

羥基取代之桂皮酸苯乙酯衍生物合成並探討其抗氧化能力與應用於化粧品之安全性

施佩禎¹ 黃仲挺² 汪文忠¹ 楊朝成^{2*}

¹嘉南藥理科技大學醫藥化學系
²嘉南藥理科技大學化粧品科技研究所

摘要

本研究是以羥基不同位置與數量取代的桂皮酸化合物與苯乙醇進行酯化反應，得一系列羥基不同位置與數量取代的桂皮酸苯乙酯衍生物；並以維生素 E 為對照組，進行一系列試驗：一、清除 DPPH 自由基能力試驗，二、TEAC 總抗氧化能力試驗，三、MTT 細胞毒性等三種測試，以評估其抗氧化能力與安全性測試及未來應用於化粧品上之可行性。

結果發現：抗氧化能力與桂皮酸苯環上羥基取代的數量與位置有關，雙取代羥基比單取代強，其中羥基在桂皮酸苯環上與羰基成對位(R₃)時可增強其抗氧化能力，當羥基被甲氧基取代時會降低抗氧化能力，尤其是發生在 R₃ 時更為顯著，顯示在桂皮酸苯環上與羰基成對位的羥基，在抗氧化上扮演相當重要的角色。在細胞毒性試驗上，所有化合物在有效濃度下，對細胞毒害皆相當低，深具安全性。故本實驗中合成的羥基取代之桂皮酸苯乙酯衍生物未來應用於化粧品的抗氧化功能上極具開發潛力。

關鍵詞：羥基桂皮酸苯乙酯衍生物、自由基、羥基、抗氧化、細胞毒性

*通訊作者：嘉南藥理科技大學化粧品科技研究所
Tel: +886-6-2664911
Fax: +886-6-2667324
E-mail: nyangcc@mail.chna.edu.tw

壹、前言

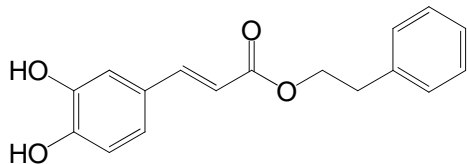
隨著年齡的增長體內的抗氧化酵素的分泌將隨之減少，人體開始無法抑制過多的自由基，同時如紫外線、氣候、菸酒、飲食習慣、空氣污染等外在環境因子也對皮膚造成額外壓力，導致皮膚老化與色素沉澱。諸多因素中以紫外線所造成的傷害最大，在紫外線長期的照射下，產生大量自由基與黑色素，造成色素沉澱影響膚色，最重要的是會加劇皮膚老化，更可能造成細胞基因突變產生癌細胞，升高罹癌症風險；但此外在因素是可以藉由塗抹各種機能性化粧品，如防曬乳液、抗老化保養品等來

預防。

這些機能化粧品主要是藉由消除體內自由基、抑制黑色素生成及預防紫外線傷害等方式，進行抗氧化、美白、防曬效果；從許多研究得知天然物與中草藥中，所含大量類似多酚類結構成分，具捕捉自由基功能，可預防與減少人體內產生過量的自由基，進而達到抗氧化的作用，減少自由基所帶來的傷害。故利用多酚類化合物來進行抗氧化是值得研究的方向⁽¹⁻²⁾。

紅景天屬 (Rhodiola L.) 的紅景天植物於飲食

及醫藥上之應用已有千年歷史⁽³⁾，2008年 Il-Whan Choi 等人⁽⁴⁾從聖地紅景天(Rhodiola Sacra)萃取出 caffeic acid phenethyl ester (CAPE) (圖一)，發現具有抗發炎效果及抑制金屬蛋白酶(MMPs)之活性。



