

# Selection and Study of Antioxidant and Whitening Fuction with Herbal Extracts

陳怡君、涂耀國

E-mail: 357972@mail.dyu.edu.tw

## ABSTRACT

This study selected five different herbs: *Morus alba* L., *Sophora japonica*, *Sophora flavescens*, *Spatholobus suberectus* and *Galla Chinensis* BELL as research material. The purpose for the screening of an antioxidant and whitening effect of Chinese herbal medicine. The DPPH antioxidant activity and total phenolic content test test measured antioxidant effect, then tyrosine activity inhibition test its whitening effect, and finally selected 1 or 2 kinds of Chinese herbs for cytotoxicity test. The results showed good clearance of DPPH as: *Sophora japonica* L. water extract (103.06%), *Sophora japonica* extract alcohol (97.2%), *Millettia* water extraction (91.15%) and *Millettia* wine extract (94.03%); total phenol content of the order of *Millettia* wine extract (82.46 mg / g), *Millettia* water extract (57.29 mg / g), SJ wine extract (26.70 mg / g), cross comparison of results, select SJ and *Millettia* cytotoxicity test, all of the cells without toxicity.

Keywords : *Sophora japonica*、*Millettia*、DPPH antioxidant activity tests、total phenolic content test、cytotoxicity test

## Table of Contents

封面內頁 簽名頁 中文摘要 iii 英文摘要 iv 誌謝 v 目錄 vi 圖目錄 ix 表目錄 x 1. 緒論 1 2. 文獻回顧 3 2.1 皮膚色素代謝 3 2.1.1 皮膚構造 3 2.1.2 黑色素的形成與代謝 4 2.2 皮膚色素淡化機轉 12 2.2.1 抑制酪胺酸?作用 12 2.2.2 減少黑色素釋放至表皮細胞 14 2.2.3 加速黑色素離開表皮層 15 2.3 中草藥簡介 15 2.3.1 桑白皮 15 2.3.2 槐花 16 2.3.3 苦參 16 2.3.4 雞血藤 16 2.3.5 五倍子 17 2.4 抗氧化劑 17 2.4.1 抗氧化作用原理 17 2.4.2 天然抗氧化物 20 2.4.3 抗氧化活性測定原理 22 3. 材料與方法 24 3.1 實驗架構 24 3.2 實驗材料 25 3.2.1 中草藥樣本 25 3.2.2 藥品 25 3.2.3 耗材 27 3.2.4 儀器設備 28 3.2.5 細胞株 29 3.2.6 培養基與試劑配製 29 3.3 中草藥萃取 30 3.4 DPPH 抗氧化性試驗 34 3.5 總酚含量測定 34 3.6 酪胺酸?活性抑制試驗 35 3.7 細胞試驗. 35 3.7.1 細胞活化 35 3.7.2 繼代培養 36 3.7.3 細胞凍存 36 3.7.4 細胞生長曲線 37 3.7.5 MTT 毒性試驗 37 4. 結果與討論 39 4.1 中草藥萃取 39 4.2 DPPH 抗氧化性試驗 41 4.3 總酚含量測定 46 4.4 細胞培養 48 4.5 細胞生長曲線 49 4.6 MTT 試驗 51 5. 結論 54 參考文獻 55 圖目錄 圖2.1 皮膚構造示意圖 5 圖2.2 黑色素細胞之發展與色素生成的相關路徑 8 圖2.3 MITF 作用相關路徑 9 圖2.4 黑色素轉移之不同模式 10 圖2.5 黑色素形成機制 11 圖2.6 不同抑制型態的 Lineweaver – Burk ' s plot 13 圖4.1 五種中草藥水萃取物之 DPPH 清除能力 42 圖4.2 五種中草藥酒精萃取物之 DPPH 清除能力 43 圖4.3 槐花兩種萃取物之 DPPH 清除能力比較圖 44 圖4.4 雞血藤兩種萃取物之 DPPH 清除能力比較圖 45 圖4.5 A375 細胞生長曲線圖 50 圖4.6 槐花萃取物之 MTT 試驗 52 圖4.7 雞血藤萃取物之 MTT 試驗 53 表目錄 表3.1 人類黑色素癌細胞株說明書 31 表3.2 A375 細胞之培養基 32 表3.3 十倍磷酸鹽緩衝液配方 33 表4.1 十種中草藥萃取液之回收率 40 表4.2 十種中草藥萃取液總酚含量表 47

