

壹、緒 言

第一章 皮膚與黑色素

一、皮膚的構造：

皮膚總面積大約是 1.6-2.0 平方公尺⁽¹⁾，皮膚包覆著我們的身體，可以防止外來的各種刺激、傷害而發揮保護人體的功用^(2,3)。

皮膚的層次 (Layers of the skin)^(1,2,3,4)

皮膚由外而內大致分為表皮、真皮和皮下組織三層，另外有一些附屬器官，如毛髮、指甲、皮膚腺體（汗腺、皮脂腺）等存在。

表皮 (Epidermis)

表皮可分為兩大層，角層（表皮的最終排泄物）及 Malpighi 氏層（活的表皮），是皮膚最表淺的一層，其平均厚度大約 0.1~0.3 mm⁽⁴⁾。表皮由上而下依次可以分為：角質層 (stratum corneum) 透明層 (lucid layer) 顆粒層 (stratum granulosum) 棘皮層 (stratum spinosum) 與基底層 (stratum basale) (圖一)⁽⁵⁾。

表皮包括了三種完全不同的細胞 (圖二)^(1,6)，角素形成細胞 (Keratinocytes) 黑色素細胞及朗格罕氏細胞 (Langerhans cells)。

角素形成細胞：

能產生角素，負責表皮許多保護的功能，是構成表皮主要的部分。角素形成細胞由基底層轉移到表層時，會漸漸變為扁平狀，胞橋小體 (desmosomes) 在細胞間的接連也扮演一個重要的角色。角素

形成細胞主要是形成皮膚最外層的角質層，是表皮的排泄產物，通常是死的角素細胞。角質層的細胞由含硫較少的纖維蛋白及含硫較多的非結晶型蛋白質（amorphous protein）所組成，是所有纖維蛋白質中最強韌的構造之一，雖然它很薄，但保護能力卻是很強的。

黑色素細胞：

產生黑色素，吸收可見光與紫外光，作為保護的色素。黑色素細胞位於基底細胞層、毛囊、腦膜及眼睛的脈絡膜層，是由胎兒的神經脊（neural crest）分化而成，黑色素在此細胞中形成。

朗格罕氏細胞：

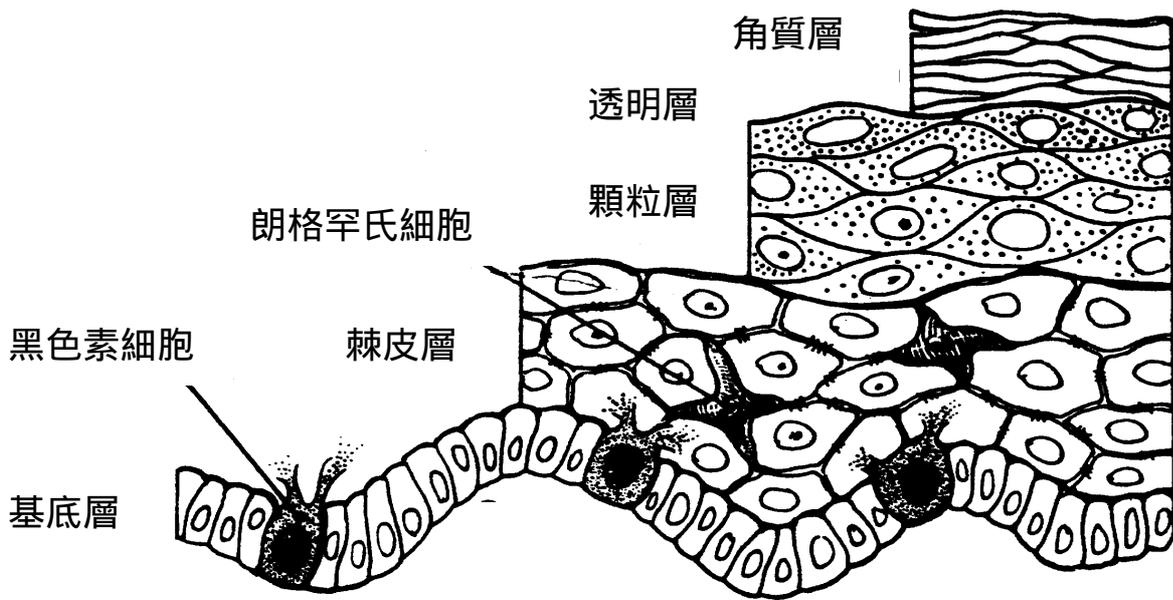
負責吞噬作用，且在表皮與局部淋巴結間的抗原（antigen）運送中，扮演一個與免疫有關的重要角色。

二、皮膚的生理功能

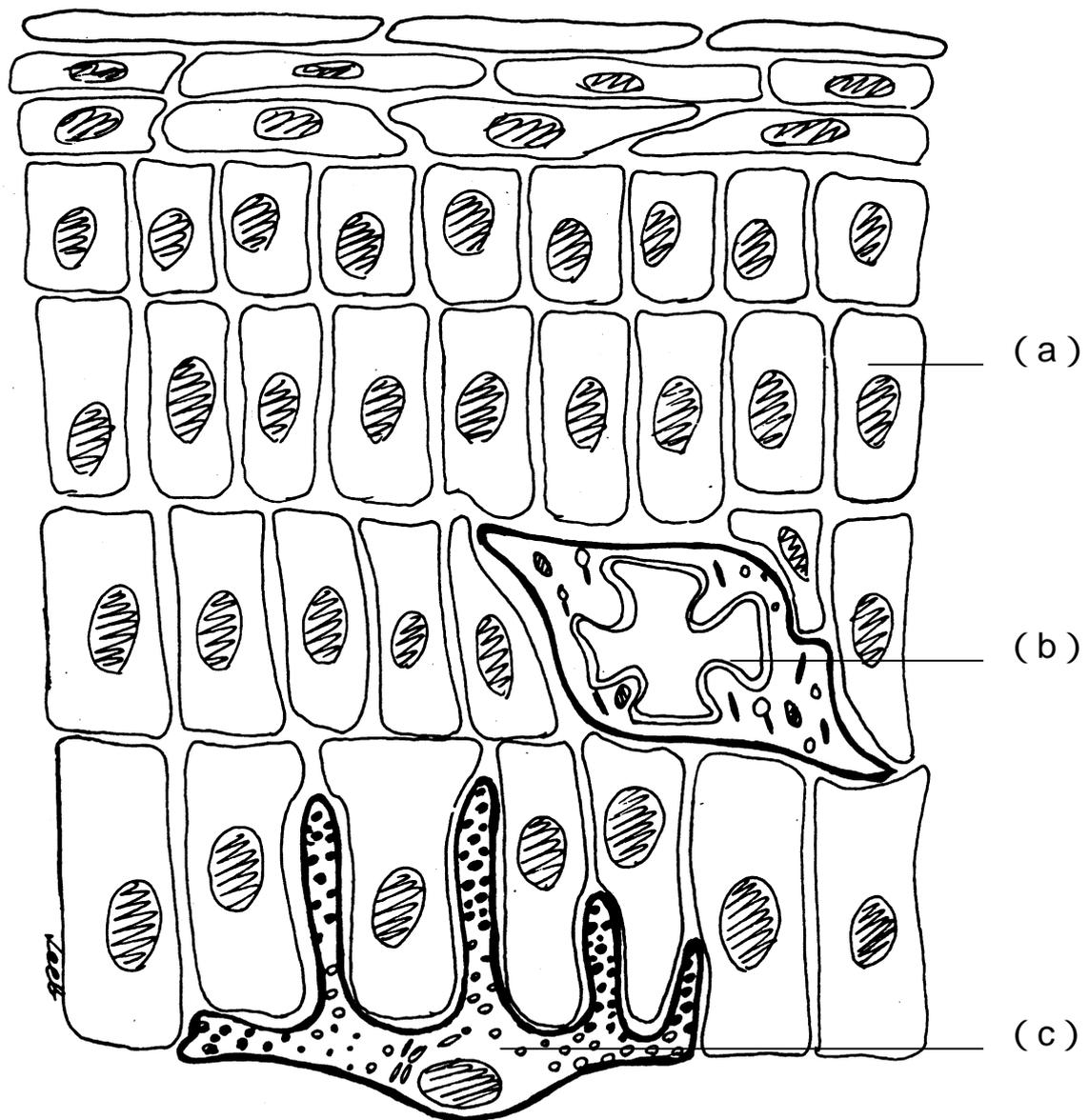
皮膚是人體最外的一層組織，其主要功能有保護、調節體溫、分泌、吸收、排泄代謝、感覺及參與免疫及反應等作用，它的正常功能對於身體的健康至關重要，身體的異常情況也可以由皮膚反映出來（1,2,9）。

（一）保護作用

皮膚參與全身的防禦性反射機制，防止機械性和化學刺激以及光、電、熱及微生物等各種環境因子的侵襲。例如表皮角層柔韌而緻密，真皮層韌的纖維組織使皮膚有抗拉性及彈性，皮下脂肪富有彈



圖一 表皮的組成⁽⁶⁾



圖二 表皮的三種不同的細胞⁽⁴⁾

(a) 角素形成細胞

(b) 朗格罕氏細胞

(c) 黑色素細胞

性，能減輕或抵消外界的衝擊。由皮脂腺分泌的皮脂，能使皮膚滋潤，避免角質層的乾燥皸裂，還能防止皮膚內的水分過度蒸發和體外水分的向內滲透。由於皮膚表面偏酸性（pH 5.5-7.0）以及表皮皮質層的緻密堅韌，不僅能阻止致病菌侵入體內，還使附著於角質層上的致病菌隨著角質自然脫落而離開體表，同時皮脂腺及汗腺分泌物在角質層上構成一層防菌抑菌乳化膜，它所含的乳酸、脂肪酸及碳酸性液體可以抑制微生物的繁殖生長。角質層細胞排列緊密，且不易傳熱和導電。此外，皮膚中的黑色素能吸收紫外線而避免光線對皮膚傷害。

（二）分泌和排泄作用

人體皮膚的汗腺和皮脂腺具有分泌和排泄功能。如在高溫環境中，身體可通過發汗散熱。由於皮膚表面偏酸性以及表皮皮質層的緻密堅韌，能阻止致病菌侵入體內，排除代謝物。皮脂腺具有油脂、脂肪酸、蛋白質及少量膽固醇，其分泌量於青春期達高峰，其後逐漸減少，因性激素的影響，皮脂與汗液乳化後在體表形成乳化膜，可使角質層柔軟、潤澤肌膚，可防止微生物、某些化學品及水分侵入皮膚，皮脂分解後脂肪酸還能抑制細菌的生長與繁殖。

（三）吸收作用

皮膚雖然有屏障作用，能防止水分及某些化學物質進入體內，但皮膚並非是絕對嚴密而不滲透的組織，仍有一些物質可以被皮膚選擇性地吸收，一般而言，其吸收量不僅與皮膚表面特徵有關，同時也與其吸收部位、皮膚的含水量、環境的溫度、產生吸收現象的物質之理化性質等等有密切相關。皮膚表面的乳化膜是由油脂類和乳酸類等成

分（如氨基酸、尿素、尿酸、乳酸、氨、脂肪酸、固醇類、磷脂）構成^(M-1)，加上位於角質層與顆粒層、表皮與真皮之間的雙重基膜等天然屏障，所以一般物質即使透過角層，也難以進入真皮及體內。水溶性物質，難以透過皮膚而被吸收，而脂溶性物質如維生素 A、D、K 及激素、油脂等，則較易被吸收，從美容品的劑型上看，軟膏、面膜要比水劑、粉劑吸收要好得多。但值得提醒的是，某些皮膚病的發生以及在表皮炎症和損傷的情況下，會降低皮膚的屏障作用而增加皮膚的吸收⁽²⁾。此外，塗抹外用美容藥品後，以塑膠薄膜覆蓋或濕敷法，可使皮膚中含水量增加，有利藥品於皮膚上的吸收。

（四）代謝作用

皮膚除儲藏大量的水分和脂肪外，還有蛋白質、醣類、維生素、無機鹽類，這些物質都參與整個身體的代謝，所以，當身體有代謝的障礙時，會導致功能減退或皮膚病的發生；相對的，皮膚的代謝發生障礙時，也會影響身體的代謝。

皮膚中的水分主要集中在表皮和真皮中，約佔 70% 左右，是整個身體儲藏水分的重要器官，約佔人體水分的 18-20%。因此，對整體的水分也具有調節作用。當身體脫水時，皮膚中大約有 5-7% 的水分進行血循環以補充其水量，皮膚也是鹽類的主要儲存庫，在各種無機鹽中，氯化鈉含量最多，此外，皮膚中的鉀、鈣、鎂、銅、磷等均參與皮膚中生物新陳代謝過程。皮膚還是血醣的儲存庫。當體內血醣增高時，大量的血醣就進入皮膚，如果血醣減少，皮膚中的血醣就迅速地釋放入血液。

皮下組織是人類主要的脂肪儲存中心。在營養缺乏時，表皮內的

7-脫氫膽固醇（7-dehydrocholesterol）經紫外線照射後能轉為維生素 D。

皮膚中的各種組織的主要成分是蛋白質，如白蛋白、球蛋白、膠原蛋白、彈力硬蛋白、角蛋白等，同時皮膚在蛋白質代謝過程中，生成之化合物如尿素、肌酸、胺基酸、脂肪、磷酸等蛋白質。

（五）感覺作用

皮膚內含有豐富的神經纖維網及各種神經末梢，其中亦含有感受器，如觸感小體（Messner's corpuscles）及環層小體（Pacini's corpuscles），能將外界刺激引起的神經衝動傳入大腦皮質後而產生痛、癢、麻、冷、熱等各種感覺。在日常生活中，人體皮膚極易受到外傷、細菌感染或炎症、溫度變化、日光照射等因素的傷害，過度刺激會使皮膚感覺喪失以及皮膚老化。

（六）調節體溫作用

正常的體溫對維持身體生理功能非常重要。在中樞神經系統的控制下，健康人的體溫保持一定。當外界氣溫升高時，皮膚毛細血管擴張度增加，由身體內部流入皮膚的血液增多，散熱量加速，使體溫不致於過度升高。當外界溫度降低，皮膚中毛細血管收縮，微循環血流量減少，散熱量減低，以防止熱量散放過多及體溫過度降低。

（七）免疫作用

皮膚是人體重要的免疫器官。皮膚免疫可分為特異性和非特異性免疫兩種。特異性免疫是指皮膚能抵抗各種抗原，如細菌、異物、生物毒素、異體的組織細胞等侵襲時將產生免疫反應。其中，參與體液

免疫反應的活性物質主要是存在於血漿及體液中的免疫球蛋白抗體 (immunoglobulin, Ig), 及少量的補體 (complement), 參與細胞免疫反應的活性物質有多種, 如巨噬細胞活化因子 (macrophage activating factor)、巨噬細胞集聚因子 (macrophage aggregating factor)、游走抑制因子 (migration inhibitory factor)、趨化因子 (chemotactic factor)、干擾素 (interferon)、淋巴毒素 (lymphotoxin) 等。非特異性免疫在個體出生時就具備, 又稱天然免疫, 初步與外來異物接觸即可發生反應, 如皮膚及粘膜。當皮膚血液中的吞噬細胞、溶菌菌退或在病理情況下, 就會引起感染、炎症、紅腫以及各種皮膚疾病。

三、皮膚的顏色

Toda 等人於 1972 年表示⁽⁷⁾, 不同人種的一般膚色取決於下列幾個因素:

- a. 皮膚表面的反射係數
 - b. 表皮及真皮的吸收係數
 - c. 表皮及真皮的散射係數
 - d. 皮膚不同層的厚度 (角層、表皮和真皮)
 - e. 吸收紫外光和可見光之組成成分的含量 (角素、彈力蛋白、膠原蛋白、位於黑素顆粒和巨噬細胞裡的黑色素、核酸、類胡蘿蔔素、血紅素和脂質)
 - f. 表皮黑素顆粒 (melanosome) 分佈的數目、大小、形狀和型態。
- 不同種族間之黑色素細胞 (melanocyte) 的數目並無差別。

人類皮膚的顏色大部分導因於黑色素的含量, 目前對於皮膚顏色

的控制取決於外在化學物質的作用，能使黑色素生成酪胺酸 (tyrosinase) 量的增加或降低⁽⁸⁾。皮膚的顏色並不是只靠黑色素來決定，身體內黑色素及氧化和還原的血紅素同時構成了正常的膚色。在血液供應差，性腺機能減退時，會使膚色看起來較淺⁽²⁾。

在顯微鏡下觀察正常人的黑色素，必須在黑色素的色素顆粒隨著角素細胞到皮膚表面後才觀察得到。當黑色素細胞位於色素顆粒間的表皮層-真皮層交界面時，不能表現出皮膚“棕色”的顏色。黑色素是一種保護色素，可過濾對角素細胞的細胞核有害的紫外光照射⁽⁸⁾。

四、人體色素形成的調節因子

皮膚的色素是一種遺傳特徵，屬於種族性而非個體性的特徵。文化白種人上偏好如深色曬黑的皮膚（像）或東方人偏好較淡的膚色。曝曬於陽光下所造成的光致癌性（photocarcinogenic）、光老化（photoaging）及黑色素在光保護（photoprotection）的研究越來越清楚，導致在人體色素調節上，越來越有興趣⁽¹⁰⁾。已知皮膚的黑色素可減少穿透表皮層的紫外線總量，及抑制因光誘導產生 DNA 損傷的活性氧自由基^(11,12,13)。許多皮膚的研究表示，罹患皮膚癌的機率在膚色較淡的人種要比深色皮膚的人種高^(14,15)。

（一）色素的組成與紫外光的反應

曬黑（tanning）是曝曬於陽光下的一種明顯反應，就。然而這種反應因個人的色素表型而有所不同。type I or II的皮膚會曬傷但較不

會變黑，膚色深的人(type IV-VI)則是曬黑但較不易曬傷。Fitzpatrick 之皮膚表型分為六類，包括膚色較淡的 type I-III及膚色較暗的 type IV-VI，表一為 Fitzpatrick 之皮膚表型分類⁽¹⁶⁾。

色素的反應決定在皮膚上構成黑色素的物質，尤其是刺激黑色素形成所造成的延遲性變黑反應 (delayed tanning response)⁽¹⁶⁾。這個反應，受因紫外線照射而導致產量增加的多種因荷爾蒙影響。此外，已證實酪胺酸 (一種抑制黑色素形成的酵素) 的活性，直接與皮膚色素形成及黑色素含量有關。於黑色素細胞中，深色皮膚酪胺酸含量比淺膚色的高^(18,19)。

表一 Fitzpatrick 之皮膚表型分類 (Fitzpatrick' s classification)

皮膚表型	顏 色	特徵
Type I	白	總是曬傷，從不曬黑
Type II	白	通常曬傷，較難曬黑
Type III	白	有時輕微曬傷，有時曬黑
Type IV	中等棕色	少曬傷，常常曬黑
Type V	深棕色	非常少曬傷，總是曬黑
Type VI	黑	從不曬傷，總是曬黑

曬太陽會使膚色變深，與未曝曬前皮膚相比之下，長期曝曬於陽光下的皮膚，其黑色素細胞中 DOPA 被活化的數目明顯的高了許多⁽²⁰⁾。Friedman 等人認為⁽²¹⁾，人體黑色素細胞經紫外線照射後有直接的反應，這些對模擬紫外線光照有反應的細胞，隨著光照的增加，細胞的增殖下降而色素的形成增加。Libow 等人研究表示⁽²²⁾，對紫外線有反應的黑色素細胞，在細胞增殖及黑色素形成上都會增加。由

於兩種不一樣的反應，發現對細胞照射紫外線（波長 290-320 nm）不會造成細胞死亡，由於合成有絲分裂成分的 G₂ 期被制止而使黑色素細胞增殖受抑制，而且照射紫外線使酪胺酸 活性與黑色素含量增加，在不同皮膚類型的黑色素細胞是沒有差別的。Musk 等人指出⁽²³⁾，黑色素含量低的人在模擬日光照及紫外線下，黑色素瘤細胞殺死的敏感度較含量多的高，Yohn 等人⁽²⁴⁾也發現，白人的黑色素細胞對於紫外線造成的 DNA 受損比其他入種敏感。

（二）紫外光對表皮形成因子（Epidermally Synthesized Factors）的誘導

許多證據顯示於曝曬於紫外線下，會刺激表皮細胞合成荷爾蒙（hormones）細胞動素（cytokines）及生長因子（growth factors）。紫外線誘導角素形成細胞、合成間白素-1（interleukin-1, IL-1）及腫瘤壞死因子（tumor necrosis factor- α , TNF- α ），而 TNF- α 對角素形成細胞的傷害上（例如：凋亡，apoptotic），扮演重要的角色⁽²⁵⁻²⁸⁾。培養人類黑色素細胞時也會合成 IL-1 α 及 IL-1 β ⁽²⁹⁾。發現用紫外線照射時，會提高角素細胞形成纖維母細胞成長因子（basic fibroblast growth factor）⁽³⁰⁾。較新的研究顯示，紫外線照射角素形成細胞，會增加內皮細胞素（endothelin-1, ET-1）及促黑色素細胞激素（melanotropins），尤其是黑色素細胞刺激荷爾蒙（ α -melanocyte stimulating hormone, α -melanotropin, α -MSH）和促腎上腺皮質激素（adrenocorticotrophic hormone, ACTH）的合成⁽³¹⁻³⁴⁾。所有的因子都顯示會影響體外試驗人體黑色素細胞的增殖和/或新生。基於這些發現，可知人體黑色素細胞對光照的反應是直接的，而對紫外線誘導副分泌素（paracrine）自分泌素（autocrine）及內分泌素（endocrine）

的反應是間接的（如：圖三）。

（三）人體黑色素細胞的荷爾蒙調節

1. 固醇類荷爾蒙的角色

許多報告顯示黑色素瘤細胞對許多荷爾蒙有反應，包括固醇類荷爾蒙的雌性激素（estrogen）、糖皮質固醇（glucocorticoids）、維生素 A 類（retinoids）、前列腺素（prostaglandins）及黑色素細胞刺激荷爾蒙（ α -MSH）⁽³⁵⁻⁴³⁾。另外維生素 D₃（cholecalciferol）的形成源於皮膚曝露在陽光下。維生素 D₃ 水解代謝產物，可調節 UV 光照後的黑色素生成反應^(44,45)。人體黑色素細胞對維生素 D₃ 有特殊的接受器，而且黑色素細胞對 1,25 (OH)₂ 維生素 D₃ 有降低酪胺酸活性的反應⁽¹⁰⁾。

證據顯示性腺激素如：雄性素（androgens）和雌性素（estrogens），影響皮膚色素的沉著已有很長一段時間^(46,47)，此荷爾蒙會使乳頭（areola）和生殖器（genitalia）的顏色變深，即使局部使用也一樣⁽⁴⁸⁾。女性在懷孕期間，性腺荷爾蒙的改變與其膚色變深有關，像是黑皮病（melasma）；男性去睪丸者，在陽光照射後並不太會適當的曬黑，但給予男性荷爾蒙則可變黑^(2,49)。

2. 發炎介質（inflammatory mediators）的作用

臨床觀察發現，發炎後的造成高度黑色素沉著（post-inflammatory hyperpigmentation）的現象，與免疫發炎介質相關⁽⁵⁰⁾。已經證實免疫發炎細胞動素 IL-1 α ，IL-1 β ，IL-6 與 TNF- α 對培養的人體黑色素細胞的影響⁽⁵¹⁾。這四種細胞動素造成了與劑量相關的作用，會降低細胞增殖和降低酪胺酸活性，並伴隨著減少酪胺酸、TRP-1 和

TRP-2 的量⁽⁵²⁾。之後發表了人體黑色素細胞合成 IL-1 α 和 IL-1 β ，推測這些已知由其他表皮細胞合成的細胞動素，可能與自泌素、副分泌腺般調節黑色素細胞的功能相似⁽²⁹⁾。

二十烯酸 (eicosanoids) 是另一群發炎物質，其主要來源是花生酸 (arachidonic acid)，一種二十碳不飽和脂肪酸，基本的二十烯酸是前列腺素 (prostaglandins , PG_s)，另外也產生血小板凝集素 (thromboxane , TX) 及白三烯 (leukotrienes , LT)。PG_s 是環氧化 (cyclooxygenase) 路徑下的產物，能有效抑制人類黑色素腫瘤的生長^(37,40)。經紫外線照射後發現皮膚的 PGD₂ , E₂ , F_{2 α} 有增加的情形^(53,54)。PG_s 影響鼠類黑斑中黑色素細胞的黑色素生成，PGE₁ 和 E₂ 是有效的刺激者，PGA₁ 和 PGD₂ 是強力的抑制者⁽⁵⁵⁾。

3. 纖維母細胞成長因子的角色

bFGF 為正常人體黑色素細胞的絲狀物 (mitogen) 和刺激人體黑色素細胞成長的自泌素^(56,57)。Halaban 等人表示⁽⁵⁷⁾，bFGF 是在紫外線的照射下，由角素形成細胞合成，而且 bFGF 是人體黑色素細胞在有絲分裂中所產生。

4. 內皮細胞素與黑色素細胞之關係

Imokawa 等人於 1992 年⁽³¹⁾及 Yohn 等人於 1993 年⁽³⁴⁾證實了 ET-1 是由人體黑色素細胞所產生，Imokawa 等人⁽⁵⁸⁾又提出照射紫外光或給予 IL-1 會提高 ET-1 的產生，而且 ET-1 影響黑色素細胞的有絲分裂。它們也表示⁽⁵⁹⁾，利用受體結合的方法實驗時，ET-1 對人體黑色素細胞有專一性的接受器 (specific receptor)，會刺激黑色素形成。近年來報告指出，ET-1 會增加酪胺酸 及 TRP-1 這兩個與黑

色素形成相關之酵素的表現。

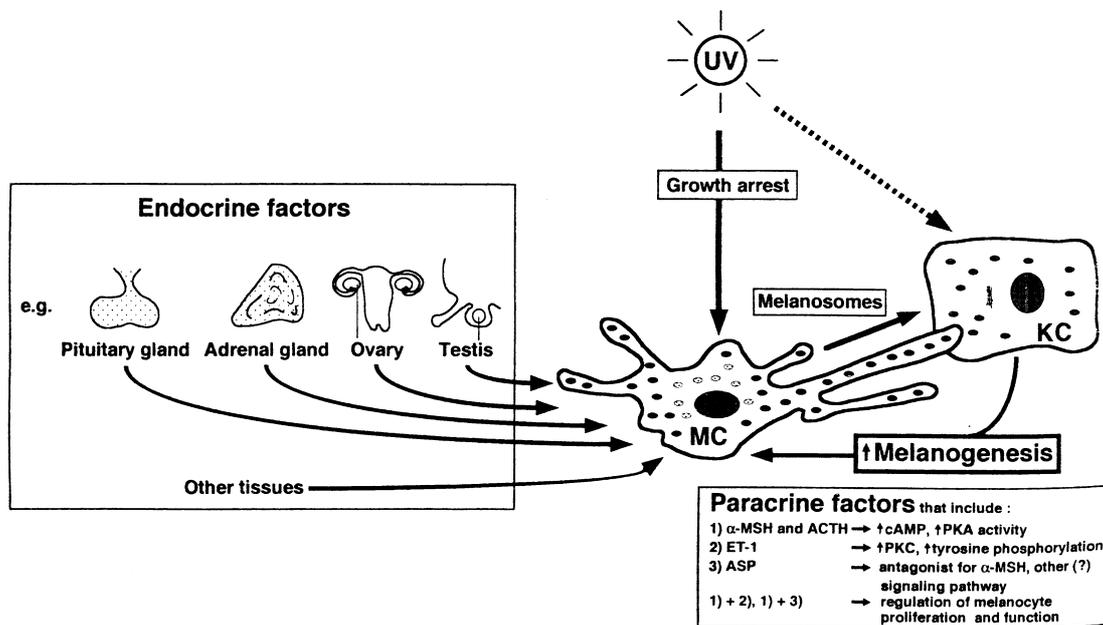
5. 促黑色素細胞激素的角色

已知促黑色素細胞激素，特別是 α -和 β -MSH，對於脊椎動物皮膚，包括哺乳類，的黑色素形成有作用⁽⁶⁰⁾。Lerner 與 McGuire 於 1964 年指出⁽⁶¹⁾，對人體注射高濃度的 α -MSH 和 β -MSH 或 ACTH，結果會使皮膚變黑。Levine 等人（1991）證實⁽⁶²⁾，注射 α -MSH 的類似物，名為 $[\text{Nle}^4, \text{D-Phe}^7]\text{-}\alpha\text{-MSH}$ ，會導致黑色素形成增加，尤其是在照射陽光後更為明顯。

五、黑色素的形成

受紫外線照射會導致皮膚癌，表皮的黑素使皮膚不受到紫外線輻射的壞影響。黑種人中皮膚癌很少，他們似乎較能忍受化學及物理傷害。

黑色素只由黑色素細胞製造（圖四），這些細胞散置於表皮的基底細胞之間。毛髮的色素是由毛囊球中的黑色素細胞所衍生。癩痕處無黑色素細胞，故不會有顏色⁽²⁾。表皮黑色素生成及代謝的形態如圖四所示，黑素顆粒由黑色素細胞合成後，經由兩種主要的途徑進行轉移（圖五），一是向上轉移（upward transfer）至角素細胞，進入表皮層，最後隨著皮膚剝落；另一種為向下轉移（downward transfer）到真皮內而被黑色素吞噬細胞（melanophage or



圖三 人體黑色素細胞經光照與荷爾蒙調節因子之簡圖⁽¹⁰⁾

KC : 角素形成細胞

MC : 黑色素細胞

Paracrine : 副分泌素

Endocrine : 內分泌素

melanophores) 所吞噬，較不常見，且僅發生在某些狀態下（像是炎症反應）⁽¹⁰⁾。在轉移的惡性黑色素瘤，皮膚可能會變深色，這是由於大量的黑素顆粒沉積在真皮的黑色素吞噬細胞內所致⁽²⁾。

（一）黑色素細胞的分佈

黑色素細胞由神經細胞分化的，從胎兒早期的神經脊（neural crest）長出，經真皮而最後進入基底細胞之間。黑色素細胞由長而分支的管狀突，稱為樹狀突（dendrites），這些突起在表皮細胞中穿梭並充滿黑素顆粒。這些樹狀突向章魚般將角素形成細胞包圍起來且將黑色素「注入」這些細胞。在角化過程中，當基底細胞向外移動（圖六），這些顆粒將散開且被分解成細的粒子^(2,8)。

黑色素細胞的密度並非在任何部位的表皮都一樣^(2,8)，也並非每個細胞的活動力（activity）都一樣，紫外線可照射到的部位密度會增加，但無性別上的差異（圖七）⁽⁸⁾。人類約有 20 億個黑色素細胞，平均每平方公厘有 1500 個⁽⁶³⁾，通常位於皮膚基底層、頭髮毛囊、軟腦膜和眼睛脈絡膜中都有黑色素細胞存在⁽⁴⁾。黑色素細胞在人一生中大約會減少 10%，所以老年人的皮膚較白也較易受陽光傷害⁽⁸⁾。

各種族之間，黑色素細胞數目並無差別，皮膚顏色較深的種族並非含有較多的黑色素細胞。黑種人的黑色素細胞比白種人

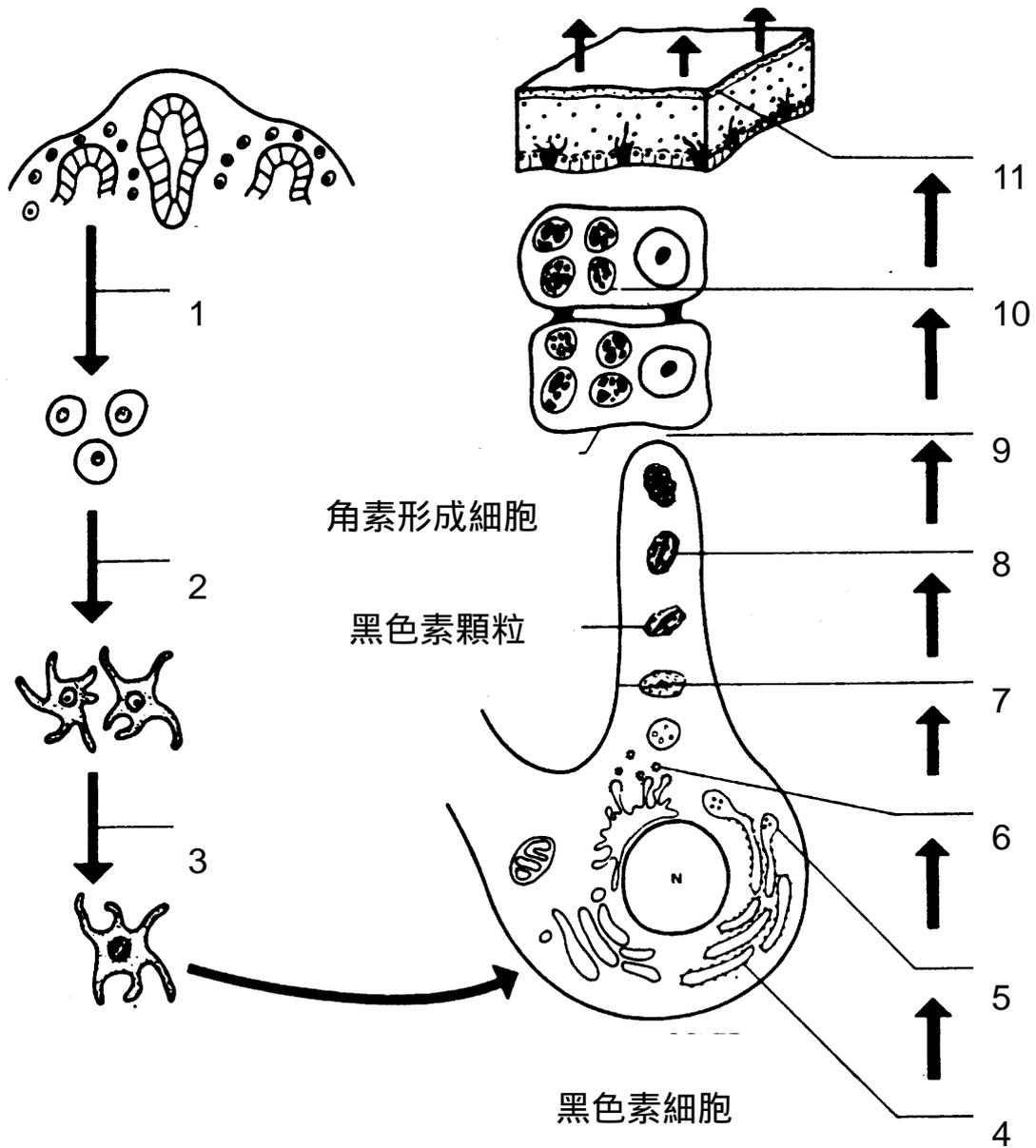
（Caucasian）的大，所含的黑色素也比較多，合成黑色素的器官很發達，所以可產生大且成熟的黑色素顆粒，這是黑人較黑的原因。不同種族間皮膚顏色不同，是因為（1）黑色素細胞之黑色素生成的活動力、（2）黑素顆粒的數目、大小、（3）黑色素沉積到黑素顆粒的型式以及（4）成熟的黑素顆粒對周圍的角素形成細胞的貢獻⁽¹⁷⁾，而不是因為黑色素細胞數目不同。

Fitzpatrick 等人發表⁽⁶⁴⁾，在黑色素細胞與角質細胞間有很特殊的功能與構造，即每個表皮黑色素細胞，會分泌黑色素顆粒進入周圍的角素形成細胞，此黑色素與一群鄰近角素形成細胞（約 36 個）的配對，稱為“表皮黑色素單位（epidermal melanin unit）”。Breathnach 於 1980 年將此親密的關係稱為“表皮共生（epidermal symbionts）”⁽⁶⁵⁾。當黑素顆粒轉移至表皮的角素形成細胞後，會受到膜的包圍而聚集在一起，這些構造稱為“黑色素顆粒複合物（melanosome complex）”⁽⁸⁾。

（二）酪胺酸 的性質

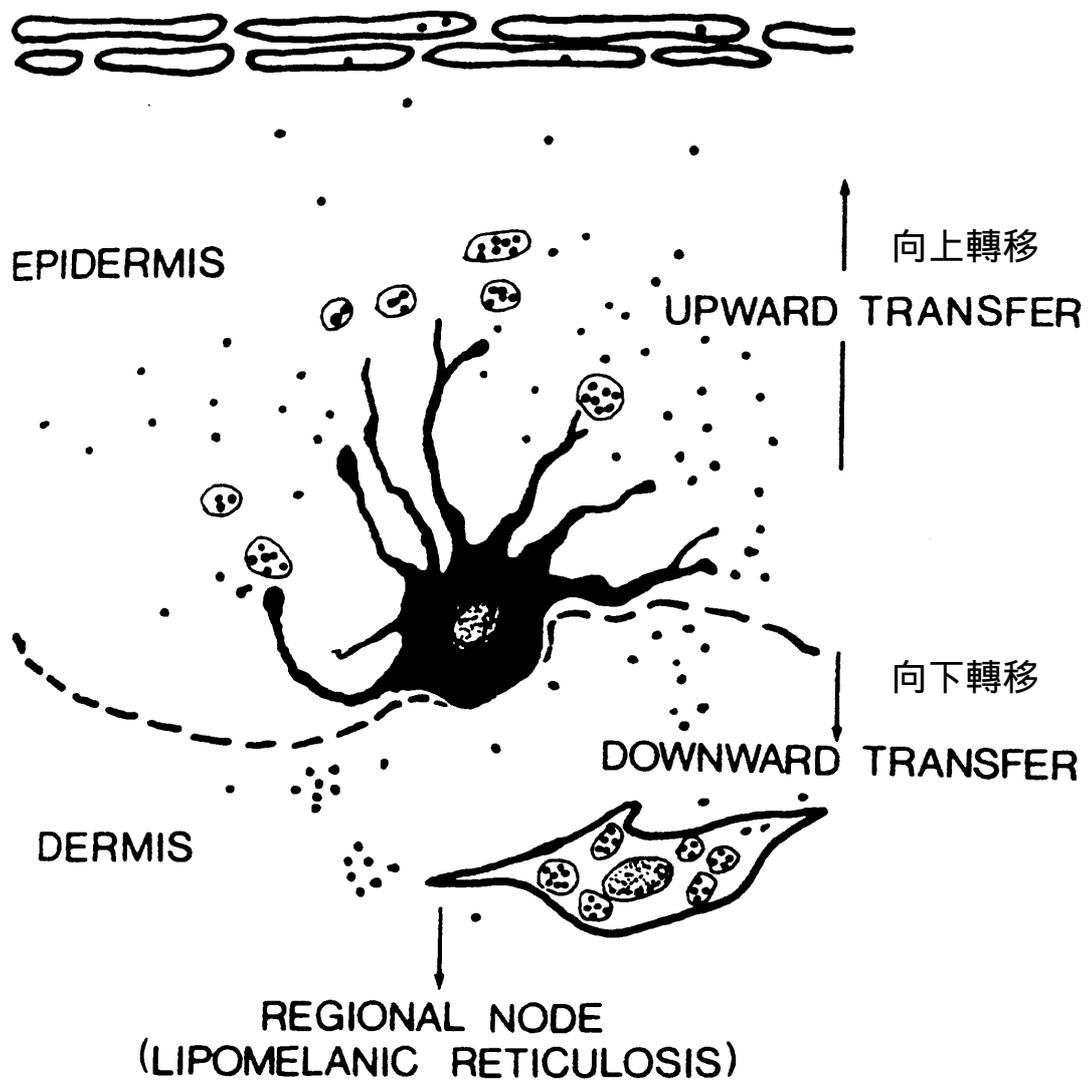
酪胺酸 是一個熟知的單氧化（monooxygenase），它在 phenol 氧化成 benzoquinone 的過程中扮演催化的角色⁽⁶⁶⁾。在黑色素形成過程中，酪胺酸 催化酪胺酸變成 3,4-dihydroxyphenylalanine（dopa）的氫氧化反應與 dopa 變為 dopaquinone 的氧化反應^(67,68)。它是一種具有兩種鍵結位置的立體異構^(67,72)，也是一種含銅的氧化，活性中心位於結構中成對的銅離子⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾。以不同來源所得到的酪胺酸，包括人類表皮及 B-16 老鼠的黑色素瘤細胞，表現出三個特性：(a) 它具有對 cresolase 的酵素活性上之延遲性，(b) 對於 dopa 作為必要的共同因子（cofactor），(c) 抑制過量酪胺酸導致的 cresolase 活性⁽⁶⁷⁾。

酪胺酸 由黑色素細胞的核糖體所合成，在粗內質網中發現，它是利用細胞質或平滑內質網轉移到高基氏體內的特定位置上，然後再分裂釋放至黑色素細胞的細胞質中，成為黑色素顆粒的前驅物，酪胺酸 與其他酵素一樣，合成時，最初為四疊體不活化型態之酵素前驅

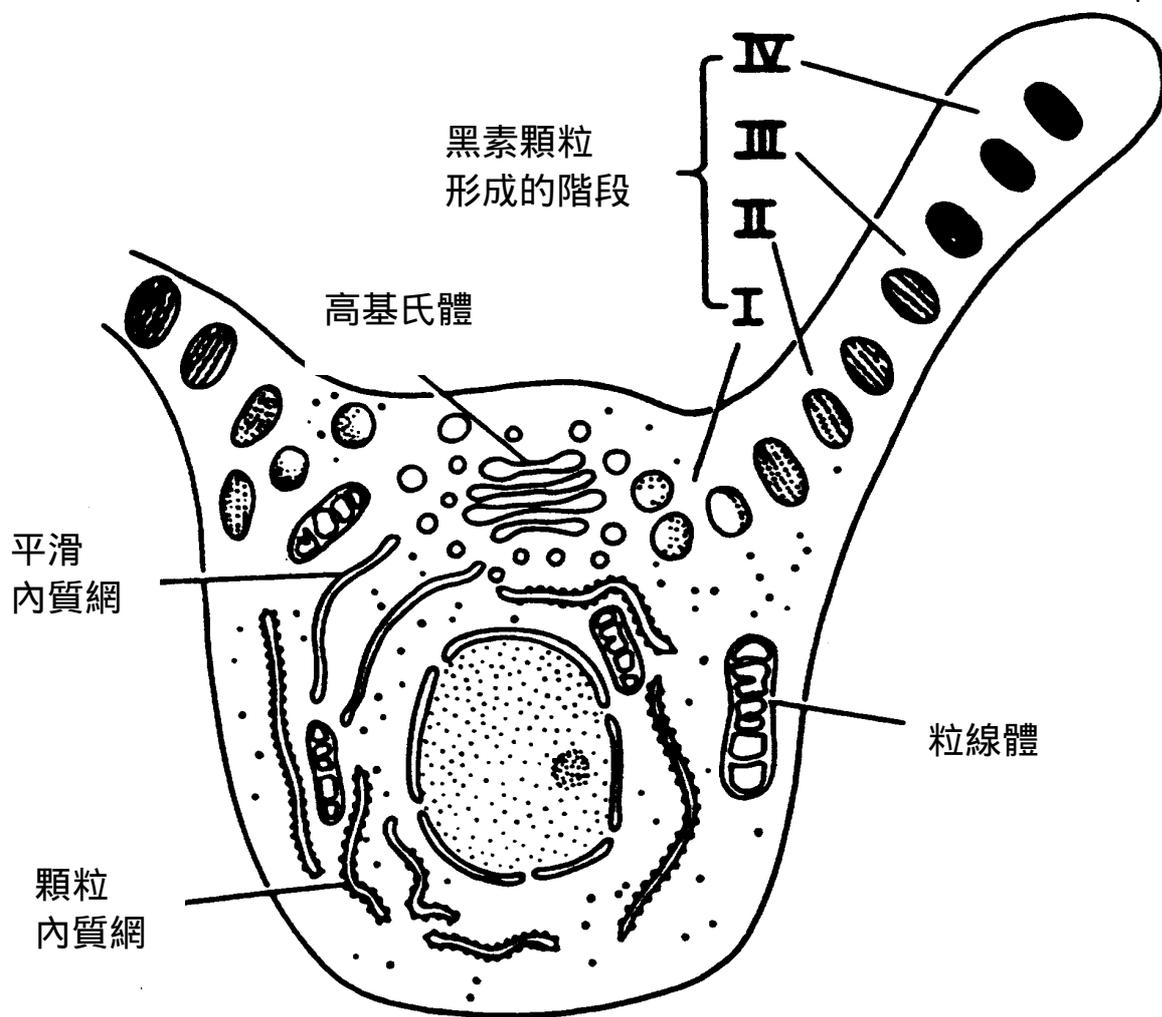


圖四 表皮黑色素生成及代謝的形態圖⁽⁸⁾

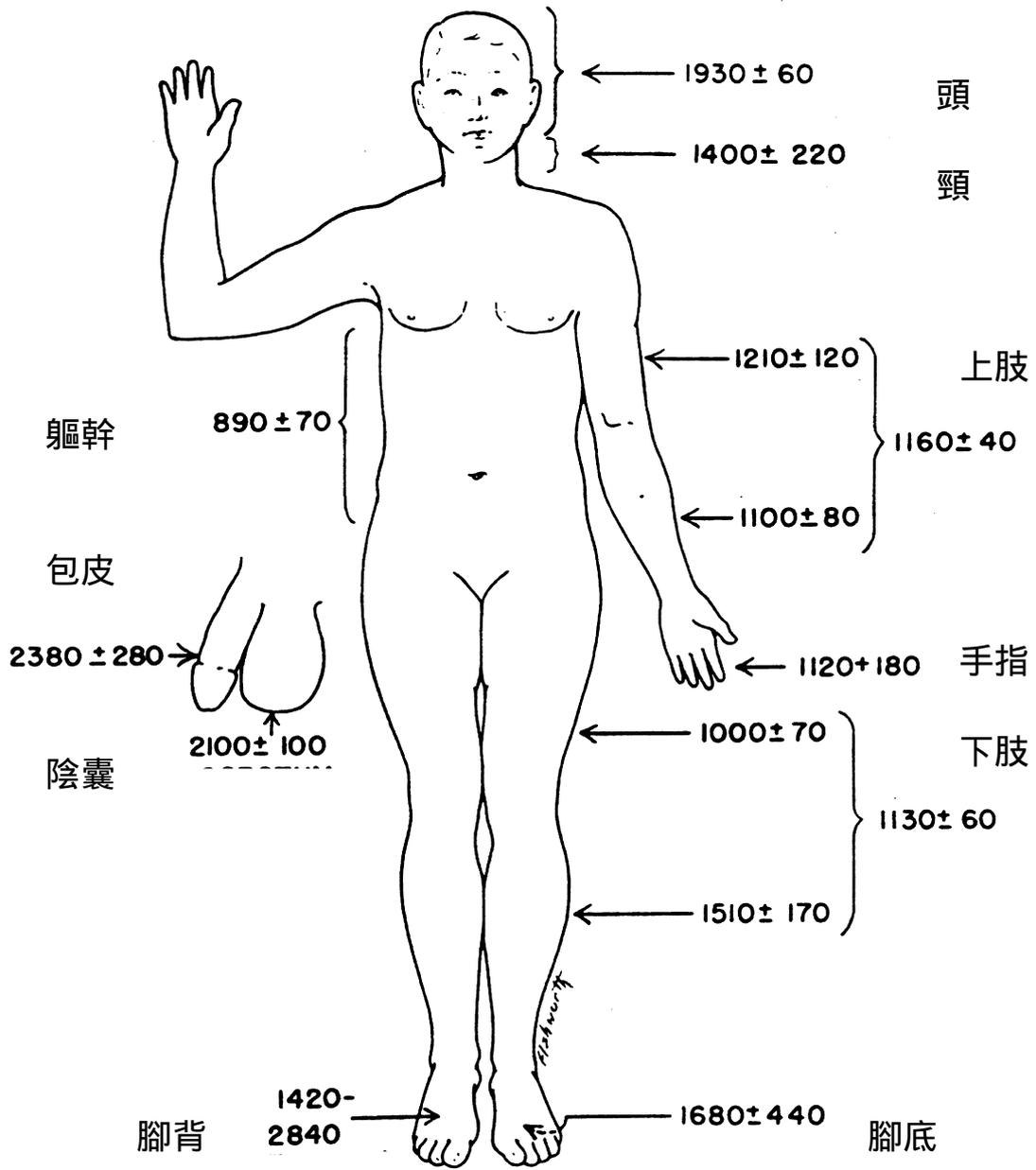
- | | |
|------------------------------|-------------------|
| 1. 黑色素母細胞 (melanoblasts) 的轉移 | 7. 黑素顆粒的形成 |
| 2. 黑色素母細胞分化成為黑色素細胞 | 8. 黑素顆粒的黑化 |
| 3. 黑色素細胞進行有絲分裂 | 9. 黑素顆粒的轉移 |
| 4. 酪胺酸 (tyrosinase) 的合成 | 10. 黑素顆粒的退化 |
| 5. 黑素顆粒 (melanosome) 基質合成 | 11. 黑色素隨著角質層剝落而移除 |
| 6. 酪胺酸 的傳送 | |



圖五 黑素顆粒兩種主要進行轉移的途徑⁽¹⁰⁾



圖六 黑色素細胞之結構圖⁽⁸⁾



圖七 黑色素細胞在人體分佈的密度依部位不同而有差別⁽⁸⁾

(mean number / mm² ± S.E.)