圖一、caffeic acid phenethyl ester (CAPE)結構

此結構具有多酚類構造，可能具有抗氧化的作用，因此本研究既以此為藍本，取不同數量與位置的羥基桂皮酸化合物與苯乙醇或對羥基苯乙醇進行酯化反應，獲得具有相似CAPE構造的桂皮酸苯乙酯衍生物，目前尚未有文獻探討此類化合物的生物活性；故本實驗將對其進行生物活性評估試驗，探討其抗氧化功效與其安全性。希望藉由簡單的合成方式，能獲得更有效、具多功能用途及高經濟效益的化粧品成份。

二、材料與方法

(一)、實驗藥品與儀器：

1. 藥品：2-Hydroxycinnamic Acid、3-Hydroxycinnamic Acid、4-Hydroxycinnamic Acid、3,4-Dihydroxycinnamic Acid、3-Hydroxy-4-Methoxycinnamic Acid、4-Hydroxy-3-Methoxycinnamic Acid、2,5-Dihydroxybenzoic Acid、2-Phenylethyl Alcohol、3,4-Dihydroxybenzoic Acid (東京化工)。丙酮、乙醇(95%)、乙酸乙酯、正己烷(ECHO Chemical)。Silical gel (景明化工)。P-Toluenesulfonic Acid (昭和化學)。1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazyl、Peroxidase、2,2-azinbis (3-ethylbenzothiazyl-6-sulfonic acid) Diammonium salt (ABTS)、甲醇、雙氧水(30%)、磷酸二氫鉀、磷酸氫二鉀 (Sigma)。6-Hydroxy-2,5,7,8-tetra-methyl-chroman-2-carboxylic Acid (MECRK)。Dimethyl Sulfoxid、Methylene chloride (TEDIA Company)。Methanol-d₄、Chloroform-d (Cambridge)。

L-(+)-Ascorbic Acid (Lancaster)。L-Tyrosine (Fluka)。Sodium sulfate (SHOWA)。

2. 儀器：NMR 核磁共振儀 (Avancetm DPX-200MHz, Bruker)、ELISA reader (ANTHOS 2010)、Vortex-2 Genie (Scientific Industries)、恆溫培養箱(Incubator DB-30)、熔點測試儀(FIRSTEK B-300)、紫外線/可見光雙光束吸收光譜分析儀(HITACHI U-2900)、超低溫反應器(NESLAB UR-8500/5000)

(二)、實驗方法

利用酯化反應，得一系列羥基取代之桂皮酸苯乙酯衍生物，再進行下列體外活性及細胞毒性測試：(1) Antioxidant—DPPH method，(2) Antioxidant—TEAC，(3) MTT 細胞毒性試驗；(1)、(2)皆以 ELISA reader 偵測其吸光值，後換算得到不同活性之數值。

1. 試劑配製

- (1). DPPH 試劑：4.4 mg DPPH 溶於 50.0 ml 乙醇(95%) 4°C 避光保存。
- (2). ABTS 溶液：5.4 mg ABTS 溶於 10.0 ml 去離子水中。
- (3). 磷酸緩衝液(PBS)：磷酸二氫鉀與磷酸氫二鉀重量比 2:1 溶於去離子水中，以 0.1N HCl_(aq)及 0.1N NaOH_(aq) 調至 pH=7.4。

2. 羥基取代之桂皮酸苯乙酯衍生物合成

將不同羥基取代之桂皮酸(或羥基苯甲酸)系列化合物與 2-苯乙醇以 2:1 之莫耳比例混合，在 p-Toluenesulfonic Acid 催化下，以 DMSO 當溶劑加熱反應 72 小時。反應完加入去離子水後離心，沉澱物以乙酸乙酯萃取、濃縮，再用乙酸乙酯/正己烷(10~30%)當沖提液，以矽膠管柱分離、純化後，獲得酯化產物 (1a/b~8a/b)，產率約 65.32~73.56 %。

