝成

計畫主持人：

子計畫主持人：楊朝成



中華民國 95 年 02 月 28 日

## 一、 研究計畫之背景及目的

膠原蛋白(collagens)是人類皮膚真皮層(dermis)細胞外間質(extracellular matrix)的主要大分子成份(約佔 70%)，其主要的功能是維持真皮層的穩固及對抗外來的壓力，其中 type I、type III 與 type V 膠原蛋白則是真皮層細胞外間質內主要的膠原蛋白；但隨著年齡的增加，真皮層細胞外間質內的間質金屬螯合蛋白酶-1 [matrix metalloproteinase-1, MMP-1, 是一種膠原蛋白酶(interstitial collagenase)]、MMP-2 (gelatinase A) 及 MMP-9 (gelatinase B) 的活性也隨著增加，導致皮膚真皮層細胞外間質內的膠原蛋白被分解，而引起皺縮、厚度變薄等皮膚的老化現象。因此本研究計劃將利用樟芝菌絲體深層培養中所含有不同分子量的胞外多醣體分別處理培養的纖維母細胞，以分析細胞的生長及增生情況、type I 膠原蛋白 mRNA 及蛋白質的量、以及 MMP-1、MMP-2 及 MMP-9 的酵素活性與蛋白質分泌量。由初步的實驗結果我們預期樟芝菌絲體深層培養中所含有不同分子量的胞外多醣體可藉由抑制 MMPs 的酵素活性而對於皮膚具有抗老化的能力，可作為抗老化化妝品的有效成份，並達到利用中草藥有效成份開發化妝品的目的。

## 二、研究方法及進行步驟

1. 纖維母細胞的培養與處理
2. 樟芝菌絲體的固態培養及深層培養
3. 樟芝菌絲體胞外多醣以酒精進行沉澱
4. 纖維母細胞的存活率試驗 (MTT assay)
5. 膠體過濾層析分析分子量的分佈測定
6. 電泳酵素分析法 (gelatin-based zymography)
7. 皮膚的功能性測試

## 三、結果與討論

樟芝發酵液以 95 % 的酒精濃度沉澱總多醣體，再利用苯酚-硫酸法 (Phenol-sulfuric acid assay) 進行多醣體的濃度分析。以 95%酒精沉澱的多醣體總量除以樟芝發酵液體積，得知本研究所培養樟芝菌絲體發酵液的總多醣體濃度為 4.5 mg/ml。以不同的酒精濃度範圍沉澱樟芝發酵液的胞外多醣體，可分離出 10 個 fractions 的樟芝胞外多醣體，其分子量的分佈以膠體穿透層析法進行偵測，乃利用分子篩管柱 (TSKgelGMPWxl column)，並配合光散射偵測器(ELSD)來進行分析。經 MTT 毒性測試分析，實驗結果顯示樟芝胞外多醣體於 0.75 mg/ml 的劑量以上，處理細胞 48 小時，會造成 3T3 細胞的存活率降至 60% 以下，對於 3T3 細胞產生細胞毒性。

因此，我們選取處理細胞的安全劑量為 0.5 mg/ml 的樟芝胞外多醣體。

在樟芝胞外總多醣體對於 MMPs 的活性分析探討中，我們先收集正常培養 48 小時的 3T3 細胞培養液，以 0.5 mg/ml 的樟芝胞外多醣體處理細胞培養液，反應 0~120 小時，再進行以明膠為基礎之受質凝膠電泳的酵素活性分析(gelatin-based zymography)，以偵測樟芝胞外多醣體是否會抑制 MMPs 的酵素活性，由實驗結果顯示，以 0.5 mg/ml 的樟芝胞外多醣體處理細胞培養液 24~120 小時，對於細胞培養液內所含 MMP-2 及 MMP-9 的活性具有抑制的作用。

由於樟芝胞外多醣體在 0.5 mg/ml 的劑量之下，可以抑制細胞培養液內所含 MMP-2 及 MMP-9 的酵素活性。我們對於樟芝胞外多醣體處理劑量的範圍將作更進一步的探討，我們選取 0.1~0.5 mg/ml 的濃度範圍，分別處理細胞培養液 48 小時，再進行 gelatin-based zymography 的酵素活性分析，由實驗結果得知隨著樟芝胞外多醣體處理劑量的增加，細胞培養液內所含 MMP-2 及 MMP-9 的酵素活性的抑制作用越加明顯。綜合以上的實驗結果顯示，樟芝胞外多醣體於 0.5 mg/ml 的處理劑量下，處理細胞培養液 48 小時後，可以明顯降低細胞培養液內所含 MMP-2 及 MMP-9 的酵素活性。

綜合上述的實驗結果，得知樟芝胞外多醣體藉由對

MMP-2 及 MMP-9 的抑制作用而減緩膠原蛋白的破壞，因此，我們認為樟芝胞外多醣體確實具有抗老化的功效。更進一步地，我們將樟芝胞外總多醣體調製成水凝膠精華露化妝品，以 10 位受試者的皮膚做測試，由於受試個人之間的皮膚膚質有差異性，故以塗抹後對於皮膚的影響做為指標，我們以多功能膚質檢測儀分析，分析的項目包括美白功能、除皺功能、皮膚保濕性、皮膚彈性、對皮膚的刺激性，由表一的檢測結果顯示樟芝胞外多醣體水凝膠精華露，在皮膚塗抹過後，對於皮膚具有正面的功效，可以減少皮膚的皺紋、增加皮膚的彈性以及對於皮膚具有保濕的功能。

表一、樟芝胞外多醣體所調製凝膠化妝品對人體皮膚的功能性評估

測試項目	功能性
美白	-
除皺	+
保濕性	+
彈性	+
刺激性	-

＋：代表對於人體皮膚有此項功能

－：代表對於人體皮膚無此項功能

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC94-02

計畫名稱：子計畫 2：藥粧店化粧品成分之探討

執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

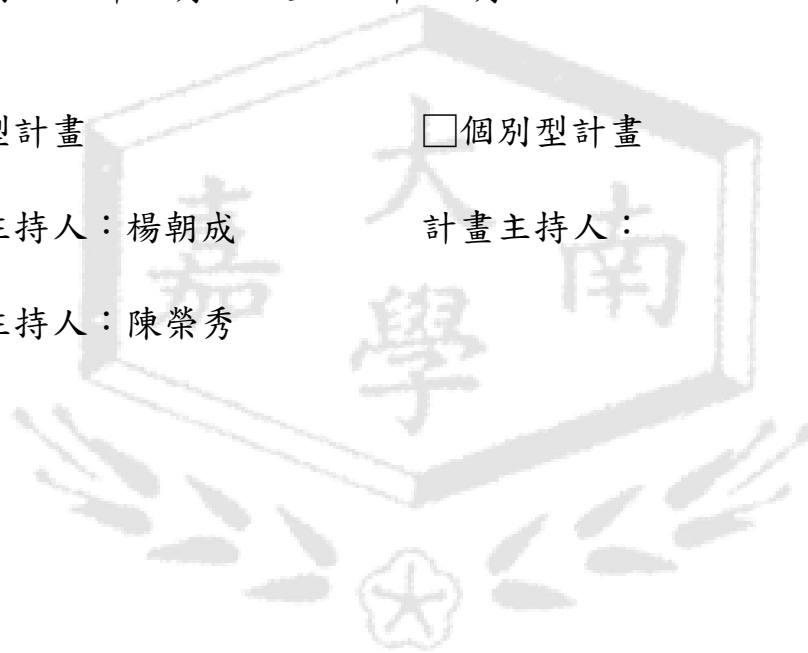
整合型計畫

個別型計畫

計畫總主持人：楊朝成

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：

近年來，傳統藥局有逐漸轉型為藥粧店的趨勢，甚至有大型連鎖藥粧店的出現，可見化粧品銷售在藥房的比重會逐漸增加，但是藥粧店所販售之化粧品與一般化粧品專櫃或是沙龍有何不同？其成分使用種類有何差別？此方面的研究相當缺乏，因此本計畫針對藥粧店所販賣的化粧品成分進行探討，探討化粧品種類包括美白、防曬、保濕及抗老化化粧品等，本計畫實施方式採用實地訪查及問卷方式進行，透過統計分析方式得到具體可性之數據。藉由成分方面的探討，尋求藥粧店之特點，未來可提供化粧品製造業或研發單位之參考，同時也提供藥師及美容師在行銷策略訂定之基礎。

## 二、前言

化粧品產業屬於高價值低污染的產業，但過去化粧品被定位為「奢侈品」，雖然此產業已存在一段不算短的歲月，但是一直未被重視，且一直停留在內銷，或代工的階段。化粧品產業除了傳統的製造生產和代工外與其有關的產業還包括：化工原料業、包裝材料業、生技產業、時尚流行業、行銷物流業(含網路行銷)



及進出口貿易等。近年來，化粧品市場很明顯的比過去熱絡，尤其國內多家公民營大型企業如台鹽、台糖及台塑等，紛紛加入化粧品行業，加上許多藥廠、生技公司、食品公司等也陸續推出化粧品，使得化粧品產業的發展成為各方矚目的焦點。

近年來歐美國家的化粧品正流行自然風，此風潮正好契合我國固有中草藥文化，如能掌握時機進行整合，國內化粧品產業，將有機會如同電子業與生技產業一樣走入國際市場，為台灣經濟注入一劑強心針。本計畫希望針對市售產品使用成分進行剖析，希望提供化粧品業界開發產品之參考。

### 三、方法

#### 1. 實地訪查：

由各地藥粧店或化粧品販賣管道收集其說明書或仿單，收集有關成分使用之資訊，建立化粧品原料使用基本資料庫。比較藥粧店所販售之化粧品與一般化粧品專櫃或是沙龍之不同，以及其成分使用種類之差異性。

