

仙履蘭萃取物之抗氧化與美白活性

李姿芳 徐照程*

弘光科技大學化妝品科技研究所

收到日期：101.7.7 修訂日期：101.8.14 接受日期：101.8.29

摘要

台灣素有蘭花王國之稱，培植及育種仙履蘭技術更為世界所推崇，然而除了其觀賞價值外，過去並無藥理作用及生物活性之相關研究。故本研究選用地培植之仙履蘭品種，利用超音波輔助溶劑低溫萃取法，減少對活性成分之熱破壞，並探討其活性在化妝品上之應用。

結果顯示，仙履蘭莖與花部位萃取物具有抗氧化及抑制酪胺酸酶之能力，相較於市售蘭花萃取液，有較高之總酚含量(74~114倍)，更優異之清除DPPH自由基清除率(6.3~17.4倍)及酪胺酸酶抑制能力(18~104倍)。

利用自製之仙履蘭莖萃取精華液配方，進行受測者使用前後與使用兩週後美白及保濕功效評估，結果發現，使用1小時後，受測部位黑色素量降低10%，表皮水含量增加41%。持續使用兩週後，皮膚黑色素含量減少5.5%，表皮水含量增加28%。綜合生物活性試驗及人體功效性評估結果，仙履蘭萃取物有抗氧化、美白及保濕之功效，具有開發成為化妝品活性成分之潛力。

關鍵詞：仙履蘭、蘭花、生物活性、抗氧化力、化妝品功效性

*通訊作者：徐照程

43302 臺中市沙鹿區臺灣大道六段1018號

電話：04-26318652 轉5321 E-mail：jchus@sunrise.hk.edu.tw

壹、前言

蘭科植物傳統上被運用於各種疾病的治療，肺結核、胃功能紊亂、疼痛、梅毒、黃疸、濕疹、腫瘤、痔瘡、炎症、月經失調、腹瀉、肌肉疼痛、血痢疾、肝炎等等。查證文獻得知，蘭科所含的植物化學成份包括：生物鹼、黃酮類、類胡蘿蔔素、花青素、類固醇等類別，且尚有許多成份尚未被研究^[1]。已被證實的生理活性成份有成份矢車菊素、芍藥素、槲皮酮、木犀草素、山奈酚、類胡蘿蔔素等^[2]。根據文獻，木犀草素具有廣泛的生理和藥理活性，包括清除自由基、抗病毒、抗癌、抗氧化、抗發炎等^[3]；矢車菊素、芍藥素為花青素類，具有抗氧化力，以及抗炎與抑制癌細胞生長的效果^[4,5]；山奈酚則有抗發炎及抗過敏、增進心血管功效、抗氧化及抗微生物之作用^[6]。

目前蘭花在化妝品的應用，有許多國際原料大廠將其開發成為植物萃取液原料，如CRODA 公司之 PURPLE ORCHID、A & E Connock 公司之 Orchid (*Dendrobium mobile*) extract 與 Majestic Mountain Sage 公司之 Orchid Extract, oil soluble (*Cymbidium Grandiflorum* flower) Extract 等產品，使用的蘭花品種有石斛蘭、大花蕙蘭等；在台灣則有美梭公司推出之台灣蘭花萃取液以及台灣蘭業公司以台灣蝴蝶蘭為來源，萃取物應用至面膜、精華液等製品^[7]。

仙履蘭 (*Paphiopedilum*) 於 1816 年被發現於孟加拉，其名稱由希臘文 Paphia 即拉丁語的 paphos (Venus) 與 pdeilon (Sandals) 結合而成，是以前唇瓣的形狀做為命名的根據，在英國稱為 Lady's Slipper，中譯為淑女的拖鞋^[8]。仙履蘭為複莖蘭，約 60 多個原種，分佈以東南亞為中心。總共包含有四個屬：芭菲爾鞋蘭屬 (*Paphiopedilum*)、佛拉密鞋蘭屬 (*Phragmipedium*)、

喜普鞋蘭屬 (*Cypripedium*)、西妮鞋蘭屬 (*Selenipedium*)。除了專業的分類學外，仙履蘭亦可根據原生環境分為「斑葉溫暖型」與「綠葉冷涼型」^[9,10]。本研究選用之 *Paphiopedilum makuli* 為芭菲爾鞋蘭屬，依原生環境分類為斑葉溫暖型。