3. 體外活性試驗

(1).清除 DPPH 自由基能力試驗⁽⁵⁻⁷⁾

分別將不同羥基取代之桂皮酸苯乙酯化合物 (1a/b~8a/b)，配製成適當濃度之乙醇溶液，再加入 4 倍之 DPPH 試劑，使試樣最終濃度分別為 0、3.0、5.0、10.0、15.0、30.0 µg/ml，室溫下避光 30 分鐘

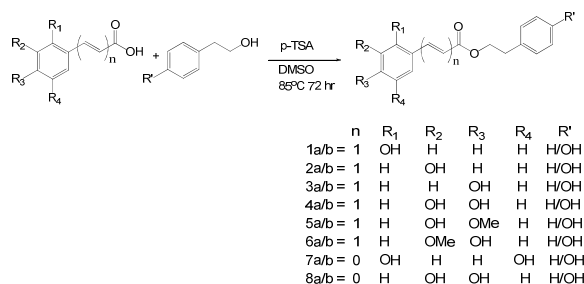
後，以 ELISA reader 測其 540 nm 之吸光值，並以維生素 E(Trolox)為對照組，求出各化合物 DPPH 清除率。清除率= $[(A_{540} \text{ of control}-A_{540} \text{ of sample}) / A_{540} \text{ of control}] \times 100\%$ 。

(2). TEAC 總抗氧化能力試驗⁽⁸⁻¹⁰⁾

ABTS 溶液配製方法為 1:1:1:6 體積比方式混合調配(1000 μM ABTS 溶液 / 500 μM H₂O₂ 溶液 / 44 unit/ml Peroxidase / H₂O)，室溫下避光 1 小時備用。分別取適量不同羥基取代之桂皮酸苯乙酯衍生物(1a/b~8a/b)溶於乙醇中，取 20 μl 試樣加入 180 μl ATBS 溶液混合，使其試樣最終濃度為 0、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0 μg/ml，室溫下避光反應 10 分鐘。最後以 ELISA reader 測其在 655 nm 的吸光值，並以維生素 E(Trolox)為對照組，求出抑制 ABTS 自由基之能力。抑制 ABTS 自由基能力= $[(A_{655} \text{ of control}-A_{655} \text{ of sample}) / A_{655} \text{ of control}] \times 100\%$ 。

(3). MTT 細胞毒性試驗

將 100μl 3T3 細胞培養液於 96 孔盤中，讓每孔細胞數為 5x10⁴，培養於 37°C 含 5% CO₂ 中 24hr。取出 medium，經 pH 7.4 PBS 清洗後，再加入 100 μl medium 與適量試樣溶液；使樣品最終濃度分別為 0、10.0、50.0、100.0 μg/ml，DMSO 含量為 3%；繼續培養 24hr。取出 medium 加入 100 μl 濃度為 0.5 mg/ml MTT 試劑，避光培養 3 小時，取出 MTT 試劑再加入 100 μl DMSO；ELISA reader 測其在 540nm 之吸光值，並求出各濃度之細胞存活率。細胞存活率= $[(A_{540} \text{ of control} - A_{540} \text{ of sample}) / A_{540} \text{ of control}] \times 100\%$ 。



圖二、羥基取代之桂皮酸苯乙酯衍生物合成

(二).體外測試

1.清除 DPPH 自由基能力試驗

表一中所見，在清除 DPPH 自由基能力上很明顯的單羥基取代之桂皮酸苯乙酯衍生物都不佳 SC₅₀>1000 μg/ml，但雙取代衍生物 4a/b、7a/b、8a/b 的都顯著的比對照組 Trolox 效果還好 SC₅₀ (清除 50% 自由基之濃度)(圖三)皆低於 Trolox 的 9.94±0.09 μg/ml。

表一、DPPH 自由基清除能力(%)