#### 2. 問卷：

設計化粧品使用與成分問卷，以書面、電話及網路方式

進行問卷調查，所獲得的資訊，透過資料建檔方式，作為後續分析之資料來源。

#### 四、結果

本計畫由各地藥粧店或化粧品販賣管道收集其說明書或仿單，收集各類化粧品有關成分使用之資訊，所有產品之完整資料可由本校健康促進中心之化粧品諮詢網站查詢，網址：

<http://203.71.254.123/chms/>，部分資料摘錄於表一。

表一、國內販售化粧品之成分表

品牌名稱	製造商/代理商	成分
旦之美	星聯實業股份有限公司	purified water, sodium pca, maltitol, cucumber extract, cabbage rose water, ammonium glycyrrizate, disodium EDTA
GARNIER 卡尼爾 毛孔緊緻 爽膚水	嬌生股份有限公司	water alcohol denat, dipropylene glycol, glycerin, salicylic acid, zinc pca, triclosan, spiraea ulmaria extract, niacinamide pef-60, hydrogenated castor oil, benzophenone-4, sodium hydroxyde fragrance
露得清 毛孔細嫩 洗面乳	johnson&johnson korea ud	主要成分 salicylic acid 0.5% 其他成份 water decyl polyglucose disodium lauryl sulfosuccinate sodium methyl cocoyl taurate cocamidopropyl betaine sodium lavreth-13 carboxylate cetyl alcohol
mens Biore	花王株式會社	polyquaternium-37, silica, water, glycerin, peg-12 dimethicone, titanium dioxide, menthol, methylparaben
雅漾 修護潔面 乳	統一藥品股份有限公司	avene thermal spring water 96%, plant origin corn 0.25%

品牌名稱	製造商/代理商	成分
絲逸歡髮妝水	花王股份有限公司	1 water 2 alcohol denat 3 glycerin 4 betaine 5 steartrimonium chloride 6 peg-60 hydrogenated castor oil 7 c12-14 parath-9 8 betula platyphylla japonica bark extract 9 hydrolyzed silk 10 menthol 11 fragrance
F5 魔造髮膠	日本三口株式會社 /明佳麗國際股份有限公司	丙烯系樹脂，多價醇，酯油
天綠葉高級洗面霜	南投縣農會提供苦茶籽委託小白菜化妝品工廠加工製造	camellia oleifera, protein, sodium lauryl ether sulfate, methyl paraben, propyl paraben, perfume, distilled water.
水美媒 OGUMA Aqua Key	東京海外生物科技股份有限公司	ion complex elite 深海礦晶離子,aqua,o2
全方位膠原面膜	巨樹企業股份有限公司	膠原蛋白.玻尿酸.維他命 e 油.胺基酸.植物精油.酵素
廣源良-菜瓜水 [化妝水]	太盛化學工業有限公司	農產品絲瓜水
Pewfect Whip 洗面霜	芳婷絲股份有限公司	water.potassium.stearate.peg-8.marystate.glycerln.potassium laurate.glycol , se , lauric acid, polquaternium-7, beeswax
KOSE 優白美 容液	高絲株式會社	海草萃取液,薏仁精華,維他命 c 誘導體,麥胚芽麩質水解液,複方美白植物萃取液,甘草萃取液,天然保濕因子

品牌名稱	製造商/代理商	成分
ARTISTRY 面 皰調理凝膠	安麗日用品股份有 限公司	alcohol denat 49.75 ,water (aqua) 42.26 ,glycerin (96% aqueous solution) 2.00 , salicylic acid 1.00 , peg-8 0.99 ,aloe barbadensis gel 0.99 , cucumber (cucumis sativus) extract (60% in butylene glycol & water) 0.99, oat (avena sativa) extract (10% in butylene glycol & water) 0.99 , hydroxypropylcellulose 0.50 , panthenol 0.25, dipotassium glycyrrhizinate 0.05 , chamomile (anthemis nobilis) extract (1%) & butylene glycol & water 0.05 , ethyl ester of hydrolyzed silk (20% in ethanol) 0.10 , water & glycerin & phospholipids & sphingolipids & cholesterol 0.01, sodium hyaluronate 0.01 , ginseng (panax ginseng) extract (1%) & propylene glycol & water 0.05
群麗漢方化妝 水滋養型	群麗漢方生技股份 有限公司	蘆薈萃取液、杏仁萃取液、花粉粉末、柳蘭萃取液、果酸、生化離苣油萃取液、人蔘萃取液、野生洋甘菊萃取液、小麥胚芽油。
群麗漢方精華 液 N01	群麗漢方生技股份 有限公司	紫羅蘭萃取液、櫻桃子萃取液、蓮藕萃取液、木蘭果萃取液、花粉粉末、野豌豆根萃取液、甜菊萃取液、甘草萃取液、杏仁萃取液、白丁香萃取液、牛蒡萃取液、蘆薈萃取液
佳麗寶膚蕊 C 白皙潔膚乳	日本鐘紡株式會社	皮膚皮脂層強化劑.乳清蛋白.複方美白植物萃取液.甘草萃取液.天然保濕因子 nmf.複合水果酸(透明).小黃瓜萃取物.複方植物萃取。
DHC 嬰兒柔膚 凝露	台灣蝶翠詩化妝品 股份有限公司	water , butylene glycol , perilla ocymoides extract , horsetail (equisetum arvenis) extract , artemisia mongolia leaf extract , carbomer , sodium hyaluronate , aminomethyl propanol , serine , paraben , dipotassium glycyrrhizate
DHC 純橄情煥 采精華	台灣蝶翠詩化妝品 股份有限公司	olea europaea (olive) fruit oil

品牌名稱	製造商/代理商	成分
上山採藥美白去角質凝乳	利肯化工實業有限公司	cetyl alcohol ( & )glyceryl stearate ( & )peg-75 stearate ( & ) ceteth-20 ( & ) steareth-20,dl-α-tocopheryl acetate , mulberry extract, potassium azelaoyl diglycinate , cholesteryl hydroxystearate, polyethylene , stearyl alcohol, cetyl palmitate, polysynalane, trioctanoin, caprylic / capric acid triglyceride, dimethicone, 1,3-butylene glycol ,xanthan gum , sodium citrate , tetrasodium edetate tetrahydrate, methyl parahydroxybenzoate , propyl parahydroxybenzoate , fragrance, water ( purified)
上山採藥控油毛孔隔離粉霧	利肯化工實業有限公司	dimethicone(&)dimethicone crosspolymer, polymethylsilsesquioxane magnesium silicate, trioctanoin, microcrystalline wax,carnauba,ceresin candelilla wax,iron oxide red,iron oxide yellow,propylparaben may contain:fragrance
heme 青檸控油抗痘潔顏乳	欣蘭化工股份有限公司	mukurossi, myristic acid, water, glycerine, potassiumhydroxide,stearicacid,glycerylmonostearate,cocamidoproylamine oxide,allantion,butylene glycol,lemon extract,propyl paraben,methyl paraben,diazolidinyl urea,yellow no.5,blue no.4,fragrance
Kesalan PatharanKP 纖細眼線液筆	KP 株式会社/波林貿易有限公司	water 、 polysorbate 20 、 acylates copolymer 、 glycerin 、 pvp 、 xanthan gum 、 pvm/ma decadiene crosslymer 、 imiazolidinyl orea 、 simethicone 、 sodium metaphosphate 、 pigment 、 Iron oxides 。
茵保容清新清脂水合液	浩恩國際股份有限公司	water-butylene glycol,witch hazel distillate,ppg-26-buteth-26,mannitol,yest extract,hydrolyzed wheat protein,mannitol,horse chestunt extract,glycogen,yeast extract,calcium methylparaben,essentiloil,
茵保容柔護眼唇卸妝液	浩恩國際股份有限公司	water, peg-6(and)peg-32,butylene glycol,peppermint extract, witch hazel distillate,chamomile extract,disodium cocoamphodiacetate, methylparaben,tetrasodium edta, essential oil.

品牌名稱	製造商/代理商	成分
皙露 EX	美白晶瑩保浩恩國際股份有限公司	water,butylene glycol,acerola extract,glycerin,aloe vera gel,sorbitol(and)parpaya extract(and)lemon extract,alcohol,peg-40 hydrogenated castor oil,arbutin,sodium citrate,oil-soluble licorice extract,essential oil,fragrance.
茵柔	保容全日輕浩恩國際股份有限公司	water, cyclomethicone, isonyl isononanoate, butylene glycol,dimethicone copolyol,glyceryl oleate, nylon-12,aluminum oxide,cetyl dimethicone copolyol,dextrin palmitate,distearyl dimonium chloride,polysorbate 60,sodium chloride,stearic acid,zirconium dioxide,methylparaben,butylparaben,tocopherol,matricaria oil.
茵膚凝露	保容能量活浩恩國際股份有限公司	water,cyclomethicone,triethyletxanoin,sodium chloride,butylene glycol,caprylic/capric triglycerides-crithmum maritimum extract,potassium dna,disodium adenosine triphosphate,dimethicone copolyol,methylparaben,iodopropynyl butyl carbamate,kohki tea extract,essential oil,fragrance.
娜霜 SPF35	芙防曬隔離台灣蘭碧兒股份有限公司	water/cyclomethicone/titaniumdioxide/dimethicone copolyol/polymethyl/methacrylate/glycerin/squalane/aluminum hydroxide/dodium chloride/stearic acid/silica/quaternium-18 hectorite/methicone/phenoxyeihanol/dimethicone/v inyl dimethicone/copolymer/tocopherol/dipotassium/gly cyrrhizate/sodium hyaluronate
澎澎防曬乳液	加賀生技有限公司/耐斯企業	octyl methoxycinnamate/butyl methoxydibenzoylmethanewater/cyclomethicone/titaniumdioxide/dimethicone/copolyol/polymethyl/m ethacrylate/glycerin/squalane/aluminum hydroxide/dodium chloride/stearic acid/silica/quaternium-18 hectorite/methicone/phenoxyeihanol/dimethicone/v inyl dimethicone/copolymer/tocopherol/

品牌名稱	製造商/代理商	成分
butyshop 人蔘面膜	聖兒莉國際股份有限公司	甘草素/植物性胎盤素/濃縮蘆薈精華/人蔘萃取精華/微量天然薄荷精油
butyshop 溫和去角質膠	聖兒莉國際股份有限公司	natural algae gel/pineappleenzyme/mnf
伊柔角質代謝露	台灣伊柔國際有限公司	carboxvinyl polymer, propylene glucol, glycerine, ethanol, surfactant, water-cress, burdock/sage, lemon, lvy, soapwort/methylparaben/essentlal oil/dl water
EQ 漢方白皙面膜	伊莉各生物科技股份有限公司	acutiloba kitagawa extract, humulus iupulus extract, herba menthae, chitin liquid, mineral water, propylene glycol & diazolidinyl & methylparaben & propyl paraben, benzyl alcohol & methyl-chloroisothiazolinone, stearylized diomizes water
依必朗長效抗屑洗髮乳	依必朗化學製藥股份有限公司	zinc pyrithione, sodium lauryl ether sulfate, cocoamidopropyl betaine, methyl paraben, pearlescent pate, sodium chloride, edta-2na, methylchoroisethiazolinone, polyquaternium-7, citric acid, tocopheryl acetate, water, fragrance
依必朗男性專用洗面乳	依必朗化學製藥股份有限公司	coconut oil fatty acid, propylene glycol, per-75 lanoline, methyl paraben, propyl 4-hydroxy benzoate, potassium hydroxide, ethylenediaminetetrace tic acid tetra sodium salt, water, glycol distearate, phenoxyethanol, tocopheryi acetate, butylated hydroxy toluene, fragrance
LANCOME 雙重 UV 隔離霜	台灣萊雅股份有限公司	titanium dioxide 3.42%/ethylhexyl methoxycinnamate 7.4925%
LANCOME 高透感美白精華液	台灣萊雅股份有限公司	ascorbyl glucoside 2%
碧兒泉爽膚化妝水	台灣萊雅股份有限公司	礦物鹽及微量元素/glycolic acid/多元醇/金縷梅精華/spa 活性萃取精華