植物萃取是化妝品活性成份的主流之一^[11]，蘭花因其高貴的價格與傳統生理藥用價值，受到國內許多學者的研究青睞。而研究仙履蘭的文獻則缺乏，且尚無探討其生物活性的研究，有鑑於此，本研究選用地培植之仙履蘭品種 *Paphiopedilum makuli*，利用超聲波輔助溶劑萃取法，再將取得之萃取物，探討萃取物之抗氧化以及抑制酪胺酸酶等生物活性，並設計配方自製化妝製品進行功效性評估，以探討其在化妝品應用之潛力。

貳、材料與方法

一、實驗材料及方法

(一) 試劑與藥品

本研究所使用之分析級乙醇 (Ethyl alcohol) 購自景明化工(台灣)。沒食子酸 (Gallic acid) 購自 Lancaster (英國)。磷酸鉍鎢磷酸酚試劑 (Folin-Ciocalteu's reagent) 購自 Fluka (美國)。無水碳酸鈉 (Sodium carbonate; Na_2CO_3) 購自昭和化學 (日本)。1,6-二(二苯基膦基)己烷 (DPPH; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 與麴酸 (Kojic acid) 購自 ACROS (美國)。酪胺酸酶 (Tyrosinase) 及酪胺酸 (L-Tyrosine)，購自 Sigma (美國)。磷酸氫二鈉 (Disodium hydrogen phosphate; Na_2HPO_4) 及磷酸二氫鈉 (Sodium dihydrogen phosphate; NaH_2PO_4) 購自 Showa (日本)。

(二) 儀器設備

食品調製機 (Food Processor Blender)，CP-75S，Leger®，貴夫人，台灣。斜式旋轉濃

縮機 (Rotary Evaporator) , N-1000 , EYELA , 日本。冷凍乾燥機 (Freeze Dryer) , FD-1000 , EYELA , 日本。免疫酵素分析儀 (ELISA) , Sunrise-Basic-Tecan , 澳洲。震盪器 , Vortex-2™ Genie , Scientific industries , 台灣。微量離心機 (Microcentrifuge) , Microfuge®18 Centrifuge , Beckman Coulter™ , 美國。黑紅色素偵測探頭 , Mexameter® MX18 (The Multi-Probe Adapter System® MPA-5) , Courage+Khazaka , 德國。皮膚含水量測試儀 , Corneometer CM825® (The Multi-Probe Adapter System® MPA-5) , Courage+Khazaka , 德國。

(三) 仙履蘭萃取

仙履蘭由台中東勢宏昇蘭花農場購得，送至實驗室後立即新鮮摘取樣品，分為莖與花兩部份，存放於 -80℃ 冰箱冷凍 24 小時後，進行冷凍乾燥。冷凍乾燥後樣品除去水份，呈現乾硬狀態(如圖 1)，以食品調製機研磨套組粉碎樣品至細小粉屑狀。取上述樣品以乙醇：水 (1:1) 於 25℃ 超音波輔助震盪萃取 30 分鐘，使用 1 μm 濾紙進行萃取液過濾，濾液經減壓濃縮(37℃) 後，再次進行冷凍乾燥計算產率。

(四) 總酚含量測定

取 10 mg 仙履蘭莖與花部份萃取凍乾粉末，以乙醇溶解配置成 1000 ppm 檢品，總酚含量試驗參考 Rufino 等人 (2010) 之方法^[12]，取 200 μL 樣品加入 200 μL 的 Folin-Ciocalteu reagent (0.5 N) 以 Vortex-2 震盪混合均勻後，再依序加入 200 μL 碳酸鈉溶液 (10 %) 及 400 μL 二次水，混合均勻靜置 1 小時後，離心 5000 rpm , 10 分鐘，取上清液 180 μL 注入 96 孔盤以 ELISA 測其 700 nm 吸光值。實驗進行三重複，並使用沒食子酸作為當量標準。