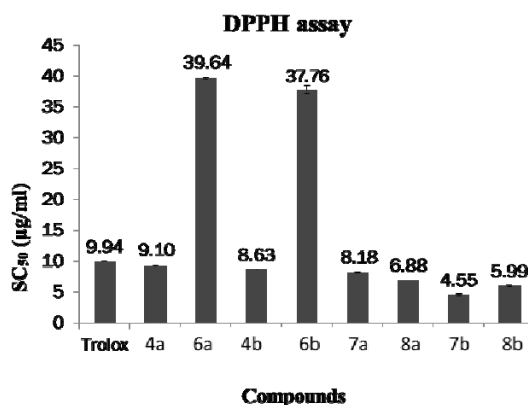
濃度 化合物	3.0	5.0	10.0	15.0	30.0	50.0	Sc ₅₀
4a	10.79 ±0.6	21.63 ±0.88	57.12 ±2.16	73.74 ±1.74	79.88 ±0.27		9.10 ±0.27
4b	16.64 ±1.71	27.5 ±0.62	58.78 ±0.79	76.64 ±1.01	80.04 ±1.53		8.63 ±0.08
6a		8.24 ±0.78	17.91 ±1.07	26.69 ±0.66	43.79 ±0.09	59.24 ±0.33	39.64 ±0.15
6b		5.85 ±0.63	17.49 ±0.35	24.01 ±1.22	42.76 ±0.78	63.16 ±1.21	37.76 ±0.69
7a	20.19 ±4.24	30.71 ±2.07	60.82 ±2.13	85.52 ±0.73	95.25 ±0.48		8.48 ±0.11
7b	32.62 ±1.82	55.18 ±2.76	80.69 ±2.22	94.02 ±0.20	93.6 ±0.17		4.55 ±0.19
8a	20.42 ±0.57	37.15 ±0.58	73.03 ±0.32	81.52 ±0.70	81.82 ±0.38		6.88 ±0.02
8b	27.42 ±1.57	42.4 ±1.48	81.89 ±1.14	83.02 ±0.12	83.68 ±0.25		5.99 ±0.12
Trolox	16.72 ±0.78	26.01 ±2.80	50.14 ±0.28	81.50 ±1.18	87.75 ±0.49		9.94 ±0.09

*單位=μg/ml 化合物 1a/b、2a/b、3a/b、5a/b Sc₅₀> 1000μg/ml 未列於表一

三、結果與討論

(一).羥基取代之桂皮酸苯乙酯衍生物合成

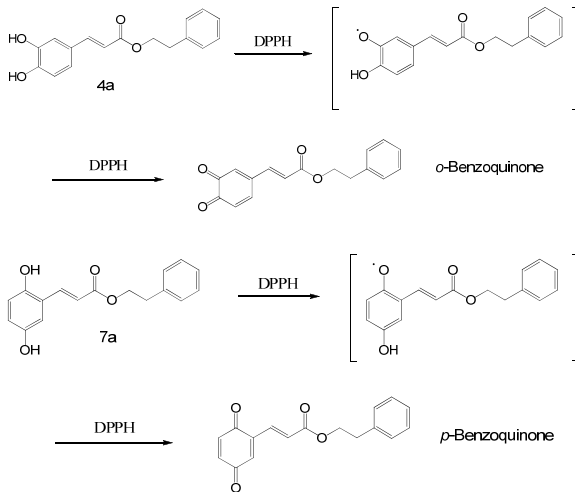
羥基取代之桂皮酸苯乙酯衍生物可以從 ¹H-NMR 與 ¹³C-NMR 光譜鑑定結構，以化合物 1a 為例，¹H-NMR 圖譜中原本苯乙醇上 HO-CH₂CH₂-接 OH 的 CH₂三重峰從原來 3.50 ppm 往低磁場偏移至 4.36 ppm 代表已生成酯類，且在 7.16~7.32 ppm 為多了苯環吸收峰。¹³C-NMR 光譜 36.6、66.3ppm 中多出 2 級碳(-CH₂CH₂-)與 120~130ppm 苯環吸收皆可確認結構，其反應如圖二。