品牌名稱	製造商/代理商	成分
雅芳體香劑(田園含羞草)	雅芳股份有限公司	aluminum chlorohydrate、demineralized water、poe(20m) stearyl alcohol、cyclomethicone tetramer、stearyl eto(20m) acohol、poe(15m)stearyl ether、isopropyl patmitate fragrance oil、methylparaben、disodium EDTA
近江艷陽防曬隔離乳液(敏感肌)	株式會社近江兄弟社	zinc oxide 6.54%、titanium dioxide 2.53%
娜楚沐浴時光面膜	台灣芳婷絲股份有限公司	water、kaolin、glycerin、talc、alcohol denta、microcrystalline cellulose、sorbitol、bentonite、eucalyptus globulus oil、ethylparaben、fragrance、zinc oxide、iron oxides
廣源良蘆薈敷臉凝露	太盛化學工業有限公司	distilled water、glycerine、aloe extract、chamomile、carbopol、lappa extract、triethanolamine、quinizarine green ss、fragrance、methyl paraben
蜜妮深層洗面乳 for men	花王股份有限公司 新竹廠	monoalkyl phoshate, glycol distearate, beads
buty shop 溫和去角質膠	聖莉兒國際股份有限公司	water, butylene glycol, peg-400, carbomer, glycerin, DMDM hydantoin, methylparaben, diazolidinyl urea, aloe vera, pineapple enayme, algae gel, sodium lactate, wheat germ, amidopropyl betaine, fragrance, nmf, fd&c blue no 1 cl 42090 : 2
麗仕香皂(雙重保濕配方-含保濕因子)	聯合利華股份有限公司	sodium paimate/cocate, water, palm kernel fctty acid, peg-600, perfume, glycerin, titanium dioxide, sodium chloride, tetrasodium edta, etidronic acid, cl-74160
采研洗髮乳(護髮護色染髮髮質適用)	台灣寶僑家品股份有限公司	ammonium laureth sulfate lysine hydrochloride, histine, methyl tyrosinate, hcl, hydrogenated polydecene
buty shop 特級淨白精華	buty shop	夏威夷海草精華、白芷、白桑椹、甘草萃取液、玫瑰果油、甘醇酸
水美媒 OGUMA Aqua Key	東京海外生物科技股份有限公司	ion complex elite 深海礦晶離子、aqua、o2。
水彈力纖盈緊實露	Sofamo SAM	glycine soja / aloe barbadevssis。



品牌名稱	製造商/代理商	成分
粉刺軟化水 Anti-acne Lotion	巨樹企業股份有限公司	小黃瓜萃取液、蘭花精油、木瓜酵素。
粉刺拔除面膜 Anti-acne Mask	巨樹企業股份有限公司	膠原蛋白、血清蛋白、牛蒡、複合乳膠、海藻萃 取液。
上山採藥 活力 緊緻去角質凝 膠	利肯化工實業股份 有限公司	bamboo vinger、propylene glycol、glycerin、 octoxynolll(&)polysorbate 20、alcohol、 methlparaben、fragrance、water may contai : food yellow 4、food blue 2、food yellow 3、food red 10。
蘭克 眼影餅	合盛企業有限公司	zinc stearate mg-stearate、talc、titanim dioxide、 perfume、colours。
蘭克 唇膏	合盛企業有限公司	castor oil、bees wax、camauba wax、perfumes。
雅芳 保濕凝膠	Avon Canada, Inc.	含磷脂囊，內有豐富維他命 a、c、e、β 葫蘿蔔 素及醣醛酸，維他命原 b5。
潔淨面膜 UNO CLEANSE PACK	SHISEIDO CO., LTD.	polyvinyl alcohol、alcohol、butylene glycol、 water、silica、xanthan gum、sodium citrate、sodium hexametaphosphate、methylparaben、menthol、citric acid、titanium dioxide。
蜜妮 卸妝凝露	花王(台灣)股份有 限公司	water、ethoxydiglycol、sorbitol、peg-12 laurate、 peg-20 sorbitan、isostearate、polysorbate 21、 chondrus crispus (carrageenan)、bht、 methylparaben、fragrance。
柔蝶 天然絲瓜 洗面乳	憶麗化學工廠有限 公司	天然絲瓜露、ha 保濕成份、水芹、tea tree oil、 sebomile、perfume。
旁氏 天然控油 洗顏泥	聯合利華股份有限 公司桃園廠	water、glycerin、lauric acid、myristic acid、stearic acid、sodium laruoyl glutamate、propylene glycol、 peg-150 stearate、peg-60 glyceryl isostearate、algae bht、heclorite、potassium hydroxide、 methylparaben、propylparaben fragrnce、ci 42090、ci 15985。
Jovi-color 彩彩盤	炫兆羚化學工業有限 公司	mica 雲母、titanium 鈦、mineral oil 綿羊油、talc 滑石粉、dioxide 二氧化物、propyl 丙基。
蘭克 粉膏	合盛企業有限公司	beeswax、cetyl alcohol、lanolin、zonc oxide、iron oxide。
Needme 指甲 油	佳美企業社	硝化纖維、甲苯、可塑劑、醋酸乙酯、醋酸丁酯、 正丁醇、固著劑、珠光劑、著色劑。

品牌名稱	製造商/代理商	成分
耐娜防水眼線液	株式会社 おうじ	water、polyvinyl alcohol、polyvinyl ethylebe stearate、polyviny pyrrolidone、iron oxide。
愛爾美 雙眼線液	台灣奇士美化粧品(股)公司	water、rubber latex、ammonium acrylates copolymer、acrylates copolymer、ammonium hydroxide。
防水眼線膏	ATELIER MARQUILAGE PRO	talc、glycerol、mineral oil
NaPCA 滋潤面霜	美商施麗公司	水、蘆薈、硬脂酸、丙烯乙二醇、甘甲硬脂酸 se、乙二酸二辛脂、辛基硬脂酸鹽、辛基棕櫚酸鹽、辛基甲氧基肉桂酸鹽、napca、生育酚亞油酸酯、生育酚醋酸酯、玻璃酸、藻精(及山梨糖醇)、尿囊素、棕櫚酸視黃酯、麥角鈣化醇、蜂王漿、核糖核酸、cetearyl alcohol、cetearch-20、三乙醇胺、香精、二氫茂基脲素、對羥基苯甲酸甲酯
克麗緹娜 E.P.O. 深層潔膚霜	超美生物科技股份 有限公司	water、propylene glycol、triethylhexanoin、maltitol、neopentyl glycol dicaprate、peg-60 hydrogenated castor oil、cholesteryl hydroxystearate、peg-5 glyceryl stearate、glyceryl stearate、dimethicone、evening primrose oil、carbomer、fragrance、hydroxyethylcellulose、arginine、methylparab-en、tocopheryl acetate、pca ethyl cocoyl arginate、butylparaben、propylparaben、behenyl alcohol、staryl glycyrrhizinate、ammonium glycyrrhizinate、sodium hexametaphosphate
福多小黃瓜敷面霜(綠色)	央格有限公司	trimetkylgly cine、zinc oxid、aloe extrat kaolin、g.m.s、cucumber extract、perfumery propyl 4-hydroxybenzoate
活水深層潤澤面膜	美商施麗公司	水、硬脂酸異鯨蠟酯、甘油、methylpropanediol、硬脂酸、癸基油酸酯、松毬果萃取、仙人掌萃取、cetearyl ethylhexanoate、聚丙烯醯胺、c13-14 異石腊、laureth-7、多丙烯酸鈉、pvm/ma 共聚物、鯨蠟醇、異構糖類醣、oleth-10、碳基物、氫甲基丙醇、乙二胺四乙酸二鈉、丁二醇、香精、氫酚苯氧基丙二醇、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸乙酯、對羥基苯甲酸丙酯、二氧化鈦

品牌名稱	製造商/代理商	成分
綠茶潔敷油	友昕化妝品	squlene、isoheaxadecane、caprylic/capric triglycerride isostearyl isostearate、green tea extract、aloe vear、propyl paraben、green tea essential oil
娜拉兒護膚蜜粉	百陸達股份有限公司	talc、kaolin、mica、magnesium myristate、titanium dioxide、Iron oxides ci 77492、mineral oil、iron oxides ci 77491、iron oxides ci 77499、fragrance、 caprylic/capric triglyceride、jojoba oil、 butylparaben、propylparaben、biyl methoxydibenzoylmethane、octyl methoxycinnamate、tocopherol
克麗緹娜騎士潔容霜	超美化學工業股份有限公司	water、sodium lauroyl glutamate、peg-8、propylene glycol、montmorillonite、decyl glucoside、sodium hydrogenated tallowoyl giutamate、sodium cocoyl glutamate、polyethylene glycol monostearate、 peg-75、mentha piperita(peppermint)oil、 methylparaben、potassium sorbate
蘭客脣膏	合盛企業有限公司	castor oil、bees wax、camauba wax、perfumes
蘭客眼影餅	合盛企業有限公司	zinc stesrste mg-stearate、talc、titanium dioxide、 perfume、colours
眼部卸妝乳	美國索科公司	水、環甲聚硅氧烷、c16-18 辛酸酯、c13-14 異石 腊、ppg-2 肉豆蔻基醚丙酸鹽、荷荷葩油、米麩 油、聚丙烯醯胺、多梨醇酯-20、laureth-7、生育 酚、生育酚醋酸酯、甜沒藥、苯氧基乙醇、對羥 基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丁酯、對羥基苯甲 酸丙酯、對羥基苯甲酸乙酯