物。McGuire 等人⁽⁷³⁾在對青蛙表皮的研究報告中指出，酪胺酸 活化的過程，發生在由高基氏體上分裂、釋放至黑色素細胞的細胞質，成為黑色素顆粒的前驅物以前。Mishima 與 Imokawa⁽⁷⁴⁾對於 B16 老鼠黑色素細胞瘤的研究中證實，在形成黑色素顆粒的前驅物之前，將酪胺酸 活化，此步驟對於黑色素的生成過程來說是必需的。

皮膚純化出的酪胺酸 在性質上與其他天然的酪胺酸 有所不同。它具有高度的專一活性，每毫克蛋白質每分鐘形成 228 nmol 的 dopa，蕈類中的酪胺酸 ，其活性會受到多巴胺 (dopa) 的影響，亦會被過量的酪胺酸抑制。而人體的酪胺酸 ，活性不會受到多巴胺影響，也不會被過量的酪胺酸抑制^(67,75)。

(三) 黑色素的形成機轉

黑色素的形成是一種有 參與作用的過程 (圖八)。這個生化過程需要：酪胺酸、酪胺酸 及氧分子。酪胺酸 將酪胺酸氧化成 dihydroxyphenylalanine (即 dopa) 然後 dopa 轉變為 dopachrome，再形成 indoles，最後成黑色素⁽²⁾。其中 tyrosinase 催化 dopa 變成 dopachrome 是速率限制步驟，而 dopachrome 經由自動氧化反應轉變為 melanin。

黑化是一種簡單的皮膚黑色素形成的過程，頭髮、眼睛、皮膚的顏色亦為黑色素所造成，通常黑化的過程在黑色素細胞中進行，此細胞中含有黑色素顆粒的橢圓形胞器 (organelles)，此胞器中具有產生黑色素所需的物質^(8,72)。

黑色素結構緊密、不溶的高分子量聚合物，而且總是與蛋白質結合⁽⁸⁾。黑色素依構造可分為真黑色素 (eumelanins)、嗜黑色素 (pheomelanins) 和異黑色素 (allomelanins)。哺乳類的黑色素由

eumelanons 和 pheomelanins 兩種化學成分，依不同比例組成。allomelanins 則存在於細菌與黴菌中⁽⁶³⁾。

Eumelanons (圖九) 含氮元素，為黑色或褐色的色素蛋白質，幾乎不溶於所有溶媒。酪胺酸經由 dopaquinone 產生 5,6-dihydroxyindoles (DHI)，DHI 經氧化與聚合作用產生了 eumelanins。Eumelanins 於人體中表現在深色的頭髮、眼睛、內耳、黏膜和黑色素瘤細胞等處。脊椎動物中的以鳥類較常發現 eumelanins，而爬蟲類、兩棲類和魚類較少有 eumelanins⁽⁷⁵⁾。

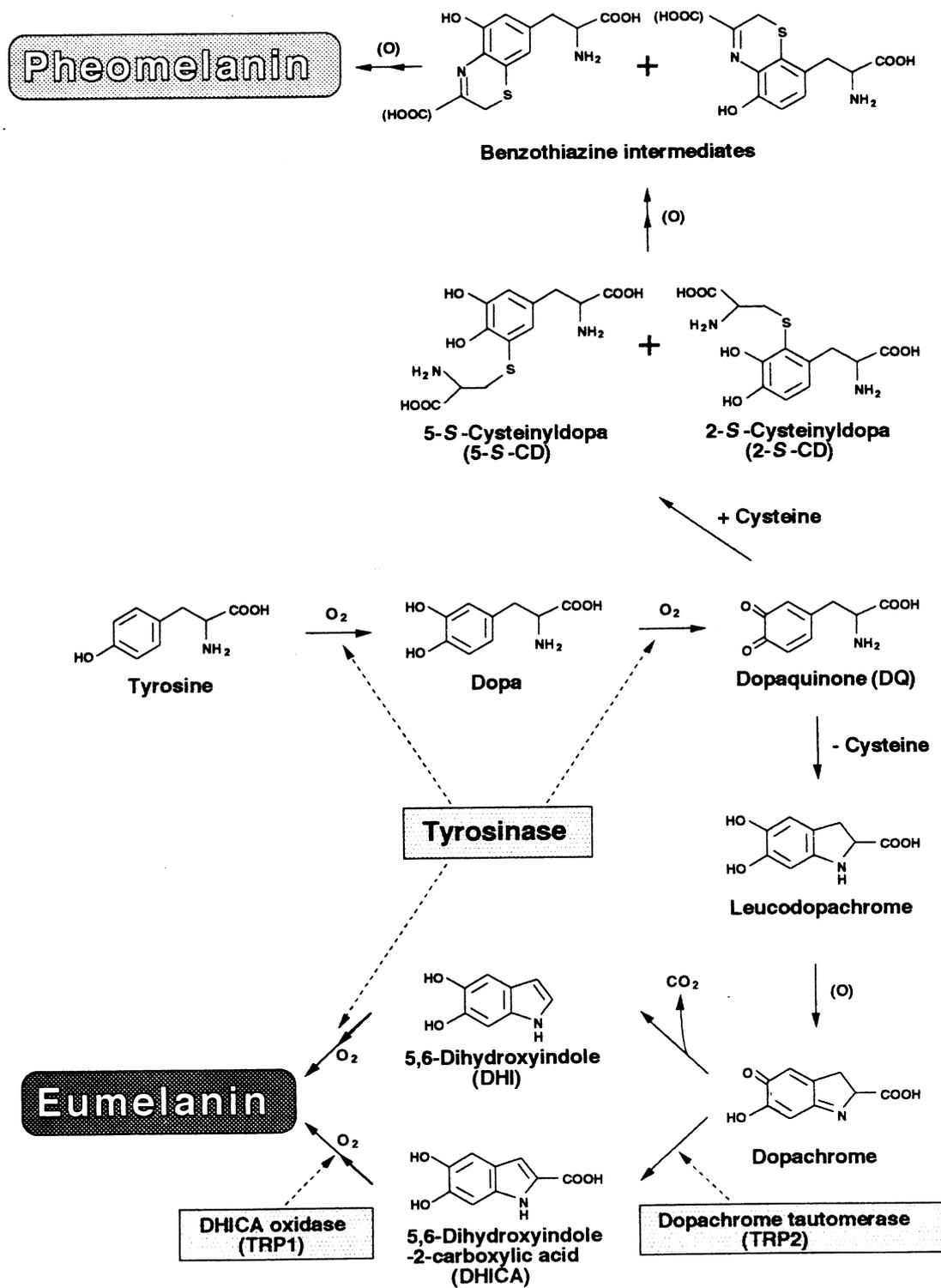
Pheomelanins (圖十) 含硫元素，為黃-淡紅色的色素蛋白質，可溶於鹼，主要亦由酪胺酸衍生而來，由酪胺酸-黑色素路徑的中間產物 (dopaquinone) 與 cysteine 結合，形成 5-S-cysteinyl dopa。Cysteinyl dopas 經 oxidative cyclization 產生 1,4-benzothiazine。黃色色素蛋白是由 1,4-benzothiazine 組成，於哺乳類的毛髮 (如：天竺鼠、牛、山羊、馬、鹿和人類的紅頭髮等) 和鳥類的羽毛 (雞、雉和鸚鵡等) 中含量較高⁽¹⁰⁾。

(四) 影響黑色素生成的因素

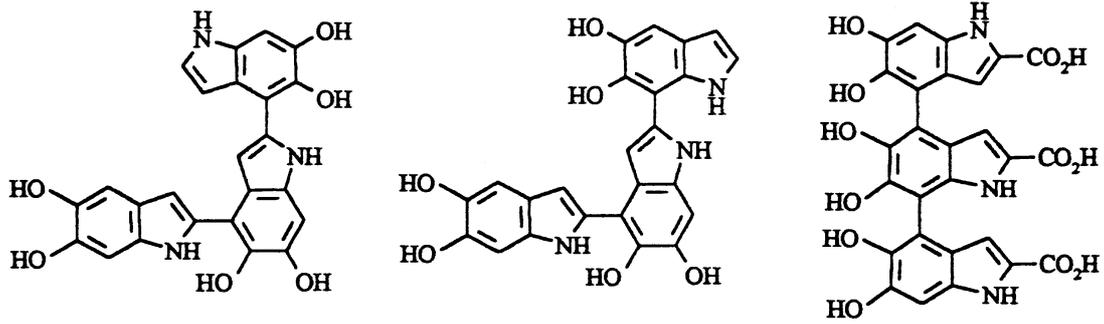
1. 酪胺酸 活性的抑制

(1) 金屬與酪胺酸 活性的關係

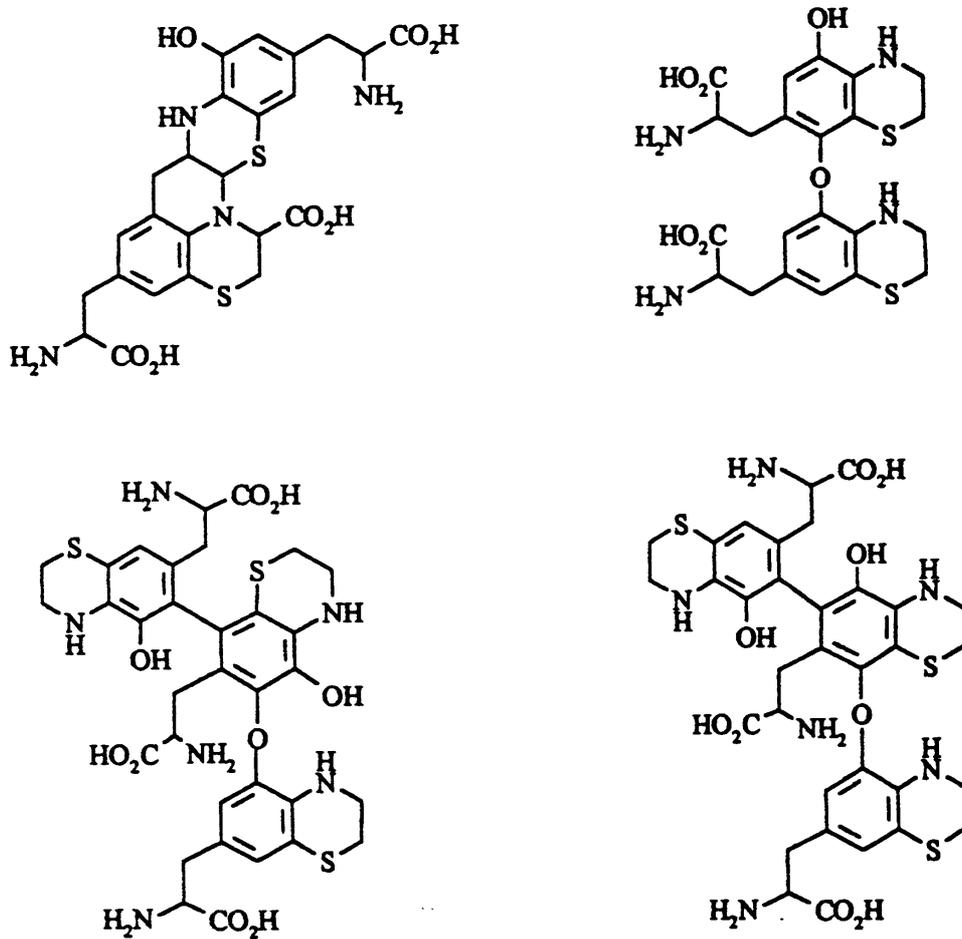
Seiji 等人於 1963 年發表，黑素顆粒中具有許多種離子，特別是銅，其中，銅在酪胺酸 內作為一修補群，其他離子並無明顯生物學上的特性，推測可能是當作一種微弱酸性的陽離子交換劑，進而影響黑色素性質⁽⁸⁾。Jara 等人⁽⁷⁶⁾ 也發現 Zn(II) 會抑制酪胺酸 的氫氧化作用 (hydroxylation)，而 Ni(II) 與 Co(II) 卻會促進酪胺酸



圖八 黑色素細胞中之 Eumelanogenesis 及 Pheomelanogenesis 之示意圖 (10)



圖九 DHI 與 DHICA 變成為 eumelanin 前的早期結構(oligomers)⁽¹⁰⁾



圖十 5-S-cysteinyldopa 變為 pheomelanin 前的早期結構

(oligomers)⁽¹⁰⁾

的氫氧化作用。

酪胺酸 為一種含銅的單氧化⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾，銅離子為活性中心，故可與銅結合或競爭結合的物質就可以抑制酵素的活性⁽⁶⁸⁾。如：鉛丹、汞鹽與銅離子競爭⁽⁷⁷⁾。-CO、-CN、-SH 可與銅離子結合^(78,79)。鉬酸鉍 (Ammonium molybdate, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$)⁽⁷⁸⁾、皮膚內之硫氫基 (Sulfhydryl)⁽²⁾、麩胱胺酸 (Glutathione)⁽⁸⁰⁾ 及化妝品中作為美白原料的麴酸⁽⁸¹⁾ 都會與銅結合而抑制酵素活性。

(2) 酪胺酸 抑制劑對酪胺酸 活性的影響

酪胺酸為黑色素形成所需的基本物質，酪胺酸 抑制劑之存在使其無法與酪胺酸 反應，生成黑色素。酪胺酸與酪胺酸 結合的活性位置有三個⁽⁸²⁾：(1) 活性中心的銅，(2) 酪胺酸上負價的 -COOH 與酪胺酸 上正價的胺基酸 (離胺酸、精胺酸、組織胺酸) 殘基間的離子對，(3) 酪胺酸上正價的 -胺基與酪胺酸 上負價的胺基酸 (麩胺酸或天門冬胺酸) 殘基間的離子對。以對苯二酚 (Hydroquinone) 熊果 (arbutin) 作為酪胺酸 的反應介質，其功能就如與酪胺酸 競爭酪胺酸 的活性位置^(81,83)。Diphenol、4-甲基兒茶酚 (4-methyl-catechol) 等 Dopa 類似物會與 Dopa 競爭酪胺酸 上的活性位置而降低酵素活性⁽⁸⁴⁾。另外，杜鵑花酸 (Azelaic acid) 上的單甲基脂類亦會與酪胺酸競爭酵素上的活性位置⁽⁸²⁾。

2. 還原劑對黑色素生成的影響

維生素 C (L-ascrobic acid) 為一還原劑，具有抗氧化的能力，可將 Dopaquinone 還原成 Dopa 而抑制黑色素形成，或將深色的氧化型黑色素還原成淡色的還原型黑色素⁽⁹⁾，化妝品中亦用來作為美白。

其他能與 Dopaquinone 形成安定的化合物亦能影響黑色素之生成，如：他巴坐 (Methimazole) 半胱胺酸 (Cysteine) 離胺酸 (Lysine) N-methyl-2-Mercaptoimidazole、丙硫氧嘧啶 (6-Propylthiouracil) 麥角硫因 (Ergothioneine) 硫氧嘧啶 (2-Thiouracil) 等⁽⁸⁵⁻⁸⁷⁾。

3. 促進表皮內黑色素的排除

正常的表皮細胞由基底層生成至角質層死亡脫落需要約三至四星期的時間^(2,63)。凡能幫助角質脫落、促進表皮細胞代謝的物質，皆可增加表皮黑色素排除的速度，如果酸⁽⁸⁸⁾等。

(五) 抑制黑色素形成的機轉

故依目前所知，防止黑色素形成的方法，計有下列四種：

1. 降低 tyrosinase 的活性、抑制 tyrosinase 的合成，或使用 tyrosinase 的拮抗劑。
2. 降低黑色素細胞的功能，使用具有細胞毒性 (cytotoxic) 的物質，來減少黑色素細胞的增殖或使其不能產生黑色素。
3. 減少或防止 dopa 的自動氧化 (autooxidation)。
4. 抑制皮膚的發炎反應，如紫外光刺激後導致的紅腫。

第二章 自由基、抗氧化與美白

一、自由基與活性氧

(一) 自由基與活性氧的定義及種類

自由基醫學的開始於 1969 年由 McCord 和 Fridovich 成功自牛紅血球細胞中分離出超氧歧化 Superoxide Dismutase (SOD)⁽⁸⁹⁾，自此自由基研究在醫學扮演一重要角色。生物體在正常代謝過程中會形成自由基 (free radical) 與活性氧 (reactive oxygen species)，當體內的自由基與活性氧過量時，則易與細胞膜上之多元不飽和脂肪酸作用，而引發脂質過氧化 (lipid peroxidation) 的作用，造成膜傷害及擾亂許多代謝途徑，導致人類許多疾病的發生⁽⁹⁰⁻⁹⁴⁾。

自由基乃是指具有一個或多個不成對電子的原子或分子⁽⁹⁵⁾，可依其未成對電子所在位置區分成以碳、氧、氮或硫為中心之自由基⁽⁹⁶⁾。大部分自由基具有高度之反應性，處於較不穩定的狀態，會與非自由基反應而產生新的自由基以形成連鎖反應 (chain reaction)。

活性氧是指反應性較三重態氧強的含氧分子。大氣中是以較安定的三重態氧 (triplet oxygen, $^3\text{O}_2$) 存在，此氧分子可經由電子轉移及能量轉移兩種反應途徑而活化⁽⁹⁷⁾。前者包括氧分子連續接受電子所形成的一系列中間產物及反應物，如超氧陰離子、過氧化氫及脂質過氧化自由基。後者則指由基態之三重態氧吸收能量激發為單重態氧 (singlet oxygen, $^1\text{O}_2$)。活性氧中有些也是自由基，這些含氧之自由基亦稱為氧自由基 (oxyradicals)。氧自由基與其他非自由基活性氧合稱為反應性氧分子群 (reactive oxygen species, ROS)^(98,99)。

自由基與活性氧的種類很多 (表二及表三)⁽¹⁰⁰⁾，大部分的自由基

與活性氧處於較不穩定的狀態，大多是瞬間產生，半衰期很短⁽¹⁰¹⁾，反應性較非自由基分子高，易與其它分子發生反應，對人體有重大影響的可歸納為五種⁽¹⁰²⁾（圖十一）：

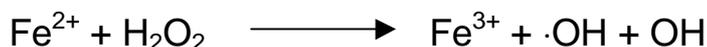
1. 超氧化物自由基 (Superoxide anion radical) : $\cdot O_2^-$

通常是最先也是最常產生的自由基，體內的吞噬細胞及粒線體中的電子傳遞鏈等均會產生超氧化自由基。雖然其半衰期極短，可是自由基會造成連鎖反應，而接著產生的二級產物、三級產物等，即會造成傷害。

人體內含有 Mn-SOD、CuZn-SOD 可有效轉換 O_2^- 成為 H_2O_2 ，再由過氧化氫 (Catalase) 或穀胱氨酸過氧化 (Glutathione peroxidase) 加以轉化為無害物質，如 H_2O 等。

2. 過氧化氫 (Hydrogen peroxide) : H_2O_2

除了由 SOD 作用轉化而來之外，體內 H_2O_2 也可能來自吞噬細胞的吞噬作用 醯基的 β -氧化作用 (beta-oxidation of fatty acyl CoA) 及其他氧化還原循環反應 (redox cycle)。過氧化氫對細胞的傷害性較大，因其能通過細胞膜和體內轉運中的鐵和銅 (transition ions) 發生 Fenton 反應⁽¹⁰³⁾ 而產生破壞性極大的羥基自由基 ($\cdot OH$)。



過氧化氫可活化 myoglobin、hemoglobin 及 heme protein，使之成為高氧化態的含鐵化合物 Fe (IV) 或 Fe (V)，而這些化合物會促使細胞內的脂質過氧化或引發膜上之脂質過氧化。

3. 羥基自由基 (Hydroxyl radical) : $\cdot\text{OH}$

羥基自由基可以說是最活躍的自由基之一，除了上述自由基轉換造成之外，照射 X-ray 也會產生大量 OH 。它主要會造成體內脂質過氧化而破壞細胞，而且會和醣類、氨基酸、磷脂質、核醣體、有機酸等任何生物體內物質反應。近年來研究指出，多元不飽和脂肪酸 (PUFA) 的過氧化作用和羥基自由基有很密切的關係，一般認為一個 $\cdot\text{OH}$ 會因連鎖反應造成上百個 PUFA 的過氧化。

4. 單重線態氧 (Singlet oxygen) : $^1\text{O}_2$

是體內穩定的氧受紫外線照射後會大量產生不穩定的物質，單重態氧極易與氫反應，直接攻擊不飽和脂肪酸，造成自由基物或脂質氧化。

5. 過氧化脂質 (Lipid hydroperoxide) : LOOH

過氧化脂質可以說是許多自由基物反應後的產物，而且多半發生在細胞膜上的多元不飽和脂肪酸。過氧化脂質可以再斷裂成其他自由基物形成有害的醛類、鹼類或其他產物。過氧化脂質或其他產物會直接和蛋白質、酵素、核酸作用，導致細胞甚至器官的變性或死亡。

(二) 活性氧與自由基的來源

近年來有許多研究報告指出，自由基在癌症、心血管疾病及老化上，均扮演極重要的角色^(95,104)，而人體在代謝過程中亦會產生活性氧與自由基，在正常狀態下，生體之抗氧化系統會與自由基對抗取得一個平衡，以維持生體正常生理，唯當此平衡遭到破壞時，活性氧與自由基就會攻擊細胞組織、細胞膜及危害基因物質，造成細胞變異、

傷害，甚至死亡，而此平衡之破壞害，日積月累不斷形成與累積，亦可能導致多種疾病之發生⁽¹⁰⁵⁾。

活性氧與自由基之來源可分為內生性與外生性二部分。在內生性方面，生物系統於好氧之條件下，有兩種方式可產生活性氧與自由基⁽¹⁰⁶⁾。

1. 偶發性之產生

生體行好氧性呼吸時，氧分子經一連串步驟由粒線體電子傳遞鏈、微粒體、細胞色素 P-450 或其他酵素系統，接受四個氫原子或四個電子而還原成水，在電子轉移之過程中，會依序產生超氧陰離子 ($\cdot O_2^-$) 過氧化氫 (H_2O_2) 及氫氧自由基 ($\cdot OH$)，而較複雜之生合成或代謝過程中，亦會產生其他之自由基⁽¹⁰⁷⁾。

2. 需要性之合成

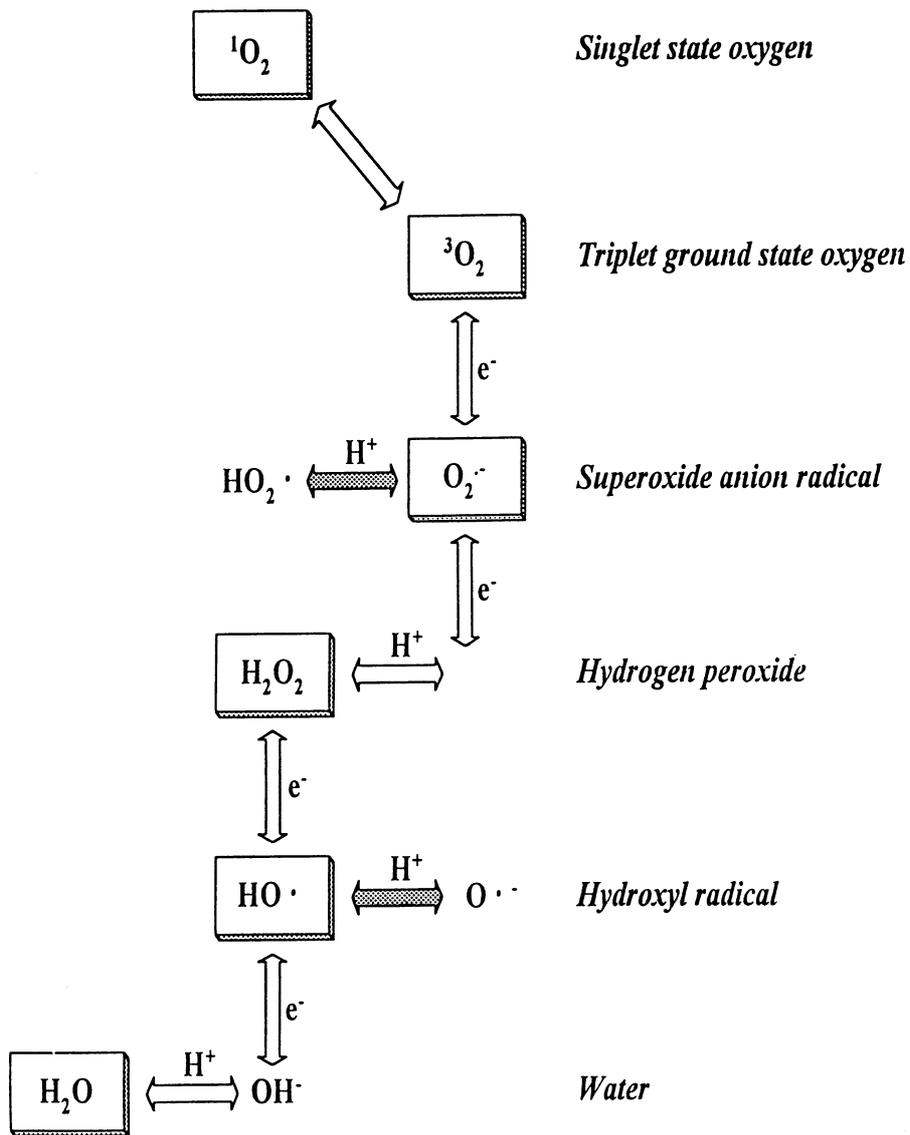
人體會因活化細胞或殺死一些細菌之需要而產生活性氧，如白血球在活化時會產生 O_2^- 、 H_2O_2 與 $HOCl$ 活性氧，此類自由基在殺死侵入人體之病菌上扮演重要之角色⁽¹⁰⁸⁻¹¹⁰⁾，另外像淋巴細胞⁽¹¹¹⁾、纖維細胞⁽¹¹²⁾、血管內皮細胞⁽¹¹³⁾亦會產生 O_2^- 。此外，人體內的某些氧化酵素之代謝，也會產生 H_2O_2 ，如 Glycolat oxidase、Xanthine oxidase 及以 D-amino acid oxidase⁽¹¹⁴⁾，而生物體罹患疾病時，亦會產生許多之活性氧與自由基⁽¹⁰⁴⁾。

表二 活性氧之分類⁽¹⁰⁰⁾

自由基		非自由基	
· O ₂ ⁻	superoxide	H ₂ O ₂	Hydergen peroxide
· OH	Hydroxyl radical	¹ O ₂	Singlet oxygen
· HO ₂	Hydroperoxyl radical	LOOH	Lipid hydroperoxide
· L	Lipid radical	Fe=O	Iron-oxygen complexes
· LO ₂	Lipid peroxy radical	HOCl	Hypochlorite
· LO	Lipid alkoxy radical		
· NO ₂	Nitrogin dioxide		
· NO	Nitric oxide		
· RS	Thiyl radical		
· P	Protein radical		

表三 活性氧的產生方式⁽¹⁰⁰⁾

活性氧的種類	產生方式
超氧自由基 (Hydroperoxyl radical) $\cdot O_2^-$ ($\cdot HO_2$)	氧經由催化或不經由催化得到一個電子反應 $O_2 + e \rightleftharpoons \cdot O_2^- \leftrightarrow \cdot HO_2$ (pK=4.8)
氫氧自由基, $\cdot OH$	水的自由基化; 氫過氧化物經由金屬催化分解; 超氧化物和 NO 產生作用 $NO + \cdot O_2^- \xrightarrow{H^+} ONOO^- \cdot OH + NO_2$
Alkoxyl 和 peroxy radicals LO LO_2	氫過氧化物經由金屬催化分解
過氧化氫, H_2O_2	超氧的歧化反應; 糖的氧化
鐵氧複合物, $Fe=O$	血紅素; 肌紅蛋白等等...
單重態氧, 1O_2	光敏感的氧化反應; 兩個過氧基分子產生的作用; 亞氯和過氧化氫產生作用
脂質和蛋白質的氫過氧化物	脂質和蛋白質的氧化
二氧化氮自由基, NO_2	過氧基和 NO 作用; 空氣污染和抽煙
氧化氮自由基, $\cdot NO$	氧化氮合成 ; 亞硝基硫醇; 空氣污染
Thiyl radical, $\cdot RS$	硫醇化合物失去丟掉一個氫原子
蛋白質自由基	蛋白質失去丟掉一個氫原子



圖十一 氧分子之氧化還原及激發狀態⁽¹⁰²⁾

外在環境中自由基之來源包括空氣污染、化學藥劑、香煙、煙霧、紫外光照射及農藥等⁽¹¹⁵⁾。對人體損傷最大的空氣污染源是二氧化氮 (NO₂) 和臭氧 (ozone)⁽¹¹⁶⁾。臭氧會與不飽和脂肪酸 (PUFA) 反應產生自由基，再形成臭氧群及誘導脂質的自動氧化。高能量之輻射線會引起人體傷害，因人體含水約百分之七十，而輻射線會將水解離成氫原子、氫氧自由基、氧分子及過氧化氫等，造成細胞的損傷。煙草經燃燒後，產生多環芳香羣 (polyaromatic hydrocarbon, PAH)、一氧化氮 (NO)、NO₂ 及過氧化物自由基。一氧化氮與二氧化氮亦會與過氧化氫作用，形成氫氧自由基，其會攻擊肺部組織，使之失去彈性且引起水腫，如圖十二，亦會引起動脈粥狀硬化、心臟病及腦中風⁽¹¹⁹⁾。

食品之調理方法如不當，亦會使人體在食入該食品後，在體內產生自由基，如肉類經火烤、油炸、炭烤時會產生 PAH，其一旦進入體內經代謝後會形成自由基，如由 Cytochrome P-450 與 Fe³⁺ 結合之酵素作用，PAH 會被氧化成陽離子自由基 (Cation radicals)，再進而與各種親核物 (nucleophiles) 作用，當其與 DNA 結合時，即會引起突變或導致癌症之形成⁽¹²⁰⁾。

日常生活中許多化學物質若誤攝入體內時，也會造成自由基的產生。如常用的除草劑 paraquat 及 diquat 經氧化還原後會產生·O₂⁻⁽¹²¹⁾，而四氯化碳在體內代謝也會產生多種自由基⁽¹²²⁾，且會誘發急性肝細胞毒性⁽¹²³⁾。

(三) 活性氧與自由基對生物體損傷作用的機制

當生體曝露於活性氧和自由基之環境下時，自由基會直接或間接的攻擊生物分子而造成傷害。細胞膜脂質上之不飽和鍵結是自由基作用的主要目標，而其它如蛋白質、DNA、RNA、酵素等亦是活性氧

與自由基之攻擊標的。此外，過量之活性氧所產生氧化之逆境（oxidative stress）亦會導致細胞傷害及死亡⁽⁹³⁾。自由基對細胞的影響如圖十三所示⁽¹²⁴⁾。

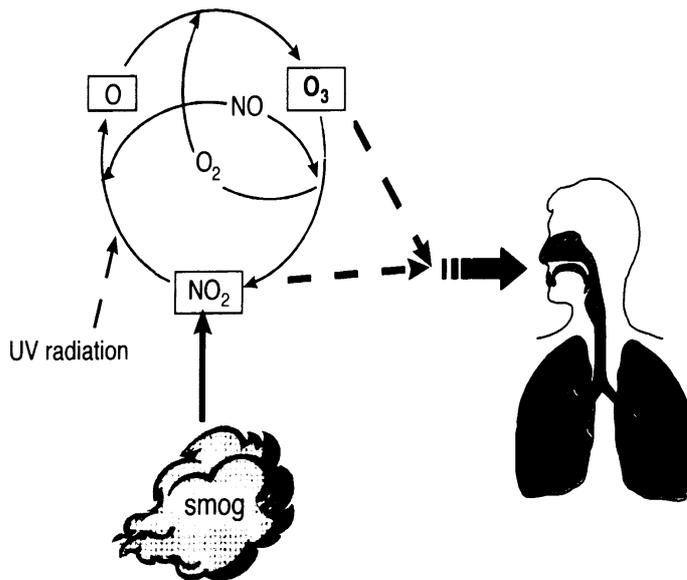
由於自由基的發生及作用是連續的動作，一個自由基的產生，將引發另一個新的自由基產生。此新生成的自由基會繼續和周圍的分子反應，產生更多的自由基。雖然自由基的半衰期極短，但因反應性大且自由基形成的氧化反應對生物體會導致嚴重的生理衰老和病理性變化，仍有可能造成細胞的損傷、對蛋白質和 DNA 的損害及對核酸和染色體的破壞，導致器官及身體極大的傷害。活性氧與自由基對生物體之脂質過氧化作用及對蛋白質分子、核酸分子之氧化傷害機制概述如下：

1. 對脂質之過氧化作用

不飽和脂肪酸較飽和脂肪酸更易受到自由基之攻擊，細胞膜上磷脂質之不飽和雙鍵位置即為容易受到自由基攻擊之所在，例如，氫氧自由基之過量產生會引起脂質過氧化作用，膜上脂質和蛋白質遭到破壞而引起動脈粥狀硬化，該氧化作用亦會使 ATPase 等酵素之活性改變，而離子通過率也隨之改變。多元不飽和脂肪酸受到自由基攻擊後會形成脂質自由基，而且氧會與這些自由基反應而形成過氧化自由基（peroxyl radicals）及氫過氧化物（hydroperoxide），這些化合物會繼續進行連鎖反應而導致膜的損壞⁽¹²⁵⁾。四氯化碳也會導致肝臟微粒體（microsome）的氧化而形成丙二醛（malondialdehyde, MDA）⁽¹²⁶⁾，此為脂質過氧化之二級產物，會與蛋白質、氨基酸和 DNA 反應，並與老化、致突變（mutagenesis）和致癌（carcinogenesis）有關連⁽¹²⁷⁾。

煙霧及紫外線形成臭氧

(Ozone formation from
Smog and UV radiation)



肺部的反應

(Pulmonary responses)

肺功能損傷

減少肺容積

增加呼吸道阻力

增加表皮滲透性

發炎

支氣管再活化

增加呼吸病症及

呼吸道感染的敏感性

黏液

鼻炎

慢性咳嗽

圖十二 吸入空氣污染源對呼吸道功能的影響⁽¹¹⁸⁾

2. 對蛋白質分子氧化傷害

於氧化狀態下，蛋白質之胺基酸殘基會受到多種氧化修飾，許多活性氧和自由基藉氧化蛋白質的-SH 基而改變其結構與功能性，如眼球水晶體穿透度之喪失⁽¹²⁸⁾，而氫氧自由基亦會攻擊胺基酸殘基，此外，蛋白質與過渡金屬鍵結時，亦會加速形成。脂肪酸氧化產生之氧化烷基 (alkoxyl) 和過氧化自由基會與蛋白質反應，形成脂質-蛋白質自由基，其後又會導致蛋白質之交聯 (cross-linking) 和聚合化 (polymeration) 反應，如胱胺酸和組胺酸之側鏈即可經自由基之誘導形成蛋白質自由基而發生此二反應⁽¹²⁹⁾。

3. 對核酸分子的氧化傷害

活性氧與自由基亦會攻擊核酸分子，而造成 DNA 股之斷裂、DNA 鹽基的修飾及交聯、DNA 鹽基與蛋白質結合及 DNA 斷股等傷害⁽¹³⁰⁾。氫氧自由基攻擊 DNA 鹼基的產物⁽¹³¹⁾，如圖十四所示，DNA 的胸腺嘧啶 (thymine) 殘基受到氫氧自由基攻擊時會形成 thymine glycol 或是 5-hydroxymethyluracil，而鳥糞 呤 (guanine) 殘基受到氫氧自由基攻擊時會形成 8-hydroxyguanine。8-hydroxyguanine 在 DNA 複製時會導致鹽基 G-T 不正確之配對⁽¹³²⁾，並與致突變⁽¹³¹⁾及致癌作用有密切關係⁽¹³³⁾。而 thymine glycol 的形成會阻斷 DNA 複製的進行⁽¹³²⁾，氫氧自由基導致 DNA 單股或雙股斷裂對於細胞的傷害非常重要，尤其是雙股 DNA 斷裂並無法由細胞修復。

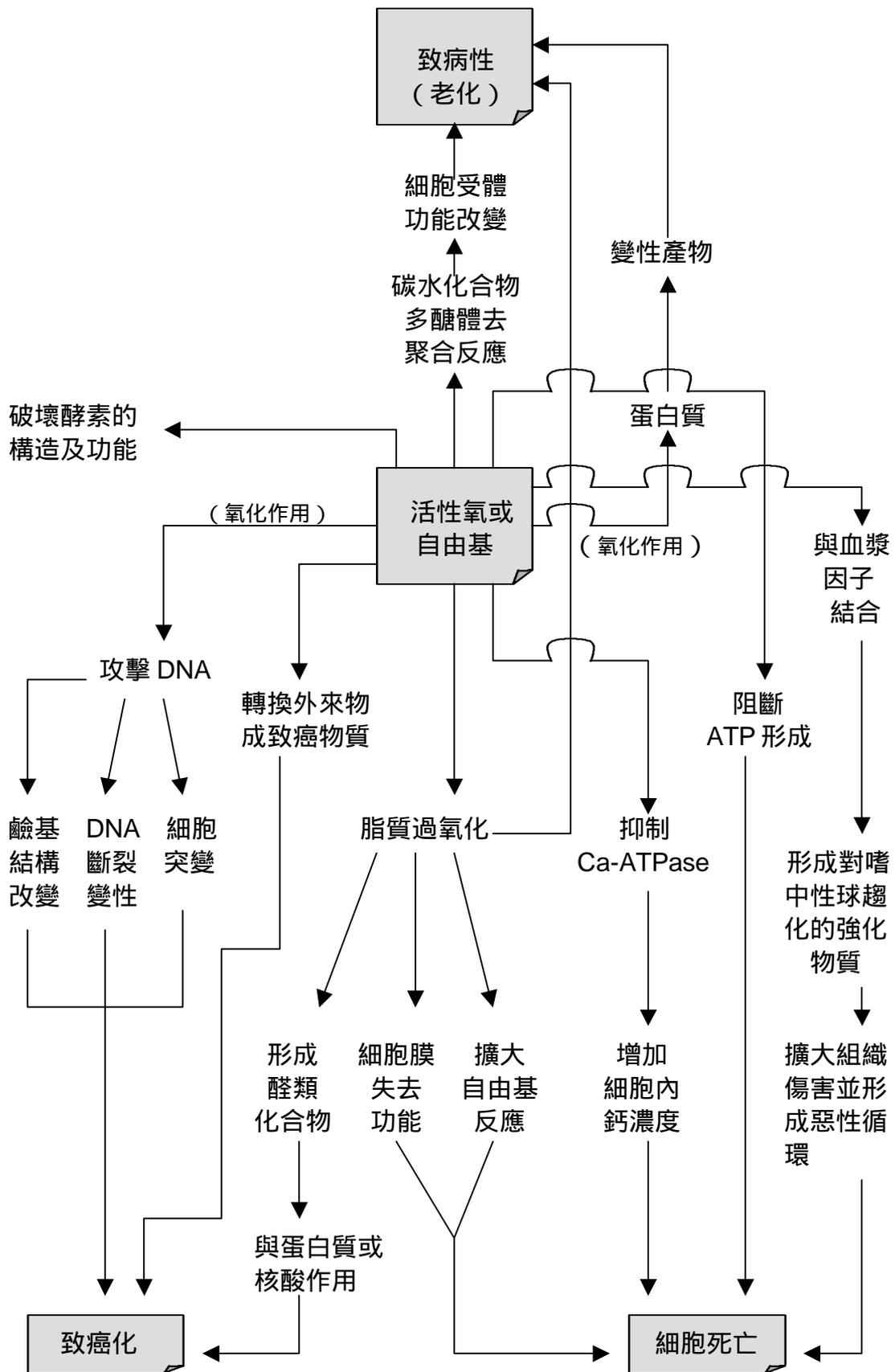
氫氧自由基也可以攻擊核膜上的脂質，並產生過氧化基(peroxy) 和氧化烷基 (alkoxyl) 自由基，反過來再與 DNA 反應。由於 H₂O₂ 有較長的半衰期，因此在細胞中可以越過細胞膜穿透至細胞核，並與 DNA 上的鐵及銅離子反應，形成氫氧自由基，進一步攻擊 DNA 造成位置特異性之單股斷裂和鹽基修飾，如圖十五。

(四) 氧化之逆境

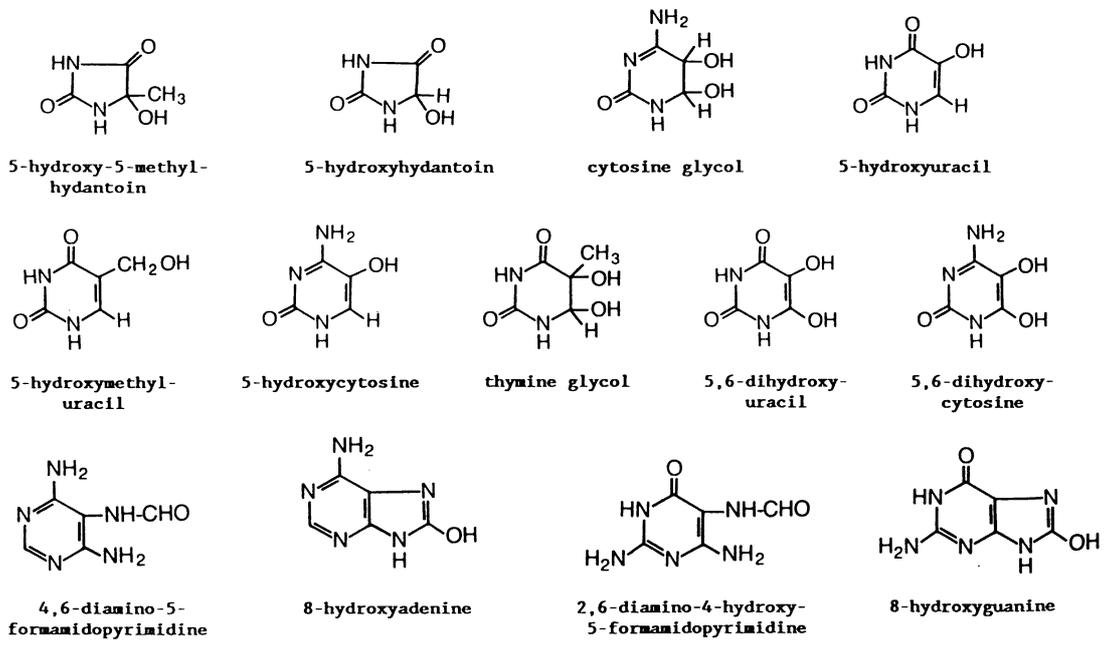
不論是內在因子或外在因子所產生的活性氧和自由基，在人體中也具有抗氧化防禦系統來預防這些傷害。正常狀態下，生物體所產生的自由基與抗氧化防禦系統，彼此之間會達到平衡以維持身體上之健康，然而此平衡會因營養不良或疾病而遭到破壞，該平衡就會傾向於氧化端，此平衡失調狀態稱之為氧化之逆境⁽¹³⁴⁾。由於細胞中具有修復系統，可以辨認、修復或消除受到氧化破壞之分子，所以大部份之細胞尚可忍受輕度之氧化壓力，但劇烈之氧化逆境仍會傷害或殺死細胞，且可能導致許多疾病的發生。