(五) DPPH 自由基捕捉率試驗

DPPH 自由基捕捉率試驗，參考 Braca 等人 (2001) 與 Luo 等人 (2010) 之方法^[13, 14] 並經過修飾調整為：取 0.1 mM 的 DPPH 甲醇溶液 120 μL、以及 10 mg/mL 之試驗樣品 40 μL，加入 96 孔盤中震盪混合均勻後於室溫下避光靜置 30 分鐘，以 ELISA 測其 517 nm 之吸光值。利用對照組之吸光值的減少百分比，可判斷樣品清除 DPPH 自由基能力之強弱，吸光值越低表示其清除 DPPH 自由基之能力越強。將樣品配置成五種不同濃度進行半抑制率濃度 (EC₅₀) 之測定，並與市售



圖 1. 仙履蘭莖與花部位冷凍乾燥後狀態

蘭花萃取液進行比較，試驗結果進行三次重複測定。

(六) 酪胺酸酶抑制

實驗方法參考邱嘉玲 (2008) 與朱靜慧 (2009)^[15, 16]預先配置 0.1 M Na_2HPO_4 及 0.1 M NaH_2PO_4 磷酸緩衝溶液混合調整至 pH = 6.8。精秤 9.06 mg Tyrosine，以 pH = 6.8之磷酸緩衝溶液定量至 25 mL，用超音波震盪器震盪至完全溶解，得到 2 mM L-Tyrosine 溶液。精秤 400 mg Tyrosinase (42.76 units/mg)，定量於 13.6 mL 二次水中，得到 Tyrosinase 溶液 (1257.65 units/mL)，再稀釋 10 倍得 Tyrosinase 溶液 (125.76 units/mL)。

1. 決定最適酵素濃度

本實驗以 ELISA 測定反應產物 Dopachrome 的吸光值 475 nm，而最適酵素濃度的決定標準是以不超過 1.0 的最高吸光值為選擇。96 孔盤的每個 well 加入 90 μL L-Tyrosine (2 mM)，不同量的 (10~50 μL) Tyrosinase (125.76 units/mL)，再添加前述 0.1 M 磷酸緩衝溶液 (pH = 6.8)，至總體積 180 μL ，混合均勻，靜置於 37°C 培養 30 分鐘。另以磷酸緩衝溶液做空白組。

2. 測定樣品對酪胺酸酶之抑制能力

依序加入 90 μL L-Tyrosine (2 mM) 溶液、10~30 μL (10 mg/mL) 之試驗樣品或溶劑、Tyrosinase 40 μL ，並補充磷酸緩衝溶液至體積 180 μL ，混合震盪均勻後，靜置於 37°C 培養 30

分鐘，以 ELISA 於 475 nm 下測其吸光值，再以公式計算其抑制率。並配置麴酸 150 ppm 作為對照組。

$$\text{抑制率}\% = [(A_b - (A_t - A_0)) / A_b] \times 100\%$$

A_b ：不含樣品，含溶劑、酪胺酸、酪胺酸酶

A_t ：含樣品及酪胺酸、磷酸緩衝液、酪胺酸酶

A_0 ：不含酪胺酸酶，含樣品、酪胺酸、磷酸緩衝液

(七) 自製含仙履蘭莖萃取精華液之美白及保濕功效性評估

參考張簡正揚 (2009)^[17]設計精華液配方 (如表 1)，三仙膠粉末以 1,3-BG 預分散後加入去離子水泡製成 2% 溶液備用，先將 Phenopip 複方防腐劑加入去離子水中，使其溶解，再加入三仙膠高分子膠後，以轉速 1000 rpm 機械攪拌 10 分鐘，加入持續攪拌，最後再加入活性成分仙履蘭莖萃取液攪拌溶解，即可得仙履蘭莖萃取精華液。

本研究遵循赫爾辛基宣言與貝爾蒙特報告書 (Belmont Report) 提出之人體臨床試驗時所必須遵循的三大基本倫理原則：「尊重個人」原則 (Respect for people)、「益善」原則 (Beneficence) 與「正義」原則 (Justice)。並依照生命倫理學之四大原則：尊重自主、不傷害、行善、公正原則，於試驗前清楚告知受試者試驗目的、方法、風險與負擔及相關注意事項，受測者可理解內容並填具人體試驗同意書^[18]。