品牌名稱	製造商/代理商	成分
SUN PLAY 柔 白防曬隔離乳 液	曼秀雷敦(中山)藥 業有限公司	2-ethylhexyl-4methoxycinnamate 9% 、 low temperature burned zinc oxide 15.39%、titanium dioxide 1.998% 、 stearyl glycyrrhetinate 、 octamethylcyclotetrasiloxane 、 decamethylcyclopentasiloxane 、 isostearic acid 、 methyl polysiloxane 、 isononyl isononanoate 、 vitamin E 、 ascorbyl tetra-2-hexyldecanoate 、 polyoxyethylene methylpolysiloxane copolymer 、 silicic anhydride 、 methyl polysiloxane 、 methylhydrogenpolysiloxane 、 aluminium hydroxide 、 stearic acid 、 1.3-butylene glycol 、 aloe extract 、 witch hazel extract 、 silk powder 、 purified water 、 perfume 、 methyl parahydroxybenzoate
澎澎香浴乳 力清爽型	活耐斯企業股份有限 公司民雄二廠	pure water 、 glycerin 、 potassium cocoate 、 ginkgo extract 、 trehalose 、 sodium coceth sulfate 、 sodium lactate 、 propylene glycol 、 ethyleneglycol distearate 、 edta 、 potassium chloride 、 methyl paraben 、 propyl paraben 、 fragrance
多芬乳霜洗髮 乳	聯合利華股份有限 公司	water 、 sodium laureth sulfate 、 cocamidopropyl betaine 、 glycol distearate 、 dimethiconol 、 glycerin 、 laureth-4 、 laureth-25 、 panthenyl ethyl ether 、 polyquatemium-28 、 ppg-9 、 serine 、 sorbitol 、 tea-lactate 、 tea-dodecylbenzene sulfonate 、 urea 、 guar hydroxypropyltrimonium chloride 、 lauryl diethylenediaminoglycine 、 lauryl aminopropylglycine 、 bis(c13-15 alkoxy)pg amodimethicone 、 allantoin 、 fragrance 、 sd alcohol 39-c 、 arginine 、 lactic acid 、 citric acid 、 sodium chloride 、 sodium lactate 、 bht 、 methylparaben 、 propylparaben 、 2-bromo-2-nitropropane-1.3-diol
皮膚修護液	美商施麗公司	水、蘆薈、丙烯乙二醇、青基丙基甲基纖維、天然骨膠原、玻璃酸、亞麻油酸、次亞麻油酸、油酸、維生素 e、檸檬酸、花生油酸、三乙醇胺、乙二胺四乙酸二鈉、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯
炫彩眼影粉	華粧佳人國際有限 公司	mica 、 pigments 、 colors

品牌名稱	製造商/代理商	成分
butyshop 平衡舒緩水	聖兒莉國際股份有限公司	金縷梅、小黃瓜、金盞草、玫瑰露、甘草精、氨基酸、濃縮蘆薈精華
NU SKIN NaPCA 滋潤噴霧液	美商施麗公司	水、蘆薈、甘油、丙烯乙二醇、napca、乳酸、檸檬酸、玻璃酸、乳酸鈉、菸鹼醯胺、甘胺酸、肌醇、尿素、果糖、辛基甲氧基肉桂酸鹽、聚山梨醇酯 20、對脛基苯甲酸甲酯、二氮茂基尿素、2-溴-2-硝基丙烷-1、3-二醇、苯甲酸鈉。
butyshop 護手霜	紫根聖兒莉國際股份有限公司	shiconic oil、lithospermum officinale extract、aloe vera、triisostearin、squalane、refined olive oil、sodium lactate、dl-tocopherol acetate、steareth-2、steareth-21、diisopropyl dimer dilinoleate、cetyl palmitate、cetearyl alcohol、stearic acid、beeswax、vaseline、dimethyl cycloiloxane & modified organo-polysiloxane、allantoin、xanthan gum、glycerin、alkydimethylbenzyl ammonium saccharinate、hydrogenated lecithin、methylparaben、lmdiazolidinyl、fragrance
butyshop 深層潔面露 (清爽型)	聖兒莉國際股份有限公司	甜菜、氨基酸、蘆薈、海藻、牧草籽精華
可伶可俐深層清潔洗面乳	花王股份有限公司	purified water、stearic acid、glycerin、peg 8、propylene glycol、triclosan、myristic acid、potassium hydroxide、lauric acid、glyceryl stearate、peg-100 stearate、synthetic beeswax、fragrance
蜜妮洗面乳	花王股份有限公司	water、potassium c9-15 alkyl、phosphate、sorbitol、betaine、lauramdopropyl betaine、phosphoric acid、alcohol、ethylhexylglycerin、peg-6、acrylates/c10-30 alkyl acrylate crosspolymer、titanium dioxide、peg-65m、sodium benzoate、pborpylene glycol、bht、fragrance

品牌名稱	製造商/代理商	成分
蜜妮紅嫩瑩白 化妝水	花王股份有限公司	water、butylene glycol、peg-32、glycerin、pullulan、amidinoproline、citrus junos peel extract、chamomilla recutita (matricaria) extract、thujopsis dolabrata extract、isoceteth-20、disodium phosphate、succinic acid、alcohol、methylparaben、fragrance、bht
蜜妮紅嫩瑩白 乳液	花王股份有限公司	chamomile et 0.50%、water、glycerin、neopentyl glycol dicaprato、behenyl alcohol、dimethicone、cetyl-pg hydroxyethyl palmitamide、histidine、butylene glycol、amidinoproline、alcohol、citrus junos peel extract、methylparaben、distearyldimonium chloride、fragrance、thujopsis dolabrata extract
ETUDE 水精 靈煥采卸妝油	碧芮國際股份有限公司	mineral oil、polyoxyethylene glyceryl、tristearate、oleyl alcohol、simmondsia chinensis seed oil、camellia oil、water、propyl paraben、meadowfoam seed oil、iso propyl myristate、squalane、butyl paraben
ETUDE 水精 靈煥采洗面乳	碧芮國際股份有限公司	water、edta-2na、glycerine、potassium hydroxide、lauric acid、myristic acid、stearic acid、glyceryl stearate (and) peg-100 stearate、urea、carica papaya fruit extract、saponaria officinalis extract、sodium chondroitin sulfate、sodium lactate、perfume
法柏麗自然色 彩染髮霜—亞 麻棕	憶麗化學工廠有限公司	p-phenylenediamine(0.2%), n4, n4-bis- hydroxythyl -p-phenylenediamine sulfate(0.15%), p-amino-o-cresol(0.36%), m-aminophenol(0.6%), 1-phenyl 1-3-methy 1-5-perazolone(0.2%) 第二劑 / hydrogen peroxide35%(17%)
雅芳白茶活氧 去角質乳	台灣雅芳股份有限公司	water, hydrogenated vegetable oil, polydecene, stearyl alcohol, beeswax, glycerin, glyceryl stearate, polyethylene, sd alcohol 40-b,peg-40 stearate, cetyl alcohol, c12-15 pareth-12, silica,camellia sinensis leaf extract, fragrance, cellulose gum, triethanolamine, magnesium aluminum silcate, methylparaben

品牌名稱	製造商/代理商	成分
凱娜芮亨深層淨膚霜	龍興實業社化妝品廠	kaolin, bees wax, cucumber extract, marigold extract, collagea allantoin, methyl paraben, propyl paraben, vitamin E oil, titanium dioxide, squalane, stearic acid, triethanolamine, perfume, distilled water
佐媚朵爾除痘凝膠	溫士頓醫藥股份有限公司	each gram contains: erythromycin...20mg (potency)
LUSH 清爽薄荷面膜	亞洲麗達股份有限公司	皂土凝膠, 高嶺土, 有機蜂蜜, 月見草籽, 薄荷精油, 金盞花精油, 香草萃取, 葉綠素
全天候 UV 防曬隔離乳液	利肯化工實業有限公司	oxybenzone, octyl methoxycinnamate, octocrylene, titanium dioxide

## 五、結論與建議：

### 1. 化粧品原料開發有待加強：

國內原料供應商家數並不多，所供應化粧品原料也都仰賴進口，。只是國內原料化粧品需求並不大，原料商要投資開發新原料的可能性與意願極低。化粧品原料開發需要投入的人力、物力及投資相當龐大，一般化粧品公司很難開發新原料，因此必須結合各種資源才有成功的機會，包括學術界及其他產業如製藥、化工業等。新原料的開發雖然辛苦，但是對於產業提昇卻有很大的幫助，國內各種人才濟濟，如果能由大型機構與學校整合，透過政府相關研究資金的補助，共同開發化粧品新原料，如此才能建立我國在化粧品國際舞台的地位。

## 2. Cosmeceutical 產品逐漸增加：

所謂的 cosmeceutical 保養品或是透過皮膚科醫師所指示使用具有治療性的產品，其界限定位並不明顯。近年來透過資訊的傳遞及教育，消費者對於 cosmeceutical 產品，逐漸產生喜好，使得這類產品逐漸增加，例如，法國化粧品製造業的龍頭紀梵希就研發出媲美手術效果的防皺防老化保養品，結合天然性材料及生化科技。這一類防皺防老化的產品讓愛美的人免除挨刀或注射的恐懼，但仍具有去角質，促進皮膚新陳代謝、撫平皺紋的效果。號稱含有臉部去角質、A 酸、膠原蛋白質和肉毒桿菌毒素注射，免開刀集種種功效於一身的產品正式在全球的公開銷售。近年，也有 peptide 抗老化原料的開發，例如 Argireline 即為六生太 (hexapeptide)，利用塗抹方式，模擬肉毒桿菌毒素注射對表情細紋的撫平作用，對於愛美又怕挨針的女士先生而言是一大福音。

## 3. 天然材料之盛行：

例如嘉麗寶(Kanebo)的 Sensai(日文纖細的意思)系列可以活化表皮細胞的新陳代謝，給皮膚提供營養及有保濕保護及改善皺紋的問題，La Mer 的海洋拉娜乳霜則含有天然海藻酵素以及希斯黎(Sisley)的青春永駐系列則是含有麥芽精等天然植物複方。



# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC 94-02

計畫名稱：化粧品抗老化成分檢測方法的改進研究

執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

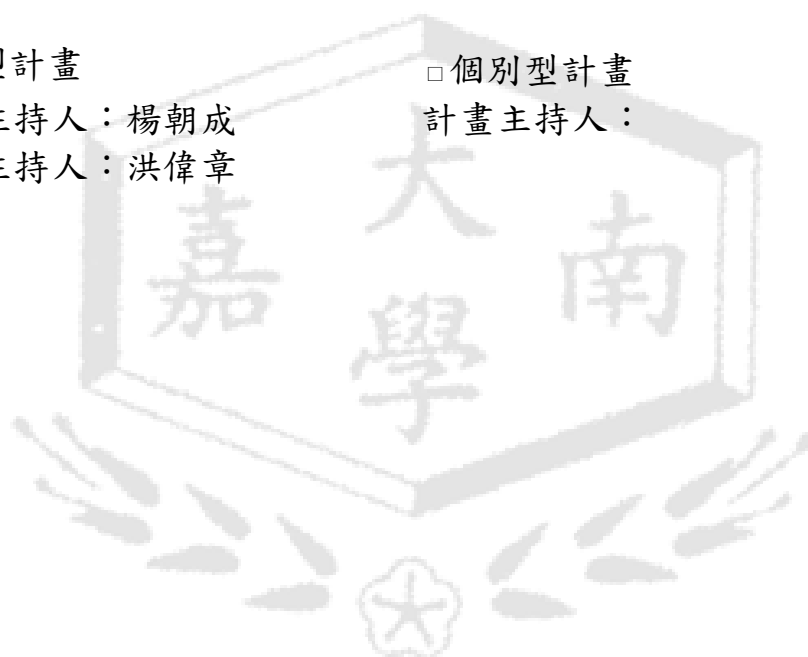
整合型計畫

計畫總主持人：楊朝成

子計畫主持人：洪偉章

個別型計畫

計畫主持人：



中華民國 94 年 12 月 31 日

## 一、摘要：

皮膚的老化具有許多成因，其中一個廣泛引起重視的成因為自由基的形成。因此化粧品之抗老化成分的研發即有許多學者致力於尋找具有清除自由基能力的成分。

清除自由基能力的測定方法主要為分光光度法與化學冷光發光法，這些方法受溶液 pH 值的影響頗大，有學者提出 pH 值相差 $\pm 0.1$ 單位，測定時誤差可達 20%；因此尋找一個較不易受外在因素影響的測定方法就頗為重要。

本研究計畫以自由基的特性為測定方法改良的考慮藍本，利用電化學偵測的技術，探討化粧品之成分的自由基清除效果，期望能提供化粧品抗老成分之研發時，一個簡便、快速、靈敏且省試劑之一個新的偵測方法。

## 二、前言：

許多證據顯示氧化壓力 (oxidative stress) 與自由基的形成、抗氧化劑之不足與組織的損傷有關。這些氧化壓力會以不同的形式表現出來。如脂質 (lipid) 的氧化會造成香味與顏色的改變。在人體上表現出來的主要就是老化現象，而最明顯可觀察到的就是皮膚外觀的改變。因此過去的十年內，有許多研究就致力於測定物質的抗氧化能力。

在這些研究中主要是利用發色體 (chromogen) 化合物與抗氧化劑之間的反應。反應後，再以光譜法或比色法測定發色體化合物的殘餘濃度<sup>1-3</sup>。最常用的發色體化合物包括 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid (ABTS) 與 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)，因為他們可與抗氧化化合物快速的反應。

本研究計畫以電化學偵測的技術探討抗氧化的特性，將來進一步考慮利用自由基的特性改良測定方法，則可探討化粧品之成分的自由基清除效果，提供化粧品抗老成分之研發時，一個簡便、快速、靈敏且省試劑之新的偵測方法。

### 三、 材料與方法：

#### 3.1 實驗用品

儀器： 恆電位儀。

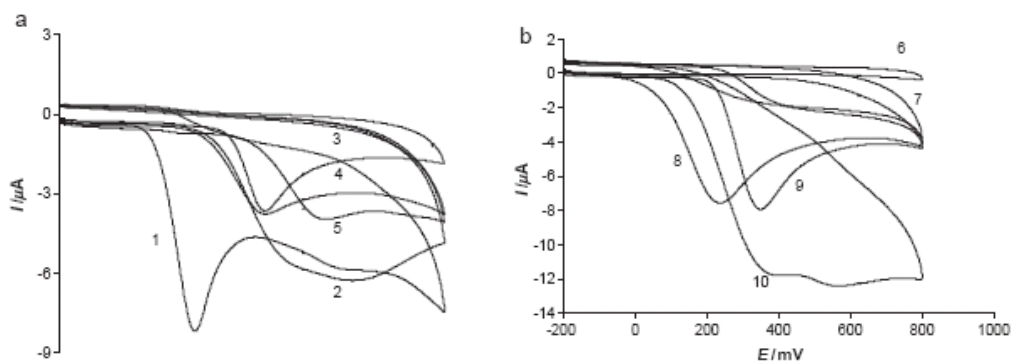
材料： 白金電極、銀-氯化銀電極、吸油面紙。

藥品： 水、Ascorbic Acid、Phosphate buffer 與 Potassium Chloride 。

#### 3.2 循環伏安圖之測量：

將待測物以磷酸緩衝液溶液配製成待測溶液，置於電化學測量反應器中，以白金電極靜置待其平衡後，以白金電極為工作電極與輔助電極；銀-氯化銀電極為參考電極。以循環伏安法控制電位測量待測溶液的循環伏安圖。

### 四、 結果與討論：



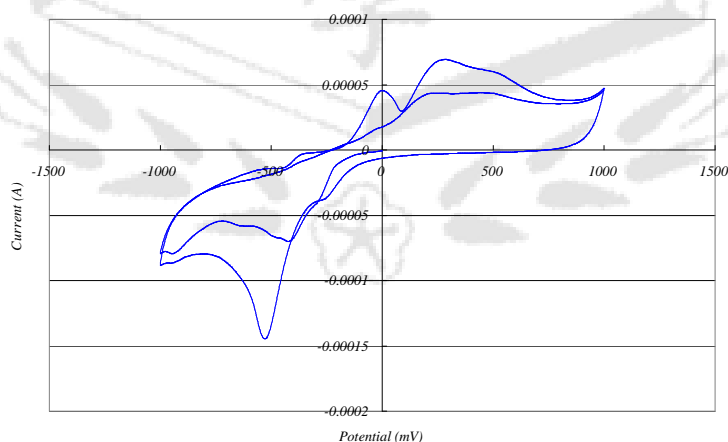
在循環伏安圖a中<sup>4</sup>，酒精溶性的抗氧化物（1 mM）(1) quercetin, (3) curcumin,

(4) sinapic acid 與(5) ferulic acid的氧化峰分別出現於153 mV, 334 mV, 335 mV 與 491 mV，同時沒有可逆的還原峰；(2) catechin在循環伏安圖中之氧化峰則沒有明確的最大值。

水溶性抗氧化物的循環伏安圖b中，(8) ascorbic acid, (9) uric acid and (10) gallic acid 分別於238, 350 and 400 mV 出現不可逆的氧化峰。

(7) N-acetyl-lcysteine 的循環伏安圖則沒有明確的氧化峰。在觀測的電位範圍內，背景電流是可以被忽略的(6)。

此研究中對皮膚表面的狀態亦利用吸油面紙配合循環伏安法進行偵測，所得到的循環伏安圖如下圖所示。若將此方法與抗老化化粧品之使用結合，對於抗老化化粧品實際的使用功效將會有更明確的驗證。若以DPPH的偵測來進一步佐証化粧品抗老成分之自由基清除效果，此研究將更完備。



## 五、 參考文獻：

1. I.F.F. Benzie and J.J. Strain, *Methods Enzymol.*, 299, 15-27, 1999.
2. C. Rice-Evens and N.J. Miller, *Methods Enzymol.*, 234, 279-93, 1994.
3. N.J. Miller, C. Rice-Evens, M.G. Davies, V. Gopinathan and A. Milner, *Clin. Sci.*, 84, 407-12, 1993.
4. S. Milardović, D. Ivekovic and B. S. Grabarić, *Bioelectrochemistry*, 68, 180-5, 2005.

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC94-02

計畫名稱：化粧品成分之檢測與評估方法研究-子計畫四

篩檢具抗落髮效果之中草藥

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：楊朝成

計畫主持人：

子計畫主持人：林維炤

中華民國□□年□□月□□日

## 一、前言

落髮、禿頭一直以來困擾著特定的人群，且近年來這特定人群的數量有明顯上升的趨勢，嚴重的落髮會影響對禿頭者的年齡甚至是第一印象上的評斷，所以雖然禿頭不會明顯地造成生理上的病痛，但卻非常有可能會使禿頭者在心理上生病。

近年來，隨著禿頭問題日益嚴重的狀況，許多治療藥物及外科手術等可改善禿頭問題的方法也愈來愈被重視且不斷地再改良，於是本實驗室開始在禿頭患者比例低的民族—中國、日本—的飲食習慣中尋找些許的蛛絲馬跡。

在本研究室前一年的實驗成果，已証實在中國及日本的飲食習慣中佔有一席之地之食品—大豆—的萃取物能夠在 B6CB/F1 雜交鼠身上有效地抑制雄性禿的發生，但有鑒於所需的實驗時間較長，且無法確認確切的抑制機制為何，於是本實驗室再度嘗試建立抑制雄性禿的細胞測試模式，期望能提供更完整的實驗模式。

在本實驗中除了以張學長已確認有效抑制雄性禿的大豆萃取物為試驗方向之外，還另外萃取了山藥及柏葉的初萃物，一併作為實驗樣品。

## 二、文獻回顧

造成禿頭的病因甚多，因此禿頭在病理上被分為圓形禿(Alopecia Areata)、生長期脫髮症(Anagen Effluvium)、休止期落髮症(Telogen Effluvium)以及雄性禿(Androgenetic Alopecia)等四種型態，而其中除了雄性禿之外，皆可藉由藥物調整免疫力至正常時，便可再度自行生髮，而雄性禿則因病因上的關係，無法輕易地被治癒。

雄性禿(Androgenetic Alopecia)，如同原文字面上所述，此病因包含了雄性素及遺傳因子二部份，當毛囊下真皮層中之乳突中的雄性素接受器(Androgen Receptor)容易和睪素酮(Testosterone)或加氫睪素酮(Dihydrotestosterone)結合時，即