一般而言，人體的抗氧化物和促氧化物（prooxidant）的狀態通常會輕微的偏向後者，表四所示為人體抗氧化狀態的主要決定因子⁽¹³⁵⁾。當氧化因子達到足以壓制生體中之抗氧化系統，則會對身體造成嚴重之影響⁽¹³⁶⁾。雖然體內有一些修復系統可用來平衡這些傷害，但由於體內對活性氧具有生理需求性，因此並不會完全的被清除掉。故人體內的氧化傷害會不斷的形成，隨著年齡的增加而累積。

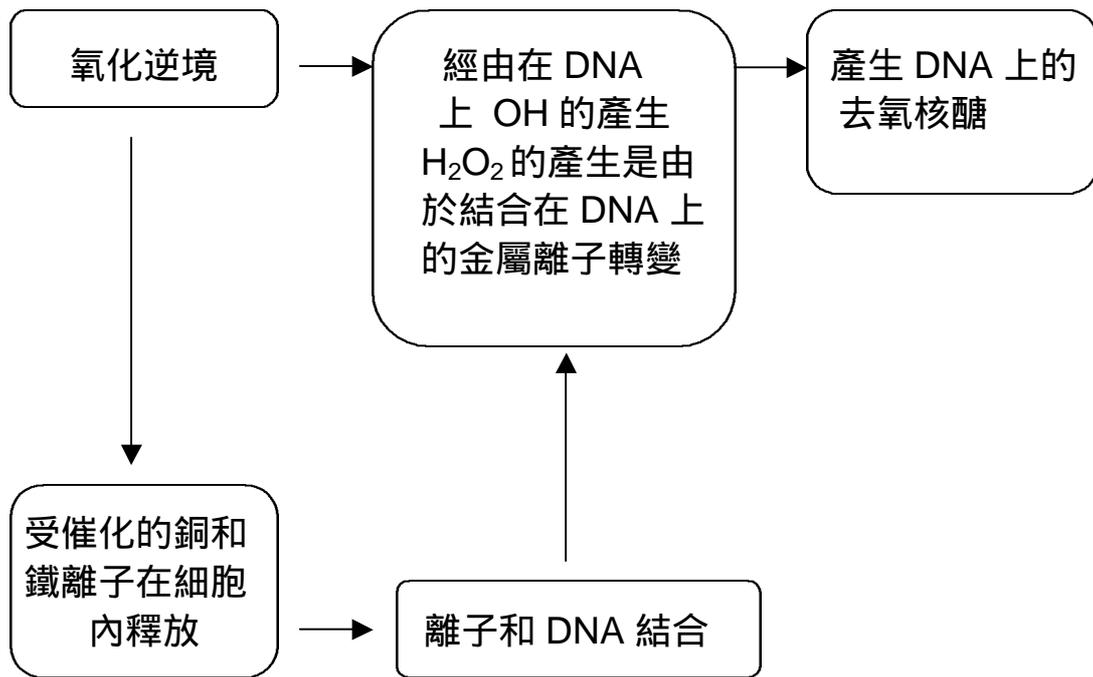
氧化會因為（1）活性氧及/或自由基產生過多，（2）抗氧化系統因吸收過少或內生性產出降低而變弱以及（3）游離態過渡金屬增加而產生逆境。嚴重的營養不良會使人體缺乏抗氧化防禦系統所需的礦物質（如 Cu、Mn、Zn、Se）和維生素（維生素 C、E 及β-胡蘿蔔素）等。而當氧化逆境形成時，會促使活性鐵離子自組織儲存之鐵蛋白中釋放出來，並消耗體內之抗氧化物質，使組織傷害的情況加深⁽¹³⁷⁾。



圖十三 自由基對細胞的影響 (124)



圖十四 氫氧自由基攻擊 DNA 鹼基後的產物⁽¹³¹⁾



圖十五 氧化的之逆境造成 DNA 受損的假說圖⁽¹³¹⁾

此外，香煙中富含多種自由基，故抽煙會增加肺部及其他組織的氧化逆境，而某些藥物與毒素在人體代謝中會加強氧化壓力，如除草劑 paraquat 經吸入肺部後，會造成大量之 O_2^- 而造成肺部之傷害。氧化逆境會造成細胞的損傷及增加慢性疾病（如心臟疾病與癌症）的發生。因此，避免氧化逆境對於健康及防治疾病是很重要的。

（五）自由基與疾病

與活性氧和自由基有關之疾病，據研究指出有神經退化性疾病（阿茲海默症、帕金森氏症、亨丁頓氏舞蹈症、肌萎縮症等）⁽¹³⁸⁾、癌症、心血管疾病（冠狀動脈心臟疾病、中風、缺血性心臟疾病、週邊血管疾病等）⁽¹³⁹⁾、風濕性關節炎⁽⁹⁰⁾、腸炎、免疫系統退化、腦機能障礙、白內障（Cataract）⁽¹⁴⁰⁾、等，如表五所示。

研究指出，抽煙所產生的超氧自由基及 NO_2 是肺部疾病最主要的危險因子，包括造成肺氣囊腫（emphysema）慢性支氣管炎（chronic bronchitis）氣喘（asthma）和肺癌（lung cancer）⁽¹⁴¹⁾。另有研究指出，老年人保護眼球晶體之代謝成分（如：glutathione reductase）活性下降，造成纖維狀細胞之大量增生，患者晶體中 H_2O_2 之代謝能力亦隨之下降，加上因光分解所產生之超氧陰離子和氫氧自由基亦會造成晶體蛋白質之修飾作用，遂加速了白內障之生成⁽¹⁴²⁾。研究指出，糖尿病患者血漿中常含有高量之脂質過氧化產物 MDA^(143,144)。

（六）人體對抗自由基毒害的系統

人體有一套完整對抗自由基毒害的系統，但因為污染源過多（如空氣、食物煙害）營養攝取不完全、接受醫學上治療（藥物、放射

表四 人體抗氧化狀態的決定因素⁽¹³⁵⁾

抗氧化效應	氧化前效應
基因因子	基因因子
飲食--	飲食--
<ul style="list-style-type: none"> · 抗氧化的維生素 (A,C,E) · 抗氧化的食物成分和光化合物 · 當抗氧化 的金屬 (Se, Zn, Cu, Mn, Fe) · 食品抗氧化物和添加劑 	<ul style="list-style-type: none"> · 脂質，特別是多不飽和鍵脂肪酸 · 兩價金屬 (Cu, Fe) · 氧化前營養物和光化合物
酒類 (含有抗氧化物) --	環境--
	<ul style="list-style-type: none"> · 污染源 · 抽煙 · 紫外線
	酒精--
	受傷、疾病、醫療行為--
	<ul style="list-style-type: none"> · 受傷 · 其他疾病 · 藥物、醫療處置 (如：放射線治療)
運動--	生理階段和狀況--
	<ul style="list-style-type: none"> · 未成熟 · 老化 · 過度的運動 · 壓力-- · 生理上 · 心理上



表五 自由基參與的各種疾病⁽¹⁴⁵⁾

心臟循環系統	腦
心肌病變	老年性癡呆症
動脈硬化症	巴金森氏症
Doxourubicin 毒性	高血壓之血管疾病
肺臟	毛細血管擴張性失調症
肺氣腫	(Ataxia-telangiectasia Syndrome)
成人型呼吸窘迫症	眼球
支氣管肺臟形成不良	白內障
Paraquat 毒性	退化性眼底病變
Bleomycin 毒性	新生兒視網膜病變
礦物塵肺沉著症	眼球出血
腎臟	皮膚
重金屬之腎毒性	燒、燙傷
Aminoglycoside 之腎毒性	日光輻射
腎臟移植排斥作用	接觸性皮膚炎
紅血球	Bloom 氏症候群
蠶豆症 (G6PD 缺乏症)	吡咯紫質沉著症
鉛中毒	癌症
瘧疾	老化 (退化性疾病)
Fanconi 貧血	自體免疫疾病 (紅斑性狼瘡)
鐮刀型貧血	缺血性貫流之組織傷害
消化系統	(硬塞、手術等)
四氯化碳之肝毒性	輻射性傷害
脂肪酸引起的胰臟炎	腎絲球炎
Alloxan 致糖尿病	維生素 E 缺乏症
非類固醇抗發炎藥物之	化學治療或放射治療副作用
消化系統副作用	汞中毒
	地中海型貧血所引起的鐵質過多症

化學治療)及老化使得排除自由基的酵素減少等,造成自由基的堆積而導致許多病變⁽¹¹⁵⁾。以下簡述生物體內為了清除並抑制自由基而發展出的對抗系統,藉由一些不同的機轉來抵抗對細胞有害的威脅,包括酵素系統及非酵素系統(維生素系統)兩大抗氧化系統:

1. 抗氧化維生素系統:

主要包括有維生素 C (ascorbic acid)、維生素 E (tocopherol) 及胡蘿蔔素 (β -carotene), 圖十六為維生素 C、維生素 E 及 GSH 抗氧化系統之總圖⁽¹⁴⁶⁾。

(1) 維生素 C

維生素 C 為一種水溶性維生素,也是眾所周知的抗氧化物。每分子維生素 C 可提供一對未配對電子,所以是有效之含氧自由基清除劑,維生素 C 與自由基作用後會產生 semi-dehydroascorbate,此物質在抗氧化過程中,可經由 GSH 及/或 NADPH 的還原作用而再生⁽¹⁴⁷⁾。

(2) 維生素 E

維生素 E 是一種脂溶性的抗氧化物,可有效的抑制脂質過氧化作用。天然的維生素 E 重要的有四型 (α 、 β 、 γ 、 δ),一般認為其抗氧化性以 α 型為最有效。一分子 α -tocopherol 可清除二個自由基⁽¹⁴⁸⁾,在細胞膜上及血漿的脂蛋白含有 α 型維生素 E (α -tocopherol),因其含有-OH 基可以作為脂質氧化連鎖反應中的阻斷劑,是屬於清除型之抗氧化劑。

(3) 胡蘿蔔素

β -胡蘿蔔素是維生素 A 的前驅物及在體內它可以消除單重態氧,及作為自由基的清除物 (Free radical scavenger),可提供抗氧化保

護效果給富含脂質之組織。其可經由與脂質過氧化自由基結合而終止連鎖反應之進行，並可憑藉結構之特異性，吸收單重態氧分子過多之能量而阻止氧化反應之進行。

2. 抗氧化酵素系統

某些含有過渡金屬之酵素，也可消除活性氧和自由基，如過氧化氫（Catalase, CAT）穀胱氨酸硫過氧化（glutathione peroxidase, GSH-PX）及超氧歧化（Superoxide dismutase, SOD）等，如圖十七所示。

（1）過氧化氫

CAT 是體內三大抗氧化酵素之一，為複合蛋白之一種，廣泛存在於細胞質中，反應中心為 Fe^{3+} ，並以 heme 為輔基，可使 H_2O_2 迅速分解為水及氧⁽¹⁵⁰⁾。CAT（除了紅血球外）多分佈於細胞中之過氧化體(peroxisome)中，過氧化體中的酵素如氨基酸氧化（amino acid oxidase）及氫氧酸氧化（hydroxy-acid oxidase）所產生之 H_2O_2 均可被 CAT 所代謝^(93,106,151,152)。

（2）穀胱氨酸硫過氧化

人體內三大抗氧化酵素之一，具還原 H_2O_2 或過氧化脂質成為水及氧或其他無害物質的功能。GSH-PX 存在於血液、粒腺體及細胞質中，包括需要依賴硒 (Se) 元素的 Se-GSH-PX 及不需要依賴硒的 Non-Se-GSH-PX 兩種型態⁽¹⁰⁴⁾。Se-GSH-PX 可以還原 H_2O_2 及有機氫氧化物，Non-Se-GSH-PX 則只可利用有機氫雙氧化物。穀胱氨酸硫(Glutathione, GSH)是由 胺酸(glycine) 穀胺酸(glutamic acid) 及半胱胺酸(cysteine) 所構成之 tripeptide，其可藉由 GSHPX 催化

為 GSSG，穀胱氨酸還原（glutathione reductase）還原成為 GSH，反應如下⁽¹⁵³⁾：



在正常細胞中，GSH/GSSG 之比值會較高，而 GSHPX 因大量存在於細胞質中，可直接清除 H_2O_2 ，且對 H_2O_2 之親和力大於 CAT，故其重要性較大^(93,151,152,154)。圖十八為穀胱氨酸之氧化還原系統。

(3) 超氧歧化

SOD 存在於細胞質及粒腺體中，其存在於細胞質中者，以銅、鋅為反應中心；存在於粒腺體中者以錳為反應中心⁽¹⁵⁵⁾。人體和其他動物上會有 Mn-SOD、Cu,Zn-SOD，原生動物等則含 Fe-SOD。SOD 可藉由轉化超氧陰離子 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 成為 H_2O_2 而清除之，反應如下：



而所產生之 H_2O_2 再由前述之 CAT 及 GSHPX 清除之。

由於 SOD 分子量甚大，無法由腸胃吸收，並有半衰期甚短及易為腎臟排掉之缺點，故已有甚多研究者開始從自然界申尋找可清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 之 SOD-like 物質^(93,151,152,154)。

二、超氧歧化 之簡介

SOD 是一類具有抗氧化活性的高分子金屬，具有一般生物的一

切特性，它廣泛存在於自然界一切需氧和耐氧的生物體各組織細胞內。由於 Cu/Zn-SOD，Mn-SOD，Fe-SOD 這三種 SOD 同功 都能特異性地清除生物氧化過程中產生的 $\cdot O_2^-$ ，實際上對產生 SOD 的細胞，具有對活性氧的防禦和保護作用。

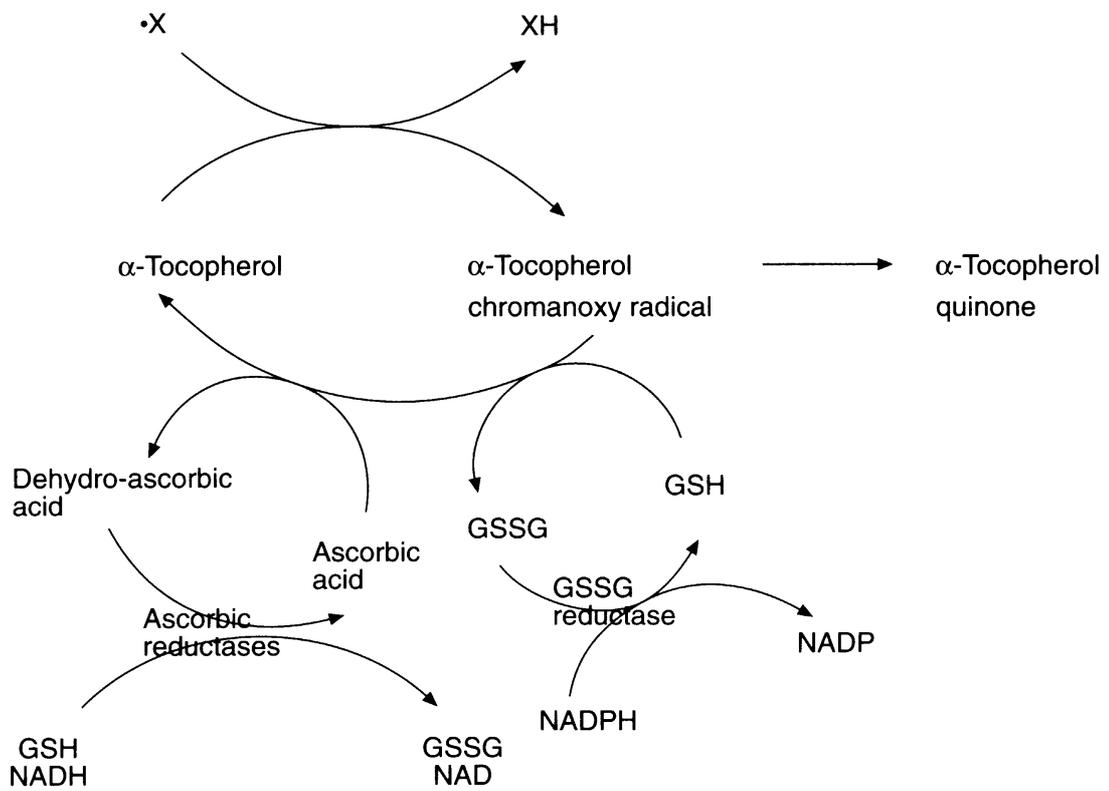
（一）超氧歧化 的生物學特性

SOD 是一類具有抗氧化活性的高分子生物 ，它廣泛存在於自然界一切需要氧和耐氧的生物體各組織細胞內，具有一般生物 的特性。同樣是活細胞的成分，由活細胞產生，在體內外具有一定催化功能的蛋白質。它是迄今發現唯一以 O_2^- 作為基物進行反應的 ，以金屬螯何物的形式存在，按照 蛋白結合的金屬離子種類不同，可將 SOD 分為三種類型，即 Cu/Zn-SOD，Mn-SOD 和 Fe-SOD。圖十九和圖二十為 Cu/Zn-SOD 及 Mn-SOD 的結構圖⁽¹⁴⁹⁾。

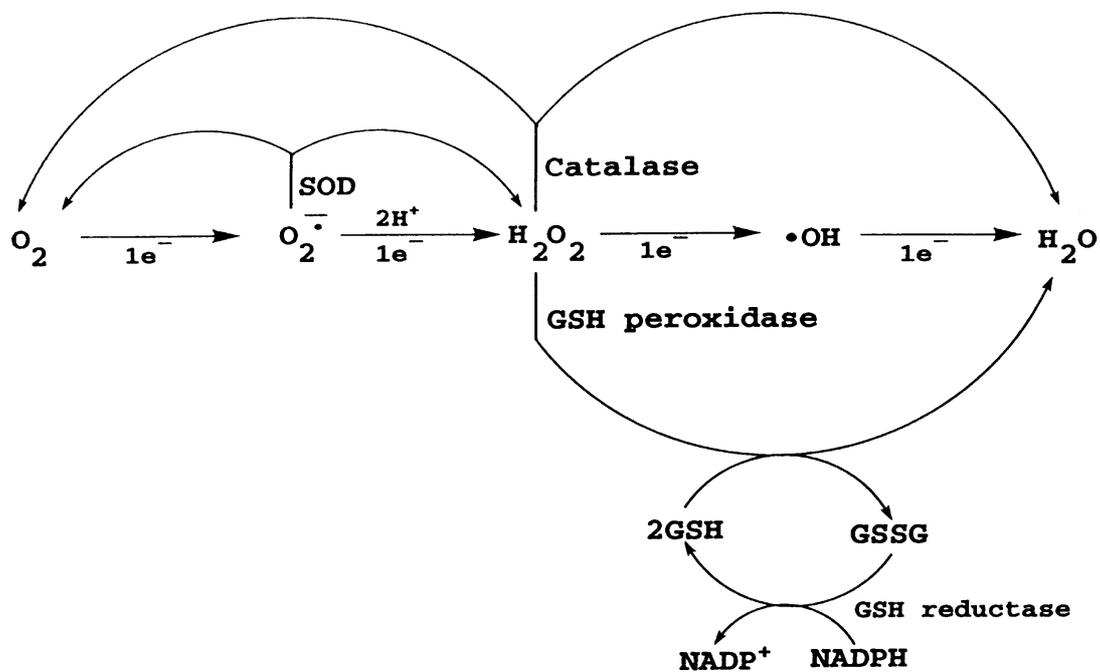
Cu/Zn-SOD 呈淡藍綠色，主要存在於真核細胞的胞漿中，分子量約 32000 左右，在可見光區 670nm 處有最大吸收，在紫外光區 265nm 處有最大吸收；分離純化的 Mn-SOD 呈淡粉紅色，存在於除紅血球外的所有動物細胞粒線體和原核生物中，分子量大多在 10000 左右，在可見光區 475nm 處有最大吸收，在紫外光區 280nm 處有最大吸收；Fe-SOD 呈淡黃色，這種類型的 SOD 僅存在於原核生物細胞中，其分子量約 38000 左右。

SOD 的種族及組織的特異性很強，生物種屬不同、同種生物的不同組織內或同一組織不同部位，SOD 的種類和含量也不同。在不同生物的不同發育階段，SOD 的活性和含量也不完全相同。

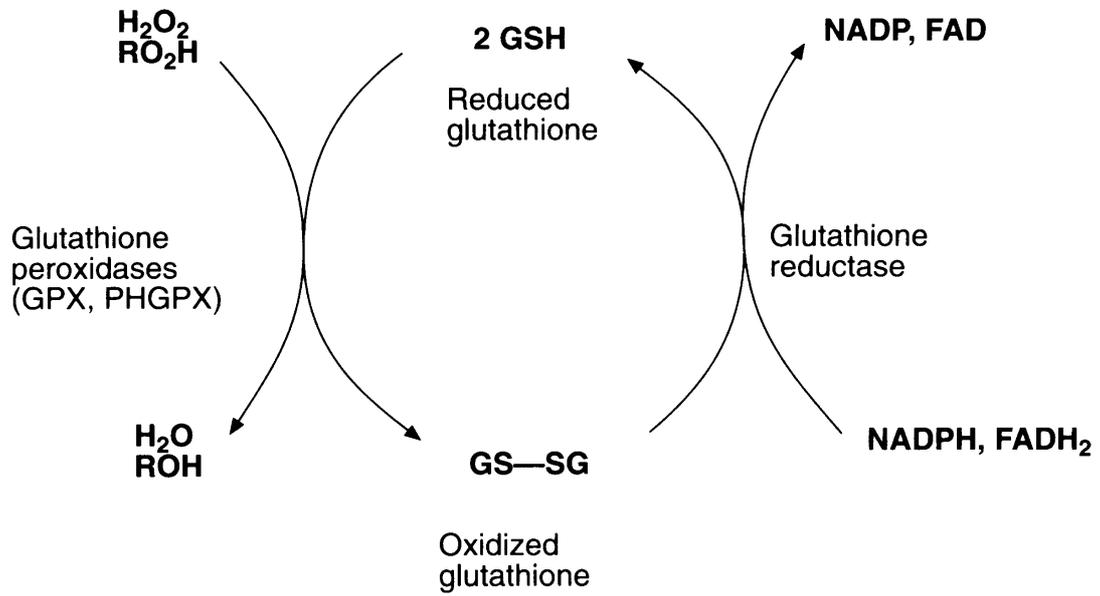
（二）超氧歧化 的理化性質



圖十六 維生素 C、維生素 E 及 GSH 抗氧化系統⁽¹⁴⁶⁾



圖十七 氧自由基的形成及抗氧化系統的酵素⁽¹⁴⁹⁾



圖十八 穀氨基硫之氧化還原系統⁽¹⁴⁹⁾

1. 對熱的安定性：

一般而言，蛋白質、生物對熱表現出高度不安定性及易變性。SOD 與其他生物不同，對熱比較穩定，但是當去掉金屬輔基後，其對熱穩定性很快下降，活性也跟著喪失。

2. 對 pH 的安定性：

SOD 對 pH 的敏感性遠比其他生物小，pH 值在 5.3~10.5 的範圍內，對的活性影響不大，同樣的當去掉金屬輔基後，其對 pH 穩定性會迅速下降。

3. SOD 的光吸收：

SOD 具有特殊的光吸收特性，這是由於不同種類 SOD 分子所含胺基酸種類及數量不同所導致。

4. 對氰化物的敏感性：

氰化物可使許多喪失活性，Cu/Zn-SOD 對氰化物較為敏感，加入 1-2 mM/L 的氰化物就能使其活性全部喪失，Mn-SOD 則較不敏感，當氰化物濃度超過 10 mM/L 時，活性才開始出現變化。

5. SOD 對還原劑的影響

還原劑對 SOD 的影響較大，如當加入巯基乙醇，SOD 酵素分子將很快解聚，導致 SOD 酵素活性顯著降低，甚至完全失去原有的生物功能。

三、美白與抗氧化

人類隨著年齡的增長，體內防禦系統的能力逐漸降低，導致體內氧化還原平衡失調，引起免疫功能損失及老化等病症。生物體細胞中抗氧化物的存在，可以對體內的氧化還原反應進行適度的調節，被認為是

長壽之一重要因子。另外如前一章所述，抑制黑色素的形成除了可由降低酪胺酸的活性、抑制酪胺酸合成外，亦可由抗氧化的方向著手，具還原能力的抗氧化劑能防止 dopa 的自動氧化，在化妝品上可作為美白用。

(一) 美白功效的評估

以下簡介幾個評估美白功效的實驗方法，如：抑制酪胺酸活性、阻斷 dopa 的自動氧化等。

1. Dopachrome 法⁽¹⁵⁶⁾

Tyrosinase 的活性抑制試驗是利用 dopachrome method 的方法。將 tyrosinase、L-tyrosine、HEPES 緩衝溶液和乙醇混合，再分別加入測試樣品。

2. Mason-Peterson Method

(1) 酪胺酸抑制活性測試^(157,158)

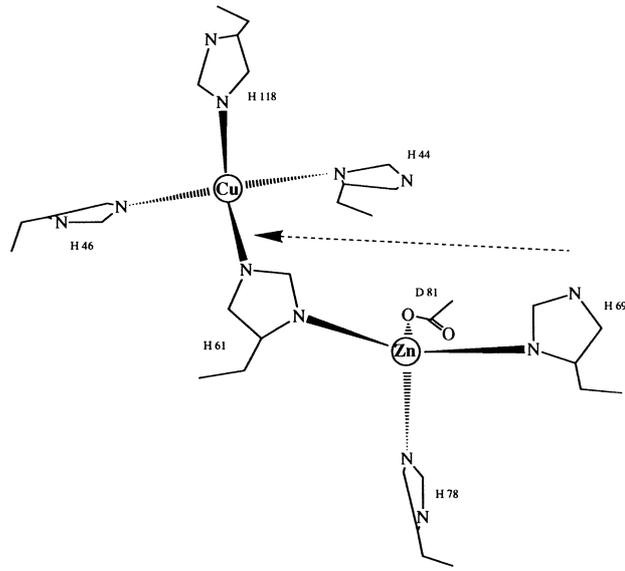
Tyrosinase 的活性抑制試驗是根據 Mason and Peterson 的方法來做。將測試樣品溶於緩衝溶液，於 25℃ 下加入 tyrosinase 及 dopa 溶液，於波長 475 nm 下測定吸光值，計算抑制率。

(2) Dopachrome 自動氧化產生黑色素⁽¹⁵⁹⁾

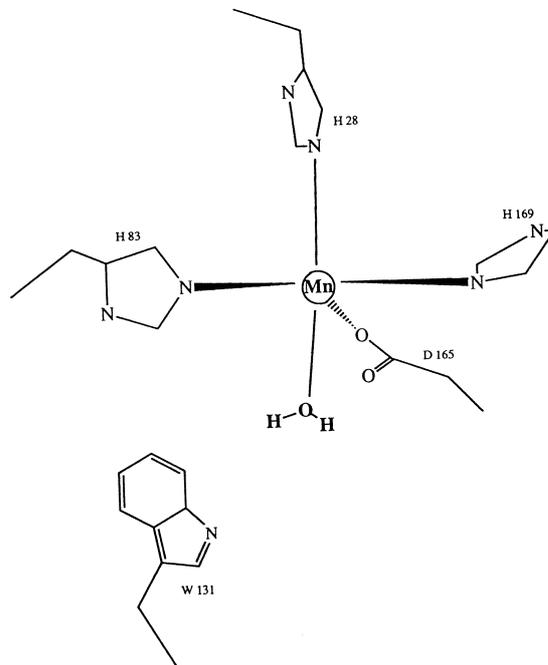
將 tyrosinase 於 25℃ 下加入 dopa，以 HCl 停止反應。離心後取沉澱物溶於 soluene 350 中，測量 400 nm 時的吸光值。得抑制率，以麴酸當作標準。

3. Sato 法⁽¹⁶⁰⁾

將 Mouse B16 melanoma cells 培養在 Eagle's minimum essential medium 中，測試樣品溶於 DMSO，加到上述的培養基，



圖十九 Cu/Zn-SOD 的結構 (149)



圖二十 Mn-SOD 的結構 (149)

不加測試樣品的 DMSO 當作對照組。用肉眼觀察其數量和顏色，與對照組做比較。

4. Brown guinea pig ⁽¹⁶⁰⁾

使用 UV-B lamp 照射天竺鼠的背部，於二星期內照射六次。再經一星期後，將測試樣品塗抹在背上，使用比色計量測其亮度，與對照組做比較。

(二) 麴酸分析方法建立及確效

麴酸為少數經衛生署公佈可用於化妝品的美白成分之一，亦常用作為美白實驗中的對照標準品。衛生署於八十九年公告，可使用於化妝品的美白成分有下列四種：1. Magnesiun ascorbyl phosphate 2. Ascorbyl glucoside 3. Kojic acid 4. Arbutin。

1. 麴酸理化性質 ⁽¹⁶¹⁾

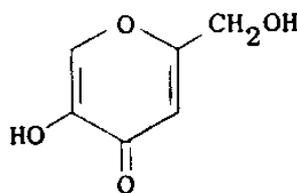
(1) 化學名

2-hydroxymethyl-5-hydroxy- γ -pyrone or 5-Hydroxy-2- (hydroxymethyl) -4H- pyran-4-one or 5-Hydroxy-2- (hydroxymethyl) -4-pyrone

(2) 結構式

(3) 分子式及分子量

$C_6H_6O_4$; mol wt 142.11



(4) 物理、化學性質

於丙酮，乙醇加乙醚或甲醇加醋酸中形成菱柱狀結晶型，熔點 153-154 ， pKa = 7.9 ， 8.03。極易溶於水、乙醇和丙酮，幾乎不溶於乙醚、醋酸、氯仿和嘓啶中。

2. 麴酸的簡介

麴酸由不同品種的微生物體 *Aspergillus*、*Penicillium* 及 *Gluconoacetobacter*，經過發酵而產生的有機酸^(162,163)，在 1907 年由 Yabuta 從 *Aspergillus oryzae* 中首次分離出來，並且在 1924 年由 Takahashi 等人定出它的結構^(164,165)。自然環境下，麴酸可以完全地降解，且由微生物利用碳和水在有氧的過程中合成⁽¹⁶⁶⁾。

麴酸具有些微的抑菌與抗發炎的生物活性^(167,168)，它的衍生物具有抗真菌⁽¹⁶⁹⁾及抗白血病⁽¹⁷⁰⁾的作用。在 1982 年，Shibuya 等人表示，麴酸在 Ames test 試驗中，顯示微弱的致突變性，於真核細胞中並未證實其為誘導突變的物質⁽¹⁷¹⁾。麴酸在狗的實驗，靜脈注射之中毒及致死劑量分別為 150 mg/kg、1 g/kg 狗體重⁽¹⁷²⁾；在培養的老鼠肝細胞中，顯示會導致 DNA 斷裂及基因的裂解 (clastogenic)⁽¹⁷³⁾。在 1991 年 Wei 實驗出高劑量 (≥ 9 mg/ml) 麴酸在中國倉鼠的卵巢細胞會造成毒性；且在造成明顯地姊妹染色體交換 (sister-chromatid exchange, SEC) 的頻率及染色體迷亂 (chromosomal aberrations, CAb) 的現象，並與劑量呈正相關。Wei 等人的報告中亦表示，麴酸對 *S. typhimurium*. TA98 及 TA100 具致突變能力⁽¹⁷⁴⁾。長期連續經口給予高劑量麴酸 (20 個月，3%) 會導致小鼠的甲狀腺瘤，機轉可能與是因為血漿中的 T_3 降低和 TSH 增加有關⁽¹⁷⁵⁾。儘管這些潛在的危險性在體外及動物實驗中發現，麴酸仍廣泛的使用在傳統的日本食物中，且認為是有益於健康的，像味增湯、醬油、清酒等等⁽¹⁶⁶⁾。

在食品工業，麴酸已經使用在抑制農產品中多酚氧化 (polyphenol oxidase) 所造成的棕色化⁽¹⁷⁶⁾。在化妝品上，麴酸廣泛的使用在美白方面，它是一個酪胺酸 的抑制劑，藉由結構上第 4 位置的酮基及第 5 位置的氫氧基螯合作用將酪胺酸 的銅離子移除，影響酪胺酸 將 N-acetyl tyrosine 氫氧化為 N-acetyl dopa 和

N-acetyl dopaquinone 的過程，導致酵素活性的抑制^(165,177,178)。

在皮膚上，麴酸能有效防止光造成的傷害。皮膚的光損傷是由於紫外光照射所導致活性氧群的形成⁽¹⁷⁹⁾，皮膚裡所含的鐵可能會參與活性氧自由基的形成，因此，能螯合鐵的物質就成了光照的防護劑。麴酸對鐵具有螯合的作用，在 Mitani 及 Koshiishi 等人以裸鼠做的研究顯示，麴酸能有效避免由慢性光損傷導致皮膚形成皺紋、皮膚的增殖、真皮下層的纖維化及真皮上層細胞外基質物的增加⁽¹⁸⁰⁻¹⁸²⁾。

四、研究目的

化妝品使用於人的皮膚，必須對皮膚不產生任何傷害，故中藥化妝品中所使用的中藥材先要瞭解其安全性，再對其功效進行評估，最後應確保製作成劑型時的品質。

本研究擬參考歷代方劑中記載具美容功效之中藥材，首先進行中藥材之安全性試驗，包括：單一劑量口服致死劑量 (LD₅₀)、皮膚刺激性試驗、眼睛刺激性試驗等之測定。

利用酵素免疫分析儀測定中藥材水及甲醇的萃取物對酪胺酸抑制之活性，及其抗氧化與擬超氧歧化之活性。

由功效評估實驗中篩選出具有美白、抗氧化及擬超氧歧化活性潛力的中藥材，製作成化妝品上常用的凝膠劑型，用於受試者，評估其臨床的療效。本研究也對中藥凝膠製劑進行安定性試驗，以瞭解不同中藥之甲醇萃取物在凝膠劑型中之安定性。

參、結果與討論

第七章 美容用中藥材之安全性

由於美容化妝品是日常生活中每天或長期連續被使用的物質，因此美容化妝品應該是安全的，無毒副作用的。傳統中醫藥，幾千年的應用中已積累了許多藥效記錄和經驗，對它們的用量、安全性和副作用也有許多驗證，這是合成化合物無法比的。

傳統醫藥美容植物藥中所含有的天然活性物，具多重效能，藥效持久穩定，作用溫和，適用廣，副作用無或很小。美容化妝品使用於人的皮膚，因此與其他賦型劑一樣，中藥化妝品的安全性和有用性，是化妝品研製和開發先要瞭解的目標。中藥材必須對皮膚不產生任何傷害。

本實驗使用

- 一、冰片等十五種中藥材水及 50%酒精萃取液，進行單一劑量毒性試驗、皮膚及眼睛刺激性試驗，
- 二、人參等五十四種中藥材水之萃取液（包含上述十五種）進行皮膚及眼睛刺激性試驗。

三、實驗中藥材之製備

（一）中藥材水萃取液之製備

五十四種中藥材之水之萃取物重量與萃取率的換算如表六及表七。

（二）中藥材 50%酒精溶液萃取物重量與萃取率的換算如表八所示。

（三）50%酒精萃取液中酒精之去除：50%酒精萃取液置於 60 之烘箱中，0.5 小時後，觀察其體積減少一半以上。調整其體積為原體積之一半。此時酒精之理論含量值為 0.001%以下。

表六 五十四種中藥材之水之萃取率

中藥材名稱	40ml		中藥材名稱	40ml	
	萃取物重 (g)	萃取率 (%)		萃取物重 (g)	萃取率 (%)
人參	3.9842	39.842	威靈仙	0.3326	3.326
女貞子	2.0156	20.156	郁李仁	0.307	3.07
山慈菇	1.0408	10.408	桔梗	1.2184	12.184
天門冬	2.6851	26.851	桑白皮	0.235	2.35
冬瓜子	0.5228	5.228	桑葉	2.0699	20.699
半夏	6.3624	63.624	桃仁	0.7058	7.058
玉竹	1.4938	14.938	浮萍	0.7622	7.622
生地黃	1.5638	15.638	益母草	0.212	2.12
白芨	3.6546	36.546	益智仁	2.1192	21.192
白朮	2.431	24.31	栝藹實	0.4624	4.624
白芍	1.2183	12.183	茯苓	1.0314	10.314
白果	0.339	3.39	細辛	0.1798	1.798
白芷	2.5267	25.627	麥門冬	4.1121	41.121
白蘘	1.0102	10.102	菟絲子	1.098	10.98
合歡皮	0.9526	9.526	當歸	3.001	30.01
杏仁	1.314	13.14	綠豆	0.1498	1.498
杜仲	1.0054	10.054	本	1.4354	14.354
牡丹皮	1.2204	12.204	蒺藜	1.5492	15.492
辛夷	1.7444	17.444	澤瀉	1.811	18.11
防風	0.5292	5.292	薏苡仁	0.0687	0.687
知母	2.192	21.92	黨參	0.913	9.13
冰片	0.2818	2.818	牛膝	4.8602	48.602
牛蒡	4.5153	45.153	丹參	4.1555	41.555
艾草	3.103	31.03	冬青葉	2.0699	20.699
連翹	2.0436	20.436	地膚子	1.7178	17.178
梔子花	0.7183	7.183	百合	1.3083	13.083
山楂	5.0517	50.517	黃連	1.0089	10.089

表七 五十四種中藥材之水萃取體積與萃取物重量 (mg) 換算表

中藥材名稱	水之萃取液		中藥材名稱	水之萃取液	
	0.1 ml	0.5 ml		0.1 ml	0.5 ml
人參	2.4605	12.3025	威靈仙	0.8315	4.1575
女貞子	5.039	25.195	郁李仁	0.7675	3.8375
山慈菇	2.602	13.01	桔梗	3.046	15.23
天門冬	6.7128	33.5638	桑白皮	0.5875	2.9375
冬瓜子	1.307	6.535	桑葉	5.1748	25.8738
半夏	15.906	79.53	桃仁	1.7645	8.8225
玉竹	3.7345	18.6725	浮萍	1.9055	9.5275
生地黃	3.9095	19.5475	益母草	0.53	2.65
白芨	9.1365	45.6825	益智仁	5.298	26.49
白朮	6.0775	30.3875	栝藹實	1.156	5.78
白芍	1.7958	8.9788	茯苓	2.5785	12.8925
白果	0.8475	4.2375	細辛	0.4495	2.2475
白芷	6.3168	31.5838	麥門冬	10.2803	51.4013
白蘘	2.5255	12.6275	菟絲子	2.745	13.725
合歡皮	2.3815	11.9075	當歸	7.5025	37.5125
杏仁	3.285	16.425	綠豆	0.3745	1.8725
杜仲	2.5135	12.5675	本	3.5885	17.9425
牡丹皮	3.051	15.255	蒺藜	3.873	19.365
辛夷	4.361	21.805	澤瀉	4.5275	22.6375
防風	1.323	6.615	薏苡仁	0.1718	0.8588
知母	5.48	27.4	黨參	2.2825	11.4125
冰片	0.7045	3.5225	牛膝	12.1505	60.7525
牛蒡	11.2883	56.4413	丹參	10.3888	51.9438
艾草	7.7575	38.7875	冬青葉	5.1748	25.8738
連翹	5.109	25.545	地膚子	4.2945	21.4725
梔子花	1.7958	8.9788	百合	3.2708	16.3538
山楂	12.6293	63.1463	黃連	2.5223	12.6113

表八 冰片等中藥之50%酒精溶液所萃取之體積與重量 (mg) 換算表

中藥材名稱	50%酒精溶液 40 ml		去酒精之 50%酒精萃取液	
	萃取物重 (g)	萃取率 (%)	0.1 ml	0.5 ml
冰 片	0.3529	3.529	1.7645	8.8225g
牛 蒡	5.082	50.82	25.41	127.05
艾 草	3.5723	35.723	17.8615	89.3075
連 翹	1.2656	12.656	6.328	31.64
梔子花	1.6095	16.095	8.0475	40.2375
山 楂	3.7859	37.859	18.9295	94.6475
牛 膝	7.5424	75.424	37.712	188.56
丹 參	3.9039	39.039	19.5195	97.5975
冬青葉	1.6444	16.444	8.222	41.11
水 萍	0.4332	4.332	2.166	10.83
冬瓜子	0.5511	5.511	2.7555	13.7775
地膚子	0.6012	6.012	3.006	15.03
薏 仁	0.5089	5.089	2.5445	12.7225
百 合	1.0617	10.617	5.3085	26.5425
黃 連	2.5029	25.029	12.5145	62.5725

一、毒性試驗

(一) 單一劑量毒性試驗^(183,184)

單一劑量毒性試驗的目的為測試試驗物質之急性毒性。經單一劑量投藥後 (包含 24 小時內完成的多次投藥) , 哺乳類動物臨床毒性症狀 (嚴重程度) 、發生時間、持續的時間及中毒後的復原性, 並瞭解毒性症狀與劑量及時間的關係。單一劑量毒性試驗之結果有助於重複劑量毒性試驗時劑量範圍之選擇, 同時可顯示該試驗物質的標的器官與遲發之毒性。同時單一劑量毒性試驗可協助選擇臨床試驗第一階段的起始劑量, 並了解服藥過量可能引發之急性毒性。

劑量範圍須包含會及不會產生毒性症狀 (造成死亡) 之劑量。若試驗物質毒性很低, 則以試驗物質許可之最高限界劑量進行。

若採強迫餵食方式投藥, 投藥前動物須經過特定時段的禁食, 而投藥之體積應在 10 ml/kg 動物體重以下, 若投藥體積過高, 可採多次投藥方式, 但須在 24 小時內完成。

單一劑量之毒性其結果如表九及表十所示。依中醫藥典籍記載, 試驗物質之毒性很低, 故投予量採最高劑量: 10 g 藥材之 50%酒精或水的萃取物/ kg 體重投予。結果顯示小白鼠全部存活, 活動情形與未給藥之對照組無異; 十五種中藥材之水及 50%酒精萃取物其 LD₅₀ 均大於 10g 藥材之萃取物 / kg 體重。皆可視為無毒性。

(二) 皮膚刺激性試驗

所有會與皮膚或與眼睛接觸的新產品須進行皮膚與眼睛刺激性測試。觀察試驗物質對皮膚與眼睛及相關黏膜可能造成的傷害

^(185,186)。採用皮膚刺激性計分系統評估, 摘自 OECD (Organization

表九 中藥材 50%酒精溶液萃取物
之單一劑量毒性試驗結果

藥材	死亡率	LD ₅₀ * (g/kg)
冰片	0	>10
牛蒡	0	>10
艾草	0	>10
連翹	0	>10
梔子花	0	>10
山楂	0	>10
牛膝	0	>10
丹參	0	>10
冬青葉	0	>10
水萍	0	>10
冬瓜子	0	>10
地膚子	0	>10
薏仁	0	>10
百合	0	>10
黃連	0	>10

表十 中藥材水萃取物之單一劑量毒性試驗結果

藥材	死亡率	LD ₅₀ * (g/kg)
冰片	0	>10
牛蒡	0	>10
艾草	0	>10
連翹	0	>10
梔子花	0	>10
山楂	0	>10
牛膝	0	>10
丹參	0	>10
冬青葉	0	>10
水萍	0	>10
冬瓜子	0	>10
地膚子	0	>10
薏仁	0	>10
百合	0	>10
黃連	0	>10

*劑量為 10g 藥材之萃取物/kg 動物體重

for Economic Cooperation and Development , 1992) , 如表十一所示。

人參等五十四種中藥材之水萃取液之皮膚刺激性結果如表十二及冰片等十五種 50%酒精溶液的萃取液之皮膚刺激性評估如表十三所示。皮膚刺激性測試結果顯示，中藥材之水及 50%酒精溶液的萃取液，均勻塗抹 0.5 ml / 6cm² 於背部皮膚，處理後的第 1、24、48 及 72 小時，除了合歡皮於 24 小時有輕微紅斑，皮膚反應等級評分為 1 分外，其餘並沒有產生紅斑、浮腫等情形，表示此五十三種化妝品用的中藥材之水萃取液及十五種 50%酒精溶液的萃取液均無任何的皮膚刺激作用。其外用的安全性是被證實的。

(三) 眼睛刺激性試驗

五十四種中藥材之水萃取液之眼睛刺激性觀察評分⁽¹⁸⁷⁻¹⁸⁹⁾，採用眼睛刺激性計分系統評估，摘自 OECD (1987) , 如表十四所示。觀察及評分結果如表十五及表十六所示，十五種 50%酒精溶液萃取液之眼睛刺激性觀察及評分結果如表十七及表十八所示。

將中藥材之水及 50%酒精萃取液，於結膜囊給予 0.1 ml，使藥物吸收完全，結果顯示冰片及當歸之水及 50%酒精萃取液有輕微刺激性，在給藥後二十秒有閉眼的情形。白朮、合歡皮、桑白皮之水萃取液在給藥初期有輕微刺激性，但約 30 秒及消失，在 24 小時之觀察對眼睛無任何不良反應。

其餘中藥萃取液，均在藥物完全吸收後恢復正常。在處理後的第 24、48 與 72 小時，並沒有產生分泌物；以 Draize 法觀察評估，亦無發紅、腫脹或潰爛腐蝕之情形。表示此化妝品用的中藥材並無任何的眼睛刺激作用，可安全的使用於眼用或外用的化妝品、保養品上。

表十一 皮膚反應的等級 (GRADING OF SKIN REACTION)⁽¹⁸⁶⁾

(摘自 OECD (1992) . Guideline for Testing of Chemicals No. 404:
Acute Dermal Irritation/Corrosion)

紅斑和焦痂的形成 (Erythema and Eschar Formation)

無紅斑	0
很輕微的紅斑 (難察覺)	1
明顯紅斑	2
中度到重度紅斑	3
重度紅斑 (甜菜紅) 到焦痂的形成	4

最大可能程度：4

水腫的形成 (Oedema Formation)

無水腫	0
很輕微的水腫 (難察覺)	1
輕微的水腫 (範圍有明顯的情形)	2
中度的水腫 (腫脹近 1mm)	3
重度的水腫 (腫脹大於 1mm)	4

最大可能程度：4

表十二 皮膚刺激性試驗-Draize 評分 (水之萃取物：0.5 ml)

藥 材	時 間	評 分	藥 材	時 間	評 分
人 參	1hr	0	白 芩	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
女貞子	1hr	1	白 朮	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
山慈菇	1hr	0	白 芍	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
天門冬	1hr	0	白 果	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
冬瓜子	1hr	0	白 芷	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
半 夏	1hr	0	白 藜	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
玉 竹	1hr	0	合歡皮	1hr	1
	24hr	0		24hr	1
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
生地黃	1hr	0	杏 仁	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0

表十二 皮膚刺激性試驗-Draize 評分 (水之萃取物：0.5 ml)(續)

藥材	時間	評分	藥材	時間	評分
杜仲	1hr	0	桑白皮	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
牡丹皮	1hr	0	桑葉	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
辛夷	1hr	0	桃仁	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
防風	1hr	0	浮萍	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
知母	1hr	0	益母草	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
威靈仙	1hr	0	益智仁	1hr	1
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
郁李仁	1hr	0	栝藹實	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
桔梗	1hr	0	茯苓	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0

表十二 皮膚刺激性試驗-Draize 評分 (水之萃取物：0.5 ml)(續)

藥材	時間	評分	藥材	時間	評分
細辛	1hr	0	本	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
麥門冬	1hr	0	蒺藜	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
菟絲子	1hr	0	澤瀉	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
當歸	1hr	0	薏苡仁	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
綠豆	1hr	0	黨參	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
冰片	1hr	0	牛膝	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
牛蒡	1hr	0	丹參	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
艾草	1hr	0	冬青葉	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0

表十二 皮膚刺激性試驗-Draize 評分 (水之萃取物：0.5 ml)(續)

藥材	時間	評分	藥材	時間	評分
連翹	1hr	0	地膚子	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
梔子花	1hr	0	百合	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
山楂	1hr	0	黃連	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0

表十三 皮膚刺激性試驗-Draize 評分 (50%酒精溶液萃取物)

藥 材	時 間	評 分	藥 材	時 間	評 分
冰 片	1hr	0	冬青葉	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
牛 蒡	1hr	0	水 萍	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
艾 草	1hr	0	冬瓜子	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
連 翹	1hr	0	地膚子	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
梔子花	1hr	0	薏 仁	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
山 楂	1hr	0	百 合	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
牛 膝	1hr	0	黃 連	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
丹 參	1hr	0			
	24hr	0			
	48hr	0			
	72hr	0			

表十四 眼睛損傷的等級 (GRADES FOR OCULAR LESIONS)⁽¹⁸⁶⁾

(摘自 OECD (1987) . Guideline for Testing of Chemicals No. 405:
Acute Eye Irritation/Corrosion.)