表 1. 自製仙履蘭莖萃取之精華液配方成份表

成份	用量 (%)
仙履蘭莖萃取物	5.0
1,3-Butylene Glycol (1,3-BG)	0.5
Xanthan Gum-2%	13.0
Phenoip	0.3
Water	81.2

受試者人數 20 人，參與完整研究受試者人數 20 人，年齡分布 22–35 歲，20 位健康受試者皆為女性，膚值類型為 Fitzpatrick Type I, II and III，Fitzpatrick Type 又稱 Fitzpatrick Scale 是由哈佛大學的皮膚科醫生 Thomas B. Fitzpatrick 在 1975 年所發展的評估方法，可區分不同類型的皮膚在紫外線照射下的反應。量表主要分為三大部分：遺傳傾向、日曬後反應以及曬黑習慣，是公認的膚色分類工具^[19]。每位受試者在接受實驗內容說明後，參與完成本研究。臨床評估所有受試者在測試區皮膚無皮膚病症干擾研究觀察。測試區位於受試者臉部與手臂內側，使用具活性成分之測試樣品與未塗抹區進行比較。測定項目分別為膚色變化與表皮水含量，檢測膚色變化之儀器為多功能膚質檢測儀黑紅色素探頭 Mexameter® MX18。偵測探頭利用皮膚會吸收及反射光線的原理發射特定波長的光源，如黑色素偵測波長為紅色波 660 nm 及紅外光波 880 nm 來測定表皮中黑色素的數值 (Melanin index，數值範圍為 0 ~ 999)；檢測表皮水含量利用 Corneometer® CM825 探頭來評估樣品對表皮是否具有保濕性或刺激後的修復作用，儀器係利用電容 (Capacitance) 原理，電容值與角質層含水量成正相關，將測試探頭與皮膚接觸後，電容值的變化可反應出皮膚角質層含水量的狀況^[20,21]。

本研究採用雙盲試驗模式進行，樣品塗抹量為 2 mg/cm²。於恆溫恆濕實驗室 (40 ± 5 % RH, 22 ± 2°C) 進行三重複測定。測試樣品組與控制組織差異進行統計學顯著差異分析，並採用以下兩種實驗設計：

1. 單次塗抹短效性測試 (Single Application Short-Term Efficacy Tests) :

塗抹測試產品並停留於皮膚一小時，移除過量或殘留未吸收之產品後測量。測量時間點分別為使用前與移除產品後第一小時。

2. 多次塗抹長效性測試 (Multiple Applications Long-Term Efficacy Tests) :

測試樣品每天塗抹兩次於臉部與手臂內側共 14 天。測量時間點分別為第一次使用前與 14 天後。單次塗抹產品一小時後或連續多次使用 14 天後進行測量，測試樣品組與控制組(未塗抹區)之差異進行統計學顯著差異分析。

參、結果與討論

一、仙履蘭萃取之抗氧化力

仙履蘭莖與花部位分別精稱 0.2691 克與 1.0816 克以乙醇：水 (1:1) 進行萃取，可得到淡綠色及淡褐色萃取液。將萃取液通過 1 μm 濾紙過濾後，經樣品濃縮及冷凍乾燥程序，可分別獲得粉末 0.1145 克與 0.5715 克，計算產率為莖 (42.55%) 與花 (52.84%)。

(一) 總酚含量測定

本研究配置 6~20 ppm (最終濃度) 沒食子酸與 Folin-Ciocalteu reagent 反應，於 700 nm 測定吸光值可得校正曲線(作圖如圖 2)，另將 0.1 % 萃取物與 Folin-Ciocalteu reagent 反應，於 700 nm 之吸光值比對沒食子酸檢量線可知仙履蘭萃取物之酚類化合物含量。由表 2 結果可知，仙履蘭之莖與花部位萃取總酚含量分別為 31.978 ± 2.706 mg/ GAE g 與 48.239 ± 2.078 mg/ GAE g，相較於市售之 CRODAROM PURPLE ORCHID 萃取物原料為 0.432 ± 0.059 mg/ GAE g，顯示本研究仙履蘭莖與花萃取得有更高的總酚含量。由圖 3 可發現，仙履蘭莖與花部位萃取之總酚含量測定結果，約高出市售 CRODAROM PURPLE ORCHID 74~111 倍。另比較兩種萃取物總酚含量，皆高於文獻上石斛蘭莖萃取 2.22 g/ GAE 100g (= 22.2 mg/ GAE g) 與來自不同地區的台灣白及 (*Bletilla formosana*) 7.95-16.62 mg/ GAE g^[22, 23]，再與白洋蔥 28.7mg/ GAE g、紅洋蔥 33.3 mg/