圖三、抗氧化清除 DPPH 自由基能力測試

推測抗氧化能力，主要是藉由多酚類化合物的羥基提供氫原子，來捕捉 DPPH 自由基；所以化合物中(4a/b、6a/b、7a/b、8a/b) 羥基取代數量較多活性也較強；且所有 R'為 OH 的 b 類化合物，其清除自由基的能力都比 a 類(R'=H)好，證明乙基苯環上有 OH 基時，能增加抗氧化效果⁽¹¹⁾；比較化合物 4a/b、8a/b 發現縮短羰基與苯環的碳鏈有較佳的清除自由基的能力。

當 OH 雙取代互為鄰位(化合物 4a/b、8a/b)與對位(化合物 7a/b)的多酚結構時，在捕捉自由基過程中，能形成穩定的鄰位或對位苯醌(Benzoquinone)結構，故具有強消除自由基的能力；其清除自由基機制如圖四。

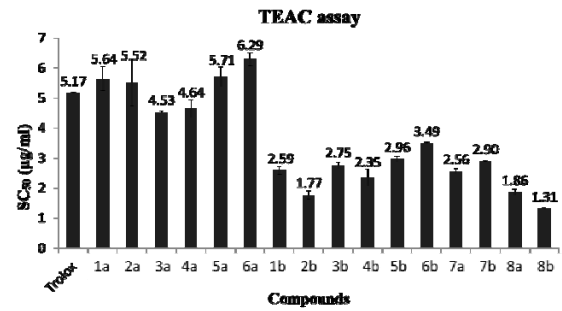


圖四、化合物 4a、7a 與 DPPH 自由基反應

但雙取代 OH 基中如被 OMe 取代後，清除自由基效果明顯降低(化合物 5a/b、6a/b)，且以取代位置為對位的 R₃ 位置(化合物 5) 降幅最大，已無清除 DPPH 自由基能力(SC₅₀> 1000 μg/ml)。

2. TEAC 總抗氧化能力試驗

在總抗氧化能力上所有桂皮酸苯乙酯衍生物都有很好效果(圖五、表二)；而雙羥基取代之(化合物 4a/b、7a/b、8a/b)比單取代(化合物 1a/b、2a/b、3a/b)有更突出表現，甚至 Trolox 還要好許多，但當其中之一 OH 被 OMe 取代時總抗氧化能力下降，尤其是取代於乙基苯對位的化合物 6a/b 下降更多，表示這個位置(R₃)在抗氧上相當重要。在單取代化合物中 3a/b (SC₅₀=4.53、2.57)在 R₃ 位置為 OH，其總抗氧化能力也比其他單取代好可映證。



圖五、總抗氧化能力 TEAC 活性測試

縮短羰基與苯環的碳鏈有較佳的抗氧化效果，可從化合物 7a/b、8a/b 比 4a/b 有更好的抗氧化能力再次驗證。所有 R'為 OH 的 b 類化合物，其抗氧化能力都比 R'為 H 的 a 類好，且 SC₅₀ 都低於 Trolox 許多。

表二、桂皮酸苯乙酯衍生物總抗氧化能力測試(%)