角膜 (CORNEA)

模糊度：模糊密度等級 (以模糊的面積判讀)

沒有模糊不清.....	0
模糊區域分散 (模糊區域少量且感光正常) , 虹膜形狀可見...	1
可以辨識到半透明的區域 , 虹膜形狀模糊.....	2
模糊的區域 , 虹膜形狀不可見 , 瞳孔形狀勉強可見.....	3
不透明的角膜無法 , 無法從模糊區域見到虹膜.....	4

虹膜 (IRIS)

正常.....	0
可能出現深的皺摺、充血、腫脹、角膜周圍有中度的充血 , 可能以上症狀之一或兩者以上 , 虹膜仍然對光有反應 (呈現較遲鈍反應)	1
對光沒有反應、出血、明顯有損傷 (其中之一或全部)	2

結膜 (CONJUNCTIVAE)

紅腫的情形 (包括及眼瞼、眼球根、結膜、角膜、紅膜)

血管正常.....	0
有些血管充血.....	1
模糊、深紅色、特別幾個血管無法辨識.....	2
模糊的深紅色.....	3

化學病理學：眼瞼、眼皮的症狀

沒有紅腫.....	0
看起來有點腫（包括眼皮）.....	1
眼瞼外翻有部分有紅腫.....	2
眼瞼近一半有紅腫.....	3
眼瞼過一半有紅腫.....	4

結果處理：

收集數據作成表格的形式，要表現出每個觀察時間每個實驗動物的受刺激範圍；描述刺激程度；表達觀察到的眼睛損害嚴重度。

結果評估：

眼睛刺激範圍被評估時要自然呈現所觀察到的狀態，特殊的範圍不能當作是絕對的標準，觀察到的當作是再描述上和評估上的參考值和具有意義。

表十五 眼睛刺激性試驗觀察紀錄（水萃取液；劑量：0.1 ml）

藥材 \ 時間	1hr	24hr	48hr	72hr
人參	全劑量點完、藥物吸收完全後，正常睜開眼。	正常、與對照組無差異	正常	正常
女貞子	眨眼幾次不明顯	正常、與對照組無差異	正常	正常
山慈菇	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
天門冬	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
冬瓜子	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
半夏	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
玉竹	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
生地黃	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
白芫	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
白朮	全劑量點完，藥物吸收完全後，眼睛紅紅的	正常、與對照組無差異	正常	正常
白芍	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
白果	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
白芷	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
白蘞	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
合歡皮	眨眼每 2 秒一次，約 10 秒	正常、與對照組無差異	正常	正常

表十五 眼睛刺激性試驗觀察紀錄 (水萃取液; 劑量: 0.1 ml)(續)

藥材	時間	1hr	24hr	48hr	72hr
	杏仁		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常
杜仲		全劑量點完, 藥物吸收完全後, 眼睛紅紅的	正常、與對照組無差異	正常	正常
牡丹皮		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
辛夷		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
防風		眨眼但不明顯, 約 5 秒一次	正常、與對照組無差異	正常	正常
知母		眨眼但不明顯, 約 5 秒一次	正常、與對照組無差異	正常	正常
威靈仙		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
郁李仁		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
桔梗		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
桑白皮		全劑量點完, 藥物吸收完全後, 眼睛紅紅的	正常、與對照組無差異	正常	正常
桑葉		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
桃仁		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
浮萍		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
益母草		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
益智仁		眨眼但不明顯	正常、與對照組無差異	正常	正常
栝藹實		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常

表十五 眼睛刺激性試驗觀察紀錄 (水萃取液; 劑量: 0.1 ml)(續)

藥材	時間	1hr	24hr	48hr	72hr
	茯苓		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常
細辛		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
麥門冬		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
菟絲子		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
當歸		全劑量點完、藥物吸收完全後, 閉眼約 20 秒。	正常、與對照組無差異	正常	正常
綠豆		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
本		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
蒺藜		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
澤瀉		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
薏苡仁		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
黨參		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
冰片		全劑量點完、藥物吸收完全後, 閉眼約 20 秒後睜開。	正常、與對照組無差異	正常	正常
牛蒡		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
艾草		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
連翹		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
梔子花		正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常

表十五 眼睛刺激性試驗觀察紀錄 (水萃取液 ; 劑量 : 0.1 ml)(續)

藥材 \ 時間	1hr	24hr	48hr	72hr
山 楂	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
牛 膝	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
丹 參	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
冬青葉	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
地膚子	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
百 合	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常
黃 連	正常睜開眼	正常、與對照組無差異	正常	正常

表十六 眼睛刺激性試驗-Draize 評分 (水萃取物 : 0.1 ml)

藥 材	時 間	評 分	藥 材	時 間	評 分
人 參	1hr	0	白 芩	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
女貞子	1hr	0	白 朮	1hr	1
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
山慈菇	1hr	0	白 芍	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
天門冬	1hr	0	白 果	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
冬瓜子	1hr	0	白 芷	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
半 夏	1hr	0	白 蘞	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
玉 竹	1hr	0	合歡皮	1hr	1
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
生地黃	1hr	0	杏 仁	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0

表十六 眼睛刺激性試驗-Draize 評分 (水萃取物 : 0.1 ml)(續)

藥材	時間	評分	藥材	時間	評分
杜仲	1hr	0	桑白皮	1hr	1
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
牡丹皮	1hr	0	桑葉	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
辛夷	1hr	0	桃仁	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
防風	1hr	0	浮萍	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
知母	1hr	0	益母草	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
威靈仙	1hr	0	益智仁	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
郁李仁	1hr	0	栝藋實	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
桔梗	1hr	0	茯苓	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0

表十六 眼睛刺激性試驗-Draize 評分 (水萃取物 : 0.1 ml)(續)

藥 材	時 間	評 分	藥 材	時 間	評 分
細 辛	1hr	0	本	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
麥門冬	1hr	0	蒺 藜	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
菟絲子	1hr	0	澤 瀉	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
當 歸	1hr	1	薏苡仁	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
綠 豆	1hr	0	黨 參	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
冰 片	1hr	1	牛 膝	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
牛 蒡	1hr	0	丹 參	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
艾 草	1hr	0	冬青葉	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0

表十六 眼睛刺激性試驗-Draize 評分 (水萃取物 : 0.1 ml)(續)

藥材	時間	評分	藥材	時間	評分
連翹	1hr	0	地膚子	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
梔子花	1hr	0	百合	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
山楂	1hr	0	黃連	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0

表十七 眼睛刺激性試驗觀察紀錄 (50%酒精溶液萃取物； 0.1 ml)

藥材	時間	1hr	24hr	48hr	72hr
冰片	全劑量點完、藥物吸收完全後，閉眼約 20 秒後睜開。	正常、	與對照組無差異	正常	正常
牛蒡	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
艾草	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
連翹	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
梔子花	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
山楂	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
牛膝	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
丹參	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
冬青葉	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
水萍	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
冬瓜子	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
地膚子	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
薏仁	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
百合	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常
黃連	正常睜開眼	正常、	與對照組無差異	正常	正常

表十八 眼睛刺激性試驗-Draize 評分 (50%酒精溶液萃取物：0.1 ml)

藥 材	時 間	評 分	藥 材	時 間	評 分
冰 片	1hr	1	冬青葉	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
牛 蒡	1hr	0	水 萍	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
艾 草	1hr	0	冬瓜子	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
連 翹	1hr	0	地膚子	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
梔子花	1hr	0	薏 仁	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
山 楂	1hr	0	百 合	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
牛 膝	1hr	0	黃 連	1hr	0
	24hr	0		24hr	0
	48hr	0		48hr	0
	72hr	0		72hr	0
丹 參	1hr	0			
	24hr	0			
	48hr	0			
	72hr	0			

第八章 美白用中藥材之篩選

一、中藥材之酪胺酸 活性抑制試驗

由於黑色素具有某些方面的生理保護作用，例如：吸收紫外光之輻射能以減緩發炎反應以及減少超氧陰離子 ($\cdot O_2^-$) 之自由基清除作用等。為顧及黑色素原具之生理保護作用，中草藥在美白方面之科學研究並不由黑色素細胞之細胞毒性著手。

本研究根據 Dopachrome 法⁽¹⁵⁶⁾，於緩衝溶液種類、乙醇含量及測定波長稍作調整，將 0.4 M 的 HEPES 緩衝溶液 (N-[2-Hydroxyethyl] piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid]，25 下 pKa=7.5，pH 範圍 6.8-8.2) 以 pH 6.8 的 Sorensen 氏磷酸鹽緩衝溶液取代；乙醇 50 μ l 更改為 25 μ l；波長以 450 nm 替代 475 nm，並加以確效。

1. 吸收波長的選擇

圖二十一、二十為 1 ml 純水、1 ml, 2.5 mM 酪胺酸, 0.9 ml pH 6.8 磷酸緩衝溶液及 0.1 ml, 1000 U/ml 酪胺酸 混合，反應 0 分鐘及 30 分鐘之紫外光光譜圖，30 分鐘後，應有 Dopachrom 生成。圖二十二顯示，於 475 nm 及 450 nm 二處之吸光情形類似，該區間無尖銳的吸收峰。圖二十三為 60 分鐘內波長 475 nm 及 450 nm 吸光值的比較，隨著反應時間增加，兩種波長下的吸光值均穩定的上升，同樣都在 50 分鐘左右達到飽和，吸光值變動很小，圖中顯示達反應平台時，波長 475 nm 及 450 nm 之吸收分別為 0.17、0.15，均呈現可辨識的吸收。由於 ELISA 分析儀上所附的濾鏡為 450 nm，用 UV-Vis 測試結果顯示，本實驗以 450 nm 波長進行酪胺酸 活性抑制的測試是可行的。

2. 溫度、時間與吸收度的關係測定

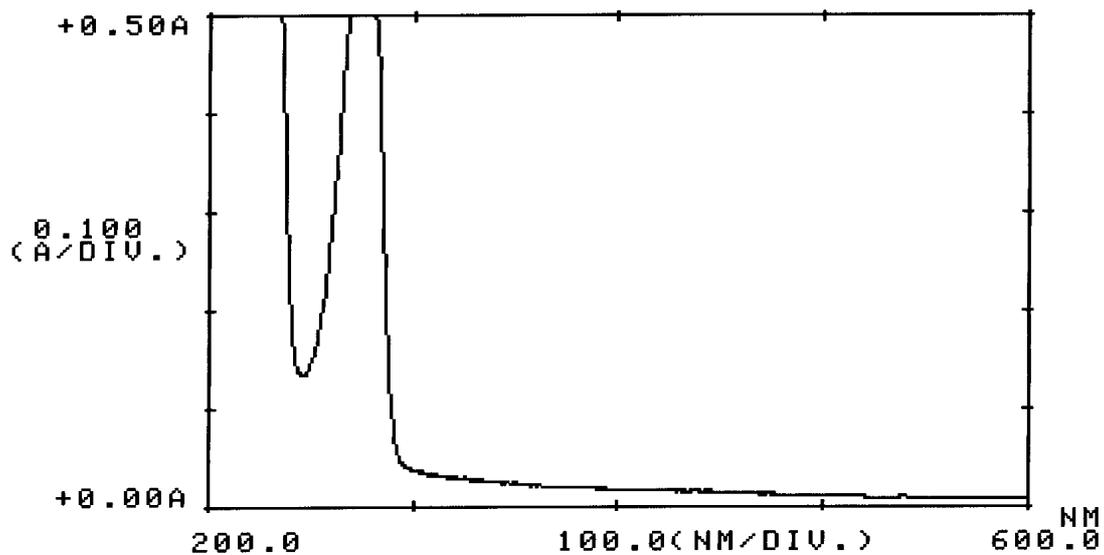
於室溫 (25) 及 37 的恆溫裝置下，紫外光-可見光光譜儀記錄 450 nm 下，120 分鐘內的吸光值變化，如圖二十四。圖中所示，37 下於 50 分鐘即達反應平頂，而 25 則於 120 分鐘後尚進行反應中，故本實驗選擇反應快、時間短的溫度 37 ，作為進行酪胺酸 抑制實驗的反應溫度。此外，由標準曲線建立中，發現反應 30 及 50 分鐘時均呈現良好之線性。本研究選擇總反應時間為 30 分鐘，即可與到達反應平頂 (plateau) 50 分鐘之效果相等，且更節省時間。

3. 甲醇對酪胺酸 抑制活性的影響

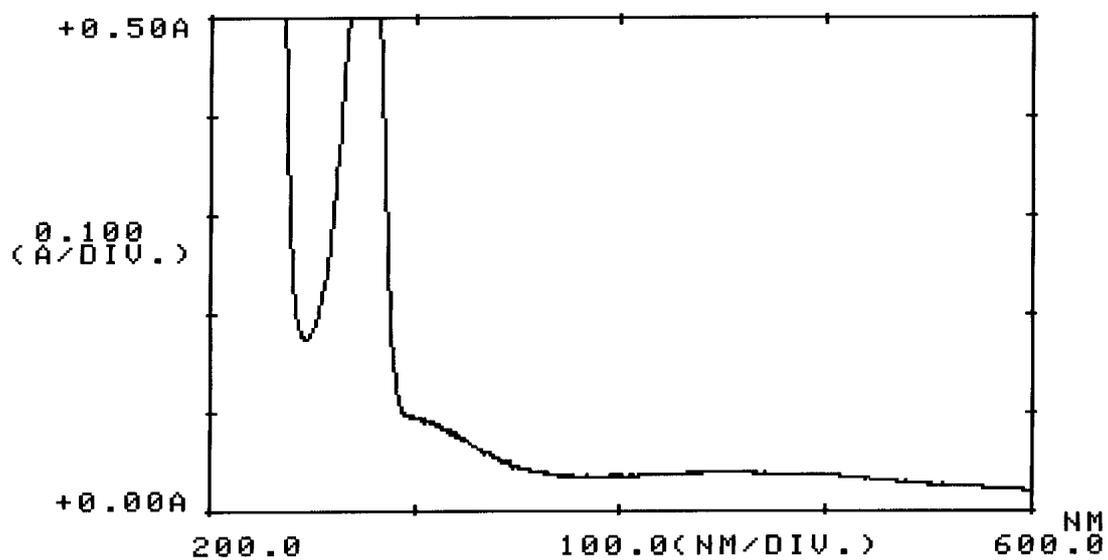
紫外光-可見光光譜儀設定為 Kinetic 模式，波長 450 nm，每 5 分鐘測定一次，實驗分別於 25 及 37 下進行，由 120 分鐘內吸光值變化，進而計算出反應速率常數 k (abs/t)，結果如圖二十五、二十六。在 25 與 37 下，由不同濃度 10%、5%、1%之甲醇與純水比較，結果顯示含 1%之甲醇與純水對照組，兩者對酪胺酸 抑制活性的影響並無差異 ($p > 0.05$)，而 10%、5%甲醇對酪胺酸 抑制活性的反應，有抑制的情形。

4. 酪胺酸 濃度的選擇

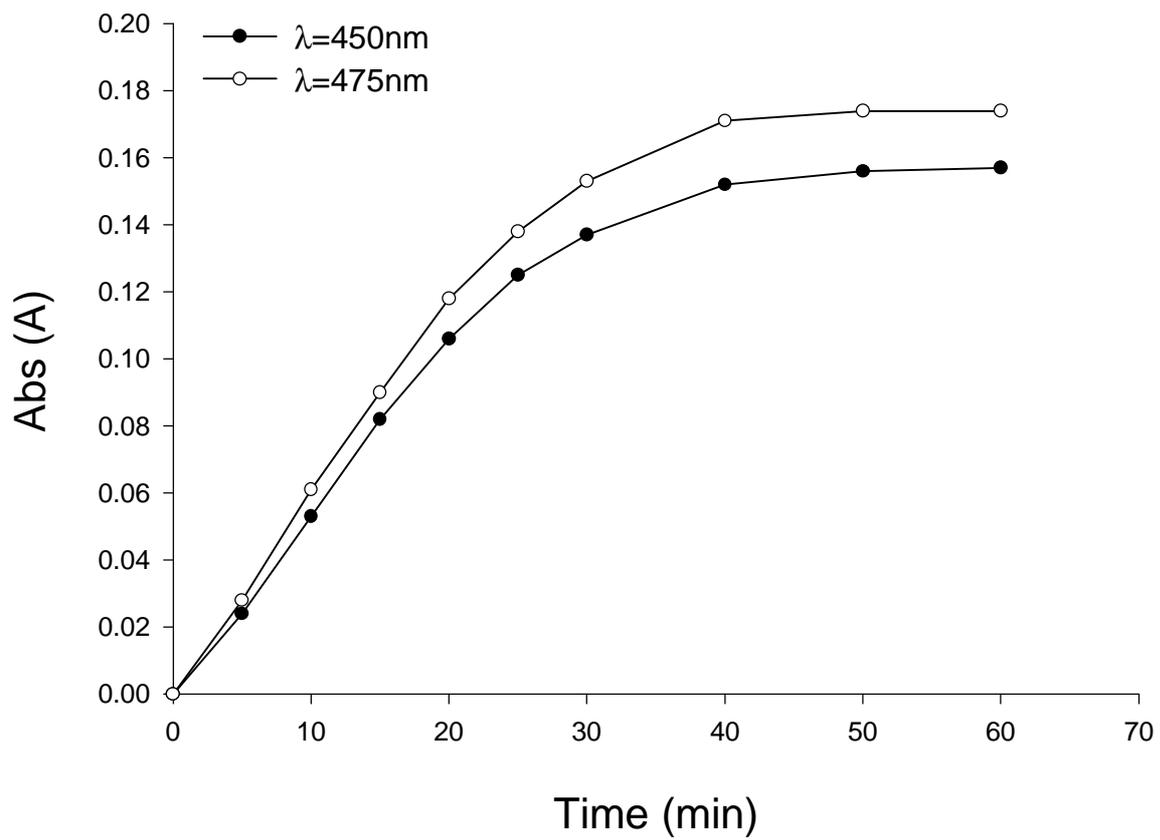
五種不同濃度的酪胺酸 1000、2000、3000、4000 及 5000 U/ml，37 下進行酪胺酸-酪胺酸 反應 90 分鐘，結果如圖二十七。如圖所示，任何一個濃度均可在 60 分鐘達到飽和，因高濃度下干擾性相對的提高，本研究選擇最小量的酵素濃度，使用其作為酪胺酸 抑制活性測試中之酵素濃度，既不受干擾且不浪費，同樣可達到實驗



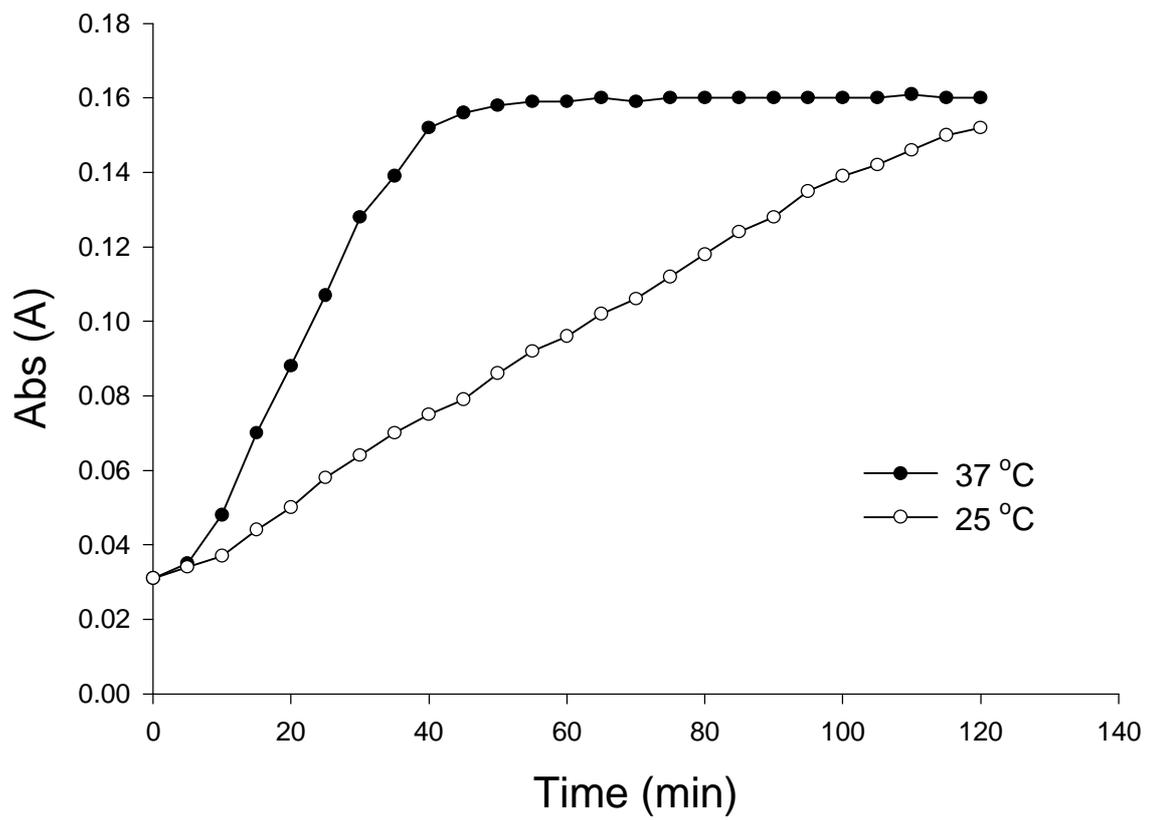
圖二十一 酪胺酸與酪胺酸 反應，0分鐘之紫外光光譜圖



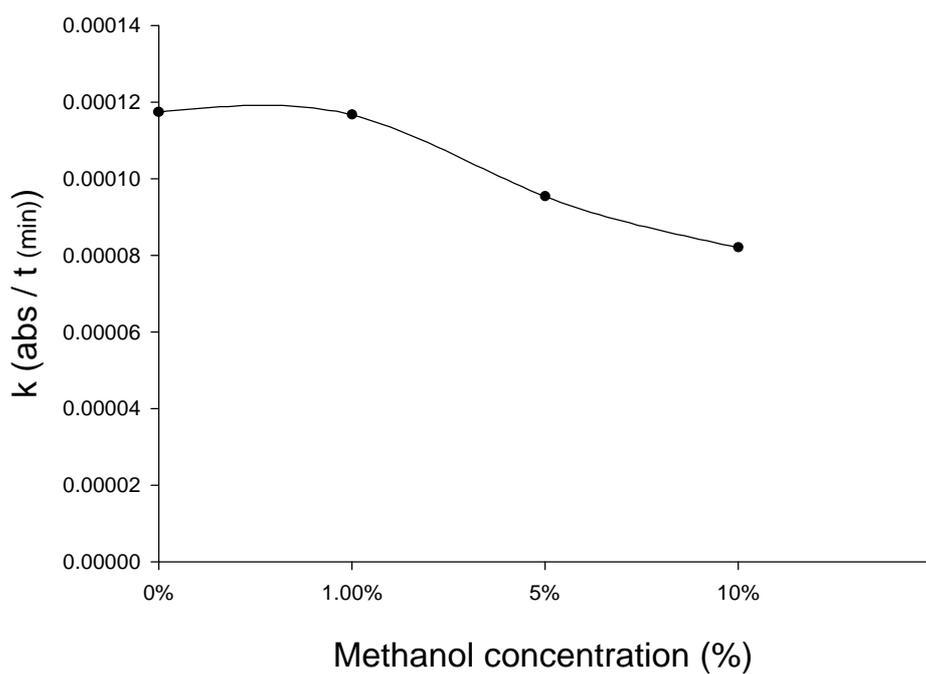
圖二十二 酪胺酸與酪胺酸 反應，30分鐘之紫外光光譜圖



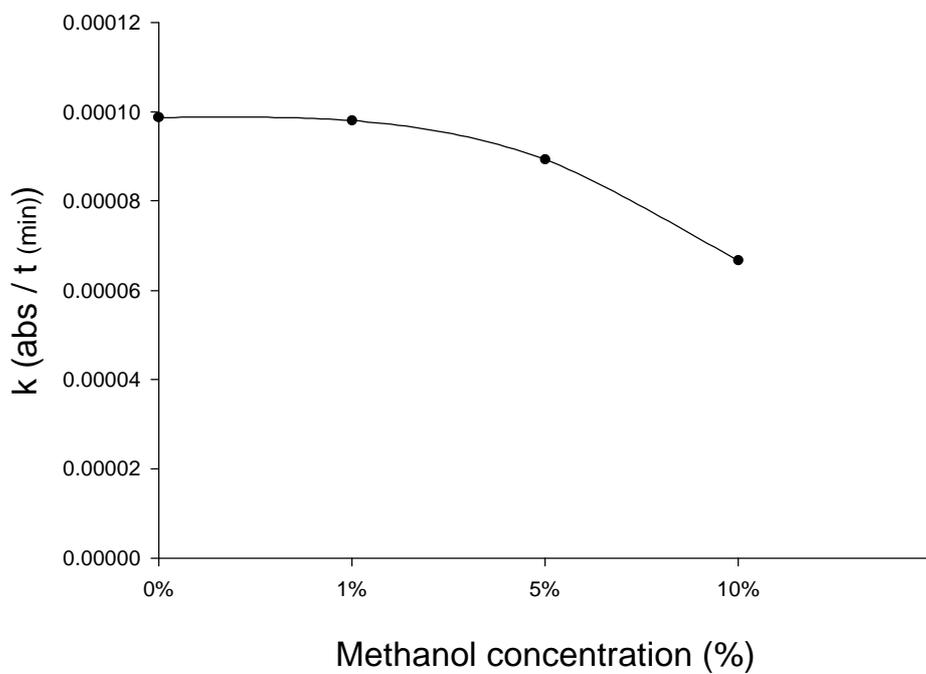
圖二十三 37 下，不同波長對酪胺酸 抑制活性吸光度的影響



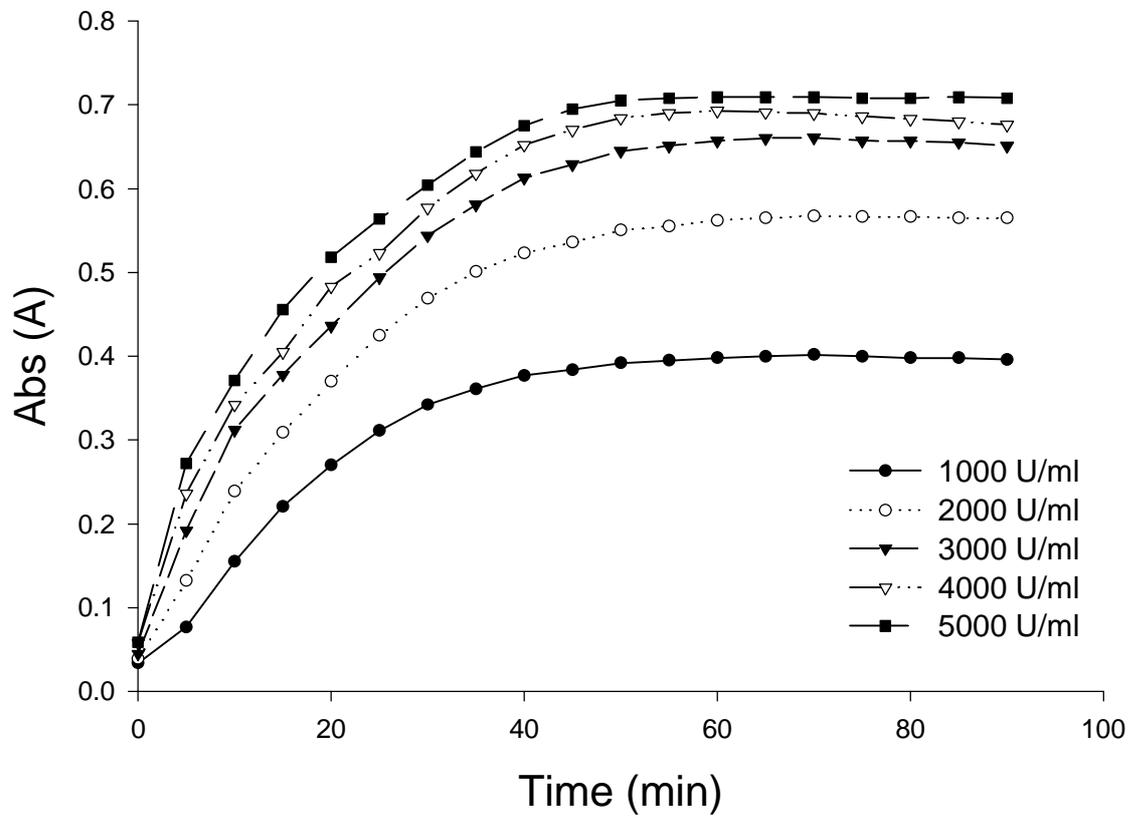
圖二十四 120 分鐘內不同溫度下反應之吸光值比較圖



圖二十五 25 不同濃度甲醇對酪胺酸 反應速率影響關係圖



圖二十六 37 不同濃度甲醇對酪胺酸 反應速率影響關係圖



圖二十七 37 時間-吸光值之酵素動力學關係圖

不同濃度的酪胺酸 分別加入含有 37.5 μ l 2.5 mM 的酪胺酸 37.5 μ l, pH 6.8 的 Sorensen 氏磷酸鹽緩衝溶液 50 μ l 純水及 25 μ l 乙醇的混合液, 於波長 450 nm 下之測量結果

目的，為最佳的選擇。

5. 酪胺酸 抑制活性標準曲線的建立

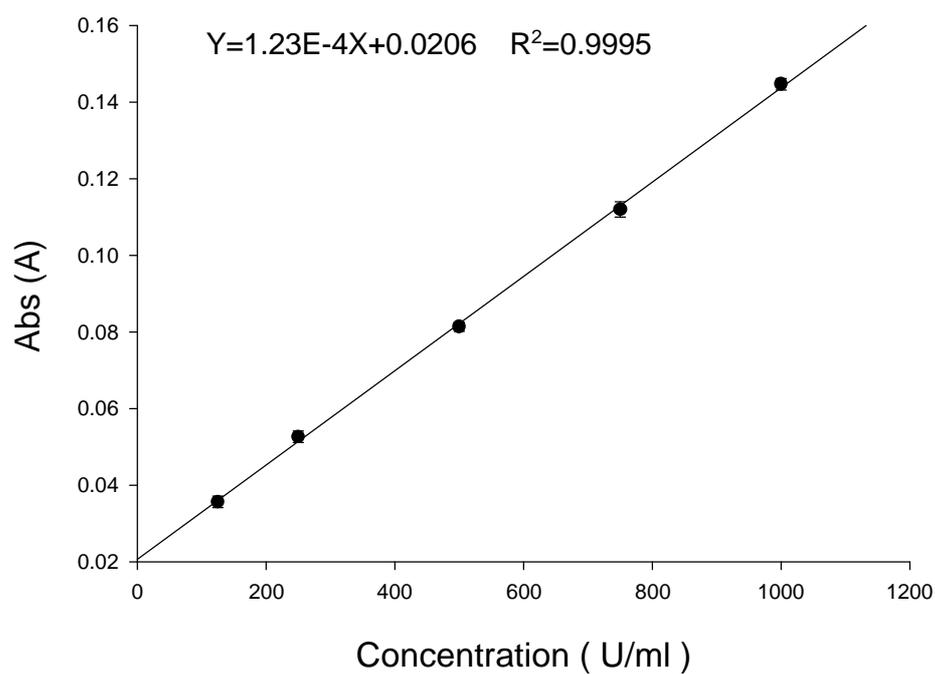
以紫外光-可見光吸收光譜法，對 125、250、500、750、1000 U/ml 五種不同濃度之酪胺酸 試樣進行測試三次，測得各濃度及其所對應的吸光度，經線性回歸分別於反應 30 分鐘及 50 分鐘製得酪胺酸 標準曲線結果如圖二十八、二十九所示。反應 30 分鐘時之線性相關係數大於 0.999，最高濃度（1000 U/ml）與最低濃度（125 U/ml）的三次分析之變異係數（CV%）分別為 1.05%與 4.28%，反應 50 分鐘時之線性相關係數為 0.995，最高濃度與最低濃度之變異係數（CV%）分別為 0.66%與 4.76%，顯示此標準曲線在酪胺酸 抑制活性之分析上精密度高，可應用於本研究酪胺酸 抑制活性的測定。

6. 中藥萃取物對酪胺酸 活性抑制的測定

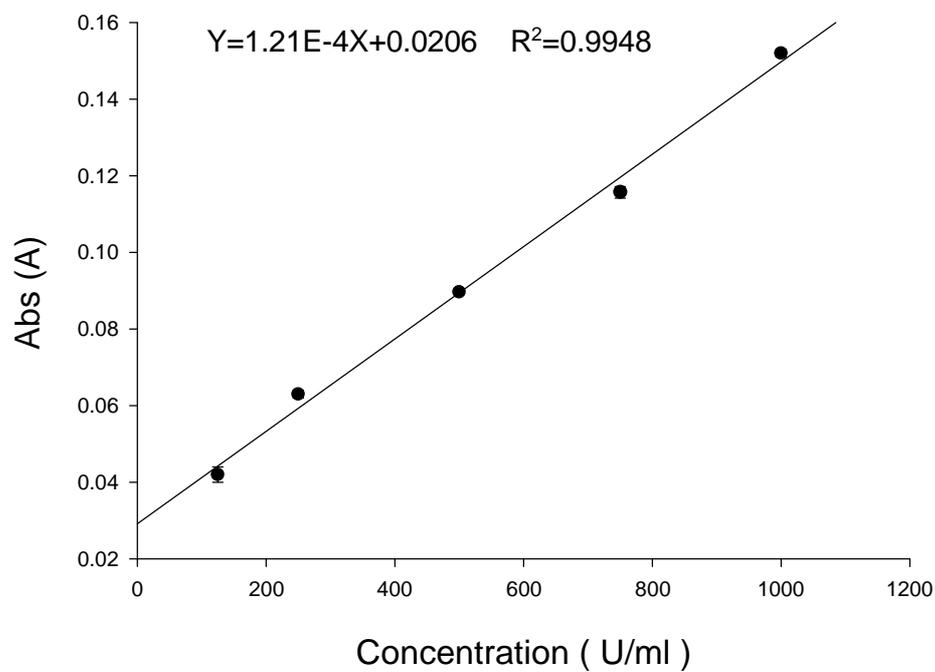
（1）具有抑制酪胺酸 活性的植物及中草藥

維生素 A 酸(Retinoic acid)⁽¹⁹⁰⁾⁽¹⁹¹⁾在酪胺酸 活性低的淡色皮膚會增加酪胺酸 的活性，而在酪胺酸 活性高的深色皮膚會降低酪胺酸 的活性，月桂酸硫酸酯鹽（Sodium Lauryl Sulfate）也有類似的結果，但沒有維生素 A 酸明顯⁽¹⁹⁰⁾。

Cabanès 等人⁽¹⁹²⁾研究表皮上的酪胺酸 ，發現香豆酸（m-Coumaric acid）會與酪胺酸 形成化合物，降低酪胺酸 的活性。從丁香（*Syzygium aromaticum* Merr. et Perry）與益智仁（*Alpinia oxyphylla* Miquel）得到的活性成分丁香酚(Eugenol)及 Yakuchinone A；從歐甘草（*Glycyrrhiza glabra* L.）的匍匐莖得到的 Glabridin；從肉桂（*Cinnamomum cassia* B.）的樹皮得到的桂皮醛



圖二十八 酪胺酸 反應 30 分鐘之活性標準曲線圖



圖二十九 酪胺酸 反應 50 分鐘之活性標準曲線圖

(Cinnamaldehyde); 以及從其他香莢蘭基類 (Vanillyl) 的化合物如阿魏酸 (Ferulic acid) 薑黃素 (Curcumin) Yakuchinone B 皆可抑制酪胺酸 的活性⁽¹⁵⁶⁾。

一些日本當地杏科的植物像日本櫻 (*Prunus yedoensis*) 黃土樹 (*P. zippeliana*) 扁桃 (*P. amygdalus*) 桃 (*P. persica*) 杏 (*P. armeniaca*) 等, 具有抑制酪胺酸 的作用, 其中 *P. zippeliana* 的葉子同時能有效的抑制 dopachrome 的自動氧化作用⁽¹⁵⁷⁾。另外, 日本桃科植物 *Murica rubra* 的乾燥葉與樹皮, 可抑制黑色素形成過程中 dopachrome 的自動氧化作用, 並且顯示具擬超氧歧化 的活性⁽¹⁵⁸⁾。

從熊果葉 (*Arctostaphylos uva-ursi* (L.)) 得到的成分除了熊果 (Arbutin) 外, 還有沒食子酸 (Ellagic acid) 亦會抑制酪胺酸的活性⁽¹⁶⁰⁾。石南科 (Ericaceae) 的植物中除了熊果葉外, *A. patula* 及 *A. viscida* 均具抑制 dopachrome 的自動氧化作用與擬超氧歧化 的活性⁽¹⁵⁹⁾。

洋茴香油 (anise oil) 中的 anisaldehyde 及小茴香 (cumin) 中的 cuminaldehyde 體外試驗顯示具有抑制 L-DOPA 氧化的作用^(193,194)。鳶尾科 (Iridaceae) 番紅花分離出的黃酮類化合物 kaempferol⁽¹⁹⁵⁾, 橄欖油 (Olive oil) 含有的 α, β 不飽和醛類, 像是 (2E)-alkenals⁽¹⁹⁶⁾, 均顯示有抑制酪胺酸 的活性的效果。從新鮮人參葉萃取出的 *p*-Coumaric acid 亦有強力的酪胺酸 活性抑制作用⁽¹⁹⁷⁾。

麩酸螯合酪胺酸 銅離子的作用, 會造成酪胺酸 的活性受抑制^(165,177,178), 苯甲酸 (Benzoic acid) 與氰化物 (Cyanide) 對酪

胺酸 活性也有抑制作用⁽⁷⁹⁾。

葛根用於抗衰老化妝品，有使面部光潤，除粉刺去皺紋之功效，葛根的異黃酮成分對人類皮膚黑色素的發生與形成具有抑制作用⁽¹⁹⁸⁾。另外，毛茛科鐵線蓮屬（Clematis）植物，為常用中藥材威靈仙、木通、透骨草等主要的藥用植物來源，報導其植物皂 抽提物具亮膚美白作用⁽¹⁹⁹⁾。

本實驗使用之牡丹皮、天門冬等四十二種中藥材分別以水及甲醇萃取，其酪胺酸 抑制率，如表十九。甲醇萃取的中藥材中，冬瓜子、玉竹、白芷、知母、威靈仙、郁李仁、桔梗、桃仁、栝蘘實及黨參，於濃度 2 mg/ml 下，具有大於 60%的酪胺酸 活性抑制率；而桑白皮及益智仁，在濃度 200 µg/ml 下也有接近 50%的抑制率（48%、45%）。水萃取的中藥材中，天門冬、桃仁、白芷、桔梗，於濃度 2 mg/ml 下，具有大於 50%的酪胺酸 活性抑制率。本實驗以麴酸作為對照標準品，麴酸於濃度 2.5、25 µg/ml 下之酪胺酸 活性抑制率分別為 28.3%及 93.1%。

二、中藥材之擬超氧歧化 活性試驗

正常生物體具有特殊的調節系統，在正常狀態下，始終保持一種生理上的相對穩定和平衡，生物體本身自由基的氧化作用也有著一種天然的防禦能力，它們保持著生物體的正常生理功能和新陳代謝，在這種抗氧化損傷的天然防線中，SOD 有著不可低估的作用。超氧歧化 是生物體抗氧化 （包括 SOD、過氧化氫 、麩氨基硫過氧化、麩氨基硫還原 ）中意義較大的一種生物 ，它廣泛存在於各種生物體內，具有明顯的抗氧化作用。它主要作用在機體內超氧陰離子

表十九 中藥材之甲醇與水萃取物之酪胺酸 活性抑制率

中藥材	水萃取物 (2 mg/ml)	甲醇萃取物 (2 mg/ml)
牡丹皮	73.89 ± 2.55	43.09 ± 1.05
天門冬	71.39 ± 1.65	4.45 ± 1.74
桃 仁	66.42 ± 2.03	67.54 ± 2.94
白 芷	66.10 ± 1.89	69.78 ± 1.57
益智仁	64.26 ± 3.05	35.28 ± 1.86
桑白皮	64.25 ± 1.28	48.72 ± 1.11*
桔 梗	60.03 ± 2.51	63.76 ± 2.71
冬瓜子	56.33 ± 4.13	52.20 ± 1.00
合歡皮	55.71 ± 2.08	19.37 ± 2.44
浮 萍	55.97 ± 1.82	16.27 ± 0.35*
麥門冬	53.91 ± 2.52	13.38 ± 1.41
桑 葉	52.52 ± 2.81	21.02 ± 1.12*
蒺 藜	52.72 ± 2.48	19.75 ± 2.96
郁李仁	53.76 ± 1.33	54.52 ± 1.86
本	52.38 ± 1.03	18.73 ± 2.17*
栝萸實	50.04 ± 1.79	58.84 ± 3.58
茯 苓	49.96 ± 1.79	19.84 ± 0.28
白 及	50.25 ± 1.26	27.46 ± 1.37
黨 參	49.35 ± 1.96	53.13 ± 2.85
人 參	47.10 ± 2.71	25.05 ± 1.67
綠 豆	47.41 ± 1.28	44.26 ± 3.72
知 母	46.47 ± 2.04	54.08 ± 5.35
白 果	47.62 ± 1.03	18.12 ± 3.97
山慈菇	44.78 ± 1.91	42.06 ± 1.80
澤 瀉	44.91 ± 1.26	41.76 ± 1.67
白 芍	44.87 ± 1.14	15.96 ± 1.13*
白 蘂	40.37 ± 3.90	34.07 ± 2.31
益母草	40.99 ± 2.03	28.00 ± 1.76*

表十九 中藥材之甲醇與水萃取物之酪胺酸 活性抑制率 (續)

中藥材	水 (2 mg/ml)	甲醇 (2 mg/ml)
防 風	38.14 ± 2.19	6.48 ± 0.17
杏 仁	36.34 ± 3.75	41.51 ± 1.51
威靈仙	35.95 ± 0.63	54.52 ± 1.86
杜 仲	34.82 ± 1.69	7.08 ± 0.70
薏苡仁	33.28 ± 2.25	42.23 ± 1.65
辛 夷	31.37 ± 2.70	21.85 ± 1.70
生地黃	31.62 ± 1.48	42.25 ± 2.22
細 辛	28.92 ± 3.18	20.08 ± 1.92
白 朮	28.57 ± 1.71	45.05 ± 1.67
半 夏	25.67 ± 2.08	37.83 ± 2.02*
玉 竹	17.16 ± 2.63	62.10 ± 1.83
當 歸	13.57 ± 2.98	48.25 ± 1.79
女貞子	ND	13.03 ± 1.37
菟絲子	ND	ND
麴酸 ^a	28.34 ± 1.31	
麴酸 ^b	93.1 ± 3.081	

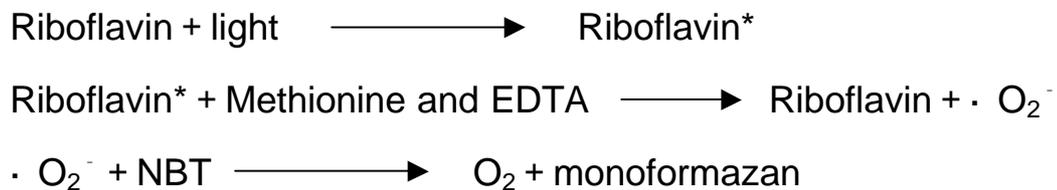
* 中藥材萃取物在進行評估前先溶於乙醇 (200 µg/ml) ; 其餘濃度為 2 mg/ml。