易造成雄性禿；據文獻指出雄性素接受器的基因位於 X 染色體上，也就是說，雄性子代的雄性素接受器敏感度是否過高，端賴於其母親所遺傳給他的基因而定。

睪素酮和加氫睪素酮會進入毛囊細胞核中，對於代謝系統產生抑制作用，使毛囊無法進行蛋白的合成，而減少毛髮生長；其中加氫睪素酮在表現雄性特徵上的強度更遠大於睪素酮所造成的結果，也就是說，當加氫睪素酮和雄性接受器反應後，所造成對代謝系統抑制的狀況，會較相同數量的睪素酮和雄性接受器反應後所造成的抑制狀況更加嚴重，而位在頭皮的毛囊細胞質中的第二型 5 $\alpha$ -還原酶 (5  $\alpha$  -reductase type 2) 則是將睪素酮轉換為加氫睪素酮的重要酵素，換言之，若能有效地抑制第二型 5 $\alpha$ -還原酶的活性，那麼就能在一定程度上有效地抑制雄性禿的發生或緩和其症狀，目前市面上已有顯著效果的藥物—柔沛—即是以此為治癒雄性禿之機制。

### 三、實驗材料及方法

#### (一) DNA 來源

由 Russell DW. 教授提供的質體—pCMV7-5 $\alpha$ R—上所擁有的完整的人類第二型 5 $\alpha$ -還原酶 cDNA 片段，以適當的限制酶將其切下，再接合到載體—pFlag-CMV2—之中，並使其能正常地被讀取序列。

#### (二) 測試樣品來源

大豆萃取物(活性，以酵素去除萃取物中配醣體之糖基)及大豆萃取物(非活性)是由 公司所提供。

山藥及柏葉皆自台南某中藥行購得之乾燥成品，各 300 公克，分別以 99.5% 乙醇在固定 65 $^{\circ}$ C 的環境下，浸泡 4 小時，而後以減壓濃縮法將萃取物中的所有溶劑去除。

以上四項測試樣品各取 0.01g 溶於 1ml DMSO 中，做為儲備溶液。

#### (三) 活性測試

選用細胞為 HEK293，於 6 well plate 中，種入  $2.5 \times 10^5$  cells/well，在 37°C，5% CO<sub>2</sub> 環境下培養 24 小時，以 Lipofetamine 2000 做轉染(transfection)，將 pFlag-CMV2-5 $\alpha$ R2 送入細胞中，再培養 24 小時，將原培養液置換為無血清的培養液(1ml/well)，並依各組試驗加入適當藥劑(如下列表格所示)，靜置於 37°C 水浴中 2 小時，抽出培養液 950 $\mu$ l/well，各加入 1.6ml 乙酸乙酯，混合均勻後，靜置，取出有機層，待完全揮發，樣品全數乾燥後，再各加入 30 $\mu$ l 的乙酸乙酯，振盪後，各管取 5 $\mu$ l 滴於 TLC plate(Si60 F<sub>254</sub>, Merk)上，置於展開液(乙酸乙酯：正己六烷 = 1 : 1)中，以 photoimage 掃描之。

項目	藥劑
B	0.05 $\mu$ Ci <sup>14</sup> C-testosterone
H	0.05 $\mu$ Ci <sup>14</sup> C-testosterone
H-F	0.05 $\mu$ Ci <sup>14</sup> C-testosterone
H-R	0.05 $\mu$ Ci <sup>14</sup> C-testosterone
G	0.05 $\mu$ Ci <sup>14</sup> C-testosterone + 50 $\mu$ M genistein
SI	0.05 $\mu$ Ci <sup>14</sup> C-testosterone + 50 $\mu$ M 大豆萃取物(非活性)
SA	0.05 $\mu$ Ci <sup>14</sup> C-testosterone + 50 $\mu$ M 大豆萃取物(活性)
山	0.05 $\mu$ Ci <sup>14</sup> C-testosterone + 50 $\mu$ M 山藥萃取物
柏	0.05 $\mu$ Ci <sup>14</sup> C-testosterone + 20 $\mu$ M 柏葉萃取物

n=2

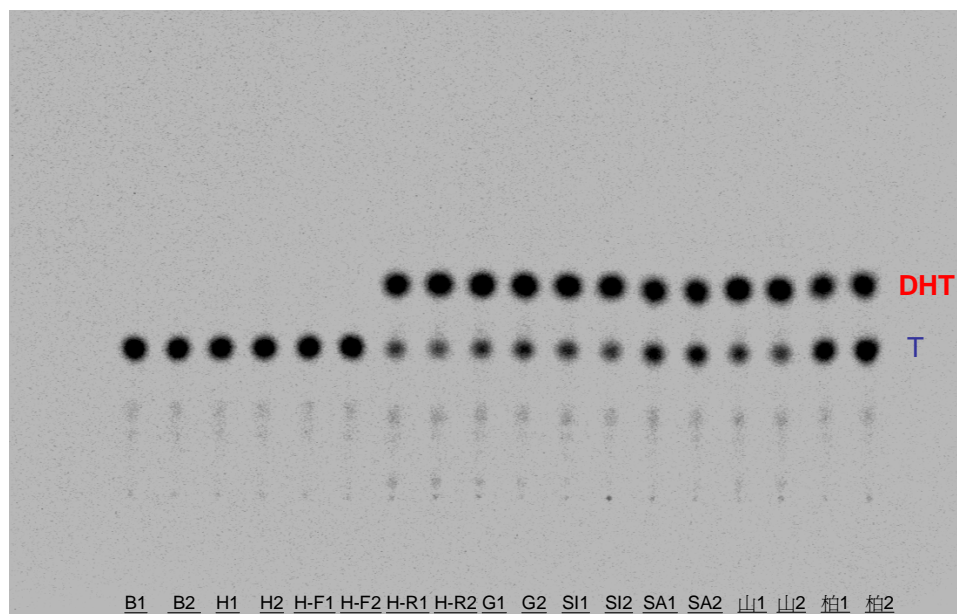
註：假設 SI、SA、山、柏 四組萃取物中的 compound 分子量皆為 1000

#### 四、結果

在下頁圖中可看到睪素酮在此實驗環境中並不會自行轉化為加氫睪素酮(B)，HEK293 本身也沒有將睪素酮轉化為加氫睪素酮的能力(H)，且當 HEK293 在被送入了含有第二型 5 $\alpha$ -還原酶的質體後，HEK293 有能力正常表現出此蛋白



質，進而將睪素酮轉化為加氫睪素酮(H-R)。



B : without cell	G : genestein	柏 : 柏葉萃取物
H : only HEK293	SI : 大豆萃取物(非活性)	N=2
H-F : HEK293-Flag	SA : 大豆萃取物(活性)	
H-R : HEK293-Flag-5aR2	山 : 山藥萃取物	

在上圖中可看到添加了大豆萃取物(活性)及柏葉萃取物的實驗組中，所呈現的睪素酮量確實明顯地較對照組(H-R，無添加任何抑制成份)多出許多，這也就意謂著，睪素酮在被第二型 5 $\alpha$ -還原酶轉化為加氫睪素酮的過程被抑制了，所以還有較對照組更多的睪素酮存在著。

## 五、未來實驗方向

在初步的篩檢中已經發現扁柏乙醇萃取液具有抑制第二型 5 $\alpha$ -還原酶效果，而山藥則不具效果，未來將以不同極性溶劑萃取扁柏，探討不同極性所萃取出的萃取液之抑制效果。

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC94-02

計畫名稱：子計畫 5：美白化粧品原料之開發與作用機轉之探討

執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

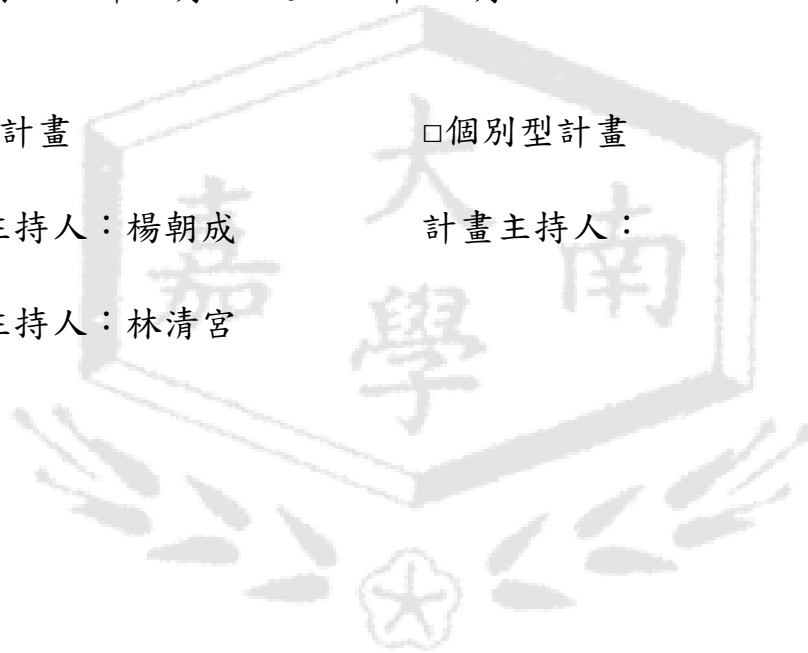
■整合型計畫

個別型計畫

計畫總主持人：楊朝成

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：

東方女性大多希望擁有白皙的肌膚，為了滿足消費者對膚色淡化的需求，許多人努力尋找具有黑色素抑制效果之成分，目前較受肯定的美白成分為 vitamin C, hydroquinone, arbutin, kojic acid 等，這些成分均具有酪胺酸酶抑制活性，除了這些成分外，有些中藥如甘草(*Glycyrrhiza glabra*)及桑白皮(*Morus alba*)等的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。

本計畫以酪胺酸酶抑制活性為模式，加上 *in vitro* B16 melanoma 細胞株試驗，進行桑萃取液之美白活性評估，在活性評估中同時亦探討其作用機轉。

## 二、前言

KANG TAE LEE 等學者，於 2003 年的研究中，則是採用桑的嫩枝為材料，用 70% EtOH 為萃取溶劑加以萃取、乾燥，並以 1,3 butylene glycol 溶解後，進行評估。最終結論描述，嫩桑枝 70% 的酒精萃取物，會抑制酪胺酸酶的活性及抑制 B-16 黑色素瘤細胞中黑色素生合成的量，但無法影響 B-16 黑色素瘤

