嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

具有抑制黑色素形成作用之中草藥的開發與研究

子計畫(1)：篩選具有抑制黑色素形成作用之中草藥

計畫類別：□個別型計畫　　■整合型計畫

計畫編號：CNPH93-01

執行期間：93 年 1 月 1 日至 93 年 12 月 31 日

計畫總主持人：王四切

計畫主持人：王四切

共同主持人：陳莉螢；楊政哲

計畫參與人員：陳雅秀；楊永達

執行單位：藥學系

中華民國 94 年 2 月 27 日

前 言

國人自古以來有「一白遮三醜」的觀念，再加上近年來美白保養品大力的廣告與促銷，美白產品不斷地推陳出新，百家崢嶸，基於以上原因，本實驗室想開發新的具有美白效果的原料，於是進行一系列中草藥抑制黑色素生成的預試驗，發現數種中草藥的水抽出物具有抑制黑色素生成的效果，如:何首烏、仙鶴草、槐花米炒製品、旱蓮草等及民間傳說中具有美白作用的水果，如:木瓜、奇異果等，其中以旱蓮草(*Eclipta prostrate* L.)的水抽出物具有良好的抑制酪氨酸酶活性的作用。

旱蓮草是菊科植物鱧腸 *Eclipta prostrata* L.之全草，為一年生草本植物，是常用中藥之一，主用於各種出血性疾病 (如吐血、咯血、衄血或外傷出血)、牙齒鬆動、鬚髮早白、眩暈耳鳴、腰膝酸軟、慢性肝炎、腸炎、痢疾、神經衰弱等之治療。

黑色素的形成是在酪胺酸（tyrosine）的存在下，先經酪胺酸酶的催化，再經由一系列酵素的催化下而形成。在我們初步的實驗結果中發現旱蓮草的萃取液具有抑制酪氨酸酶活性的作用，再加上旱蓮草取得容易又不昂貴，應該具有潛力可以發展成美白產品。

實驗方法

一、中草藥萃取液的製備

將買回來的乾燥中草藥或旱蓮草剪碎成小片狀，浸泡在二次水中，放入水浴鍋中，加熱至 50° C，處理 4 小時後放在室溫冷卻，過濾後之濾液以冷凍乾燥法製成粉末，再以二次水配製成 stock solution，放置於-20 °C 下備用。

二、酪胺酸酶的活性測試

酪胺酸酶的活性分析是採用 *in vitro* 的方式，在 96 孔洞培養皿中，於每個

孔洞中加入 70 μl 的 HBSS 緩衝液、10μl 各種不同濃度的試劑、中草藥或旱蓮草萃取液，及 10 μl 之 2U 酪胺酸酶，放入 37°C 培養箱中反應 30 分鐘，然後再加入 10 μl 的 10 mM L-dopa，繼續反應 5 分鐘後，採用 492 nm 的波長來測其吸光值的變化量。

三、研究步驟 (fig. 1)

旱蓮草的水抽出物(EPW)先使用分子篩 Sephadex LH-20，以水為移動相，進行管柱分離為五個分劃(EPW-1, EPW-2, EPW-3, EPW-4, and EPW-5)，這五個分化再個別進行酪胺酸酶的活性測試，測試結果發現 EPW-2 活性最強；目前計畫以活性試驗的結果當指標，繼續進行分離，以找到真正的抑制黑色素形成的活性本體。活性本體發現後，再進行構造分析，來確定其結構。

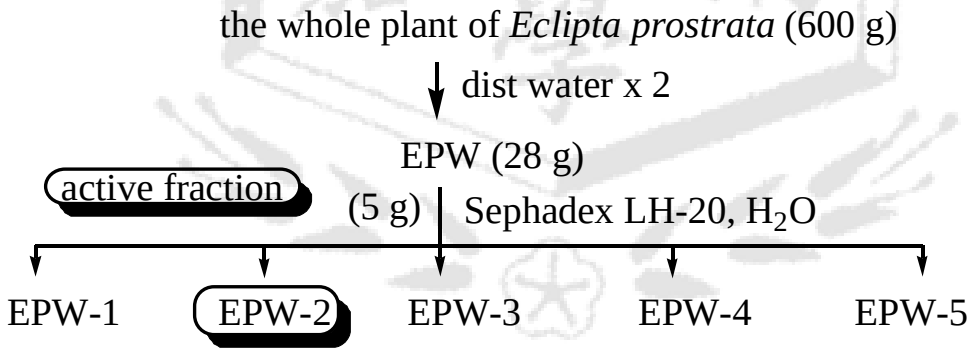

fig. 1

實驗結果及討論

從目前的實驗結果發現，旱蓮草的水萃取物中，以 EPW-2 的分劃抑制黑色素細胞的活性最強，今後將繼續分離出 EPW-2 中抑制黑色素細胞行程的活性本體，並進而決定其構造，以利由合成的方向來開發美白的產品。

另外由於本次的研究題材為水萃取物，在分離濃縮上，可能較耗時間。在本系的冷凍乾燥機若是維護得當，將對本實驗的進行，有相當的幫助。

參考文獻

1. Bachem, A. Ophthalmic action spectra. *Am. J. Ophthalmol*., **41**, 969-975, 1956.
2. Andley, U.P. Photodamage to the eye. *Photochem. Photobiol*., **46**, 1057-1060, 1987.
3. Barker, F.M., Brainard, G.C., and Dayhaw-Barker, P. Transmittance of the human lens as a function of age. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 32S, 1083, 1991.
4. Epstein, J.H. Photocarcinogenesis, skin cancer and aging. *J. Am. Acad. Dermatol.*, **9**, 487-502, 1983.
5. Setlow, R.B. The wavelengths in sunlight effective in producing skin cancer a theoretical analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **71**, 3363-3366, 1974.
6. Redman, J.C. Stratospheric ozone depletion. *Am. J. Dermatopathol.*, **9**, 457-458, 1987.
7. Kojima, S., Yamaguchi, H., Morita, K., and Ueno, Y. Inhibitory effect of sodium 5,6-benzylidene ascorbate (SBA) on the elevation of melanin biosynthesis induced by Ultraviolet-A (UV-A) light in cultured B-16 melanoma cells. *Biol. Pharm. Bull*., **18**, 1076-1080, 1995.