化合物	0.5	1.0	2.0	5.0	10.0	SC ₅₀
1a	9.63 ±0.71	16.01 ±0.98	26.30 ±0.95	49.22 ±1.56	79.19 ±1.10	5.64 ±0.41
1b	13.99 ±0.02	24.95 ±1.98	43.54 ±2.26	84.79 ±0.45	95.72 ±1.95	2.59 ±0.14
2a	8.52 ±0.03	13.19 ±0.97	21.69 ±0.69	45.56 ±1.61	89.68 ±1.06	5.52 ±0.79
2b	14.52 ±1.92	29.28 ±1.65	55.61 ±1.64	88.44 ±2.75	95.53 ±0.66	1.77 ±0.13
3a	9.57 ±1.74	17.71 ±1.84	24.75 ±2.72	54.63 ±1.00	90.18 ±0.92	4.53 ±0.04
3b	1.35 ±1.94	28.79 ±0.61	39.86 ±1.08	78.26 ±1.78	91.69 ±2.55	2.75 ±0.11
4a	8.29 ±4.36	13.13 ±1.39	30.82 ±1.70	50.53 ±2.58	92.67 ±0.62	4.64 ±0.30
4b	13.70 ±1.44	32.98 ±0.32	48.10 ±5.67	79.63 ±1.01	98.01 ±2.15	2.35 ±0.28
5a	9.65 ±3.18	13.54 ±0.49	20.16 ±3.93	45.39 ±0.66	83.47 ±0.62	5.71 ±0.33
5b	14.42 ±2.11	22.91 ±0.94	37.48 ±0.45	77.58 ±2.99	98.18 ±0.90	2.96 ±0.09
6a	5.72 ±1.58	10.14 ±0.20	18.01 ±1.15	42.44 ±1.89	76.05 ±2.53	6.29 ±0.22
6b	7.73± 0.93	15.88 ±0.20	31.56 ±0.73	69.65 ±0.53	95.38 ±0.65	3.49 ±0.03
7a	9.88 ±0.88	23.32 ±1.03	44.02 ±2.54	87.93 ±2.09	100.00 ±0.18	2.56 ±0.09
7b	19.38 ±0.94	35.12 ±0.05	54.57 ±1.51	97.73 ±0.35	98.90 ±0.11	1.86 ±0.09
8a	10.68 ±0.64	18.90 ±0.11	34.60 ±0.94	84.90 ±0.64	99.93 ±0.46	2.90 ±0.02
8b	21.64 ±1.03	40.06 ±0.95	73.12 ±2.35	97.52 ±0.89	98.96 ±0.20	1.31 ±0.04
Trolox	6.06 ±1.11	9.30 ±0.39	17.49 ±1.79	47.36 ±1.50	100.62 ±0.55	5.17 ±0.02

*單位=μg/ml

3. MTT 細胞毒性試驗

實驗結果發現除了化合物 4a/b 在濃度 100.0 ug/ml 時具有明顯細胞毒性之外(細胞存活率 =

17.46±1.60)，化合物 1a/b、2a/b、3a、5a、7a 在毒性測試時，短時間時細胞可能會有稍微的刺激性產生，使得在 24 小時細胞存活力有稍微下降(細胞存活力皆大於 80%)，但經 48 小時後細胞有增生現象，判斷這些化合物在此濃度下不具毒性。而化合物 4a/b 雖然在高濃度 100.0 ug/ml 時，有明顯的細胞毒性，但在抗氧化試驗中，所用的濃度都很低 (SC₅₀<10 μg/ml)便能具有優異活性，因此化合物 4a/b 仍深具開發潛力。