^a 麴酸濃度為 2.5 µg/ml ; ^b 麴酸濃度為 25 µg/ml。

ND: 測不到

自由基 ($\cdot O_2^-$), 達到保護機體的目的。 $\cdot O_2^-$ 是自由基鏈反應的啟動自由基, 過量 $\cdot O_2^-$ 是機體發生氧中毒和氧化損傷的主要原因之一。

本實驗之四十二種中藥材, 超氧歧化 活性測定之方法是依 Beauchamp 和 Fridovich 方法⁽²⁰⁰⁾, 以 NBT 還原法來分析。利用 Riboflavin / Methionine 照光產生 $\cdot O_2^-$ 的系統, 使 NBT (淡黃色) 還原產生 formazan (藍紫色), 間接測出相當於 SOD 的量, 故屬於間接法。因中藥材水溶性萃取液中的成分, 具有類似超氧歧化 的活性 (SOD-like activity), 故抑制 $\cdot O_2^-$ 的生成, 進而抑制 formazan 的產生。其原理如下:



圖三十~圖三十五為三十五種中藥材之量 (μl) 與 NBT 被還原抑制率 (%) 的回歸曲線圖。藉由此還原呈色反應, 表二十列出中藥材中似超氧歧化 的活性大小的比較。結果顯示女貞子、益智仁、細辛具有較強的似超氧歧化 活性。四十二種中藥材中, 半夏、白蘞、杏仁、桔梗、桃仁、玉竹與白芨因為濃度太低, 偵測不到。

三、中藥材之總抗氧化力活性試驗

生物體中含有多種清除活性氧或自由基的抗氧化物質, 包括維生素 E、維生素 C、類胡蘿蔔素、微量元素、類黃酮素及一些酚類物質。它們可作為還原劑、金屬螯合劑或活性氧清除劑, 阻止自由基引起的脂質過氧化反應。隨著年齡增加, 體內的防禦系統也跟著降低, 會導致許多疾病產生, 因此補充抗氧化物質是必要的。

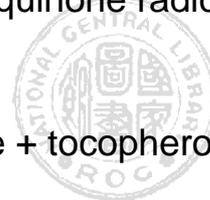
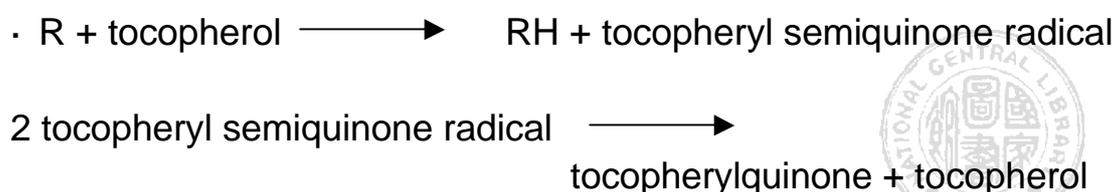
嗜氧的生物體藉由抗氧化傷害的系統而被保護著，它由多種功能不同的抗氧化劑組成。它們的功能在於阻止活性氧與自由基的生成、清除它們以及修補它們造成的損傷，如圖三十六⁽²⁰¹⁾。

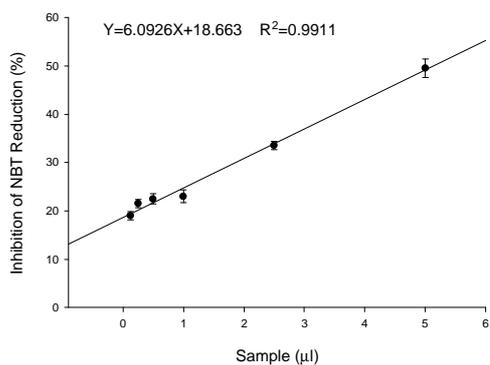
抗氧化劑依其作用原理大致上可分為幾種⁽²⁰²⁾：自由基終止劑 (free radical terminator)、還原劑或氧的清除劑 (oxygen scavenger)、金屬螯合劑 (chelating agent)、酵素型抗氧化劑及過氧化物分解劑等。目前研究趨向對天然抗氧化物的探討，來源包括蔬果、植物、藥草或發酵製品。

1. 維生素 E (Tocopherol)

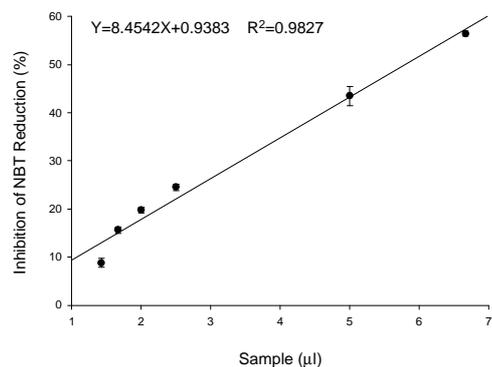
維生素 E (生育醇, tocopherols) 是一種脂溶性的抗氧化物，廣泛存於蔬果、種子及肉類中，可以有效地抑制脂質過氧化作用，天然維生素 E 如圖三十七所示，分為 δ 、 γ 、 β 、 α 四型⁽²⁰³⁾。維生素 E 清除過氧化自由基的速度較其他自由基攻擊鄰近的脂質分子側鏈或膜上的蛋白快，所以當維生素 E 受到脂質自由基攻擊時，會形成安定的生育醇自由基，阻斷自由基連鎖反應⁽²⁰⁴⁾。

生育醇的抗氧化性是依據 tocopherol-tocopherylquinone redox 系統，為自由基清除劑。

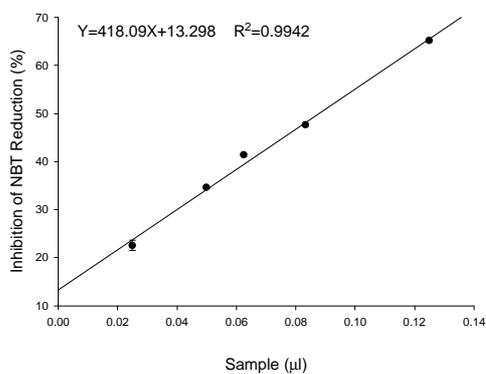




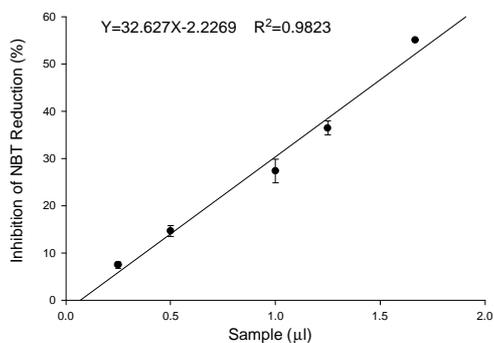
(a) 人參



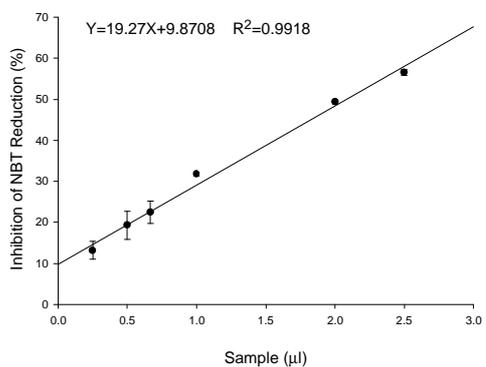
(d) 天門冬



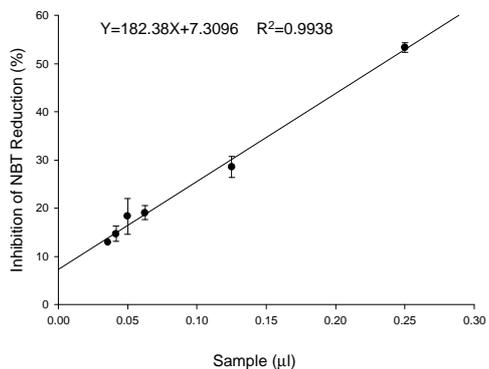
(b) 女貞子



(e) 冬瓜子

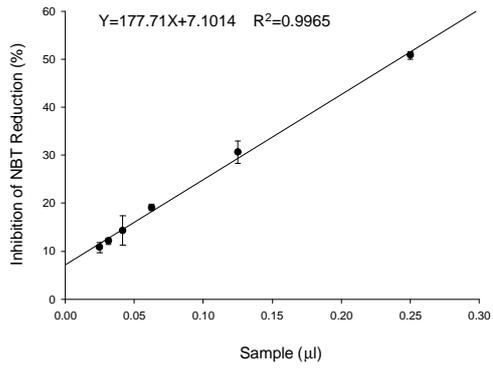


(c) 山慈菇

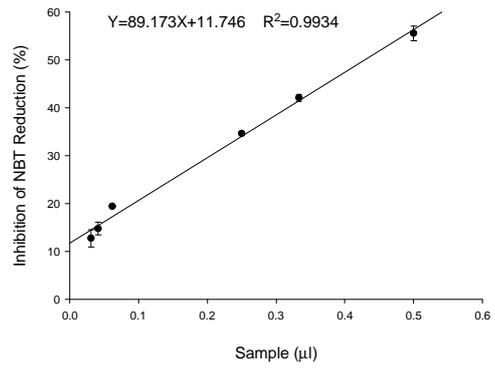


(f) 生地

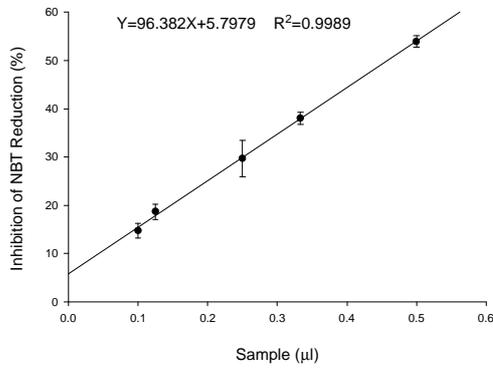
圖三十 中藥萃取物與抑制 NBT 之還原活性關係圖



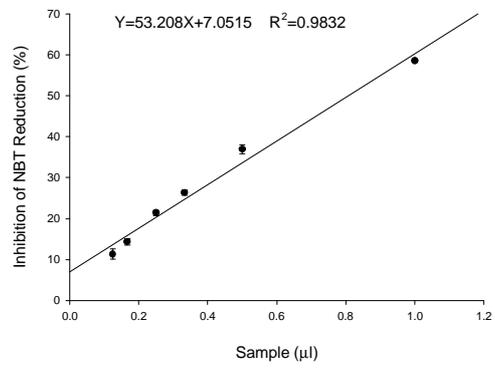
(a) 白朮



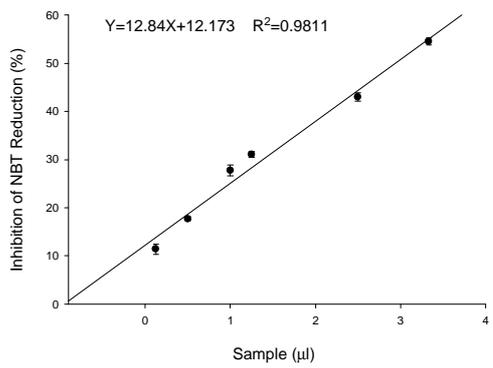
(d) 白芷



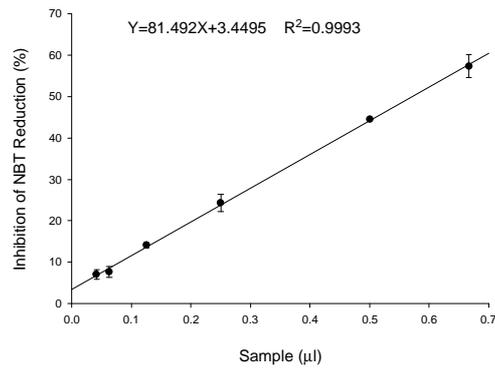
(b) 白芍



(e) 合歡皮

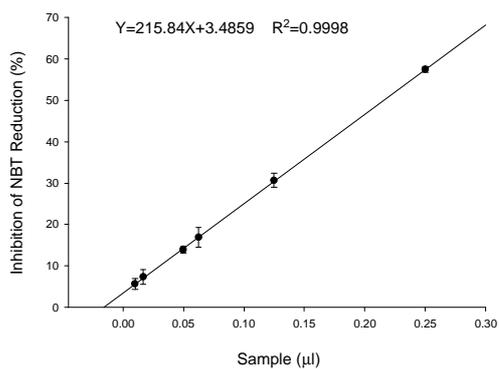


(c) 白果

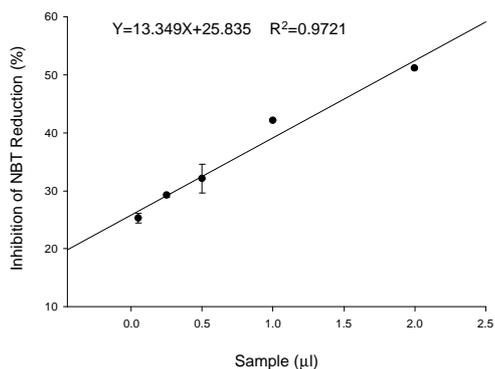


(f) 杜仲

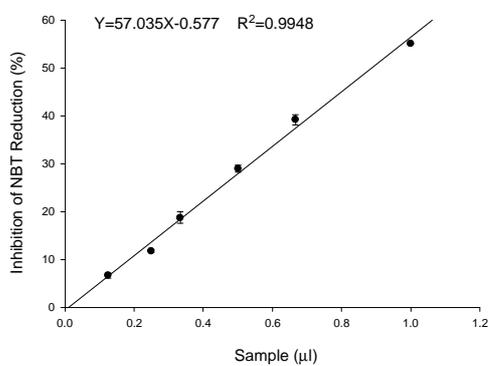
圖三十一 中藥萃取物與抑制 NBT 之還原活性關係圖



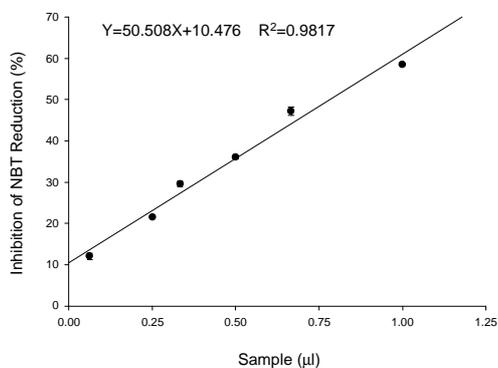
(a) 牡丹皮



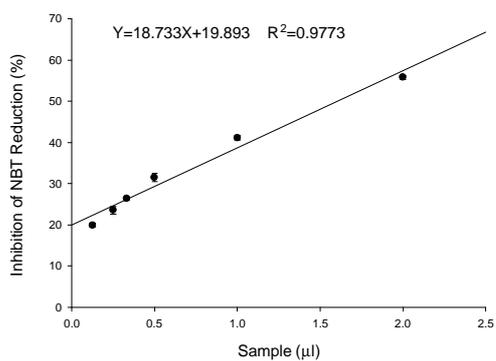
(d) 知母



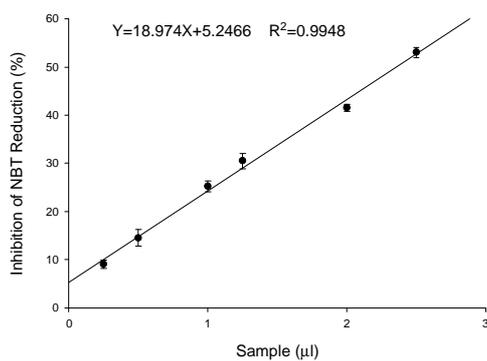
(b) 辛夷花



(e) 威靈仙

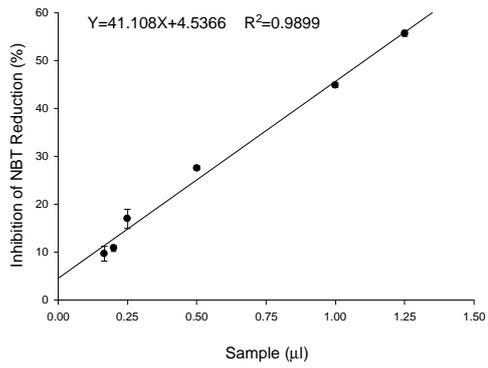


(c) 防風

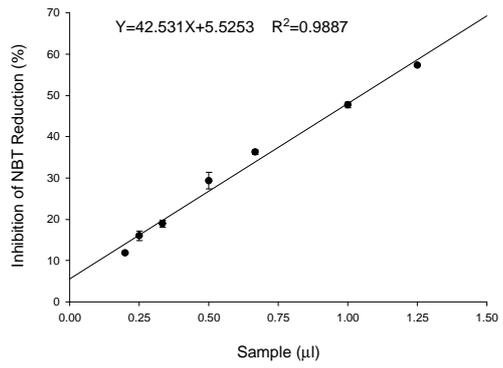


(f) 郁李仁

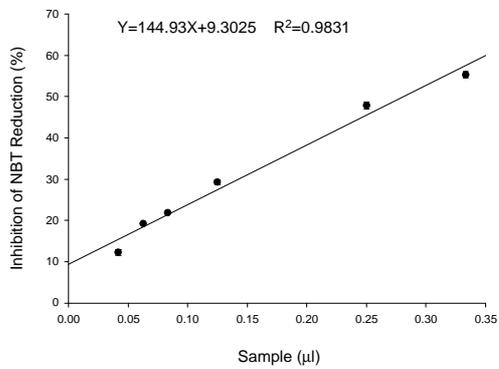
圖三十二 中藥萃取物與抑制 NBT 之還原活性關係圖



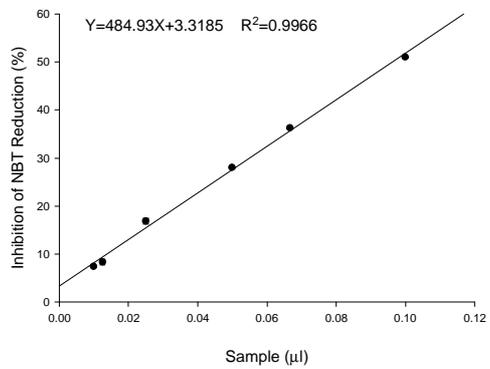
(a) 桑白皮



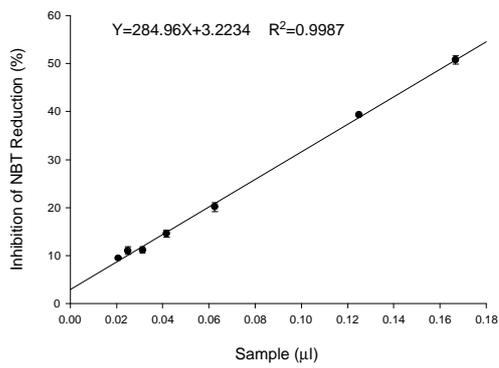
(d) 益母草



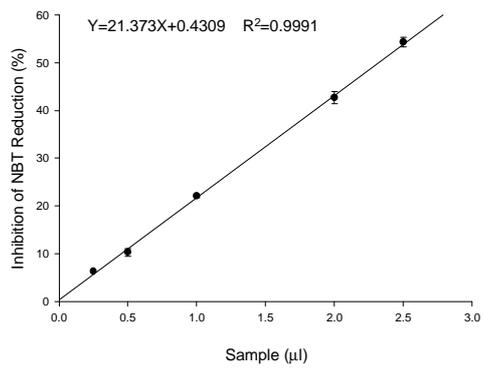
(b) 桑葉



(e) 益智仁

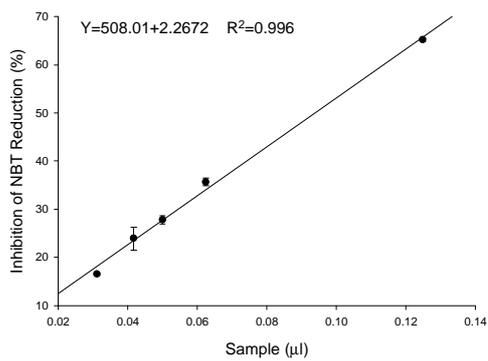


(c) 浮萍

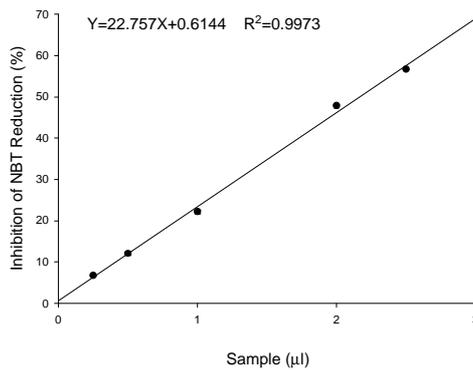


(f) 茯苓

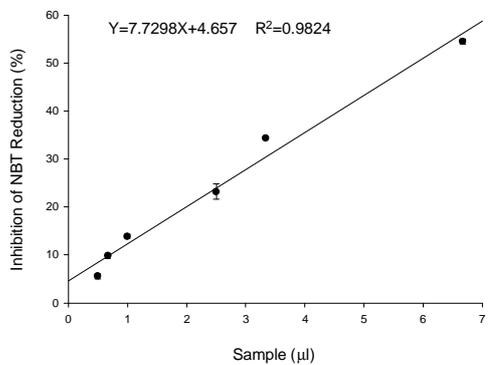
圖三十三 中藥萃取物與抑制 NBT 之還原活性關係圖



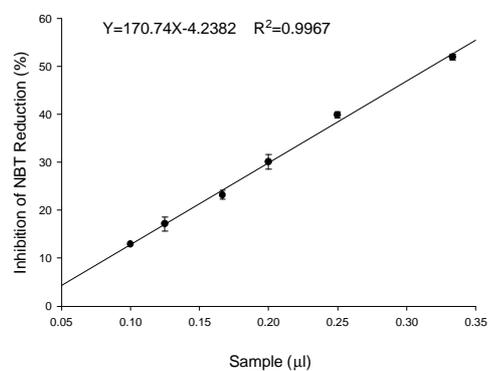
(a) 細辛



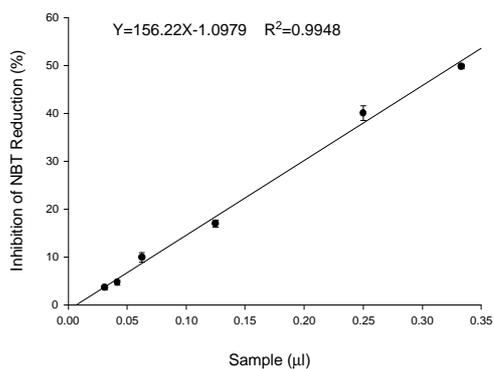
(d) 當歸



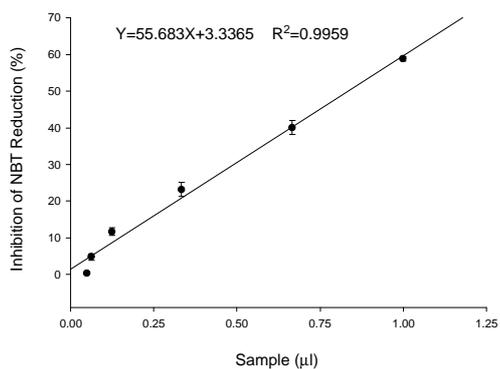
(b) 麥門冬



(e) 本

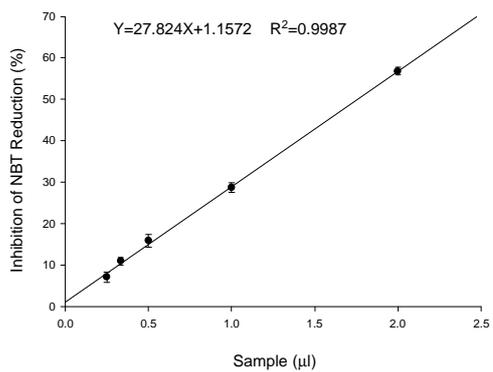


(c) 菟絲子

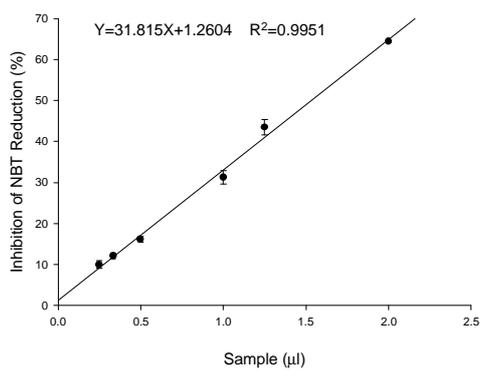


(f) 綠豆

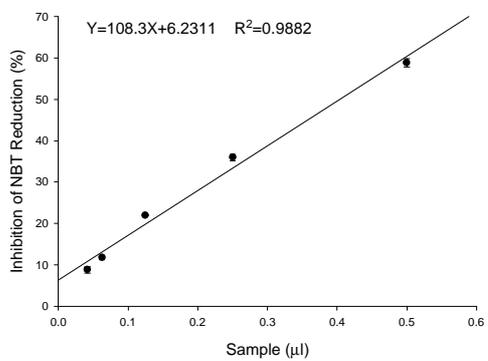
圖三十四 中藥萃取物與抑制 NBT 之還原活性關係圖



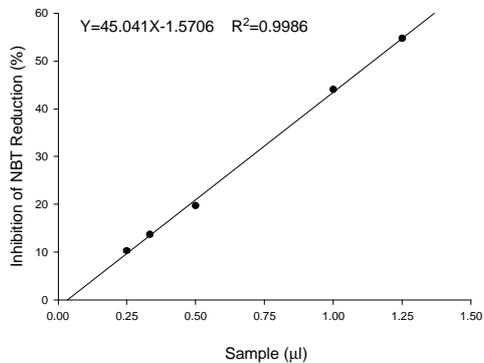
(a) 蒺藜



(d) 黨參



(b) 澤瀉



(c) 薏苡仁

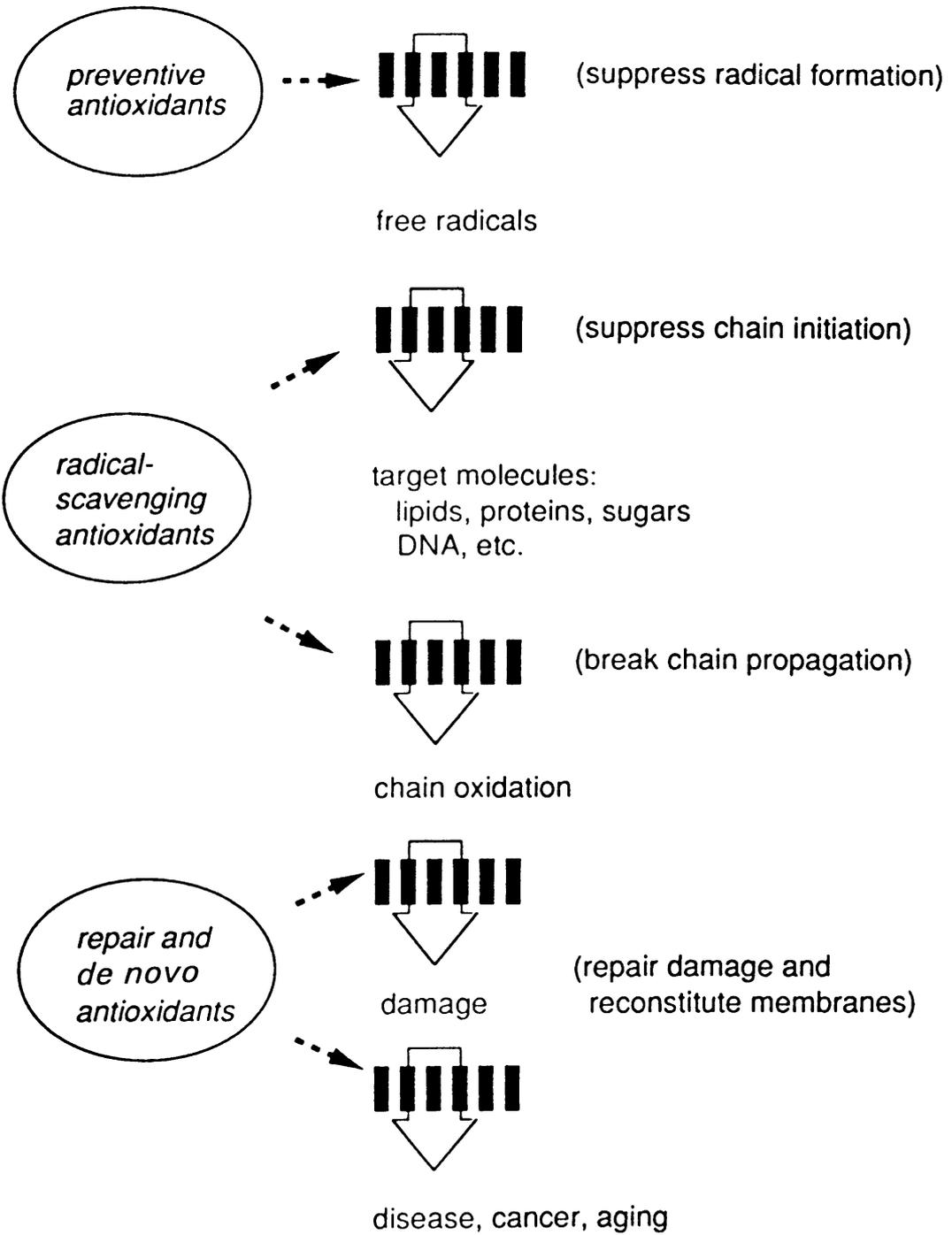
圖三十五 中藥萃取物與抑制 NBT 之還原活性關係圖

表二十 美容用中藥材之似超氧歧化 活性大小

實驗中藥	超氧歧化 活性 每毫克藥材重量之 含量 (U/mg)	實驗中藥	超氧歧化 活性 每毫克藥材重量之 含量 (U/mg)
女貞子	113.915	黨參	6.528
細辛	106.428	冬瓜子	6.247
益智仁	103.880	防風	6.222
浮萍	60.919	蒺藜	5.697
牡丹皮	46.403	知母	5.524
生地黃	42.722	山慈菇	4.801
白朮	41.426	當歸	4.608
桑葉	35.612	茯苓	4.312
本	31.48	郁李仁	4.24
菟絲子	30.572	白果	3.394
澤瀉	24.744	人參	1.944
白芷	22.311	天門冬	1.759
白芍	21.805	麥門冬	1.705
杜仲	17.506	半夏	-
威靈仙	12.779	玉竹	-
合歡皮	12.389	白芨	-
綠豆	11.933	白蘞	-
辛夷	11.277	杏仁	-
益母草	9.563	桔梗	-
桑白皮	9.042	桃仁	-
薏苡仁	8.734		
栝藹實	6.727		

- 表示低於檢測濃度

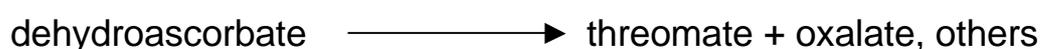
H₂O₂, LOOH, metal smoking
ischemia, light, drug, etc.



圖三十六 生物體內抗氧化傷害的防禦系統⁽²⁰¹⁾

2. 維生素 C

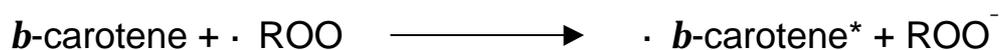
維生素 C 是廣泛存在自然界的水溶性抗氧化劑，在體內存在於細胞質及血漿中，並可再生 α -tocopherol，亦是活性氧的清除劑，破壞氧在代謝過程中所產生的自由基，降低癌症及心血管疾病的發生率⁽²⁰⁵⁾，其抗氧化機制如下：



維生素 C 與自由基作用後會產生 semidehydroascorbate，此物質可再被 NADH 或 GSH 等酵素系統還原成 ascorbate，如圖十六。

3. 類胡蘿蔔素 (Carotenoids)

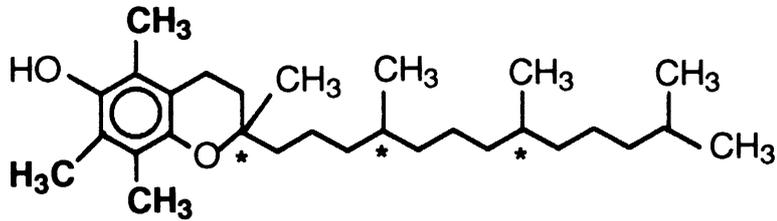
類胡蘿蔔素是一群黃色、橘色和紅色的脂溶性物質，由八個異戊二烯 (isoprene) 為單位組成之化合物，其中含碳氫化合物者為胡蘿蔔素 (carotenes)， β -carotene 與過氧化自由基之可能反應為：



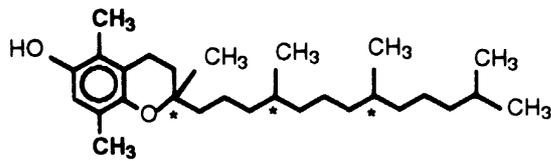
反應中的 $\cdot \text{b-carotene}^*$ 稱為 b-carotene 陽離子自由基 (b-carotene cation radicals)，為強氧化劑，可接受電子，不會與氧作用。類胡蘿蔔素可終止自由基的連鎖反應，亦可消除單重態氧 ($^1\text{O}_2$)，將之轉變為穩定的三重態氧 ($^3\text{O}_2$)。Mortensen 及 Skibsted⁽²⁰⁶⁾ 的研究發現，類胡蘿蔔素與氧自由基的反應速率隨著結構上的共軛雙鍵數增加而增加，當類胡蘿蔔素上有羥基 (-OH) 或酮基 (>C=O) 存在時，反應速率會降低。因此，再清除氧自由基時，茄紅素 (lycopene) 最有

|---- Chroman ----|----- Phytol -----|

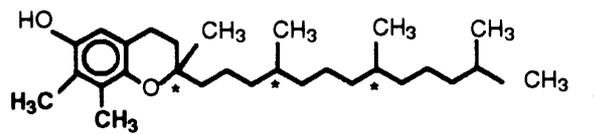
Tocopherols



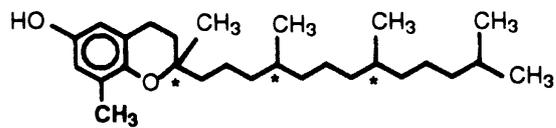
α



β



γ



δ

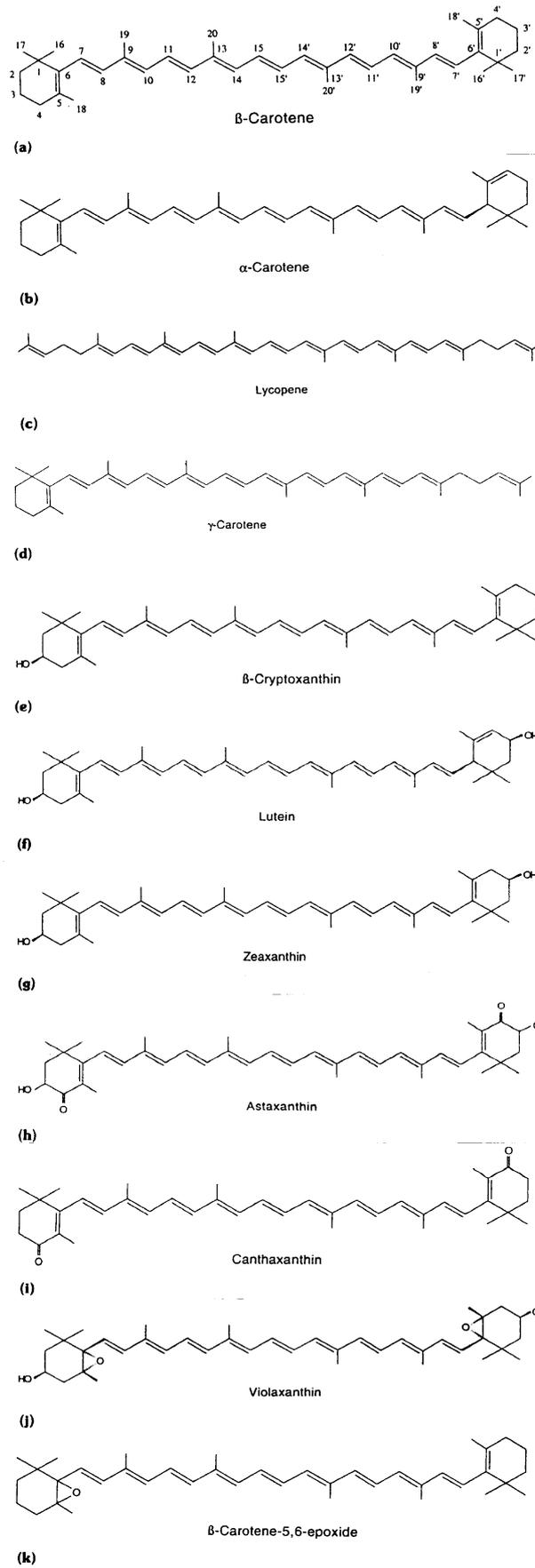
圖三十七 維生素 E 的四種型式 (δ 、 γ 、 β 、 α -tocopherol)⁽²⁰³⁾

效，*b*-胡蘿蔔素次之，接下來為 zeaxanthin、lutein 及 echinenone（圖三十八）⁽²⁰⁷⁾。茄紅素在所有類胡蘿蔔素中具有強的心臟保護指標⁽²⁰⁸⁾。

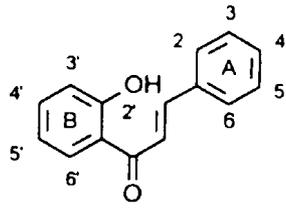
4.黃酮類 (Flavonoids)

黃酮類化合物普遍存在於植物中，依結構差異可分為黃酮 (flavones)、黃烷酮 (flavanones)、黃酮醇 (flavonols)、黃烷醇 (flavanols)、異黃酮 (isoflavones) 及花青素 (anthocyanidins) 等，如圖四十所示⁽²⁰⁹⁾。研究指出黃酮類具有抗氧化 (antioxidant)、抗菌 (antibacterial)、抗病毒 (antiviral)、抗突變 (antimutagenic) 及抑制酵素等生理活性⁽²¹⁰⁾。

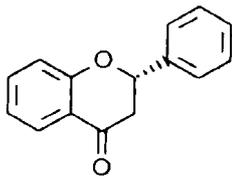
黃酮類之抗氧化性包括去除自由基及活性氧、螯合金屬離子、與蛋白質形成複合物、還原維生素 C 或 E 以顯示加成效果。黃酮類化合物之抗氧化活性與其構造之排列有關，在 A 環第 4、5 位置，B 環第 4、6 位置及 C 環的第 9 位置的羥化作用及程度決定黃酮類之抗氧化活性。Cos 等人⁽²¹¹⁾的研究發現在 A 環 C4'、C6' 有羥基或 C 環的 C9'、C10' 之間有雙鍵存在時可抑制黃 呤氧化酵素 (xanthine oxidase) 的活性，減少超氧自由基的生成。



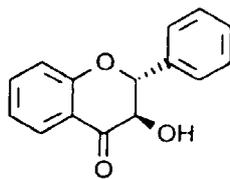
圖三十八 類胡蘿蔔素的構造 (207)



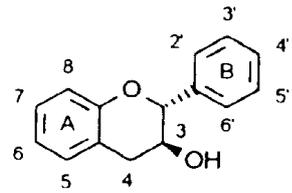
Chalcone



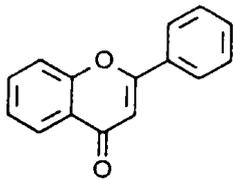
Flavanone



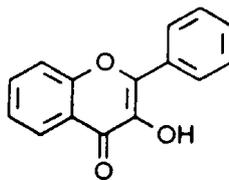
Dihydroflavonol



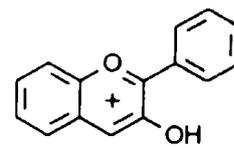
Flavan-3-ol



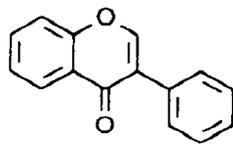
Flavone



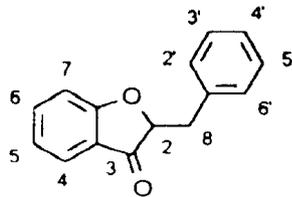
Flavonol



Anthocyanidin



Isoflavone



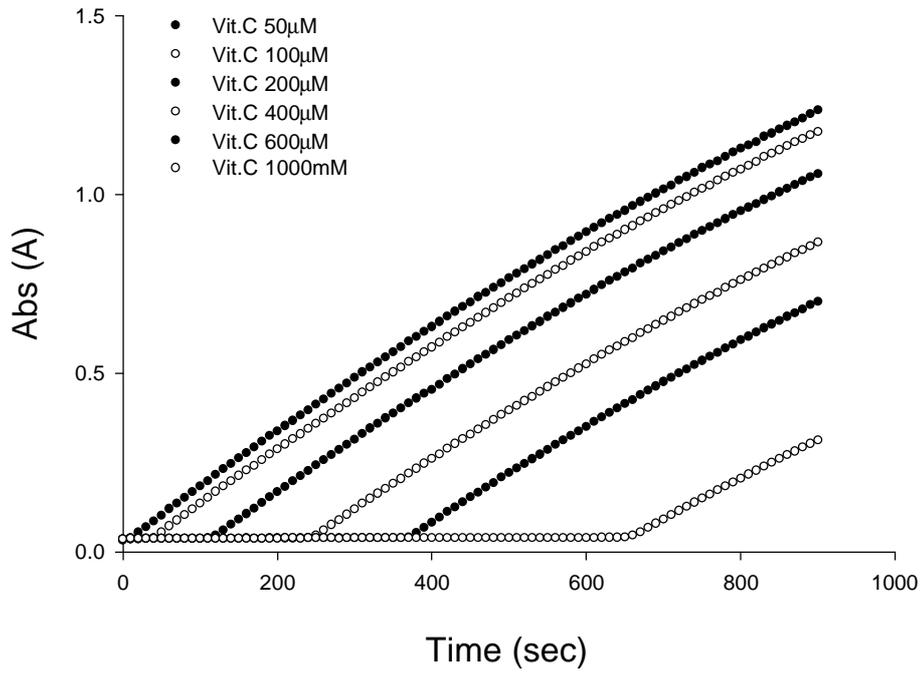
Aurone

圖三十九 黃酮類的構造 (209)

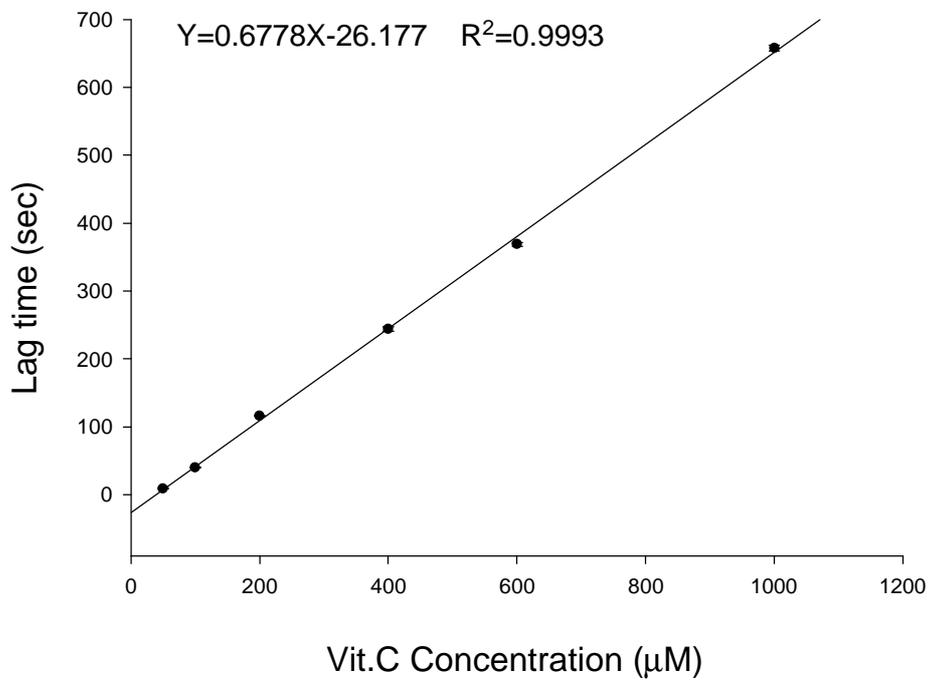
本實驗之四十二種中藥材採用 Arnao 研究的 ABTS/ H₂O₂/HRP 分析系統⁽²¹²⁾，作為抗氧化活性分析。總抗氧化力測定的原理，利用 ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazol-6-sulfonic acid)) 和過氧化 (horseradish peroxidase) 過氧化氫作用，產生藍綠色、半衰期長的 ABTS⁺ 自由基，若樣品中含抗氧化物可抑制 ABTS⁺ 自由基之產生，因此會延遲藍綠色 ABTS⁺ 自由基的產生。ABTS⁺ 在波長 414 nm 有吸收，其產生的時間，由開始產生藍綠色的時間判定，延遲時間 (lag time) 越長者，表示測試樣品的抗氧化力越強。

以不同濃度的 *L*-ascorbic acid (*L*-ASC) 當標準品，*L*-ascorbic acid 能和 ABTS⁺ 自由基生成 ABTS 和 monodehydroascorbic acid (MDHA)，後者進一步和其他的 ABTS⁺ 自由基生成 ABTS 和 dehydroascorbic acid (DHA)。藉由 *L*-ascorbic acid 之標準曲線，可將樣品換算成相當濃度的 *L*-ascorbic acid 總抗氧化力。圖四十為不同濃度 *L*-ascorbic acid 之時間與吸光值關係圖，利用不同濃度 *L*-ascorbic acid (μM) 與遲滯時間 (Lag time) 作出 *L*-ascorbic acid 的標準曲線，線性迴歸相關係數大於 0.999，具有良好的線性關係(圖四十一)。