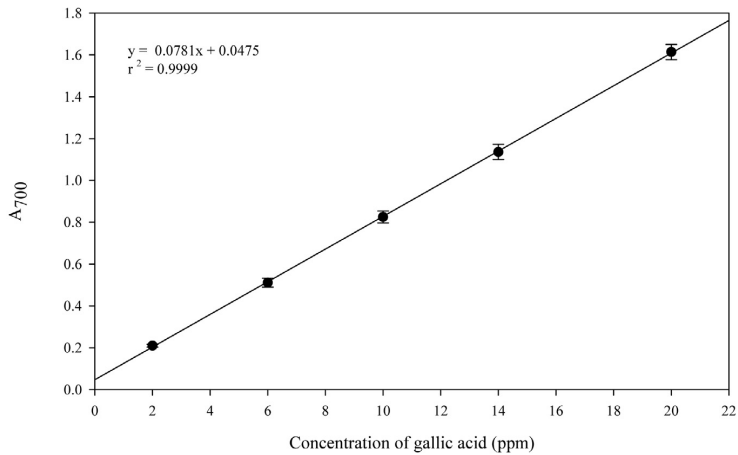


圖 2. 標準品 Gallic acid 之校正曲線示意圖

表 2. 仙履蘭莖與花萃取及市售蘭花萃取液之抗氧化力比較

	總酚含量(mg/ GAE g)	DPPH自由基半清除率(mg/mL)
Paphiopedilum stem extract	31.978 ± 2.706	0.47 ± 0.04
Paphiopedilum flower extract	48.239 ± 2.078	0.17 ± 0.02
CRODAROM PURPLE ORCHID	0.432 ± 0.059	2.96 ± 0.07

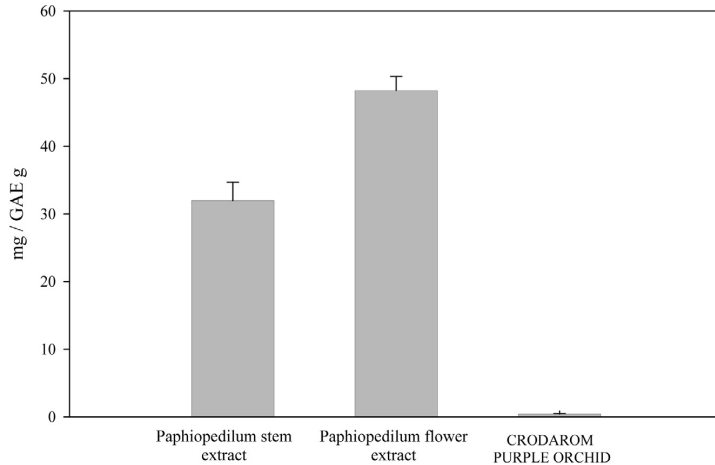


圖 3. 仙履蘭莖與花萃取及市售蘭花萃取之總酚含量比較圖(n=3)

GAE g及黃洋蔥 29.5 mg/ GAE g^[24]相比，其含量幾近或比這些常見的抗氧化成份來源更高。

(二) DPPH自由基清除能力測定

DPPH自由基是一個穩定的自由基，其甲醇或乙醇溶液在波長 517 nm 有最大吸光值。藉由加入樣品溶液後測量其 517 nm 吸光值變化，

及可換算出該濃度下之自由基清除率。而清除一半自由基的濃度 (half effective concentrations ; EC₅₀)，也常被引用作為樣品抗氧化能力的測試。故本實驗利用仙履蘭萃取對自由基的半清除濃度(EC₅₀)來表示萃取物的抗氧化能力的高低。當萃取物的自由基半清除濃度越高，