表五、MTT 細胞毒性側測試

化合物	24 小時細胞存活率%			48 小時細胞存活率%		
	10.0	50.0	100.0	10.0	50.0	100.0
1a	97.27 ±7.96	78.86 ±7.33	99.56 ±2.90	96.33 ±2.46	97.47 ±3.68	96.33 ±2.46
1b	111.76 ±14.34	108.38 ±15.84	115.22 ±11.76	92.36 ±2.93	131.04 ±8.44	92.36 ±2.93
2a	93.08 ±4.41	76.85 ±3.13	104.41 ±6.33	93.69 ±1.24	93.15 ±2.87	93.69 ±1.24
2b	122.5 8±6.17	86.83 ±8.96	103.4 2±9.55	93.47 ±5.09	124.2 9±6.65	93.47 ±5.09
3a	104.77 ±6.53	94.79 ±3.47	130.54 ±4.43	99.64 ±0.70	117.21 ±1.96	99.64 ±0.70
3b	126.51 ±32.48	131.97 ±4.86	127.31 ±3.48	101.59 ±2.10	146.47 ±9.46	130.45 ±8.84
4a	98.71 ±15.75	62.05 ±8.12	17.46 ±1.60	99.68 ±5.17	56.43 ±3.48	19.85 ±1.39
4b	101.64 ±14.25	67.90 ±2.78	33.64 ±2.32	85.74 ±0.83	62.01 ±0.89	21.25 ±2.98
5a	96.80 ±5.54	90.09 ±13.31	105.26 ±4.10	96.52 ±0.16	108.87 ±21.62	96.52 ±0.16
5b	99.87 ±11.54	111.44 ±23.61	103.72 ±3.92	79.79 ±1.01	97.20 ±5.56	105.50 ±17.69
6a	104.02 ±7.55	113.49 ±7.15	138.47 ±1.39	97.99 ±4.62	101.88 ±10.84	96.73 ±6.16
6b	110.25 ±10.80	122.61 ±5.60	108.63 ±6.00	91.94 ±5.89	107.81 ±3.76	103.15 ±9.80
7a	117.72 ±12.60	111.50 ±18.36	117.92 ±4.25	78.01 ±1.15	97.62 ±23.99	110.45 ±14.97
7b	124.09 ±24.89	72.36 ±0.30	14.37 ±1.34	89.97 ±5.86	74.42 ±7.66	11.77 ±0.56
8a	107.51 ±2.35	95.10 ±4.89	94.50 ±4.77	95.40 ±1.91	89.98 ±4.19	86.54 ±3.25
8b	103.40 ±3.15	95.09 ±9.79	72.99 ±5.14	91.02 ±8.14	86.37 ±5.35	73.80 ±2.53

*單位=μg/ml

四、結論

桂皮酸苯乙酯的衍生物結構與抗氧化能力，有下列關係。

(一).桂皮酸苯環上羥基數越多抗氧化能力越強；如羥基雙取代化合物大於單取代，乙基苯環上有羥基的 b 類化合物大於 a 類。

(二).羥基接在與羰基成對位的 R₃ 位置時，抗氧化表現更佳，當羥基被換成 OMe 時能力會降低，尤其是置換在 R₃ 位置時下降更為顯著。

(三).縮短桂皮酸苯環與羰基的碳鏈，可增加衍生物的抗氧化能力。

(四). 4a/b 毒性較高可能為此二酚位於鄰位，推測其解離一 H⁺後可形成分子內五環氫鍵穩定，酸性較強，故對細胞毒性也較大。但在有效濃度下，具低的細胞毒性，使用上仍相當安全。

綜合以上關係，以化合物 4a/b、8a/b 的效果最好，合成方法簡單、產率高，最具有開發成機能性化妝品的潛力。

謝辭

感謝嘉南藥理科技大學在實驗室、實驗儀器及經費上的支持才能完成本研究。

參考文獻

1. C. T. Yeh, and G. C. Yen, "Modulation of hepatic phase II phenol sulfotransferase and antioxidant status by phenolic acid in rats.", *Journal of Nutritional Biochemistry* 17, 561-569, 2006
2. R. Kohen, A. Kakunds, and A. Rubinstein, "The Role of Cationized Catalase and Cationized Glucose Oxidase Mucosal Oxidative Damage Induced in the Rat Jejunum.", *The Journal of biological chemistry*, Vol. 267(30), 21349-21354, 1992
3. C.D. Shih.* (2011) 紅景天根部萃取物對血壓調節之保健功能開發。農業生技產業季刊, 27, 47-53.
4. W. K. Jung, D. Y. Lee, J. H. Kim, I. Choi, S. G. Park, S. K. Seo, S. W. Lee, C. M. Lee, Y. M. Park, Y. J. Jeon, C. H. Lee, B. T. Jeon, Z. J. Qian, S. K. Kim, I. W. Choi, "Anti-inflammatory activity of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) extracted from *Rhodiola sacra* against lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in mice.", *Process Biochemistry* 43, 783-787, 2008