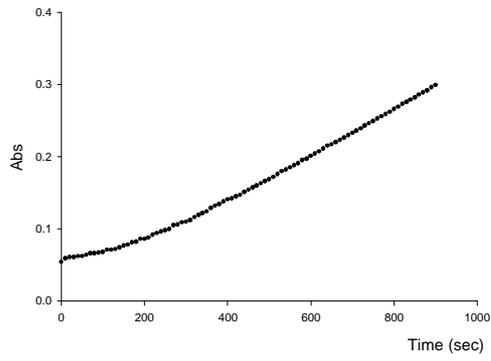
牡丹皮、女真子等四十二種中藥材在酸性萃取液中的成分，具有不同程度清除自由基的能力，延遲形成藍綠色自由基的時間也就不同，利用 *L*-ascorbic acid 之標準曲線，可將樣品換算成相當濃度的 *L*-ascorbic acid 總抗氧化力。圖四十二~圖四十八為十五分鐘內，各藥材遲滯時間與吸光值之關係圖。表二十一為總抗氧化力活性大小的比較。結果顯示牡丹皮、女真子、桑葉、白芍、知母、生地黃、益母草及細辛等中藥材，具有相當高的總抗氧化力活性。澤瀉、玉竹、白芩因低於檢測濃度，偵測不到。



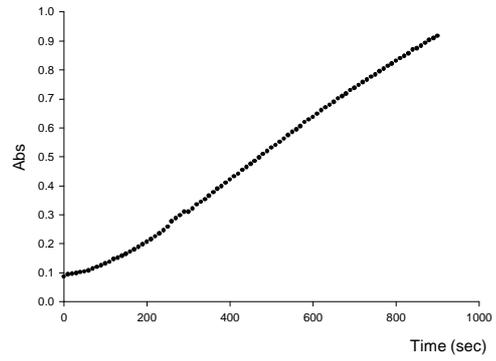
圖四十 不同濃度 *L*-ascorbic acid 之時間-吸光值關係圖



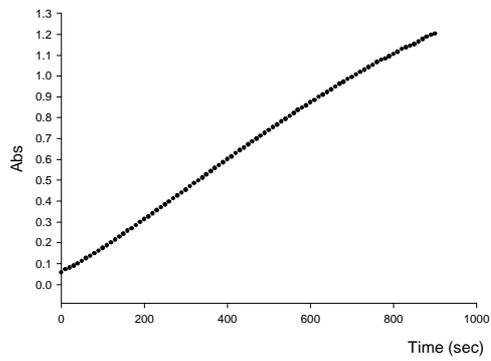
圖四十一 不同濃度 *L*-ascorbic acid 與遲滯時間之標準曲線圖



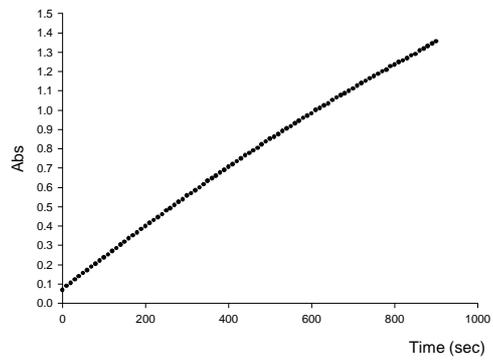
(a) 麥門冬



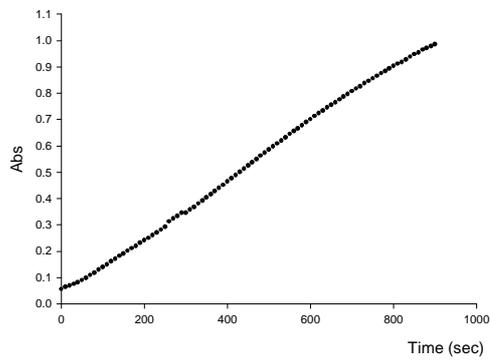
(d) 桃仁



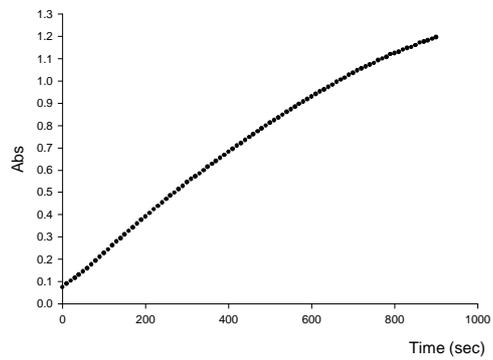
(b) 白果



(e) 茯苓

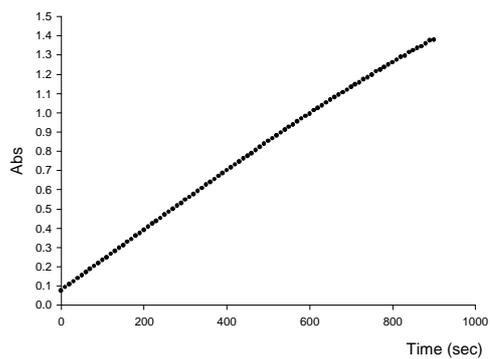


(c) 天門冬

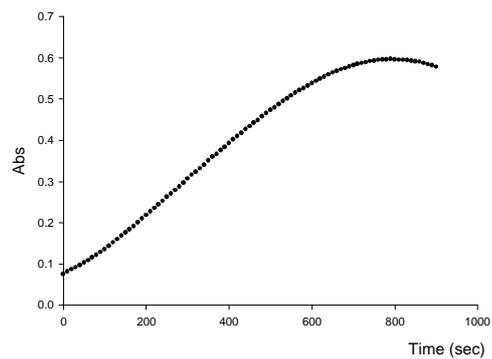


(f) 冬瓜子

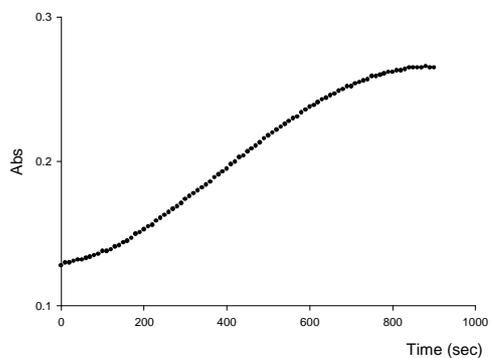
圖四十二 中藥材之總抗氧化力動力圖



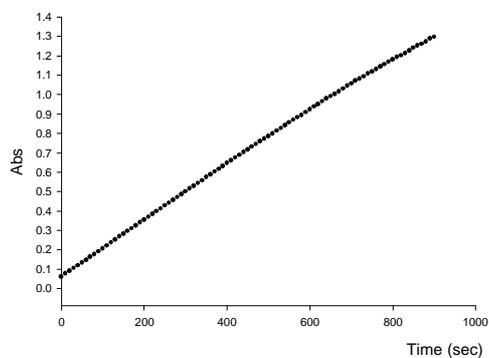
(a) 白薺



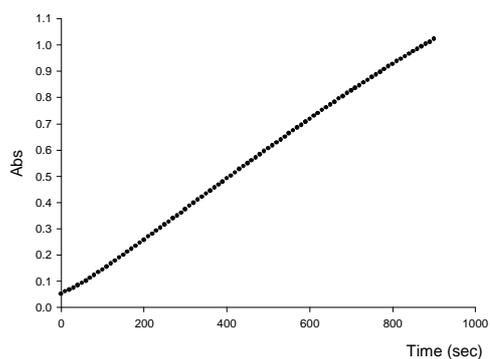
(d) 半夏



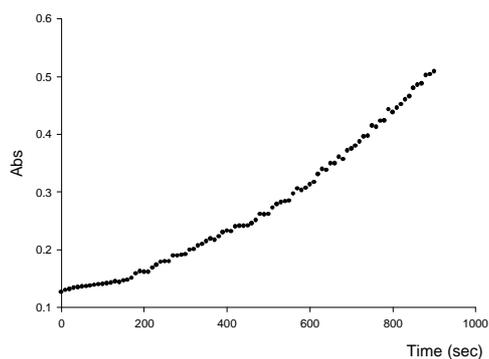
(b) 栝樓實



(e) 杏仁

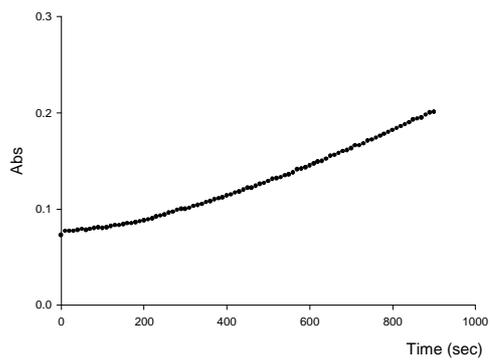


(c) 郁李仁

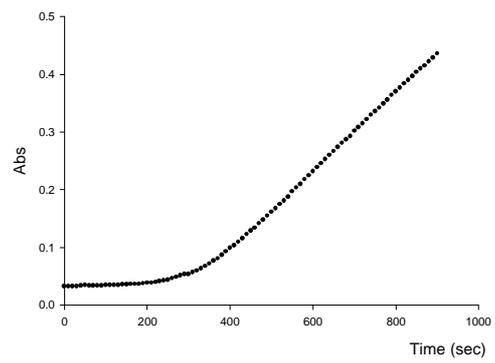


(f) 浮萍

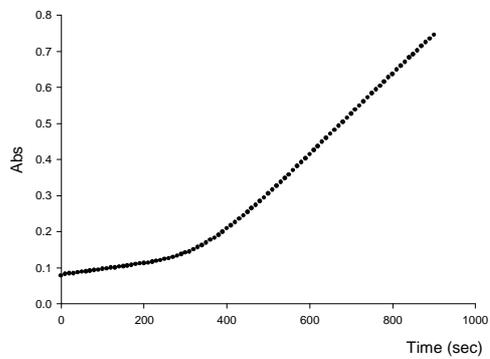
圖四十三 中藥材之總抗氧化力動力圖



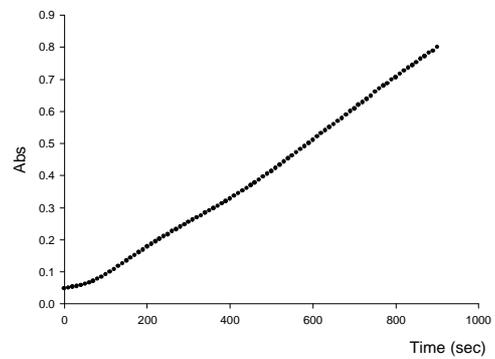
(a) 人參



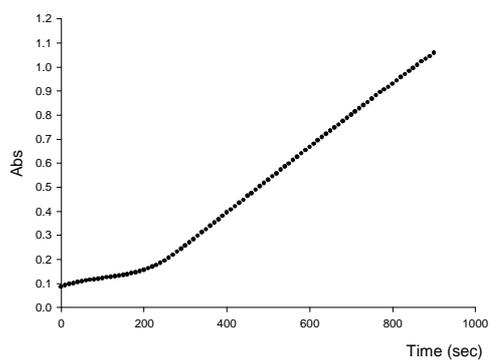
(d) 牡丹皮



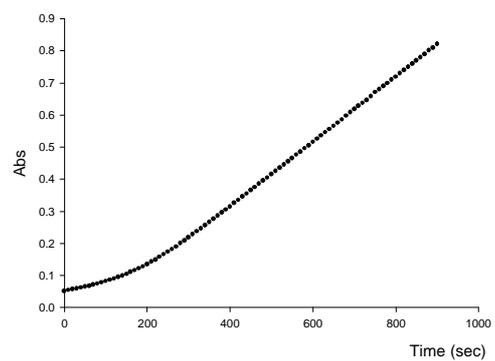
(b) 知母



(e) 本

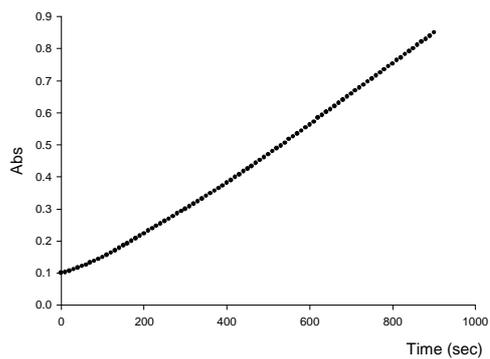


(c) 蒺藜

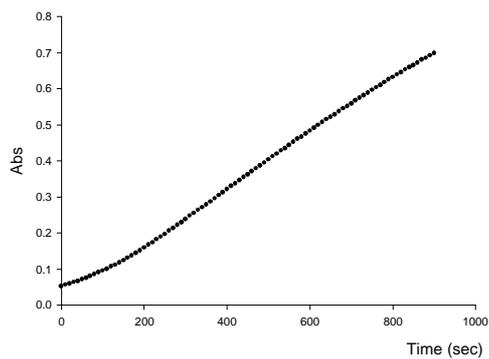


(f) 益母草

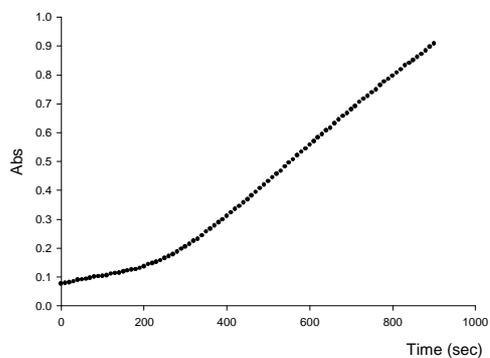
圖四十四 中藥材之總抗氧化力動力圖



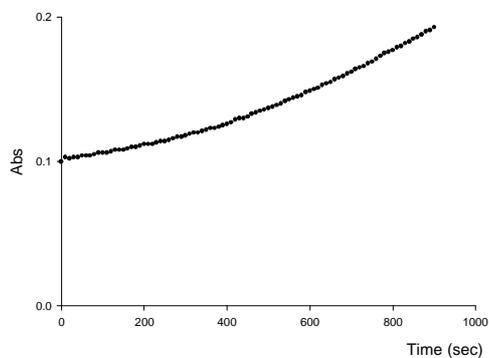
(a) 防風



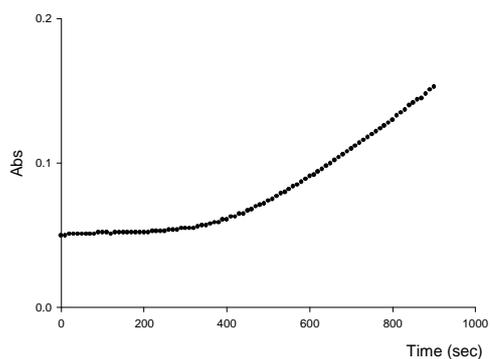
(d) 山慈菇



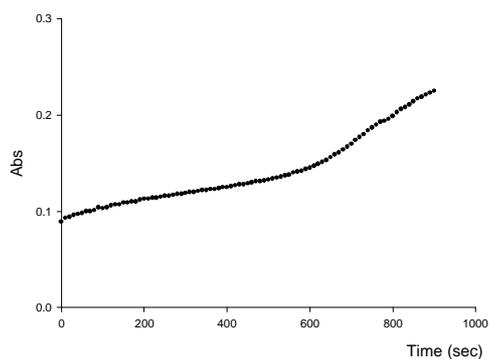
(b) 菟絲子



(e) 辛夷

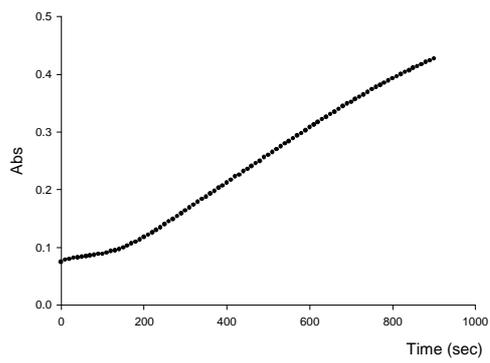


(c) 綠豆

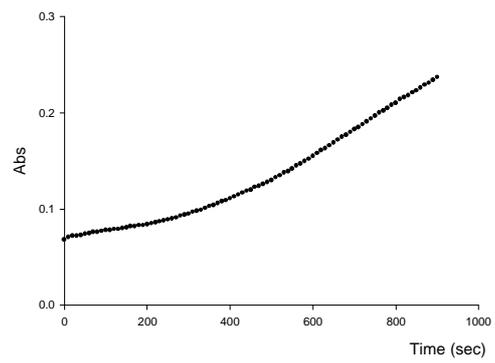


(f) 細辛

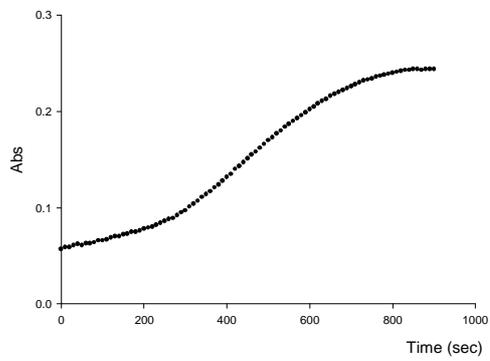
圖四十五 中藥材之總抗氧化力動力圖



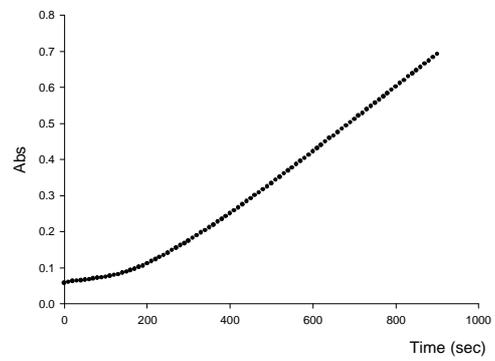
(a) 威靈仙



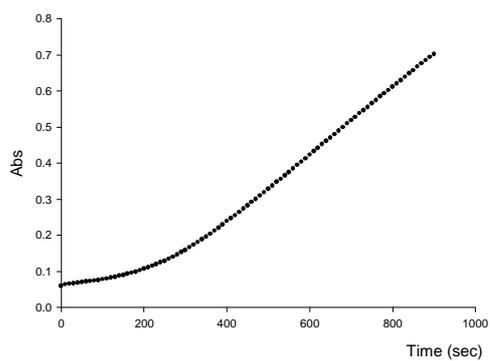
(d) 合歡皮



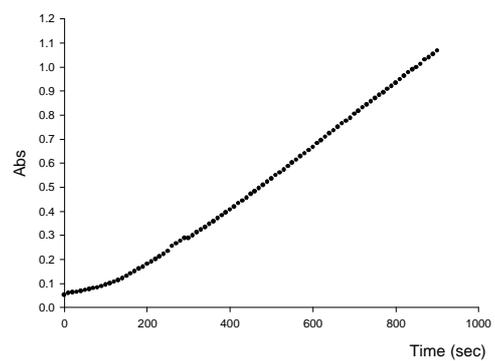
(b) 當歸



(e) 白朮

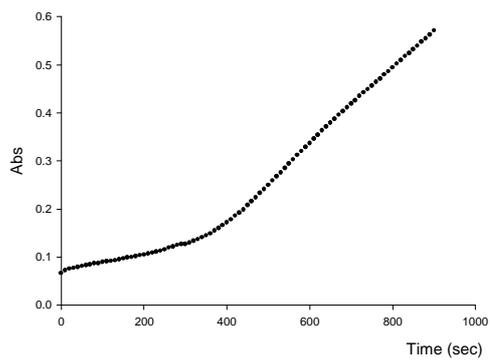


(c) 益智仁

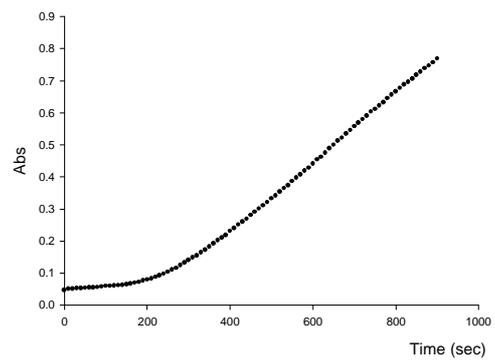


(f) 桔梗

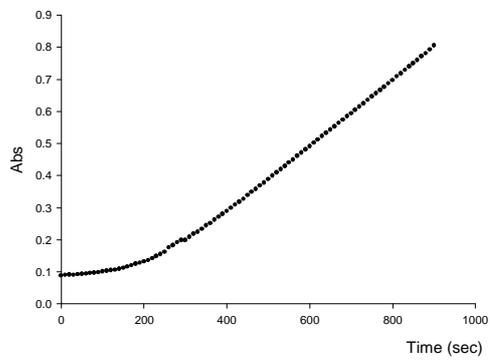
圖四十六 中藥材之總抗氧化力動力圖



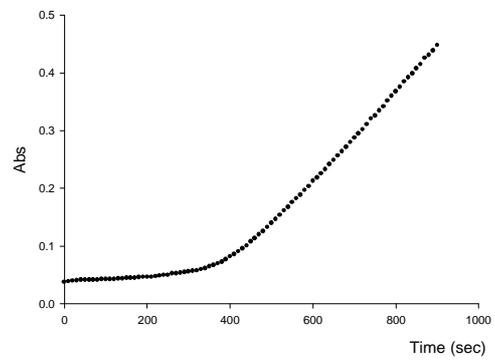
(a) 白芷



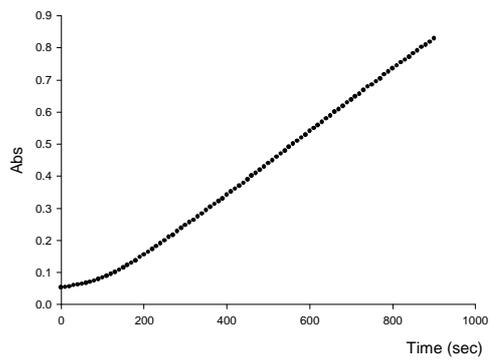
(d) 女貞子



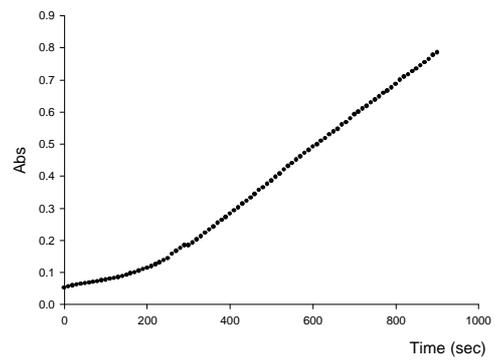
(b) 杜仲



(e) 白芍

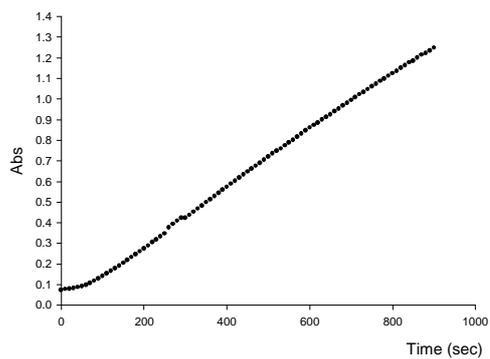


(c) 桑白皮

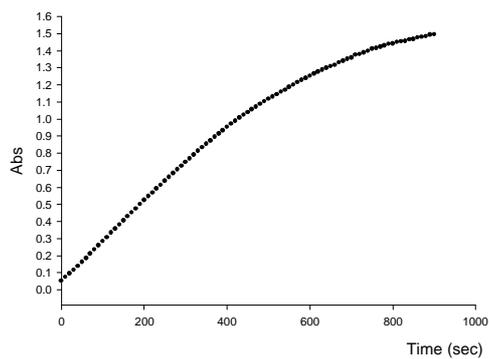


(f) 桑葉

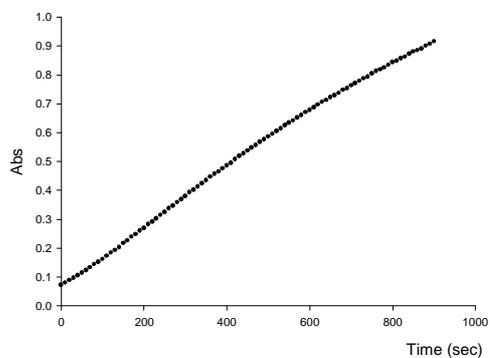
圖四十七 中藥材之總抗氧化力動力圖



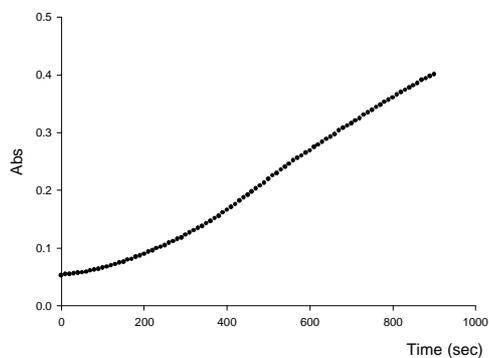
(a) 生地



(c) 薏苡仁



(b) 澤瀉



(d) 黨參

圖四十八 中藥材之總抗氧化力動力圖

表二十一 美容用中藥材之總抗氧化力 (TAA)

中藥材	每公克藥材重 TAA 之含量相當於維生 素 C 之微克數 ($\mu\text{g/g}$)	中藥材	每公克藥材重 TAA 之含量相當於維生 素 C 之微克數 ($\mu\text{g/g}$)
牡丹皮	17110.57 \pm 438.32	威靈仙	371.99 \pm 3.2
女貞子	6223.06 \pm 38.18	栝藹實	351.97 \pm 8.42
桑 葉	5067.43 \pm 8.42	黨 參	290.81 \pm 10.26
白 芍	4914 \pm 20.89	桔 梗	288.55 \pm 0.37
知 母	3988.28 \pm 90.54	桃 仁	233.07 \pm 3.96
生地黃	2415.45 \pm 152.07	辛 夷	181.16 \pm 12.86
益母草	1625.35 \pm 46.12	山慈菇	179.83 \pm 8.75
細 辛	1256.61 \pm 2.25	白 蘘	162.62 \pm 6.78
綠 豆	925.65 \pm 62.31	天門冬	145.23 \pm 2.9
本	900.74 \pm 26.5	人 參	131.43 \pm 5.18
桑白皮	849.6 \pm 9.9	郁李仁	119.94 \pm 14.4
白 芷	816.68 \pm 21.53	白 果	99.13 \pm 11.37
杜 仲	561.23 \pm 13.66	薏苡仁	85.05 \pm 7.66
益智仁	568.49 \pm 5.2	冬瓜子	51.99 \pm 20.62
當 歸	567.47 \pm 6.06	杏 仁	47.07 \pm 8.69
浮 萍	558.61 \pm 6.59	半 夏	29.69 \pm 6.14
合歡皮	522.09 \pm 4.27	茯 苓	21.8 \pm 1.29
蒺 藜	515.94 \pm 0.74	澤 瀉	-
白 朮	471.09 \pm 2.41	玉 竹	-
菟絲子	466.27 \pm 1.41	白 芫	-
防 風	460.22 \pm 2.05		
麥門冬	410.89 \pm 7.07		

- 表示低於檢測濃度

四、美白用中藥材之篩選

(一) 美白用中藥材之篩選

中藥化妝品先要瞭解中藥材安全性。中藥材之安全性試驗包括：毒性試驗、皮膚刺激性試驗、眼睛刺激性試驗等之測定。毒性試驗係測定老鼠口服單一致死劑量 (LD₅₀)。刺激性試驗用兔子皮膚刺激性試驗和兔子眼睛刺激性試驗表示之。依照常用的 Draize 氏法評估計算刺激性的大小。經初步試驗，本研究選擇牡丹皮、細辛、桃仁、半夏、益智仁、玉竹、桑白皮、當歸、桔梗、麥門冬、天門冬、女貞子、冬瓜子、菟絲子、合歡皮、綠豆、浮萍、知母、桑葉、山慈菇、蒺藜、澤瀉、生地黃、郁李仁、白芍、白蘂、白及、白朮、白芷、白果、本、益母草、茯苓、栝藹實、杏仁、防風、黨參、威靈仙、人參、杜仲、辛夷、及薏苡仁共 42 種中藥進行安全性試驗、體內外功效試驗、安定性試驗。

中藥萃取物對酪胺酸 活性抑制的測定係將麴酸作為對照標準品，比較其對酪胺酸 活性之抑制。擬超氧歧化 活性試驗之方法是從 Beauchamp 和 Fridovich 方法修改而來，以 NBT 還原法來分析。利用 Riboflavin / Methionine 照光產生 O₂⁻ 的系統，使 NBT(淡黃色) 還原產生 formazan (藍紫色)。因中藥材水溶性萃取液中的成分，具有類似超氧歧化 的活性 (SOD-like activity)，故抑制 O₂⁻ 的生成，進而抑制 formazan 的產生。中藥材之總抗氧化力活性試驗採用 Arnao 研究的 ABTS/ H₂O₂/HRP 分析系統，作為抗氧化活性分析。抗氧化物具有清除自由基的作用，利用 ABTS 法，藉著抑制 ABTS^{•+} 自由基 (藍綠色) 之產生，延遲形成藍綠色的時間。係將 L-ascorbic acid 為對照品，比較出總抗氧化力活性的大小。表二十二顯示中藥材

其抑制酪胺酸 活性、總抗氧化力活性與似超氧歧化 活性之結果。

結果顯示冬瓜子、生地黃、白朮、白芍、白芷、牡丹皮、知母、威靈仙、郁李仁、桔梗、桑葉、桑白皮、桃仁、浮萍、益母草、益智仁、栝藹實、細辛、菟絲子、當歸、綠豆、 本與黨參較有潛力。本研究以女貞子、牡丹皮、白芷為指標中藥材，進行化妝品製劑之研究。

(二) 歷代外用美容方之考查

歷代外用美容方之中，僅使用女貞子與白芷而不用牡丹皮。牡丹皮外用於美容化妝品製劑上為本研究之先創。

女貞子《本草蒙筌》"黑髮黑須，強筋強力，多服補血去風。"《本草綱目》"強陰，健腰膝，變白髮，明目"。

白芷於《本草綱目》記載："去面黑"。《千金要方》記載：白芷、白蘂、白朮、桃仁、冬瓜仁、杏仁、萎蕤各等分，皂莢倍多。搗細羅為散。《聖惠方》記載：白芷一兩，白蘂一兩，白朮一兩，白附子三分（生用），白茯苓三分，白芨半兩，細辛二分。搗羅為末，以雞子白和為挺子，陰乾每夜洗淨面。《肘後備急方》記載：白芷半升，羊脂、狗脂各一升， 草七尺，半夏半兩，烏啄十四枚，合煎。《景岳全書》治雀斑記載：白芷、甘菊花各三錢（去梗），白果二十個，紅棗十五個，珠兒粉五錢，豬胰一個。將珠粉研細，餘俱搗爛拌勻，外以蜜拌，酒釀頓化，入前藥熬過。每晚擦面，早洗去。《外科正宗》玉肌散記載：綠豆半升，滑石、白芷、白附子各二錢。共為細末，每周三匙，早晚洗面時湯調洗患上。

表二十二 重要中藥材其抑制酪胺酸 活性、總抗氧化力活性與似超
 氧歧化 活性之比較

實驗中藥	酪胺酸 活性抑制率 (%)	實驗中藥	每 g 鮮重相當 於維生素 C 之 微克數 (μg/g)	實驗中藥	每 g 藥材含活 性超氧歧化 之量 (U/g)
白 芷	69.78	牡丹皮	17110.57	女貞子	113915
桃 仁	67.54	女貞子	6223.06	細 辛	106428
桔 梗	63.76	桑 葉	5067.43	益智仁	103880
栝萸實	58.84	白 芍	4914	浮 萍	60919
郁李仁	54.52	知 母	3988.28	牡丹皮	46403
威靈仙	54.52	生地黃	2415.45	生地黃	42722
黨 參	53.13	益母草	1625.35	白 朮	41426
冬瓜子	52.20	細 辛	1256.61	桑 葉	35612
桑白皮	48.72	綠 豆	925.65	本	31480
當 歸	48.25	本	900.74	菟絲子	30572
綠 豆	44.26	桑白皮	849.6	白 芷	22311
白 朮	45.05	白 芷	816.68	白 芍	21805

第九章 美白中藥化妝品之品質及安定性探討

一、美白化妝品對照物麴酸的分析方法及確效

(一) 紫外光-可見光吸收光譜分析

將麴酸以純水為溶劑測得之紫外光-可見光光譜圖，如圖四十九所示，其明顯較大的吸收波長為 216 nm 及 269 nm。分別對 216 nm 及 269 nm 兩波長，作麴酸濃度與吸光值的關係圖，如圖五十、五十一，均顯示良好的線性 ($r^2 > 0.999$)。表示兩種波長均適用，麴酸在研究中之高效液相分析採 269 nm 為檢測波長。

(二) 分析方法及確效

1. 移動相的組成

尋找有效的分析方法與適和的移動相，需建立一套移動相中 Methanol 含量與麴酸容積因子 (k') 的關係以及移動相 pH 值與 T_f 的關係。利用此關係發現到移動相中 Methanol 含量越高，容積因子越高，最適合的有機相比例為 Methanol 2.5% ~ 5% 之間，如圖五十二所示。移動相中 pH 值越高，則拖尾現象越嚴重，相對的 pH 值越低，層析峰越尖越對稱，如圖五十三所示，但對滯留時間影響不大。利用有機相比例與 pH 值作調整，所得最佳條件為 Methanol : H₂O = 4 : 96 (V/V)，pH = 2.04。

2. 標準曲線的建立

利用已確立之層析系統進行分析，將麴酸調配成 1.5625~25 $\mu\text{g/ml}$ 之濃度範圍內，進行標準曲線之製備，如圖五十四所示。

其回歸方程式為 $Y=56558X+13031$ ，相關係數大於 0.999，顯示線性關係良好。

3. 準確度、同日、異日精密度變異性的測定

於 25、6.25 及 1.5625 $\mu\text{g/ml}$ 濃度下，其準確度以（相對誤 relative error）表示之，分別為-0.58%、0.12%及-0.44%。

於同日，各製備高、中、低三種濃度（25、6.25、1.5625 $\mu\text{g/ml}$ ）之樣品，依已確立之分析方法進行同日內（intra-day）精密度之測定。將濃度高、中、低之樣品，分別於早、中、晚各測定三次，以考驗本分析法之同日變異性。結果如表二十三所示，C.V.%分別是 0.94%、1.54%和 1.46%。

於不同日，各製備高、中、低三種濃度（25、6.25、1.5625 $\mu\text{g/ml}$ ）之樣品，依已確立之分析方法進行異日（inter-day）精密度之測定，每種濃度試樣於早、中、晚各測定三次，進行分析三個不同日期，以考驗本分析法之異日變異性。其結果如表二十四所示，C.V.%分別是 1.83%、3.07%和 1.78%。

4. 最低檢測濃度（LOD）與最低定量濃度（LOQ）試驗

最低檢測濃度試驗（Limit of Detection，LOD）是不斷地稀釋麴酸至三種濃度 0.0625、0.125、0.25 $\mu\text{g/ml}$ ，以 HPLC 分析求得曲線下面積，依此法重複作三次，分別將此曲線下面積作線性回歸，可得三個截距，如圖五十五。求出截距的標準差（ σ ），並採用標準曲線的斜率（S），參照 ICH 內容計算。

回歸方程式為 $Y=56558X + 13031$

斜率為 56558 截距的標準差（ σ ）= 58.643

$LOD (3.3 \times \sigma / S) = 3.3 \times 58.643 / 56558 = 0.003422$

$$LOQ (10 \times \sigma / S) = 10 \times 58.643 / 56558 = 0.010369$$

所得之最低檢測濃度為 3.42 ng/ml，最低定量濃度 10.36 ng/ml。

5. 安定性之分析方法

本研究採用高效液相層析法作為麩酸安定性的分析方法，為確保此層析條件能將麩酸與其分解產物完全分離，以可靠的評估麩酸於各種情況下之安定性，故進行安定性分析方法之驗證。

將麩酸（25 µl/ml）加入等體積之 0.1 N 稀鹽酸及 0.1 N 氫氧化鉀，並於 25、40 及 60 下進行分解，並進行層析法之系統適用性與層析峰純度之研究。

1. 層析法之系統適用性（System suitability test）之訂定

以室溫下、不加酸鹼之檢品進行系統適用性，計算各測試值如下：

（1）容積因子（Capacity factor, k' ）

$$k' = \frac{9.522 - 2.305}{2.305} = 3.131$$

（2）拖尾係數（Tailing factor, T_f ）

$$T_f = \frac{b}{a} = \frac{0.15}{0.13} = 1.15$$

改變移動相中 MeOH 的量或 pH 值，對層析峰有明顯的影響，故此二項參數應予管制。

2. 以二極體陣列檢測器檢測層析峰純度

採用 Hitachi-7455 二極體陣列檢測器，監測系統可以將結果設定為 Normalized 的形式，作為評估層析峰的純度。若已分離的麴酸試樣，其中層析峰內含有任何不純的物質時，不同滯留時間之 UV 光譜很有可能會改變，經由 Normalized 後就無法重疊，以此方法確定此層析條件是否能完全將麴酸及其分解產物完全分離。

二極體陣列檢測監測系統會對所存的資料自行比對，並顯示其層析峰純度的程度。驗證結果若層析峰的純度高時，電腦會給予最高的評估值 1；評估值越小，則表示檢品層析峰純度愈低。

本研究採酸、鹼及不同溫度下分解檢品進行二極體陣列檢測，就 60 °C 下，降解率大於 50% 的檢品，結果如圖五十六~圖五十八所示，皆達 0.990 以上之評估值，且經由 Normalized 後的圖形幾乎是重疊的情形，經電腦評估為高純度的層析峰。

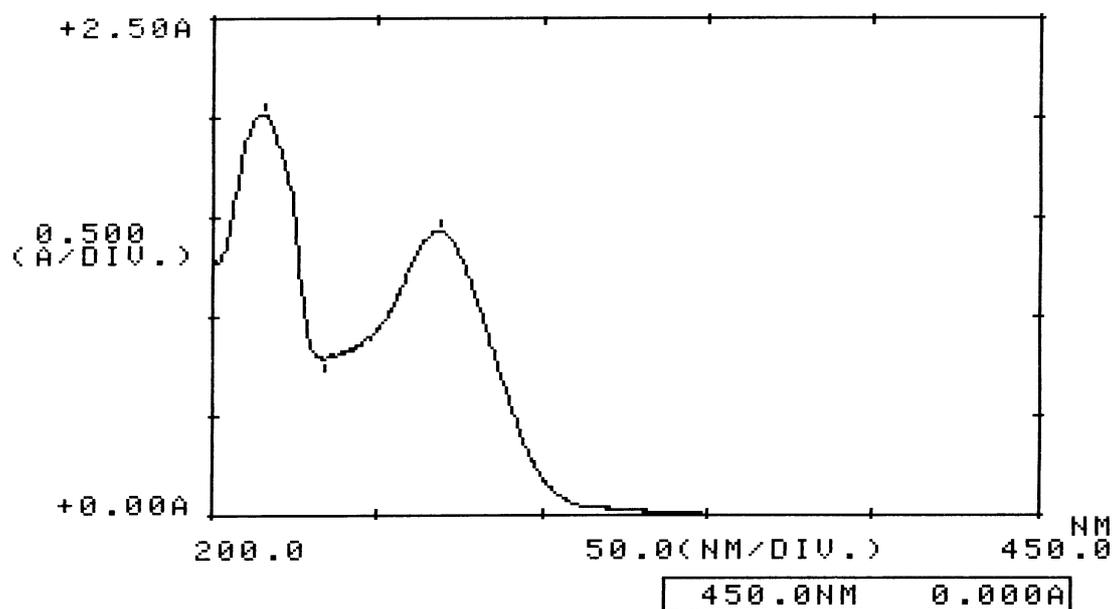
分析方法經二極體陣列檢測器驗證及系統評估，本研究之分析方法，可確定麴酸與其分解產物有良好的分離效果。此分析方法不僅適用於麴酸之研究，亦可適用於製劑之品質管制。

3. 麴酸之化學安定性

藥物之安定性會因為環境不同（溫度、pH 值）而改變，藥物的安定與否，會影響藥物的利用價值。本實驗旨在瞭解麴酸於酸、鹼及純水中，反應速率受溫度影響的情形。

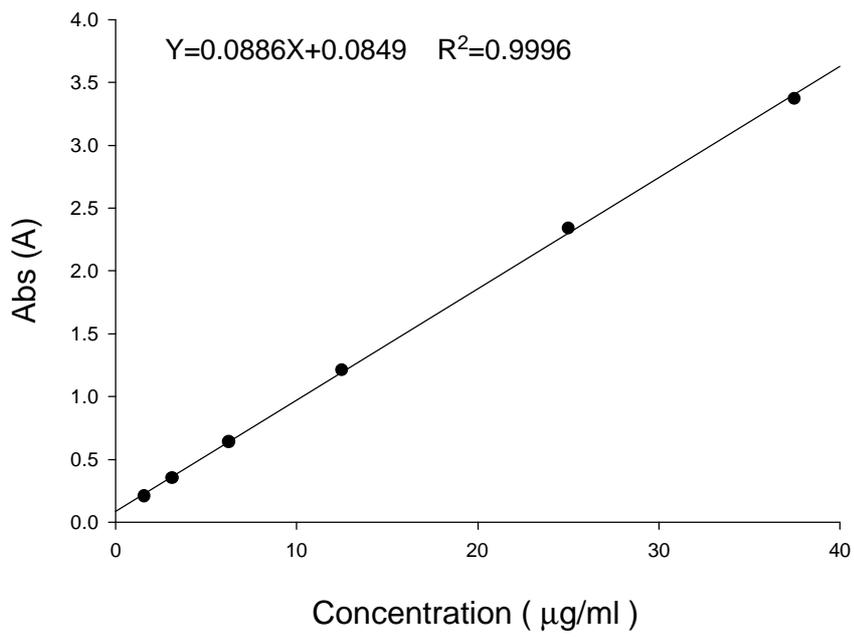
麴酸在 0.05 N 稀鹽酸、0.05 N 氫氧化鉀及純水之溶液中，分別置於 25、40、60 °C 三種溫度下，實驗結果顯示，60 °C 降解的情形明顯比 25 °C 及 40 °C 快，由此可知麴酸的分解速率會因溫度增加而變快。

本研究採用 25、40、60 °C 三種不同反應溫度，將麴酸剩餘濃度之自然對數（ $\ln C\%$ ）數值對時間作圖，如圖五十九~圖六十一所示。圖中可見其分解反應皆遵循擬一次反應的模式。