## REFERENCES

- 1.台大皮膚科部。2006。食用皮膚醫學。P. 1-22。國立台灣大學醫學院。台北，台灣。
- 2.王重仁。2003。中藥微波萃取液抗氧化活性及抑制酪胺酸?性質之探討。嘉南藥理科技大學生物科技研究所碩士論文。嘉義，台灣。
- 3.吳倩華。2010。十六種中草藥萃取物其抗氧化性及美白效能之研究。嘉南藥理科技大學化妝品科技研究所碩士論文。嘉義，台灣。
- 4.林玉琴。2001。桑白皮及相關桑科植物抗癌成分之研究。高雄醫藥大學藥學研究所碩士論文。高雄，台灣。
- 5.周欣初。1992。天然中草藥化妝品。度假出版社有限公司。台北，台灣。
- 6.洪勛峰。2004。槐花萃取物的美白研究。中國醫藥大學中西醫結合研究所碩士論文。台中，台灣。曹智莞。2003。中草藥植物精華草本香料最IN的化妝保養品3大趨勢。市場情報。台北，台灣。
- 7.姜淑繡。2001。省產蘿蔔之抗氧化性研究。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化，台灣。
- 8.施筱玲。2009。幾丁聚醣奈米微球於口腔黏膜細胞穿透及控制藥物釋放之研究。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化，台灣。
- 9.陳坤鍾。2004。五倍子化學成份及其生物活性之研究。國立清華大學生命科學研究所碩士論文。新竹，台灣。
- 10.張曼鈞、黃蕙君、張賢哲、張聰民。2007。中藥美容於歷代典籍中記載之研究—兼論可添加於化妝品中之中藥品項。弘光學報。台中，台灣。
- 11.曾鈺珊。2008。奈米幾丁聚醣粒子於口腔黏膜細胞穿透之研究。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化，台灣。
- 12.劉佳瑜。2010。磁性幾丁聚醣/四氧化三鐵微奈米粒子於納豆激?傳輸之研究。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化，台灣。
- 13.蔡瑞齡。2009。彩葉草之抗氧化活性及成份分析。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化，台灣。
- 14.蘇苑菱。2007。八種藥用植物之抗氧化性研究。大葉大學生物產業科技研究所碩士論文。彰化，台灣。
- 15.Cheli, Y., Ohanna, M., Ballotti, R. and Bertolotto, C. 2010. Fifteen-year quest for microphthalmia-associated transcription factor target genes. *Pigment Cell & Melanoma Research* 23(1): 27-40.
- 16.Dessinioti, C., Stratigos, A. J., Rigopoulos, D. and Katsambas, A. D. 2009. A review of genetic disorders of hypopigmentation: lessons

learned from the biology of melanocytes. *Experimental Dermatology* 18(9): 741-749. 17. Costin, G-E. and Hearing, V. J. 2007. Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *FASEB J.* 21(4): 976-994. 18. Kumaran, A. and Karunakaran, R. J. 2007. Activity-guided isolation and identification of free radical-scavenging components from an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chem.* 100: 356-361. 19. Moure A. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry* 72:145-171. 20. Parvez, S., Kang, M., Chung, H.-S. and Bae, H. 2007. Naturally occurring tyrosinase inhibitors: mechanism and applications in skin health, cosmetics and agriculture industries. *Phytotherapy Research* 21(9): 805-816. 21. Seiberg, M., Paine, C., Sharlow, E., Gordon, P. A. and Costanzo, M. 2000. Inhibition of melanosome transfer results in skin lightening. *Journal of Investigative Dermatology* 115(2): 162-167. 22. Solano, F., Briganti, S., Picardo, M. and Ghanem, G. 2006. Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects. *Pigment Cell Research* 19(6): 550-571. 23. Wang, K.H., Lin, R.D., Hsu, F. L., Huang, Y. H., Chang, H. C., Huang, C. Y. and Lee, M. H. 2006. Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology* 106(3): 353-359. 24. Wang, N. and Hebert, D. N. 2006. Tyrosinase maturation through the mammalian secretory pathway: bringing color to life. *Pigment Cell Res.* 19: 3 – 18. 25. Zhong, S., Wu, Y., Ahn, S. M., Zhao, J., Wang, K., Yang, S., Yeon, J. H. and Zhu, X. 2006. Depigmentation of Melanocytes by the Treatment of Extracts from Traditional Chinese Herbs: a Cell Culture Assay. *Biol. Pharm. Bull.* 29(9): 1947-1951.