細胞中酪胺酸酶的合成和基因的表達。且實驗結果顯示出，嫩桑枝 70% 的酒精萃取物，可抑制天竺鼠皮膚受 UVB 照射後的色素沉積，並且在皮膚、眼睛的刺激性試驗及皮膚敏感性試驗中皆無不良作用，亦無急性口服毒性的產生，並認為嫩桑枝的萃取物具有很強的抑制黑色素生成的活性。繼續將萃取物加以分離與純化，得到單一化合物 2'-oxyresveratrol，並確認其結構為 2,3',4,5'-tetrahydroxystilbene。

### 三、方法

#### 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 2000 ml 純乙醇，浸泡 3 小時
3. 加熱 refluxing 萃取三次
4. 過濾
5. 真空濃縮
6. 乾燥，稱重備用

## II. 中藥之美白效果評估

### ※體外(*in vitro*)酪胺酸酶抑制活性測定

1. 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 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. 比較中藥萃取物與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>

### ※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

#### 四、結果

桑枝粉的 80%酒精的萃出物抑制過的 B-16 黑色素瘤細胞溶解物，以不同濃度，加入 PBS-L-tyrosine 溶液，反應後觀察發現，受桑枝粉的 80%酒精的萃出物作用過的 B-16 黑色素瘤細胞溶解物，會催化 PBS-L-tyrosine 使溶液明顯變黑，且加入的細胞溶解物的量越多，溶液的顏色則越黑。我們推論上述現象的產生，是因為桑枝粉的 80%酒精萃出物中的有效成份，會去抑制黑色素顆粒體膜上的酪胺酸酶的活性，使黑色素顆粒體處在 stage IV 以前的不成熟階段，不成熟的黑色素顆粒體不會被從黑色素細胞轉移輸送出去，黑色素顆粒體膜上的酪胺酸酶也不會被降解，會一直保留在黑色素細胞中，當 B-16 黑色素瘤細胞被反覆冷凍回溫，以 pipet 抽送沖細胞，會將細胞膜打破，使細胞中黑色素顆粒體膜上的酪胺酸酶，被釋放到細胞溶解物中，PBS-L-tyrosine 溶液受到細胞溶解物中酪胺酸酶的催化，形成黑色素而使溶液呈現出黑色，當所加的細胞溶解物的量越多，意味著酪胺酸酶的量也越多，催化形成黑色素的量也越多，所以溶液顏色則越黑。

我們將先前沒加萃出物去抑制的 B-16 黑色素瘤細胞溶解

物以不同濃度，加入 PBS-L-tyrosine 溶液後，幾乎沒變黑的現象。我們推論此現象的產生，是因為當 B-16 黑色素瘤細胞沒有加萃出物去抑制時，B-16 黑色素瘤細胞內黑色素顆粒體膜上的酪胺酸酶，一方面會催化黑色素的生合成，生合成出來的黑色素儲存在黑色素顆粒體中，所以離心後觀察，細胞看起來較黑。另一方面，黑色素顆粒體膜上酪胺酸酶的活性，會調控使黑色素顆粒體成熟，成熟的黑色素顆粒體被從黑色素細胞轉移輸送出胞外，所以細胞培養的上清液因含有輸送出來的黑色素而使顏色較深、吸光值較高。達 stage IV 階段後，黑色素顆粒體膜上的酪胺酸酶開始被降解到胞質液中，當細胞被打破，細胞溶解物中，所具有的是已降解不具催化能力的酪胺酸酶，所以加再多的細胞溶解物，亦無法將 PBS-L-tyrosine 溶液催化形成黑色素。

## 五、結論

桑枝粉、桑枝片的 80%酒精的萃出物，對酪胺酸酶活性的抑制率及對 B-16 黑色素瘤細胞的抑制率，都會隨著萃出物投與濃度的增加而增加，呈現 dose-dependent。

桑枝粉、桑枝片萃出物中的有效成份，可能是抑制了蘑菇酪胺酸酶的 DOPA 氧化酶的活性，使蘑菇酪胺酸酶的氧化能力受到抑制，因而阻斷了黑色素的生合成。所有的萃出物中，桑枝粉的 80%酒精的萃出物，對蘑菇酪胺酸酶有最佳的  $IC_{50}$  為  $2.3\mu\text{g/mL}$ 。

桑枝粉、桑枝片的 80%酒精的萃出物中的有效成份，可能是抑制了 B-16 黑色素瘤細胞內，黑色素顆粒體膜上的酪胺酸酶的活性，使酪胺酸酶無法將已進入黑色素顆粒體中的酪胺酸，催化形成黑色素，而使 B-16 黑色素瘤細胞內黑色素生合成的量受到抑制。

由於桑枝粉的 80%酒精萃出物中的有效成份，抑制了黑色素顆粒體膜上的酪胺酸酶的活性，而使黑色素顆粒體處在 stage IV 以前的不成熟階段，所以影響了 B-16 黑色素瘤細胞內，黑色素顆粒體的轉移輸送及細胞內酪胺酸酶的降解。



## 六、參考文獻

1. Bernard P, Berthon J-Y. Resveratrol: an original mechanism on tyrosinase inhibition. International Journal of Cosmetic Sciences.2000 ; 22 ; 219-226.
2. Burchill S A, Bennett D C, Holmes A, Thody A J. Tyrosinase expression and melanogenesis in melanotic and amelanotic B16 mouse melanoma cells. Pathobiology. 1991 ; 59 ; 335-339.
3. Cabanes J, Chazarra S, Garcia-Carmona F. Kojic acid, A cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 1994 ; 46 ; 982- 985.
4. Janis Ancans, Desmond J Tobin, Martin J Hoogduijn, Nico P Smit, Kazumasa Wakamatsu, Anthony J Thody. Melanosomal pH Controls Rate of Melanogenesis, Eumelanin/Phaeomelanin Ratio and Melanosome Maturation in Melanocytes and Melanoma Cells. Experimental Cell Research 2001 ; 268 ; 26-35.
5. Kaatz, H, Streffer K, Wollenberger U, Peter M G. Inhibition of mushroom tyrosinase by kojic acid octanoates. Journal of Biosciences.1999 ; 54 (1- 2) ; 70-74.
6. KANG TAE Lee, KWANG SIK Lee, JI HEAN JEONG, BYOUNG KEE JO, MOON YOUNG HEO, HYUN PYO KIM. Inhibitory Effects of *Ramulus Mori* extracts on Melanogenesis. J. Cosmet. Sci. 2003 ; 54 ; 133-142.
7. Kenji Ohguchi, Toshiyuki Tanaka, Tadashi Kido, et.al. Effects of hydroxystilbene derivatives on tyrosinase activity. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2003 ; 307 ; 861-863.
8. Maeda K, Fukuda M. Arbutin: mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture. Journal of Pharmacology

and Experimental Therapeutics .1996 ; 276 ; 765-769.

9. N Baurin, E Arnoult, T Scior, Q T Do, P Bernard. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002 ; 82 ; 155–158.
10. Nam-Ho Shin, Shi Yong Ryu, Eun Ju Choi, et.al. Oxyresveratrol as the potent inhibitor on dopa oxidase activity of mushroom tyrosinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*.1998 ; 243 ; 801-803.
11. No J K, Soung D Y, Kim Y J, et.al. Inhibition of tyrosinase by green tea components. *Life Sciences*.1999 ; 65 ; 241- 246.
12. Yeon Mi Kim, Jieun Yun, Chong-Kil Lee, Hwanghee Lee, Kyung Rak Min, Youngsoo Kim. Oxyresveratrol and Hydroxystilbene Compounds INHIBITORY EFFECT ON TYROSINASE AND MECHANISM OF ACTION. *The Journal of Biological chemistry*. 2002 ; 16340–16344.

# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC94-02(子計畫 6)

計畫名稱：液晶於化粧品之經皮吸收探討(一)

執行期間：94 年 1 月 1 日至 94 年 12 月 31 日

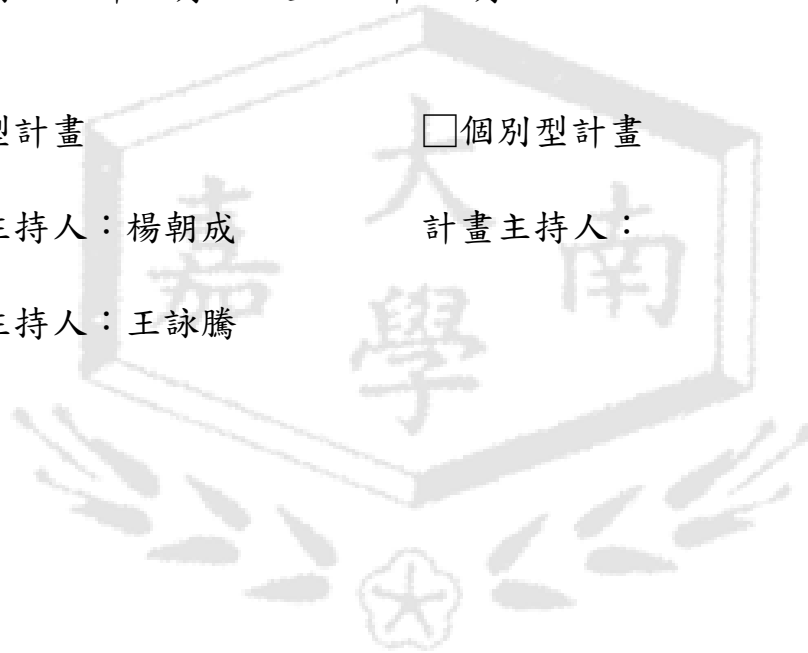
整合型計畫

個別型計畫

計畫總主持人：楊朝成

計畫主持人：

子計畫主持人：王詠騰



# 液晶於化粧品之經皮吸收探討(一)

## 化粧品應用與管理系

王詠騰

### 摘要

液晶應用於化粧品，主要可增加產品的外觀價值，所選的液晶必須維持液晶的外觀，方能應用於化粧品。本實驗探討 COC、CPE、CB 等三種膽固醇類液晶材料於常溫下維持液晶的比例，以作為進一步調製化粧品的基礎，裨能進一步探討其於應用時對經皮吸收的貢獻。

### Abstract

The applications of liquid crystal on the Cosmetic products are attracting us recently. In order to understand how is the ratio of the molecules mixed together would be keeping in liquid crystal state at Room temperature. Here we used three cholesterol derivatives such as COC、CPE、CB. We got some data. In my opinion, they are very important for us to prepare the Cosmetics including liquid crystal molecules. And in the future we want to know what the contribution of the epidermal transportation would be happened while the Cosmetics products have been used.