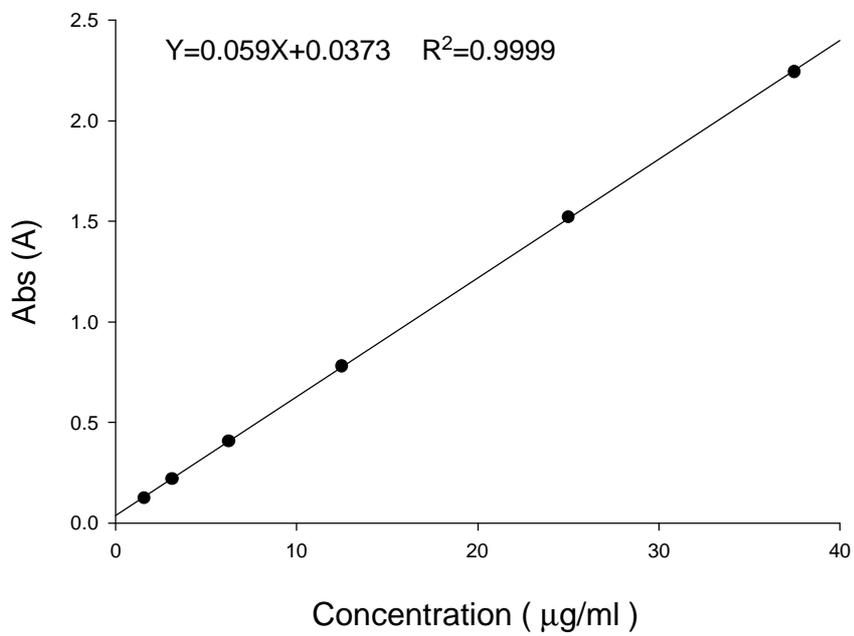


-- PEAK --		-- VALLEY --	
λ	ABS	λ	ABS
269.0	1.435	234.0	0.792
215.5	2.021		

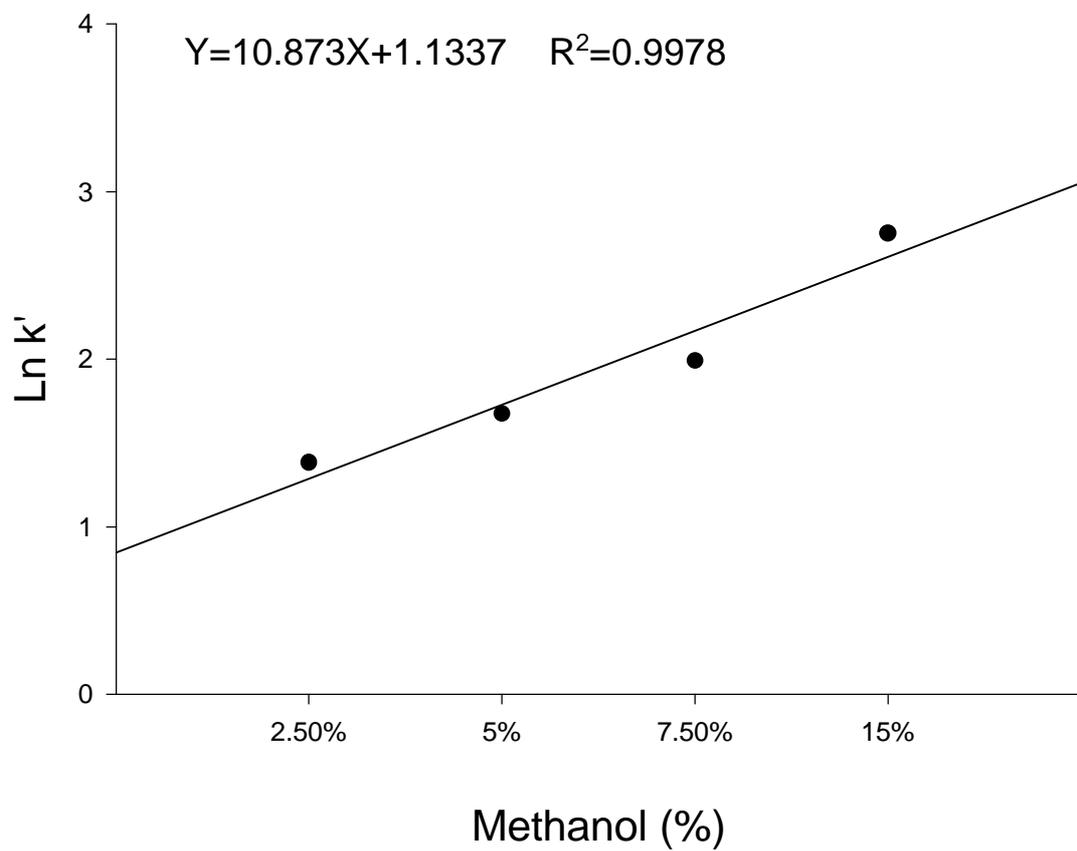
圖四十九 鞣酸之紫外光-可見光光譜圖



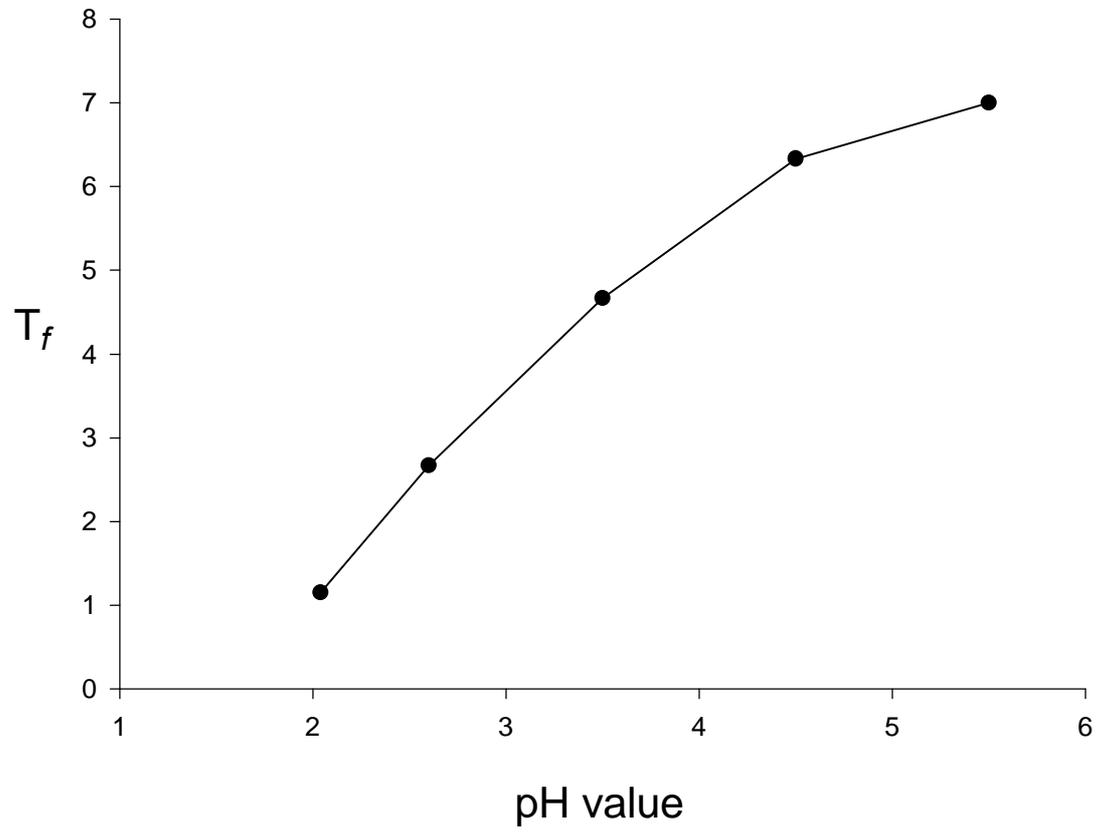
圖五十 波長 216 nm 下，以紫外光光譜儀所製備之麩酸標準曲線



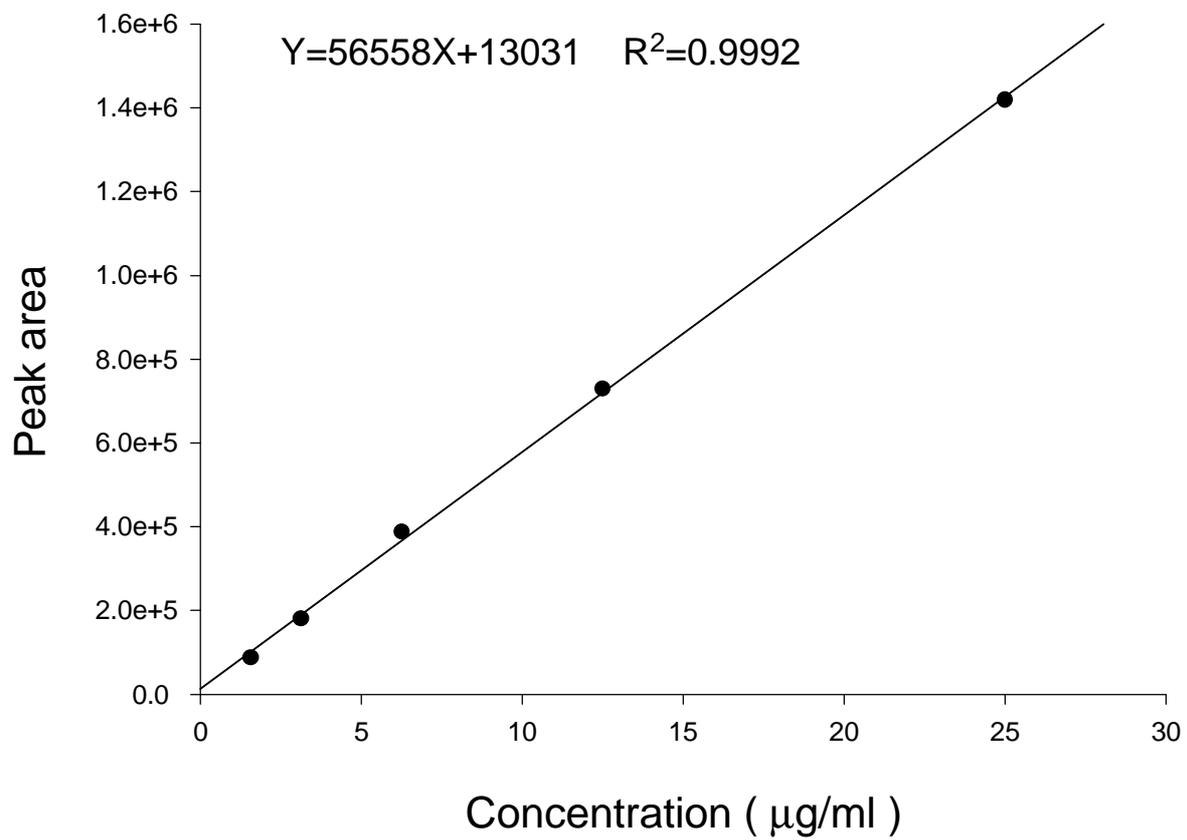
圖五十一 波長 269 nm 下，以紫外光光譜儀所製備之麩酸標準曲線



圖五十二 HPLC 層析法移動相中 Methanol 含量與麴酸的容積因子 (k') 之關係圖



圖五十三 移動相中 pH 值與 T_f 之關係圖



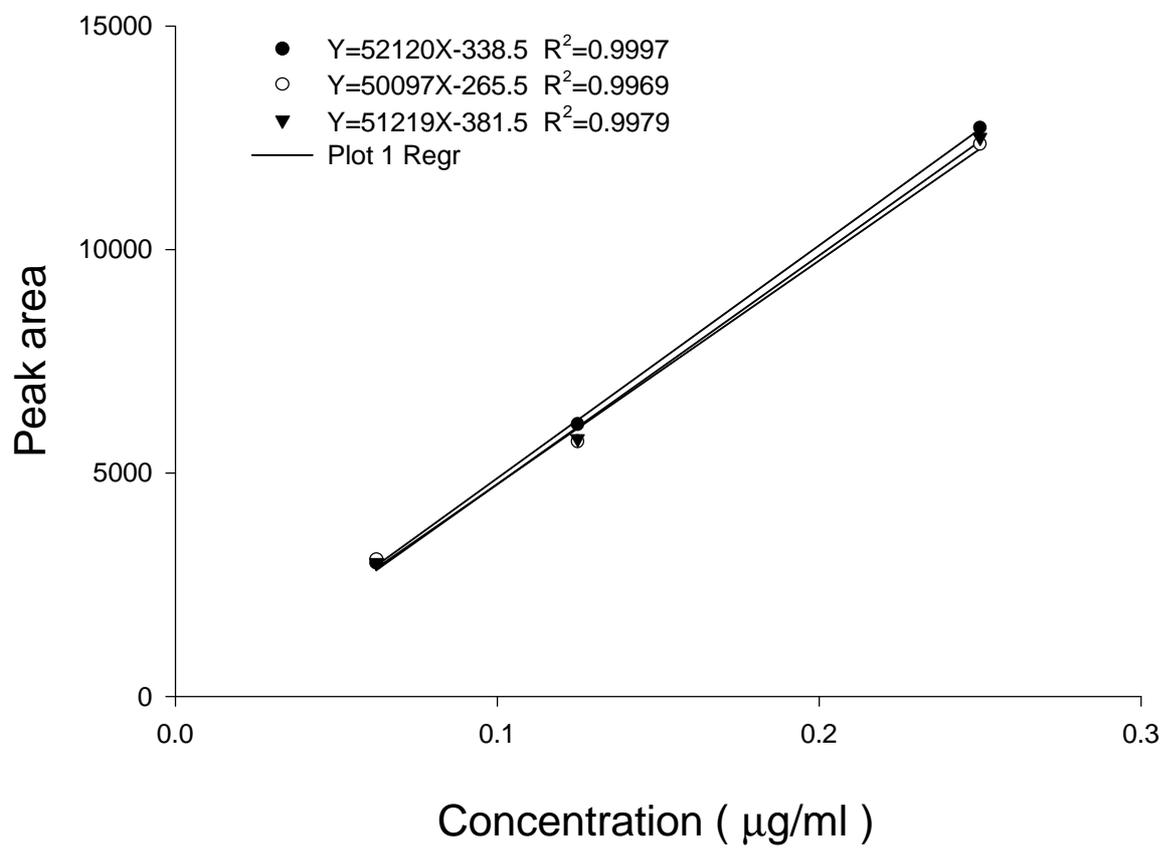
圖五十四 麴酸高效液相層析法之標準曲線

表二十三 麴酸高效液相層析法之同日內精密度試驗

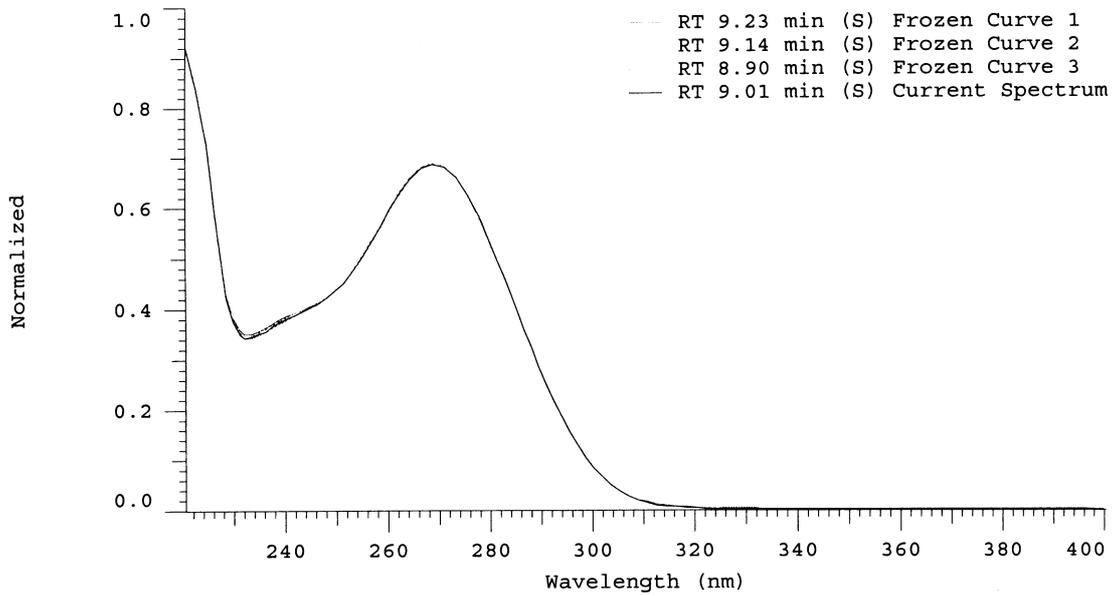
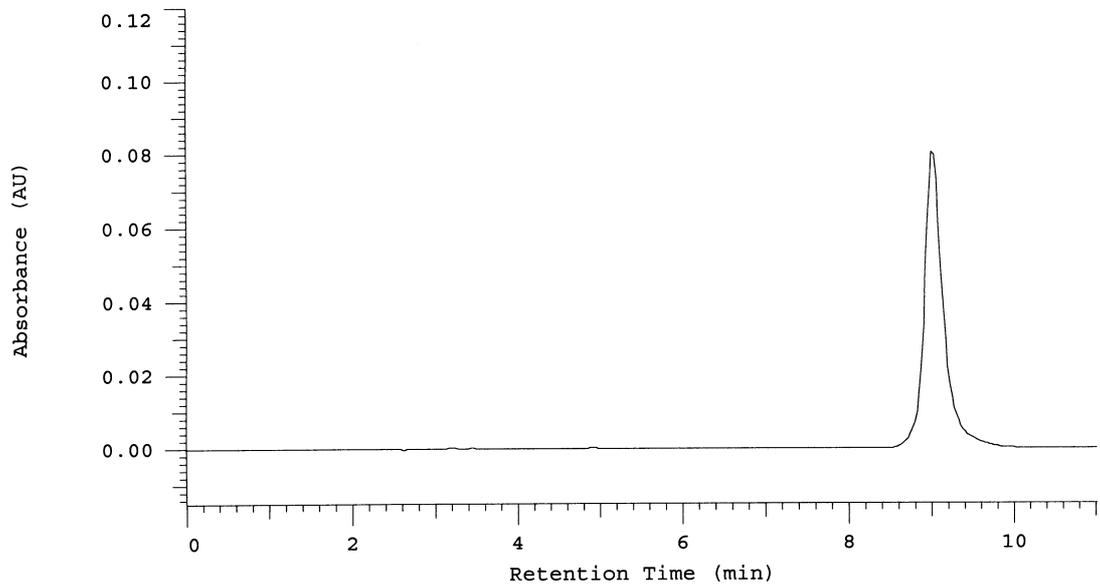
Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	25 $\mu\text{g/ml}$	6.25 $\mu\text{g/ml}$	1.5625 $\mu\text{g/ml}$
1	1411013	376632	98264
2	1405620	371907	98503
3	1386305	371885	98435
4	1374339	368254	96171
5	1384269	364623	96092
6	1382631	363128	95339
7	1399458	363542	96257
8	1408744	358680	95800
9	1399758	363839	94748
Mean	1394681.889	366943.3333	96623.22222
SD	13087.80992	5635.551348	1412.995734
CV (%)	0.938408251	1.535809711	1.462376954

表二十四 麴酸高效液相層析法之異日內精密度試驗

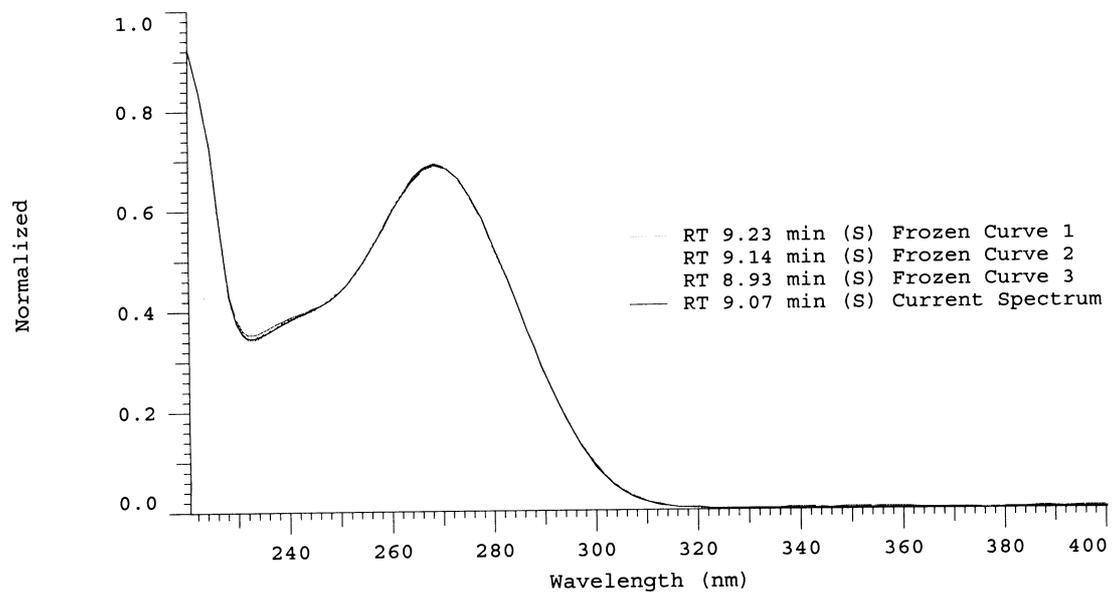
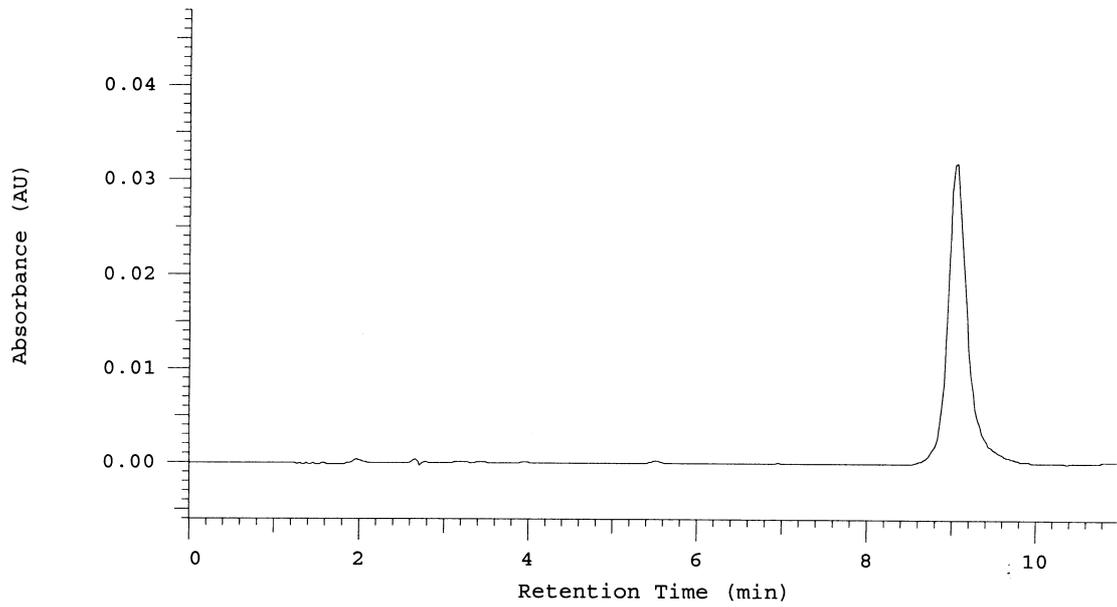
Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	25 $\mu\text{g/ml}$	6.25 $\mu\text{g/ml}$	1.5625 $\mu\text{g/ml}$
Day 1	1411013	376632	98264
	1405620	371907	98503
	1386305	371885	98435
	1374339	368254	96171
	1384269	364623	96092
	1382631	363128	95339
	1399458	363542	96257
	1408744	358680	95800
	1399758	363839	94748
Day 2	1417888	390955	95703
	1434412	395899	95995
	1429873	387241	96907
	1436324	378970	95302
	1418215	397541	95160
	1439535	382768	95854
	1447861	372318	96703
	1452212	375819	95370
1440113	372650	96472	
Day 3	1446503	387102	98840
	1396562	385065	97919
	1393365	379124	98514
	1363631	387218	99054
	1384453	390212	102786
	1429394	393946	98843
	1385054	384726	98613
	1407111	399877	97874
1385707	385477	98277	
Mean	1409642.593	379607.3333	97177.59259
SD	25173.29825	11654.50157	1779.342365
CV (%)	1.785792965	3.070146583	1.831021244



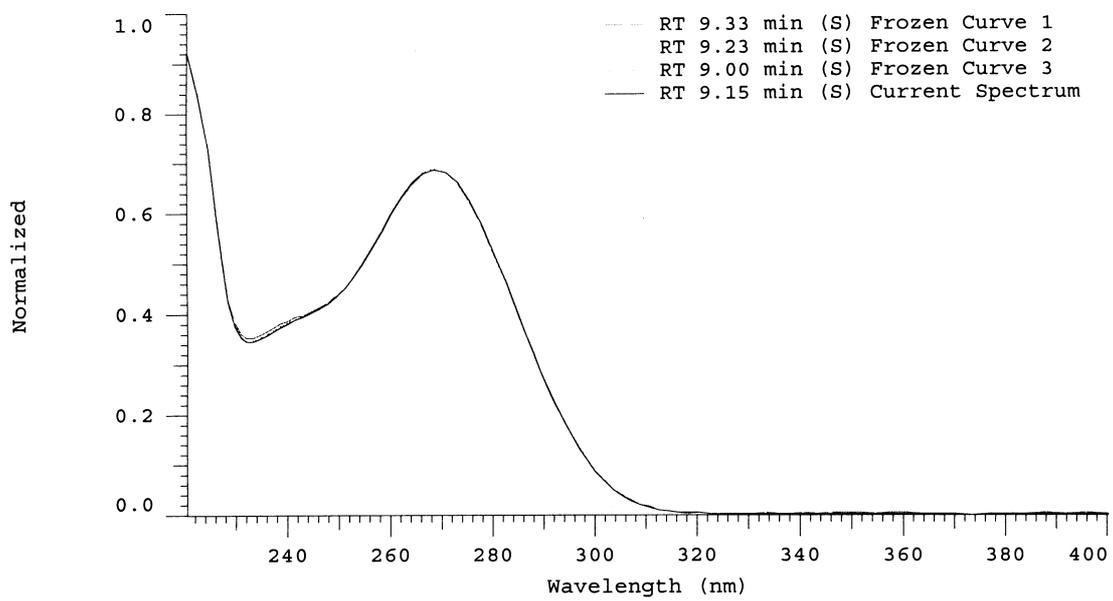
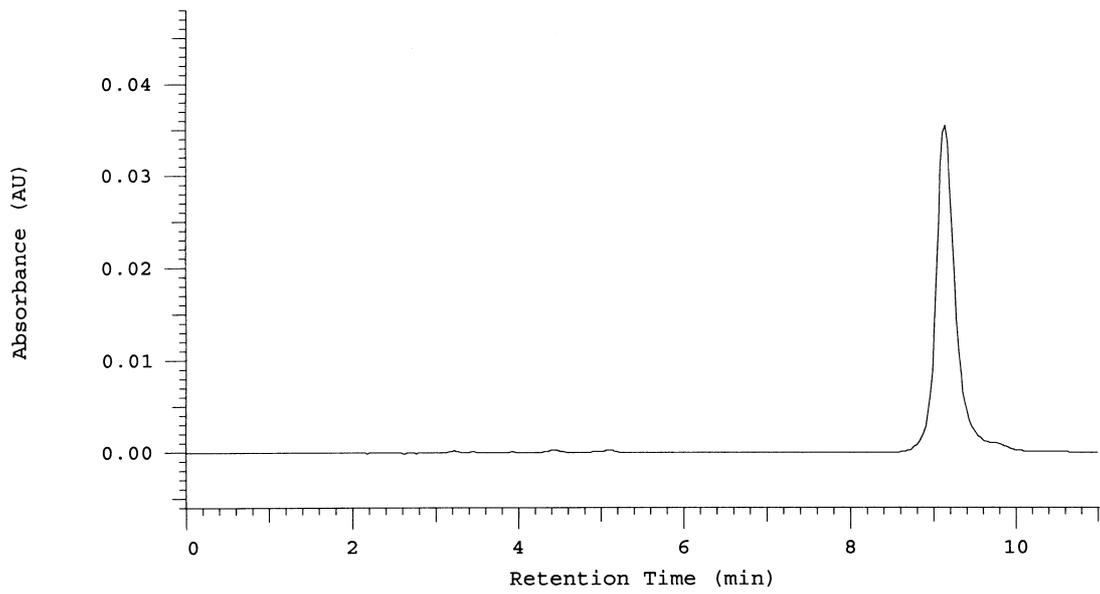
圖五十五 低濃度下麴酸之 HPLC 標準曲線圖



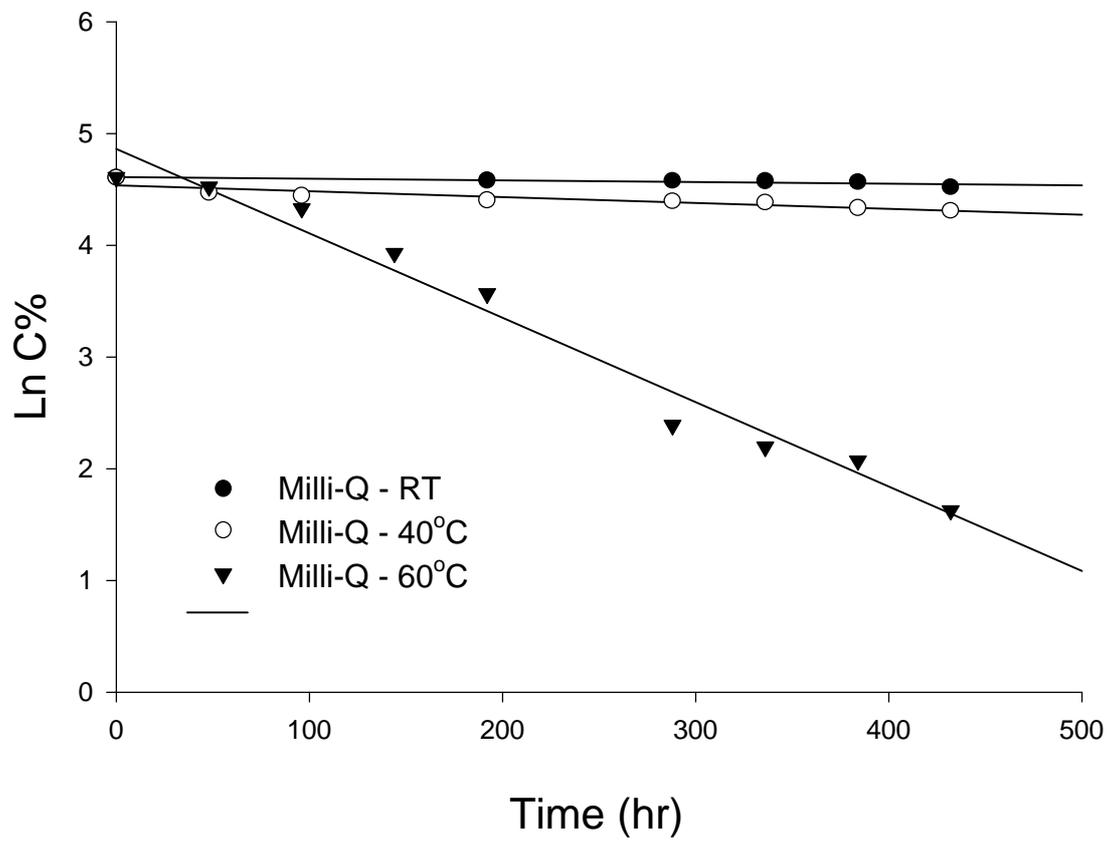
圖五十六 麴酸於純水中及 60 °C 下，層析峰純度圖



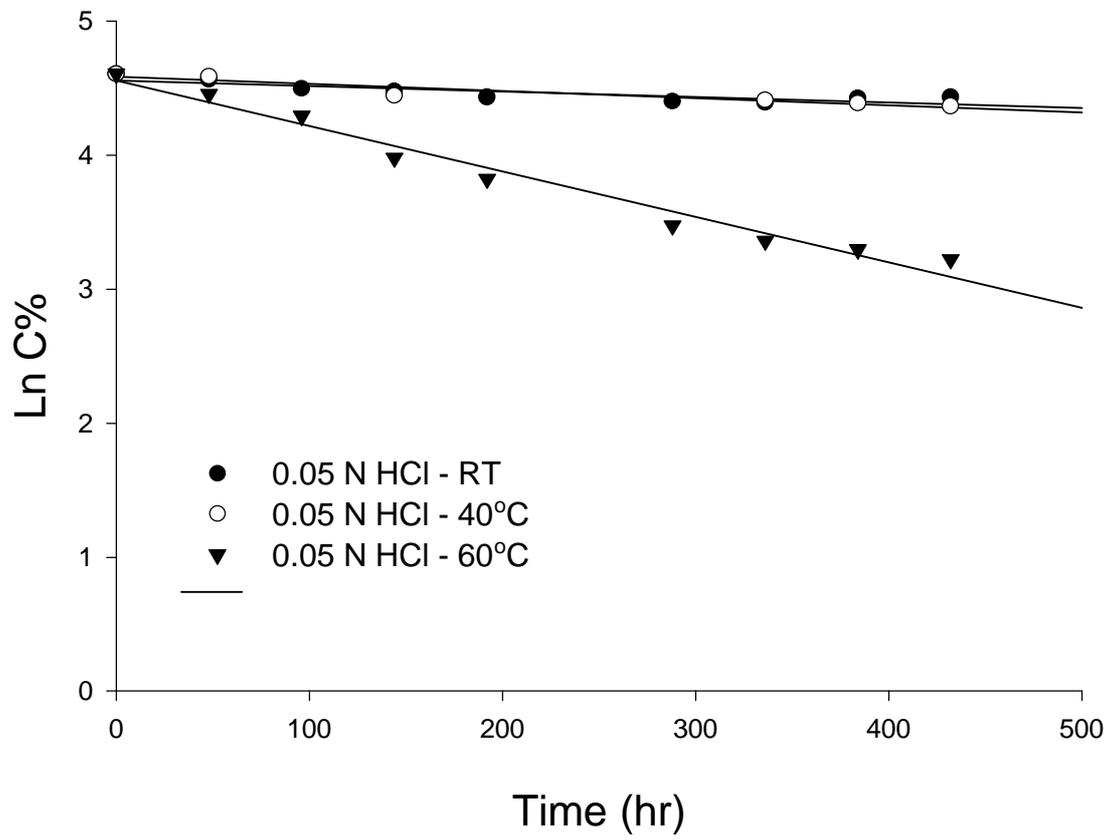
圖五十七 麴酸於 0.05 N HCl 中及 60 下，層析峰純度圖



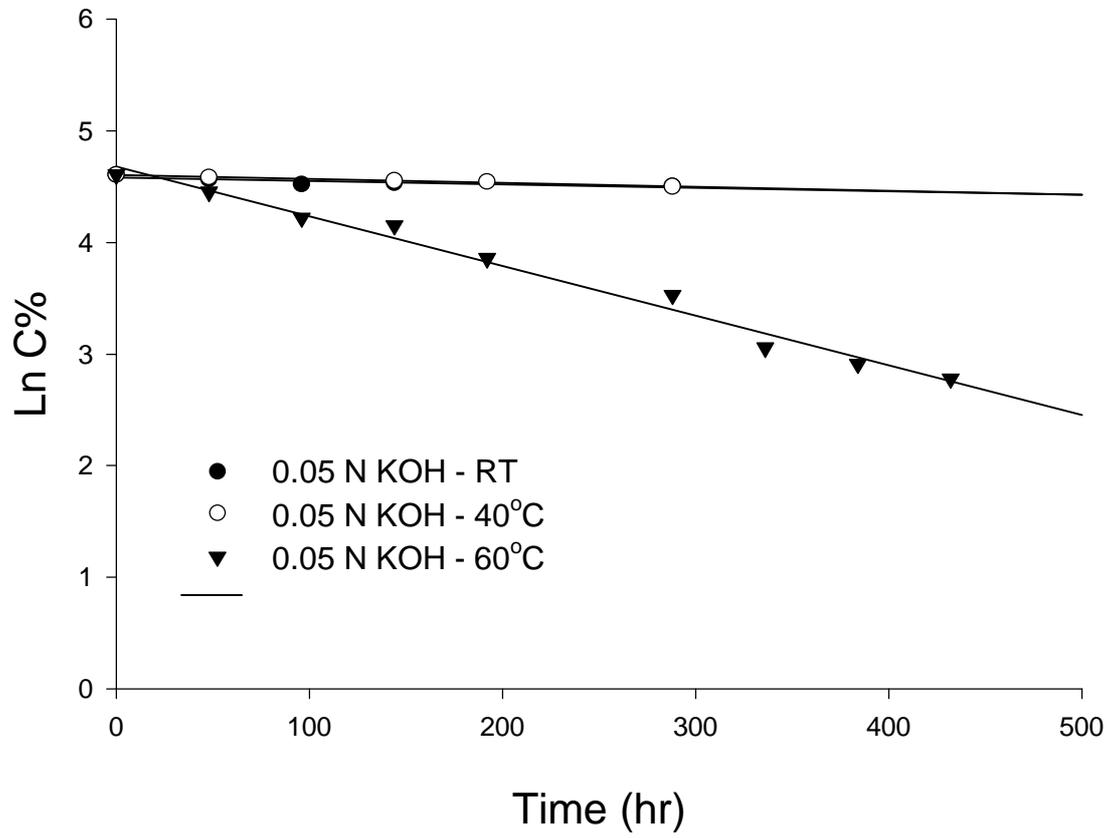
圖五十八 麴酸於 0.05 N KOH 中及 60 °C 下，層析峰純度圖



圖五十九 麴酸 25 µg/ml 於純水中，不同溫度之分解動力圖



圖六十 麴酸 12.5 µg/ml 於 0.05 N HCl 下，不同溫度之分解動力圖



圖六十一 麴酸 12.5 $\mu\text{g/ml}$ 於 0.05 N KOH 下，不同溫度之分解動力圖

表二十五 麴酸在酸、鹼及不同溫度下之反應速率常數

	反應速率常數 K (hr ⁻¹)		
	25	40	60
Normal	1.486E-04 (0.841)	5.164E-04 (0.913)	7.548E-03 (0.988)
0.2 N HCl	4.127E-04 (0.857)	5.164E-04 (0.949)	3.388E-03 (0.987)
0.2 N KOH	3.170E-04 (0.862)	3.489E-04 (0.994)	4.439E-03 (0.992)

註：反應 12.5 µg/ml 麴酸，於 0.05 N HCl、0.05 N KOH 中

() 內的數值代表分解反應以一級反應模式回歸所得之相關係數

將每個分解動力圖作線性回歸，求得在各特定 pH 值與各溫度下之反應速率常數及其相關係數，如表二十五所示。

二、含中藥萃取物之凝膠 (Gel) 的物理安定性研究

(一) 化妝品凝膠劑的製備

於人體臨床試驗前，將水萃取含量 2% 之白芷、牡丹皮、女貞子、麴酸及未添加活性成分之對照組，製作為凝膠製劑，內容物重每瓶約 100 g，分別製備 1000 g，並裝於棕色玻璃瓶中保存，進行物理安定性之評估。

(二) 含中藥甲醇萃取物之凝膠的物理安定性研究

1. 感官的試驗 (Organoleptic test)

活性成分含量 2% 之三種不同藥材水萃取物與麴酸，及未添加主成分之空白組，分別置於 25、30、40 三種不同溫度下，觀察其外觀、顏色、味道、分層及發霉情形。結果如表二十六-表二十八所示。

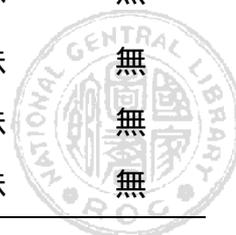
2. pH 的測量 (pH Measurements)

將白芷、牡丹皮、女貞子之中藥材甲醇萃取物與對照組之凝膠製劑，分別儲存於 25、30、40 三種溫度下，前三天於固定時間每天測定一次，由測量結果發現變化並不明顯，之後變更為每星期測定一次，pH 值的變化如表二十九-表三十一所示。

3. 粘度的測量 (Viscosity Measurements)

表二十六 室溫下，白芷、牡丹皮、女貞子與空白組凝膠製劑，感官的評估結果

檢 品	時 間 (天)	外 觀	顏 色	味道	發霉情形
空白組	0	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	1	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	2	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	9	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	16	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	23	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	30	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	37	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	44	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	51	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	58	成形的凝膠	透明無色	無味	無
白 芷	0	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	1	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	2	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	9	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	16	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	23	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	30	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	37	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	44	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	51	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	58	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無



表二十六 室溫下，白芷、牡丹皮、女貞子與空白組凝膠製劑，感官的評估結果（續）

檢 品	時 間 (天)	外 觀	顏 色	味 道	發霉情形
牡丹皮	0	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	1	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	2	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	9	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	16	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	23	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	30	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	37	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	44	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	51	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
	58	成形的凝膠	淡紅色	牡丹皮味	無
女貞子	0	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	1	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	2	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	9	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	16	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	23	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	30	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	37	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	44	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	51	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	58	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無

表二十七 30 下，白芷、牡丹皮、女貞子與空白組凝膠製劑，感官的評估結果

檢 品	時 間 (天)	外 觀	顏 色	味 道	發 霉 情 形
空白組	0	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	1	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	2	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	9	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	16	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	23	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	30	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	37	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	44	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	51	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	58	成形的凝膠	透明無色	無味	無
白 芷	0	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	1	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	2	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	9	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	16	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	23	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	30	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	37	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	44	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	51	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	58	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無

表二十七 30 下，白芷、牡丹皮、女貞子與空白組凝膠製劑，感官的評估結果（續）

檢 品	時 間 (天)	外 觀	顏 色	味 道	發霉情形
牡丹皮	0	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	1	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	2	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	9	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	16	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	23	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	30	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	37	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	44	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
	51	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
	58	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
女貞子	0	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	1	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	2	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	9	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	16	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	23	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	30	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	37	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	44	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	51	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	58	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無

表二十八 40 下，白芷、牡丹皮、女貞子與空白組凝膠製劑，感官的評估結果

檢 品	時 間 (天)	外 觀	顏 色	味 道	發 霉 情 形
空白組	0	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	1	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	2	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	9	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	16	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	23	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	30	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	37	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	44	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	51	成形的凝膠	透明無色	無味	無
	58	成形的凝膠	透明無色	無味	無
白 芷	0	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	1	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	2	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	9	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	16	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	23	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	30	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	37	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	44	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	51	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無
	58	成形的凝膠	淡黃色	白芷味	無

表二十八 40 下，白芷、牡丹皮、女貞子與空白組凝膠製劑，感官的評估結果（續）

檢 品	時 間 (天)	外 觀	顏 色	味 道	發霉情形
牡丹皮	0	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	1	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	2	成形的凝膠	淡棕色	牡丹皮味	無
	9	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
	16	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
	23	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
	30	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
	37	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
	44	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
	51	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
	58	成形的凝膠	棕 色	牡丹皮味	無
女貞子	0	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	1	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	2	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	9	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	16	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	23	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	30	成形的凝膠	淡褐色	女貞子味	無
	37	成形的凝膠	褐 色	女貞子味	無
	44	成形的凝膠	褐 色	女貞子味	無
	51	成形的凝膠	褐 色	女貞子味	無
	58	成形的凝膠	褐 色	女貞子味	無

表二十九 室溫下，白芷、牡丹皮、女貞子與空白組凝膠製劑之 pH 值及粘度

檢品	時間 (天)	pH 值	粘度 (cps) *
空白組	0	7.73	81.92 ± 0.20
	1	7.79	82.91 ± 0.20
	2	7.90	80.17 ± 0.26
	9	7.79	80.20 ± 0.27
	16	7.69	78.67 ± 0.58
	23	7.74	75.63 ± 3.42
	30	7.58	72.83 ± 2.25
	37	7.56	75.67 ± 0.58
	44	7.62	75.00 ± 0.00
	51	7.60	76.63 ± 0.58
	58	7.59	77.92 ± 0.26
白 芷	0	7.57	74.83 ± 0.20
	1	7.65	57.58 ± 0.38
	2	7.69	57.88 ± 0.94
	9	7.34	58.17 ± 0.88
	16	7.70	68.83 ± 0.29
	23	7.49	77.63 ± 0.63
	30	7.48	71.17 ± 0.29
	37	7.54	70.17 ± 0.28
	44	7.60	71.83 ± 0.76
	51	7.62	72.83 ± 0.58
	58	7.64	70.00 ± 0.58
牡丹皮	0	7.75	50.83 ± 0.41
	1	7.88	51.92 ± 0.20
	2	7.73	54.58 ± 1.11
	9	7.43	54.92 ± 0.92
	16	7.87	54.00 ± 0.40
	23	7.84	55.75 ± 1.19
	30	7.64	52.13 ± 0.48
	37	7.58	52.33 ± 0.76
	44	7.71	52.79 ± 1.32
	51	7.65	53.63 ± 0.58
	58	7.70	54.33 ± 1.04
女貞子	0	7.80	54.25 ± 0.27
	1	8.02	52.92 ± 0.20
	2	8.10	52.50 ± 0.89
	9	7.82	53.42 ± 1.59
	16	7.99	57.67 ± 0.29
	23	7.88	59.33 ± 0.58
	30	7.50	59.67 ± 0.58
	37	7.51	59.33 ± 0.58
	44	7.59	60.33 ± 0.58
	51	7.62	61.25 ± 0.89
	58	7.57	58.17 ± 0.88

*凝膠製劑稀釋 15 倍

表三十 30 下，白芷、牡丹皮、女貞子與空白組凝膠製劑之 pH 值及粘度果

檢品	時間 (天)	pH 值	粘度 (cps) *
空白組	0	7.75	89.50 ± 0.45
	1	7.82	84.92 ± 0.20
	2	8.10	79.92 ± 0.92
	9	7.54	79.91 ± 0.92
	16	7.68	80.33 ± 0.29
	23	7.67	80.83 ± 0.28
	30	7.46	82.50 ± 0.50
	37	7.44	80.50 ± 0.87
	44	7.68	83.17 ± 1.04
	51	7.72	81.33 ± 0.92
	58	7.69	80.50 ± 0.29
白 芷	0	7.69	86.33 ± 0.26
	1	7.77	70.00 ± 1.00
	2	7.87	64.75 ± 0.50
	9	7.40	64.83 ± 0.41
	16	7.68	71.33 ± 0.29
	23	7.61	72.50 ± 0.50
	30	7.58	73.00 ± 0.41
	37	7.56	72.00 ± 1.00
	44	7.70	73.38 ± 0.95
	51	7.75	72.00 ± 0.42
	58	7.60	71.50 ± 0.50
牡丹皮	0	7.73	57.08 ± 0.20
	1	7.94	52.83 ± 0.26
	2	8.09	58.30 ± 1.96
	9	7.52	59.25 ± 1.13
	16	7.83	52.50 ± 0.00
	23	7.76	54.83 ± 0.29
	30	7.58	51.75 ± 0.29
	37	7.54	51.67 ± 0.28
	44	7.61	51.66 ± 0.28
	51	7.67	50.82 ± 0.29
	58	7.61	52.17 ± 1.01
女貞子	0	7.76	67.00 ± 0.00
	1	8.00	64.17 ± 0.26
	2	8.02	63.13 ± 0.75
	9	7.89	62.58 ± 1.02
	16	7.93	65.67 ± 0.58
	23	7.77	59.60 ± 1.02
	30	7.77	55.33 ± 0.29
	37	7.72	55.17 ± 0.76
	44	7.84	55.17 ± 0.70
	51	7.69	56.21 ± 0.34
	58	7.75	54.11 ± 1.00

*凝膠製劑稀釋 15 倍

表三十一 40 下，白芷、牡丹皮、女貞子與空白組凝膠製劑之 pH 值及粘度

檢品	時間 (天)	pH 值	粘度 (cps) *
空白組	0	7.73	70.00 ± 0.00
	1	7.96	69.20 ± 0.27
	2	8.04	71.67 ± 0.88
	9	7.59	71.66 ± 0.87
	16	7.69	66.50 ± 1.80
	23	7.74	66.83 ± 0.76
	30	7.53	66.17 ± 0.29
	37	7.52	63.33 ± 0.58
	44	7.65	65.17 ± 0.76
	51	7.62	65.57 ± 0.76
	58	7.70	63.13 ± 0.75
白 芷	0	7.60	96.42 ± 0.20
	1	7.83	72.00 ± 0.00
	2	7.89	71.40 ± 1.02
	9	7.43	71.25 ± 0.99
	16	7.68	69.17 ± 0.29
	23	7.51	71.07 ± 0.60
	30	7.52	68.17 ± 1.04
	37	7.48	67.50 ± 0.50
	44	7.60	66.25 ± 0.87
	51	7.54	64.33 ± 0.04
	58	7.59	67.50 ± 0.50
牡丹皮	0	7.80	60.17 ± 0.26
	1	7.99	54.42 ± 0.49
	2	8.04	53.10 ± 0.96
	9	7.50	53.50 ± 0.32
	16	7.80	57.00 ± 1.00
	23	7.64	54.50 ± 0.40
	30	7.64	53.00 ± 0.91
	37	7.59	49.50 ± 0.50
	44	7.72	49.83 ± 0.27
	51	7.63	48.50 ± 1.00
	58	7.69	49.00 ± 0.00
女貞子	0	7.82	56.17 ± 0.68
	1	8.01	54.42 ± 0.20
	2	8.11	54.66 ± 0.57
	9	7.74	56.58 ± 0.49
	16	7.93	56.17 ± 0.28
	23	7.83	56.67 ± 0.57
	30	7.72	56.67 ± 1.15
	37	7.67	54.83 ± 0.76
	44	7.85	52.50 ± 0.87
	51	7.78	53.50 ± 0.50
	58	7.75	54.10 ± 0.96