5. A. C. C. A. E. G. Sant'Ana, M. Pletsch, L. C. B. B. Coelho, "Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*.", *Bioresource Technology* 95, 229-233, 2004
6. T. Ak, I. Gulcin, "Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin.", *Chemico-Biological Interactions* 174, 27-37, 2008
7. T. Yamaguchi, H. Takamura, T. Matoba, J. Terao, "HPLC Method for Evaluation of the Free Radical-scavenging Activity of Foods Using 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl.", *Niosci. Biotechnol. Biochem.* 62(6), 1201-1204, 1998
8. R. van den Berg, G. R. M. M. Haenen, H. Van den Berg, W. Van der Vijgh, A. Bast, "The predictive value of antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay.", *Food Chemistry* 70, 391-395, 2000
9. A. M. Osman, K. K. Y. Wong, A. Fernyhough, "ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: Isolation and structural elucidation of covalent adducts.", *Biochemical and Biophysical Research Communications* 346, 321-329, 2006.
10. S. Milardovic, I. Kerekovic, R. Derrico, V. Rumenjak, "A novel method for flow injection analysis of total antioxidant capacity using enzymatically produced ABTS⁺ and biamperometric detector containing interdigitated electrode.", *Talanta* 71, 213-220, 2007
11. O. Nerya, R. Musa, S. Khatib, S. Tamir, J. Vaya, "Chalcones as potent tyrosinase inhibitors : the effect of hydroxyl positions and numbers.", *Photochemistry* 64, 1389-1395, 2004

Studies on Synthesis of Hydroxyl Substituted 2-Phenylethylcinnamate Derivatives as Their Anti-oxidation on Cosmetic Application

Pei Jen Shih¹ Chong Ting Huang² Wen Jong Wang¹ Chau Chen Yang^{2*}

¹ Department of Medicinal Chemistry,

² Department of Cosmetic science and Institute of Cosmetic Science,
Chia-Nan University of Pharmacy and Science, Tainan, Taiwan 71710, R.O.C.

Abstract

The study uses cinnamic acid substituted with different positions and amounts of hydroxyl and 2-phenylethanol to conduct esterifications. Then we gain a series of 2-phenylethylcinnamate derivatives (compound 1a/b-8a/b) of different positions and amounts of hydroxyl. Then as vitamin E as a comparison and conducted a series of experiments: First, the experiments of scavenging DPPH free radicals, second, the experiments of the efficiency of anti-oxidation of TEAC and third, the experiments of toxicity of the cells of MTT. The three experiments are aimed to assess the efficiency of anti-oxidation, and safety testings and the possibility of applying on cosmetics in the future.

It is found that the efficiency of anti-oxidation is related with the amounts and positions of hydroxyl-substituted on 2-phenylethylcinnamate derivatives. The efficiency is stronger when there is two-substituted of hydroxyl groups than monosubstituted, hydroxyl-substituted plays an important role during the action especially when hydroxyl-substituted is attached to *para* position on phenyl of cinnamic acid. However, the efficiency goes down when it is substituted by methoxyl rather than hydroxyl group especially in the R₃ position. Additionally, under effective concentration, all compounds reveal high safety and low toxicity to cells in. Therefore, the 2-phenylethylcinnamate derivatives that is substituted by hydroxyl is full of potential on the development of the efficiency of anti-oxidation in cosmetics in the future.

**Key words: Hydroxyl Substituted 2-Phenylethylcinnamate Derivatives , free radical ,
Hydroxyl ,Anti-oxidation , toxicity to cells**

*Correspondence: Department of Cosmetic science and Institute of Cosmetic Science, Chia-Nan University of Pharmacy and Science, Tainan, Taiwan 71710, R.O.C.

Tel: +886-6-2664911

Fax: +886-6-2667324

E-mail: nyangcc@mail.chna.edu.tw