表示抗氧化能力越差。結果由表 2 可知，仙履蘭之莖與花部位萃取的 EC_{50} 分別為 0.47 ± 0.04 mg/mL 與 0.17 ± 0.02 mg/mL，相較於市售之 CRODAROM PURPLE ORCHID 為 2.96 ± 0.07 mg/mL，顯示仙履蘭莖與花萃取得有更佳的 DPPH 自由基捕捉能力。再由圖 4 可發現，仙履蘭莖萃取的 DPPH 自由基半抑制濃度優於市售 CRODAROM PURPLE ORCHID 6.3 倍，仙履蘭花萃取則更勝出 17.4 倍之多。

另比較兩種萃取物的 DPPH 自由基清除能力，皆優於文獻上蘭科植物萃取：蘭花種苗葉水萃物 0.91 mg/mL 與台灣不同地區種植之台灣白及 $0.69 \sim 3.08$ mg/mL^[17, 23]，以及接近於抗氧化物：龍膽草醇萃物 470.91 ppm (= 0.471 mg/mL

)、龍膽草水萃物 450.44 ppm (= 0.450 mg/mL)。

比較總酚含量與 DPPH 自由基清除能力測定結果，可發現酚類化合物的含量與抗氧化力呈現正相關的關係，推測仙履蘭萃取物之抗氧化力，可能來自其所含酚類化合物所貢獻。在本萃取法中，樣品前處理使用冷凍乾燥，萃取過程也未使用到加熱步驟，並於超聲波輔助萃取階段保持溫度在 25°C ，可避免萃取成份受到熱破壞而失去活性。一般而言，蘭科植物具有矢車菊素 (Cyanidin)、酚醛酸 (Phenolic acids)、類黃酮 (Flavonoids) 等多酚成份，習知萃取得多酚成份的過程中，溫度、酸鹼值都會影響到多酚類的降解^[25]。而通常酚類成份對植物萃取的美白及抗氧化活性具有一定貢獻程度，因此評估

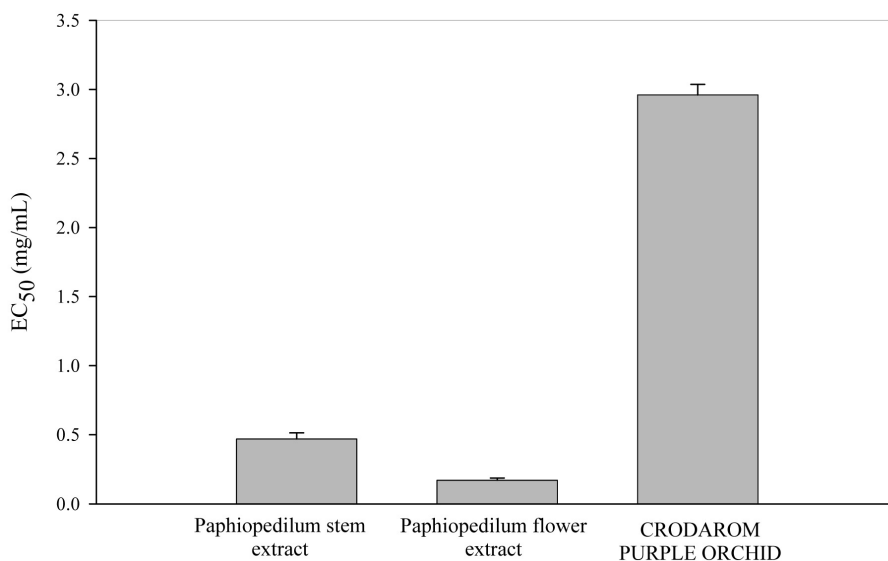


圖 4. 仙履蘭莖與花萃取及市售蘭花萃取之DPPH自由基半抑制率比較圖(n=3)

表 3. 仙履蘭莖與花萃取及市售蘭花萃取液之酪胺酸酶抑制能力比較

	酪胺酸酶半清除率 (mg/mL)
Paphiopedilum stem extract	1.47 ± 0.05
Paphiopedilum flower extract	8.14 ± 0.24
CRODAROM PURPLE ORCHID	153.11 ± 1.74
Kojic acid	0.016 ± 0.002

仙履蘭萃取物具應用潛力。

二、酪氨酸酶抑制能力

首先，由 10~50 μL 不同量之 Tyrosinase 與 2 mM L-Tyrosine 反應，得到進行酪氨酸酶抑制試驗所需的 Tyrosinase 最適濃度為 50.304 unit/180 μL 。隨後，便以此酵素濃度與不同量之樣品進行抑制反應。