*凝膠製劑稀釋 15 倍

同上，將白芷、牡丹皮、女貞子之中藥材甲醇萃取物與對照組之凝膠製劑，分別儲存於 25、30、40 三種溫度下，前三天於固定時間每天測定一次，由測量結果發現變化並不明顯，之後變更每星期測定一次。粘度的變化如表二十九~表三十一所示。

第十章 美白中藥化妝品之人體試驗

實驗為期四週，於實驗的前兩週，受試者（大學部及研究生）環境的壓力較低，熬夜的情況少、運動少，或出遊少，因此，實驗數據較能掌握。顯現實驗組與對照組有明顯差異。但當受試者熬夜、出外旅遊或打球時，試驗結果就非常凌亂。此外，美白製劑的敷塗是否兩週比四週好，使用時程的問題亦可能是需要注意的因素。

實驗結果中，A 組（女貞子）有三名受試者反應有長青春痘的情形（n=10），由於女貞子藥材在皮膚刺激性試驗中顯示有輕微刺激性，此種情形與女貞子相關與否，可作為深入研究之參考。B 組（牡丹皮）有四名受試者反應臉上青春痘有減少（n=10），牡丹皮的水及甲醇抽提物有抗炎的作用，如丹皮酚、丹皮酚磺酸鈉⁽²¹⁶⁻²¹⁸⁾。現代臨床研究外用可治療濕疹類皮膚病、皮膚搔癢症及各種痛症等等^(219,220)，或許與青春痘的減少有相關。

本研究選擇的族群，屬於非病灶皮膚，變白的意願不強烈，很多位不遵醫囑的情況，配合度較差。不積極情形很多，一天塗抹一次或幾天才塗抹一次，均構成數據讀值變動大的原因。但瞭解遵醫囑者，變白情況非常明顯，如 A4、B4、C4、D3 及 D5。

對於配合度差的受試者，其數據無意義，故予排除。排除後 A 組尚有 4 人、B 組尚有 8 人、C 組尚有 6 人、D 組尚有 5 人，圖六十二

~六十五分別為女貞子、牡丹皮、白芷及麴酸之美白製劑的臨床試驗結果。由於前二週受干擾之因素較少，後二週因熬夜、出外旅遊或打球的情形增加，實驗數據較凌亂，故針對試驗前二週的數據進行分析，結果如圖六十六所示，圖中顯示各實驗組其膚色指標明顯變白。

經由本實驗，歸納出幾個影響試驗的因素：

1. 族群的篩選

本試驗族群年齡約 80%為 21-23 歲的大學生，其中有 60%左右為男性，球場運動及出遊，曝曬於強烈日照下的機率增加，加上防曬工作沒做好，容易影響實驗準確性。

有的受試者膚色與原膚色接近，變白的空間較小，故變化不明顯（空白組亦然）。

2. 藥物問題

中藥原有的味道，並非人人能接受，原先含藥材萃取物的量之設計為每天二次，受試者因味道的關係，只睡前塗抹一次或者兩天抹一次。

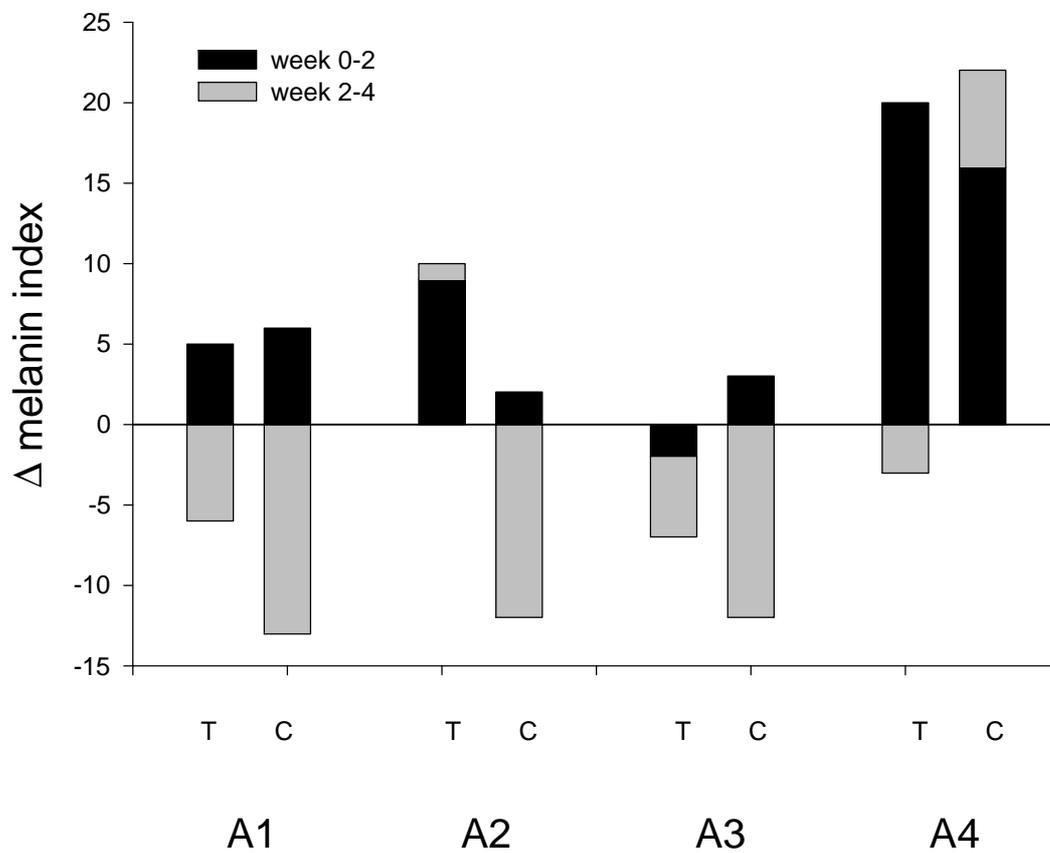
實驗組含中藥材萃取物有顏色，受試者因藥物有顏色、害怕兩邊臉差異大，因此，較對照組少塗抹防曬乳液。防曬對美白而言很重要，故有些數據顯示，對照組皮膚較實驗組白。

3. 氣候因素

夏天紫外線照射強烈，亞洲人種多屬 Type III（很少曬傷、但常被曬黑），容易曬黑，由於外在環境影響大，若不注意防曬，隨時會被曬黑。

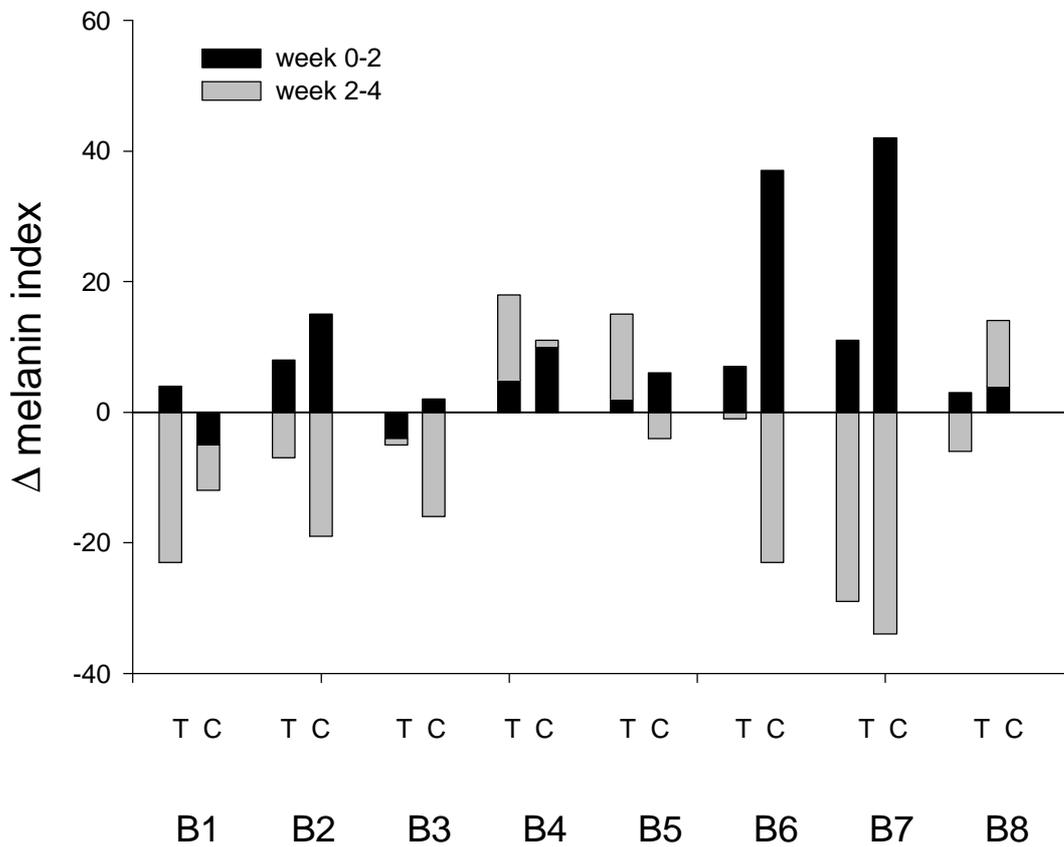
今後進行類似的實驗將考慮：

1. 選擇具有病灶的族群，例如：黃褐斑、黑色素細胞瘤的病人。配



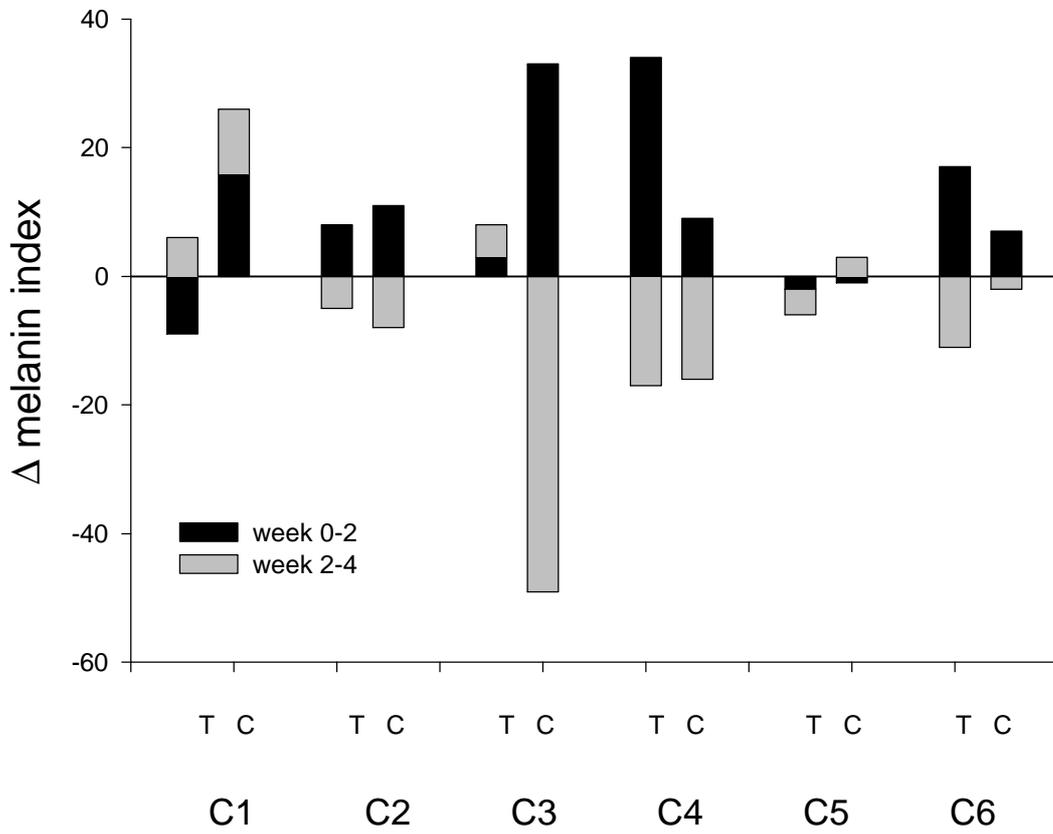
圖六十二 女貞子美白製劑之臨床試驗結果

A1-A4 為不同受試者，T、C 分別為實驗組(Test)和對照組(Control)



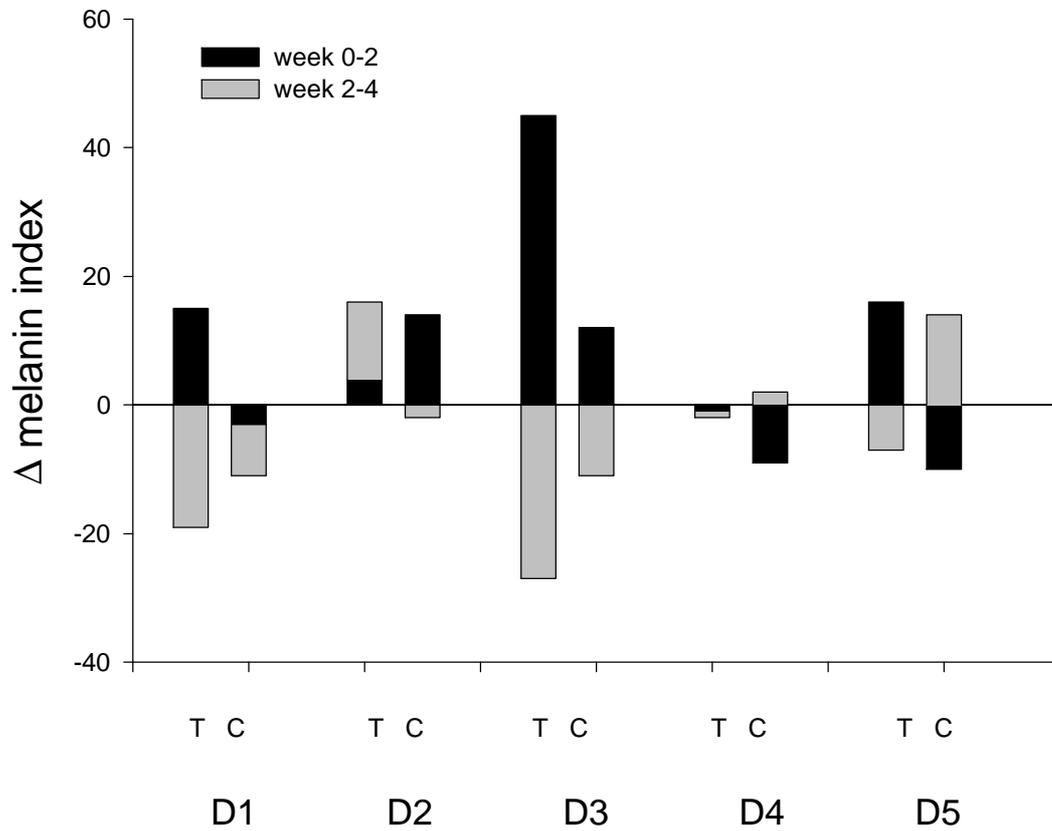
圖六十三 牡丹皮美白製劑之臨床試驗結果

B1-B8 為不同受試者，T、C 分別為實驗組(Test)和對照組(Control)



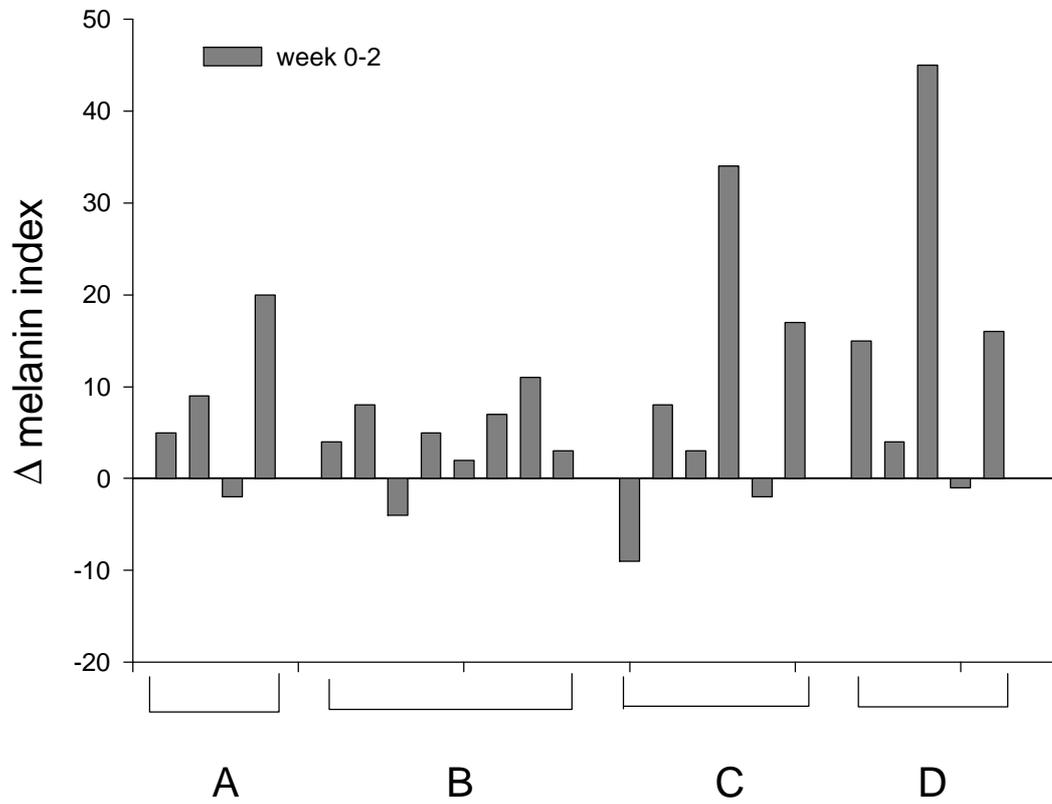
圖六十四 白芷美白製劑之臨床試驗結果

C1-C6 為不同受試者，T、C 分別為實驗組(Test)和對照組(Control)



圖六十五 麴酸美白製劑之臨床試驗結果

D1-D5 為不同受試者，T、C 分別為實驗組(Test)和對照組(Control)



圖六十六 實驗之前二週，美白製劑之臨床效果

- A：女貞子
- B：牡丹皮
- C：白芷
- D：麴酸

合美白意願高，也較積極。另外，有病灶的族群，膚色變化較明顯，易於觀察。

2. 成品味道上的改良，減少中藥味，調香或在劑型上改進。
3. 選擇在秋、冬進行實驗，避免曝曬在強烈陽光下。另外，乾冷的天氣，減少試藥擦在臉上的負擔，提高使用者之配合度。

第十一章 有潛力的美容用植物

一、有潛力的美容用植物

研究和整理傳統醫藥中的美容植物藥，從而研發出天然活性美容化妝品是順應回歸自然、回歸大自然的趨勢。亦為世界各國普遍重視傳統醫學的研究。植物除藥用之外，用於保健美容的植物藥研究和開發迅速。

中醫藥的美容，傳統醫藥之最早著作《神農本草經》就收載了。多種可用於美容的植物藥如：澤瀉“味甘，寒。久服延年輕身，面生光，能行水上”；紫芝“味甘，溫。久服好顏色，輕身不老，延年”；決明子“味咸，平。久服益精光，輕身”；旋花“味甘，溫。去面黑乾黑色，媚好，輕身”；柏實“味甘，平。久服令人潤澤美色，耳目聰明，不飢不老，輕身延年”；白芷“味辛，溫。長肌膚，潤澤，可作面脂”；秦椒“味辛，溫。堅齒發，明目，久服輕身，好顏色，耐老增年”；翹根“味甘，寒。益陰精，令人面悅好，明目，久服輕身耐老”；卷柏“味辛，溫。久服輕身，和顏色”；桃花“味苦，平。令人好顏色”⁽²¹³⁾。其後，東晉葛洪《肘後備急方》，梁朝陶弘景的《肘後百一方》，唐孫思邈《備急千金要方》和《千金翼方》，王燾《外台秘要》均有應用美容植物藥的美容方劑，並沿傳至今。

亞洲人女性喜愛美膚、增白、祛斑；這樣的問題日本、韓國、泰國、越南等國也非常關心。日本醫藥學家丹波康賴於公元 982—984 年編撰的《醫心方》30 卷，輯錄有中國晉唐方書 200 餘種，卷 4 論皮膚病，卷 26、27 養生等卷均有美容植物藥應用的記載。朝鮮醫官金禮蒙於公元 1445 年編撰的《醫方類聚》，收輯中國明代以前的醫籍 153 種，以及一些非醫書文獻之有關內容加以匯編而成，全書共 262 卷，涉及美容方面的有“頭面”、“毛髮”、“諸湯”、“諸香”、“養性”、“婦人”等卷，包含了許多美容植物藥應用的記載。

印度傳統醫藥中的美容植物藥主要是 Ayurveda Unani Sida 之醫典的記載。印度醫療保健的植物約 7500 種，其中 Ayurveda、Unani、Sida 使用的約有 1200 種中，美容用的植物藥不少。如：用於治療面部斑疹疾患，包括痤瘡、粉刺、面皰、水泡、雀斑、丘疹、疙瘩、粉刺等。

可用於醫學美容和治療損容性皮膚病的植物藥有：Achyranthes 牛膝屬，Allium 蔥屬，Amorphophallus 魔芋屬，Anacardium 腰果屬，Anthocephalus 團花屬，Artemisia 屬，Begonia 秋海棠屬，Bombax 木棉屬，Buchanania 山木羨子屬，Butea 紫鈿屬，Capparis 槲果藤屬，Casearia 嘉賜樹屬，Cassia 決明屬，Cissampelos 錫生藤屬，Citrus 柑屬，Clematis 鐵線蓮屬，Commelina 鴨跖草屬，Curcuma 姜黃耆屬，Dalbergia 檀屬，Datura 曼陀羅屬，Dendrophthoe 五蕊寄生屬，Desmodium 山螞蝗屬，Diospyros 柿屬，Elephantopus 地膽草屬，Erythrina 刺桐屬，Euphorbia 大戟屬，Ficus 榕屬，Gardenia 梔子屬，Grewia 扁擔杆屬，Hedyotis 耳草屬，Hordeum 大麥屬，Ichnocarpus 腰骨藤屬，Iris 鳶尾屬，Jurinea 苓菊屬，Lannea 厚皮樹屬，Leptodermis 野丁香屬，Limnospila 石龍尾屬，Lyonia 南燭屬，

Mallotus 野桐屬，Mirabilis 紫茉莉屬，Mucuna 黎豆屬，Murraya 九里香屬，Nelsonia 瘤子草屬，Nerium 夾竹桃屬，Opuntia 仙人掌屬，Oroxylum 千張紙屬，Phyllanthus 葉下珠屬，Premna 豆腐柴屬，Psidium 番石榴屬，Punica 安石榴屬，Raphanus 蘿卜屬，Sesbania 田菁屬，Smilax 菝契屬，Solanum 茄屬，Sterculia 苹婆屬，Syzygium 蒲桃屬，Taraxacum 蒲公英屬，Tridax 羽芒菊屬，Vernonia 斑鳩菊屬，Vitex 牡荊屬的多種藥用植物⁽²¹⁴⁾。

南美洲民間的面部皮膚問題的有粉刺、丘疹(pimples)、紅粉刺(red pimples)、白粉刺(white pimple)、白斑(white spots)、搔癢的丘疹(itching pimples)等。馬雅族統醫藥中的美容治療植物藥，如：以菊科植物 *Calea auricifolia* Mill sp. var. *yucatanensis* Wussow, Urb. and Sullivan 的葉子用於治療 red pimples，以柿科柿屬植物 *Diospyros anisandra* Blake 的葉子治療 itching pimples；以唇形科羅勒屬植物 *Ocimum micranthum* Willd.的葉子、氣生部分 pimples，white spots；以唇形科鼠尾草屬植物 *Salvia micranthum* Vahl 的葉子、氣生部分治療 scabies，pimples，以茜草科波利亞草屬植物 *Borreria verticillata* (L.) G. Mey.的氣生部分治療 small，white pimple；以蘭科植物 *Catsetum integerrimum* Hook.的葉子治療 big pimples；以大戟科巴豆屬植物 *Croton peraeeruginosus* Croizat 的漿汁、葉子治療 pimples；以茜草科植物 *Hamelia patens* Oacq.的葉子治療 red pimples；以苦木科植物 *Alvaradoa amorphoides* Liebm. 的葉子治療 itching pimples；以豆科植物 *Dalea carthagenensis* var. *barbata* (Oerst.) Barneby 的葉子治療 pimples；以桃金娘科番石榴屬 *Psidium guajava* L.的葉子治療 pimples；以豆科植物 *Senna villosa* (Mill.) Irwin and Barneby 的葉子治療 hard，little pimples 等

(215)
。

二、本草綱目收載，可供化粧品用之中藥材⁽²¹⁶⁾

- | | |
|---------------|--|
| 1. 丁香 | <i>Eugenia caryophyllata</i> |
| 2. 人參 | <i>Panax ginseng</i> |
| 3. 三七 | <i>Panax notoginseng</i> |
| 4. 大青(葉)(板藍根) | <i>Isatis indigotica</i> |
| 5. 大黃 | <i>Rheum palmatum</i>
<i>P. tantguticum</i>
<i>P. oggicinate</i> |
| 6. 女貞子 | <i>Ligustrum lucidum</i> |
| 7. 山奈 | <i>Kaempferia galanga</i> |
| 8. 山梔子 | <i>Gardenia jasminoides</i> |
| 9. 山楂 | <i>Crataegus pinnatifida</i> |
| 10. 山藥 (薯蕷) | <i>Dioscorea opposita</i> |
| 11. 川芎(芎藭) | <i>Ligusticum chuanxiong</i> |
| 12. 丹參 | <i>Salvia miltiorrhiza</i> |
| 13. 升麻 | <i>Cimicifuga heracleifolia</i>
<i>C. dahurica</i>
<i>C. foetida</i> |
| 14. 天花粉(栝藌) | <i>Trichosanthes kirilowii</i> |
| 15. 天門冬 | <i>Asparagus cochinchinensis</i> |
| 16. 木瓜 | <i>Chaenomeles speciosa</i> |
| 17. 木香 | <i>Aucklandia lappa</i> |
| 18. 通草 | <i>Tetrapanax papyriferus</i> |
| 19. 水(浮)萍 | <i>Spirodela polyrhiza</i> |

20. 牛蒡子(惡實)	<i>Arctium lappa</i>
21. 懷牛膝	<i>Achyranthes bidentata</i>
22. 王不留行	<i>Vaccaria segetalis</i>
23. 白(蒼)朮	<i>Atractylodes macrocephala</i> <i>A. lancea</i>
24. 玄參	<i>Scrophularia ningpoensis</i>
25. 白芨	<i>Bletilla striata</i>
26. 白芷	<i>Angelica dahurica</i>
27. 白蒺藜	<i>Astragalus complanatus</i>
28. 白扁豆(藕豆)	<i>Dolichos lablab</i>
29. 白薇	<i>Cynanchum atratum</i> <i>C. versicolor</i>
30. 白鮮(皮)	<i>Dictamnus dasycarpus</i>
31. 合歡(皮)	<i>Albizia julibrissin</i>
32. 紫花地丁	<i>Gueldenstaedtia multiflora</i>
33. 地骨皮	<i>Lycium chinense</i> <i>L. barbarum</i>
34. 地黃	<i>Rehmannia glutinosa</i>
35. 地膚子	<i>Kochia scoparia</i>
36. 百合	<i>Lilium lancifolium</i> <i>L. brownii</i> <i>L. pumilum</i>
37. 百部	<i>Stemona sessilifolia</i> <i>S. japonica</i> <i>S. tuberosa</i>
38. 老公根(積雪草)	<i>Centalla asiatio</i>

39. 艾葉	<i>Artemisia argyi</i>
40. 佛甲草	<i>Sedum lineare</i>
41. 何首烏	<i>Polygonum multifolrum</i>
42. 旱蓮(鯉腸)	<i>Eclipta prostrata</i>
43. 杜仲	<i>Eucommia ulmoides</i>
44. 沙參	<i>Adenophora tetraphylla</i>
45. 沉香	<i>Aquilaria sinensis</i>
	<i>A. agallocha</i>
46. 決明子	<i>Cassia obtusifolia</i>
47. 牡丹皮	<i>Paeonia suffruticosa</i>
48. 牡蠣	<i>Ostrea gigas</i>
	<i>O. talienwhanensis</i>
50. 芍藥(白, 赤)	<i>Paeonia lactiflora</i>
	<i>P. veitchii</i>
51. 豆豉	<i>Glycine max (L.) Merr.</i>
52. 豆蔻	<i>Amomum compactum</i>
53. 貝母	<i>Fritillaria cirrhosa</i>
	<i>F. unibracteata</i>
	<i>F. przewalskii</i>
	<i>F. delavayi</i>
54. 赤小豆	<i>Phaseolus angularis</i>
55. 天麻	<i>Gastrodia elata</i>
56. 車前子	<i>Plantago asiatica</i>
57. 辛夷	<i>Magnolia denudata</i>
	<i>M. biondii</i>
	<i>M. sprengeri</i>

58. 防風	<i>Ledebouriella seseloides</i>
59. 花椒(蜀椒)	<i>Zanthoxylum bungeanum</i>
60. 使君子	<i>Quisqualis indica</i>
61. 昆布	<i>Laminaria japonica</i>
62. 枇杷葉	<i>Eriobotrya japonica</i>
63. 松子	<i>Pinus tabulaeformis</i> Carr. <i>P. massniana</i> Lamb. <i>P. yunnanensis</i> Franch.
64. 知母	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>
65. 羌活	<i>Notopterygium incisum</i>
66. 芝麻(胡麻)	<i>Sesamum indicum</i>
67. 虎耳草	<i>Saxifraga stolonifera</i>
68. 虎杖	<i>Polygonum cuspidatum</i>
69. 金銀花(忍冬)	<i>Lonicera japonica</i>
70. 阿膠	<i>Equus asinus</i>
71. 青皮	<i>Citrus reticulata</i>
72. 青果(橄欖)	<i>Canarium album</i>
73. 青黛	<i>Polygonum tinctorium</i>
74. 芡實	<i>Euryale ferox</i>
75. 厚朴	<i>Magnolia officinalis</i>
76. 柿(葉)(梓)(霜)	<i>Diospyros kaki</i>
77. 枸杞(子)(葉)	<i>Hovenia acerba</i>
78. 珍珠(真珠)	<i>Hyriopsis cumingii</i>
79. 砂仁	<i>Amomum villousm</i>
80. 紅花(紅藍花)	<i>Carthamus tinctorius</i>
82. 胡黃連	<i>Chelidonium majus</i>

83. 茅根	<i>Imperata cylindrica</i>
84. 苦杏仁	<i>Prunus armeniaca</i>
85. 郁李仁	<i>Prunus humilis</i>
86. 香附子(莎草)	<i>Cyperus rotundus</i>
87. 香薷	<i>Elsholtzia splendens</i>
88. 枳殼	<i>Citrus aurantium</i>
89. 枳實	<i>Citrus aurantium</i>
90. 夏枯草	<i>Prunella vulgaris</i>
91. 射干	<i>Belamcanda chinensis</i>
92. 胡桃，核桃(仁)	<i>Prunus persica</i>
93. 桂(肉桂)	<i>Cinnamomum cassia</i>
94. 桔梗	<i>Platycodon grandiflorum</i>
95. 桑(椹，葉，白皮)	<i>Morus alba</i>
96. 桑寄生	<i>Taxillus chinensis</i>
97. 烏梅	<i>Prunus mume</i>
98. 益母(草)	<i>Leonurus artemisia</i>
99. 荊芥	<i>Schizonepeta tenuifolia</i>
100. 茵陳	<i>Artemisia capillaris</i>
101. 茴香(懷香)	<i>Foeniculum vulgare</i>
102. 茶(葉)	<i>Camellia sinensis</i>
103. 馬齒莧	<i>Portulaca oleracea</i>
104. 高良薑	<i>Alpinia officinarum</i>
105. 茜草	<i>Rubia cordifolia</i>
106. 茯苓	<i>Poria cocos</i>
107. 側柏葉	<i>Platycladus orientalis</i>

108. 荷(葉, 蓮藕, 子, 心)	<i>Nelumbo nucifera</i>
109. 蛇床(子)	<i>Cnidium monnieri</i>
110. 連翹	<i>Forsythia suspensa</i>
111. 釣藤(鉤藤)	<i>Uncaria rhynchophy</i> <i>U. macrophylla</i>
112. 魚腥草(蕺草)	<i>Houttuynia cordata</i>
113. 麥門冬	<i>Ophiopogon japonicus</i>
114. 莪朮(鬱金)	<i>Curcuma kwangsiensis</i> <i>C. wenyujin</i> <i>C. aeruginosa</i>
115. 棗	<i>Ziziphus jujuba</i>
116. 番紅花	<i>Crocus sativus</i>
117. 穀精草	<i>Eriocaulon buergerianum</i>
118. 豬簽	<i>Siegesbeckia pubescens</i>
119. 柴胡	<i>Bupleurum chinensis</i> <i>B. scorzonerifolium</i>
120. 紫草	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>
121. 紫蘇	<i>Perilla frutescens</i>
122. 萊菔子	<i>Raphanus sativus</i>
123. 菊花	<i>Chrysanthemum morifolium</i>
124. 菱蕤	<i>Polygonatum odoratum</i>
125. 菟絲子	<i>Cuscuta chinensis</i>
126. 黃檗	<i>Phellodendron chinensis</i>
127. 黃耆(北耆)	<i>Astragalus membranaceus</i> <i>A. mongholicus</i>
128. 黃連	<i>Coptis chinensis</i>

	<i>C. deltoidea</i>
	<i>C. teetoides</i>
129. 黃精	<i>Polygonatum sibiricum</i>
	<i>P. cyrtonema</i>
	<i>P. kingianum</i>
130. 排草香	<i>Lysimachia capillipes</i> Hemsl.
131. 菖蒲	<i>Acorus gramineus</i>
	<i>A. calamus</i>
132. 當歸	<i>Angelica sinensis</i>
133. 蜂蜜	<i>Apis cerana</i>
134. 補骨脂	<i>Psoralea corylifolia</i>
135. 篇蓄	<i>Polygonum aviculare</i>
136. 槐(花、實)	<i>Sophora japonica</i>
137. 本	<i>Ligusticum jeholense</i>
138. 蒲公英	<i>Taraxacum mongolicum</i>
139. 蒼耳(實)	<i>Xanthium sibiricum</i>
140. 遠志	<i>Polygala tenuifolia</i>
141. 酸棗仁	<i>Ziziphus spinosa</i>
142. 榧子(實)	<i>Torreya grandis</i>
143. 蓖麻子(油)	<i>Ricinus communis</i>
144. 蔓荊子	<i>Vitex trifolia</i>
145. 澤瀉	<i>Alisma orientalis</i>
146. 澤蘭	<i>Lycopus lucidus</i>
147. 龍骨	古代哺乳類動物骨
148. 龍眼	<i>Euphoria longan</i>
149. 龍腦	<i>Blumea balsamifera</i>

150. 龍葵	<i>Solanum nigrum</i>
151. 龍膽	<i>Gentiana scabra</i>
	<i>G. manshurica</i>
	<i>G. trifora</i>
	<i>G. rigescens</i>
152. 檀香	<i>Santalum album</i>
153. 薄荷	<i>Mentha haplocalyx</i>
154. 薑	<i>Zingiber officinale</i>
155. 薏苡仁	<i>Coix lacryma-jobi</i>
156. 薤白	<i>Allium macrostemon</i>
157. 覆盆子	<i>Rubus chingii</i>
158. 鎖陽	<i>Cynomorium songaricum</i>
159. 蘆根	<i>Phragmites communis</i>
160. 蘆薈	<i>Aloe vera</i>
	<i>A. ferox</i>
161. 藿香	<i>Agastache rugosus</i>
162. 靈芝	<i>Ganoderma lucidum</i>

二、化粧品不宜添加之本草綱目中藥材名單⁽²¹⁶⁾

1 千金子(續隨子)	17 砒石(信石)
2 天仙子(莨菪)	18 烏頭(附子)
3 巴豆	19 曼陀蘿(洋金花)
4 水蛭	20 商陸
5 半夏	21 牽牛子
6 甘遂	22 硃砂(丹砂)

7(白)狼毒	23 細辛
8 石蒜	24 莽草
9 羊躑躅(鬧洋花)	25 麻黃
10 芒(花)	26 番木鱉(馬錢子)
11 芥子	27 雄黃
12 莞花	28 鉛丹
13 莞青(青娘子)	29 斐蟲(蟲蟲)
14 威靈仙	30 檳榔
15 急性子(鳳仙花子)	31 蟾酥
16 大戟	

三、古醫典籍記載之中藥材

自 32 本古醫典籍：《千金要方》《千金翼方》《女科百問》《石室秘錄》《斗門方》《外台秘要門》《外科正宗》《外治壽世方》《濟生方》《仁齋直指方論》《扶壽精方》《普濟方》《聖惠方滄》《魯府禁方》《靈驗良方匯編》《衛生寶鑑》《圖經本草》《滇南本草》《聖濟總錄》《東垣試效方》《蘭室秘藏》《扶壽精方》《景岳全書》《醫宗金鑑》《丹台玉案》《羅氏會約醫鏡》《御藥院方》《劉谷子鬼遺方》《種福堂公選良方》《衛生簡易方》《梅氏驗方新編》《摘玄方》《肘後備急方》中，尋找之其中使用之藥材，其出現之次數代表該藥材於化妝品中受重視之程度。

表三十二 藥材於所選的古醫典籍*中出現之次數表

中藥材	次數	中藥材	次數	中藥材	次數	中藥材	次數
白芷	48	地骨皮	8	附子	5	桃花	3
細辛	34	枯礬	8	生薑	5	紫粉	3
麝香	29	桃仁	7	綠豆	5	沉香	3
甘松	22	豬胰	7	樟腦	5	菊花	3
零陵香	19	白芨	7	馬齒莧	5	秦椒	3
杏仁	19	龍腦香	7	澤南	5	竹葉	3
防風	18	龍腦香	7	荊芥	5	茅香	3
白附子	18	黃蠟	7	黃耆	4	蓮子	3
本	16	皂角	7	商陸	4	五倍子	3
輕粉	15	黃柏	7	鹿角	4	金綠礬	3
白藜	14	木香	7	雄黃	4	香油	3
丁香	14	百葉煎	7	朱砂	4	霍香	3
滑石	13	寒水石	7	冬葵	4	生麻	3
檀香	13	胡粉	6	雞蛋	4	丹砂	3
烏麻油	13	乾薑	6	雞舌香	4	砂仁	3
升麻	12	旱蓮草	6	龍骨	4	姜活	3
白朮	11	熊脂	6	白石脂	4	糯米	3
皂莢	11	沒石子	6	黃連	4	紅粉	3
子	11	冬瓜子	5	草烏	4	大黃	3
當歸	10	甘草	5	硫磺	4	黃丹	3
茯苓	10	玉竹	5	青鹽	4	爐甘石	3
白礬	10	地黃	5	海蛤	4	鐘乳石	3
辛夷	9	香附	5	生地	4	蛇床子	3
豬脂	9	川椒	5	珍珠	4	柳枝	3
密陀僧	9	蒺藜	5	木蘭	4	兒茶	2
栝藋	9	乳香	5	白殭蠶	4	南星	2
冰片	9	藿香	5	半夏	4	豬油	2
土瓜	8	白皮	5	馬頭	4	粟米	2
石英	8	柏葉	5	牡蠣	4	瀝青	2
蔓荊	8	莽草	5	華豆	3	元青	2

表三十二 藥材於所選的古醫典籍*中出現之次數表 (續)

中藥材	次數	中藥材	次數	中藥材	次數	中藥材	次數
紅花	2	黑豆	2	酥油	1	閤茹	1
垂柳	2	鯽魚	2	落英	1	荷葉	1
花蕊石	2	紫草	2	蜂蜜	1	白芨	1
梔子花	2	柏枝	2	烏粉	1	防己	1
羊髓	2	朴硝	2	桑皮	1	桑椹	1
楮桃	2	獨活	2	菟絲	1	麥麩	1
蔓菁	2	山柰子	2	烏賊骨	1	梧桐	1
牛乳	2	綠礬	2	牛骨髓	1	芭蕉	1
大棗	2	瓦松	2	黑牽牛	1	真蚌粉	1
胭脂	2	胡桃	2	茶子	1	羊桃根	1
倉粉	2	蜀椒	2	白癬皮	1	枳殼	1
苜蓿	2	青黛	2	鷹屎白	1	紅升丹	1
黃豆	2	柏子油	2	何首烏	1	磁石	1
白花	2	蛤粉	2	生鐵	1	木黃	1
石粉	2	赤芍	2	黎勒皮	1	橡木	1
阿膠	2	頭髮	2	牛膝	1	蝦蟆	1
僵蠶	2	苦參	2	麻仁	1	文蛤	1
膠香	2	龍膽草	2	烏麻花	1	石決明	1
豌豆	2	貝齒	2	鬱金	1	沙草	1
梅肉	2	百草霜	2	黃芩	1	檳榔	1
松葉	2	龍花	2	竹瀝油	1	瑪瑙	1
秦艽	2	硃砂	2	銅錢	1	芝麻	1
天雄	2	琥珀	2	鯽魚膽	1	夏蠶	1
烏脂	2	膽礬	2	凡粉	1	珊瑚	1
續斷	2	高良薑	2	鉛白	1	郁李仁	1
石南	2	棘刺	2	龍腦	1	露蜂烏	1
烏雞	2	楮實子	2	花鹼	1	羊骨夾	1
石榴石	2	牛髓	1	五霜	1	人參	1
桑根	2	白蠟	1	芍藥	1	山茶	1
桑寄生	2	天門冬	1	白	1	酸棗	1

表三十二 藥材於所選的古醫典籍*中出現之次數表 (續)

中藥材	次數	中藥材	次數	中藥材	次數	中藥材	次數
羊 脂	1	荷 花	1	臘 月	1	蘑 菇	1
狗 脂	1	槐 花	1	羊糞夾	1	腦 砂	1
白蘚皮	1	桐 木	1	蒲 灰	1	紅 椒	1
雞子白	1	犀 角	1	蕎 麥	1	鶴 蝨	1
胡 椒	1	青 竹	1	蒲葦夾	1	葦 拔	1
山 藥	1	楓 香	1	桂 枝	1	薏苡仁	1
黃瓜藤	1	蘇合香	1	海棠花	1	大楓子	1
栗 子	1	金星草	1	白 蜜	1	鷹 矢	1
豬 蹄	1	皂 莢	1	棉 夾	1	銀 花	1
枸 杞	1	大麻子	1	麻 黃	1	紅 棗	1
白 丑	1	橄 欖	1	茵 茹	1	蘇 木	1
大 豆	1	酸桔子	1	延 胡	1	蛇含石	1
葦 豆	1	姜 汁	1	穿山甲	1	降真香	1
赤子豆	1	鍛白膏	1	蠍	1	赤白脂	1
茸 烏	1	生井泉石	1	蚯 蚓	1	茶 葉	1
三 奈	1	石 灰	1	陳 皮	1	白麵粉	1
豬 牙	1	水 銀	1	硫 黃	1	臟 粉	1
天花粉	1	硼 砂	1	生 礬	1	白 草	1
巴 豆	1	火 硝	1	南 烏	1	郁 金	1
花 生	1	食 鹽	1	厚 朴	1	松 節	1
天 麻	1	白 礬	1	紫 蘇	1	松 脂	1
自 刺	1	排草香	1	沒 葉	1	冬青油	1

* 古醫典籍：《千金要方》《千金翼方》《女科百問》《石室秘錄》《斗門方》《外台秘要門》《外科正宗》《外治壽世方》《濟生方》《仁齋直指方論》《扶壽精方》《普濟方》《聖惠方滄》《魯府禁方》《靈驗良方匯編》《衛生寶鑑》《圖經本草》《滇南本草》《聖濟總錄》《東垣試效方》《蘭室秘藏》《扶壽精方》《景岳全書》《醫宗金鑑》《丹台玉案》《羅氏會約醫鏡》《御藥院方》《劉涓子鬼遺方》《種福堂公選良方》《衛生簡易方》《梅氏驗方新編》《摘玄方》《肘後備急方》。

肆、結 論

1. 本研究結果得知，冰片等十五種中藥材之水及 50%酒精萃取物，LD₅₀ 均大於 10 g 藥材之萃取物/ kg 體重，顯示其為無毒性的。人參等五十四種中藥材之水萃取液及冰片等十五種中藥材之 50%酒精萃取物，均顯示無皮膚及眼睛刺激性，其外用安全性是被證實的。
2. 美白體外試驗 Dopachrome 方法中，原應採用的 475 nm 波長，因實驗室設備而更改為波長 450 nm，由酪胺酸 活性抑制實驗中得知，使用波長 450 nm 取代波長 475 nm 在本研究中是可行的。
3. 由實驗得知，大部分中藥材水萃取物對酪胺酸 活性的抑制作用，較甲醇萃取物來的高。牡丹皮、天門冬、桃仁、白芷、益智仁、桑白皮與桔梗之水萃取物，及白芷、桃仁、桔梗與玉竹之甲醇萃取物，均有良好之酪胺酸 活性的抑制。
4. 由本研究得知女貞子、益智仁、細辛具有較強的似超氧歧化 活性。牡丹皮、女貞子、桑葉、白芍、知母、生地黃、益母草及細辛等中藥材，具有高的總抗氧化力活性。
5. 經功效評估，篩選出具美白潛力的中藥，白芷、牡丹皮、女貞子，製成凝膠製劑，安定性良好。臨床試驗中，排除影響此次實驗準確性的因素，由配合度高受試者之結果，在白芷、牡丹皮、女貞子及麴酸四組，均與對照組有明顯差異 ($p < 0.05$)。
6. 本研究顯示體外評估與臨床試驗結果相符合，具酪胺酸 活性及抗氧化活性者，臨床上確實具有降低黑色素含量的功能，故本研究極具有潛力，值得深入探討。