### 一、緒言

液晶的種類有向列型(nematic)液晶、膽固醇型(cholesteric)液晶、層列型(smectic)液晶，由於膽固醇狀液晶顏色變化比較豐富因此經常被運用於 LCD 之領域，到目前為止市面上尚未看到液晶於化妝品之實務運用，因此，由於其豐富的色彩變化，似乎可運用於化妝品提高產品的價值。膽固醇類液晶會受溫度的影響改變顏色，其顏色變





0.6	0.1	0.3	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.7	0.0	0.3	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.0	0.6	0.4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.1	0.5	0.4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.2	0.4	0.4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.3	0.3	0.4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.4	0.2	0.4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.5	0.1	0.4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.6	0.0	0.4	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.0	0.5	0.5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.1	0.4	0.5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.2	0.3	0.5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.3	0.2	0.5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.4	0.1	0.5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.5	0.0	0.5	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.0	0.4	0.6	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.1	0.3	0.6	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.2	0.2	0.6	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.3	0.1	0.6	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.4	0.0	0.6	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.0	0.3	0.7	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.1	0.2	0.7	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.2	0.1	0.7	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.3	0.0	0.7	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.0	0.2	0.8	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.1	0.1	0.8	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.2	0.0	0.8	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.0	0.1	0.9	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
0.0	0.0	1.0	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	

在此並進一步依據上表之結果製作三成份圖(如下圖)，由圖中顯示在...出現一個於此溫度範圍，可保持於膽石醇性典型晶相的比例混合物，其將為下一步進行化粧品配方設計與調製的依據。

#### 四、參考資料

1. Julia J. Hwang, Subramani N. Iyer, Li-Sheng Li, Randal Claussen, Daniel A. Harrington, and Samuel I. Stupp<sup>†</sup> *Natl Acad Sci U S A.* **2002**, 23; 99 (15): 9662–9667.
2. T. M. Koyama, C. R. Stevens, E. J. Borda, K. J. Grobe, and D. A. Cleary\* *Chem. Educator* 1999, **4**, 12–15.
3. Roux; Didier (Merignac, FR); Degert; Corinne (St. Medard en Jalles, FR); Laversanne; Rene (Pessac, FR) **United States Patent:** 6,103,259.
4. 化學工業日報（日本），2002/02/27。





# 嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNIC 94-02

計畫名稱：化粧品活性成分經皮吸收檢測系統的改進研究

執行期間：94年1月1日至94年12月31日

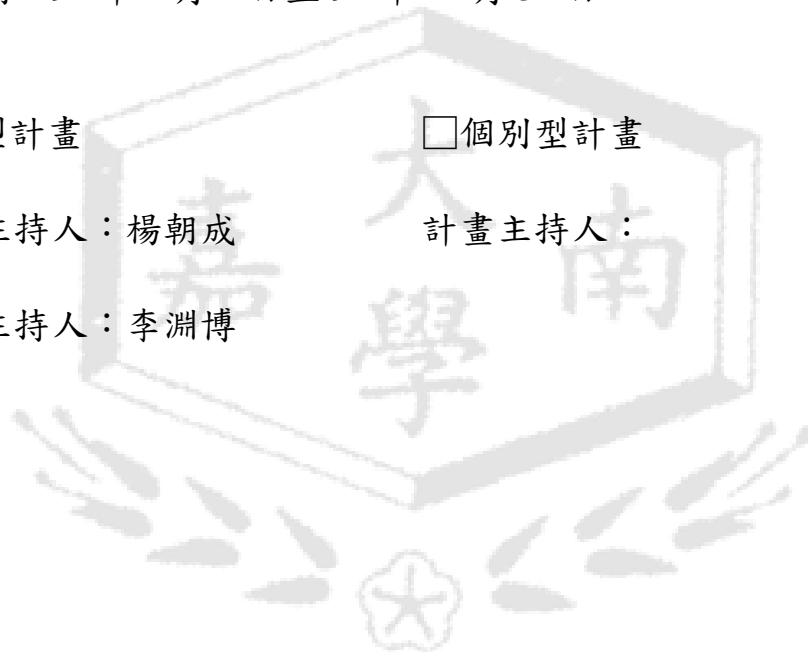
整合型計畫

個別型計畫

計畫總主持人：楊朝成

計畫主持人：

子計畫主持人：李淵博



中華民國 94 年 12 月 31 日

## 一、摘要：

化粧品之活性成分的經皮吸收效果對於化粧品的有效性具有絕對的關連，以往有關於經皮吸收的研究多集中於藥物方面，而關於化粧品方面仍屬少見。在方法上以使用 Franz Cell 與塗抹後直接取皮並配合 HPLC 分析為最常見。

化粧品的成分通常較藥物更為複雜，同時若非活體測試，經皮吸收的狀態就必須考慮如何能夠更接近活體的狀態。

本研究計畫以 Franz Cell 為改良的藍本，期望能提供化粧品經皮吸收研究的一大突破。

## 二、前言：

化粧品使用的效果常受到有效成分與基劑的物化特性、劑型、濃度、使用方法、用量、作用部位，接觸面積、使用持續時間、經皮吸收助劑之性質以及身體狀況等因素影響。化粧品之活性成分的經皮吸收效果多年來一直是化粧品有效性評估之不可或缺的重要因素之一；化粧品之有效成分穿透皮膚進入皮下組織的途徑有通過細胞間隙穿透及經附屬器官包括毛囊、皮脂腺、汗腺的通道。當前對於小分子經皮吸收已形成共識，但對大分子物質的經皮吸收的可能性，人們的認識還很不一致。近年來國內外許多研究證明，大分子有效物質單一使用確實存在有經皮吸收速度慢或不易透過等問題，但若經由脂質體改變其脂溶性或在相應經皮吸收助劑的輔助下，即能有效克服皮膚角質層中角蛋白絲和脂質的屏障，使更多的成分滲入其皮層，達到有效的局部濃度。

以往有關於經皮吸收的研究多集中於藥物方面，而關於化粧品方面仍屬少見。而在方法上則以使用 Franz Cell 與塗抹後直接取皮並配合 HPLC 分析為最

常見。化粧品的成分通常較藥物更為複雜，要了解其經皮吸收的狀態就必須考慮如何能夠更接近活體的狀態。尤其是化粧品中的活性成分，隨著作用之不同，其在皮膚的穿透狀態近年來更是引起重要關切與討論。以防曬劑為例，其應附著於皮膚表面形成保護層防止紫外線的傷害。設計的防曬劑重要原則就是其對角質層必須要有極佳的親合力，能留在皮膚的最表層<sup>1,2</sup>，而穿透皮膚的量要低<sup>2,3</sup>。而抗老化化粧品之有效成分必須能有效克服皮膚角質層中角蛋白絲和脂質的屏障，使更多的成分滲入其皮下組織，達到有效的局部濃度<sup>4</sup>。

本研究計畫以電化學偵測的技術取代 HPLC 的偵測方式，提供化粧品有效成分經皮吸收之測定時，一個簡便、快速、靈敏且省試劑之線上偵測方法。

### 三、 實驗方法：

#### 3.1 實驗用品

儀器： 恆電位儀。

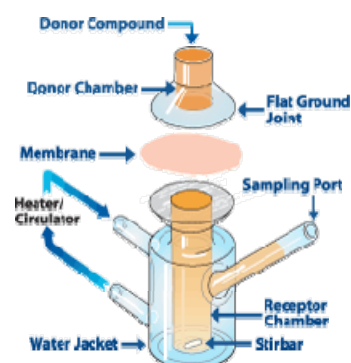
材料： 白金電極、銀-氯化銀電極。

藥品： 水、Ascorbic Acid、Phosphate buffer 與 Potassium Chloride 。

#### 3.2 Franz Cell 之改良設計

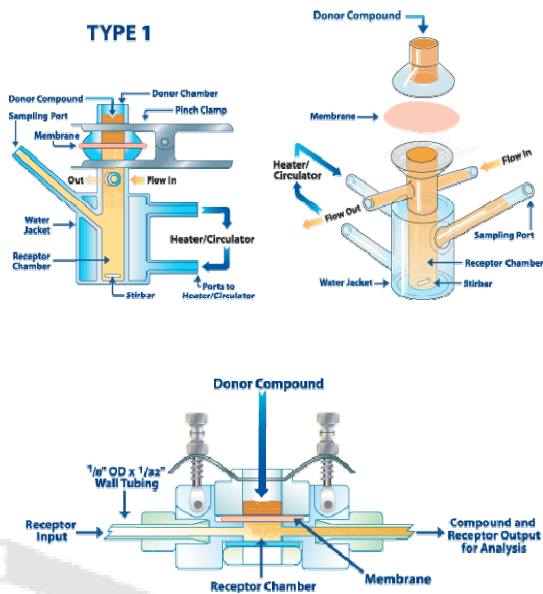
### 四、 結果與討論：

利用 Franz Cell 進行經皮吸收測定早期以靜態槽為主，如右圖所示<sup>5</sup>。待測樣品置於 Donor Chamber，視其穿透 Membrane 或皮膚（鼠皮、兔皮、豬皮或人皮等）的情形，於 Receptor Chamber 中，可穿透 Membrane 或皮膚的濃度會逐漸增加，



經由 Sampling Port 定時取樣以 HPLC 分析其濃度，以確定化粧品有效成分經皮吸收之情形。其最大的缺點在於人體經皮吸收之情形，成分會受到皮膚血流的影響，濃度的增加應不會如利用靜態

Franz Cell 所測得的結果。因此，Franz Cell 的設計就有動態槽（右上圖）與可與 HPLC 串接的線上偵測槽（右圖）。



本研究中綜合經皮吸收時可能的影響因素，將 Franz Cell 改為以電化學方式偵測，並以流動槽模擬皮下血流使其更接近活體的狀態（如下圖所示）。未來將以此測定槽進行化粧品有效成分的經皮吸收研究。



## 五、參考文獻：

1. Z. Lu, J. Bei and S. Wang, *J. Control. Release*, 61, 107-12, 1999.
2. R. Jiang, M.S. Robert, R.J. Prankerd and H.A. Benson, *J. Pharm. Sci.*, 86, 791-6, 1997.
3. V.K. Gupta, J.L. Zata and M. Rerek, *Pharm. Res*, 16, 1602-7, 1999.
4. <http://www.epochtimes.com/b5/3/7/5/n338269.htm>
5. [www.permeagear.com/franz.htm](http://www.permeagear.com/franz.htm)