將仙履蘭之莖與花部位萃取物、市售 CRODAROM PURPLE ORCHID，與熟知美白成份—麴酸做體外酪氨酸酶抑制實驗之比較，測得各萃取物之半抑制率 EC_{50} 如表 3 所示：仙履蘭莖萃取為 $1.47 \pm 0.05 \text{ mg/mL}$ 、仙履蘭花萃取為 $8.14 \pm 0.24 \text{ mg/mL}$ 、市售 CRODAROM PURPLE ORCHID 為 $153.11 \pm 1.74 \text{ mg/mL}$ ，以及麴酸為 $0.016 \pm 0.002 \text{ mg/mL}$ 。實驗結果顯示，麴酸為常見的美白淡斑產品添加成份，於低濃度 0.016 mg/mL 即具有優異的酪氨酸酶抑制能力，但由於安全性仍備受爭議，目前在法規限用濃度為 2%^[26]。比較萃取物之半抑制率 EC_{50} ，可由圖 5 發現，仙履蘭莖萃取相較仙履蘭花萃取有更佳的酪氨酸酶抑制能力，此結果與抗氧化力結果不同，可推測仙履蘭莖的酪氨酸酶抑制能力，不僅只是來自於酚類成份。

根據文獻報導，蘭科植物含有多醣、生物鹼、菲類、萘酮類、倍半 類，這類成份以被證實具有抗氧化、消炎止痛、抗癌與調節免疫的功效^[1]。發炎反應 (Inflammation) 是皮表不當刺激後所引起的一種免疫副作用，發炎反應有紅、腫、熱、痛、癢、龜裂和剝離等臨床不適症狀，紫外線 (UV light)、內毒素 (Endotoxins) 和各種化學刺激物質 (Chemical irritants) 是常見皮膚發炎反應的主要誘發劑，這些刺激物質都具有趨化，分化和炎症白細胞浸潤的特性，因而造成局部反應生成大量活性氧化物 (Reaction oxygen species; ROS)、舒緩激肽 (Bradykinin)、

組織胺、血清胺、乙醯膽鹼、白三稀素、前列腺素、一氧化氮及細胞因子等^[27]。在炎症反應持續期間，黑色素體會釋放出激活黑色素形成的信號，產生過量的黑色素，從而生成色斑或導致皮膚暗沉^[28]。故可能是這類成份貢獻了酪氨酸酶的抑制能力。另比較市售 CRODAROM PURPLE ORCHID，顯示仙履蘭之莖與花萃取有更優秀的酪氨酸酶抑制力，約為 18~104 倍，故選用仙履蘭莖萃取加入自製精華液配方中進行後續有效性評估試驗。

三、自製仙履蘭莖萃取精華液之功效性評估

(一) 配方設計

本研究所設計之精華液配方為一種外觀透明或半透明的流動膠狀液體，使用後皮膚觸感較滑嫩且清爽，無油膩感^[29]。運用三仙膠形成之穩定流動膠體型態，加入仙履蘭莖萃取物，可製備出易於塗抹及不黏膩的配方。

(二) 美白功效評估—皮膚黑色素含量 Melanin content (face)

在 20 位受試者單次使用仙履蘭莖萃取精華液後，經皮膚黑紅色素分析儀 (Mexameter) 評估結果如圖 6 所示，臉部黑色素含量 (Melanin content) 與使用前比較減少 10 %，連續早晚使用經二週後，臉部黑色素含量較使用前減少 5.5 %，經統計學計算與使用前比較具有顯著差異 ($P < 0.05$)，可見受測樣品減少皮膚黑色素之美白功效。而受測配方中並無添加其他美白活性成份，顯示減少黑色量效果來自仙履蘭莖萃取與酪氨酸酶試驗結果呈現一致性。

(三) 保溼功效評估—表皮水含量 Skin Surface Moisture (forearm)

在 20 位受試者單次使用仙履蘭莖萃取精華液後，經皮膚表面水含量分析儀 (Corneometer) 評估結果如圖 7，手臂內側皮膚水含量參數

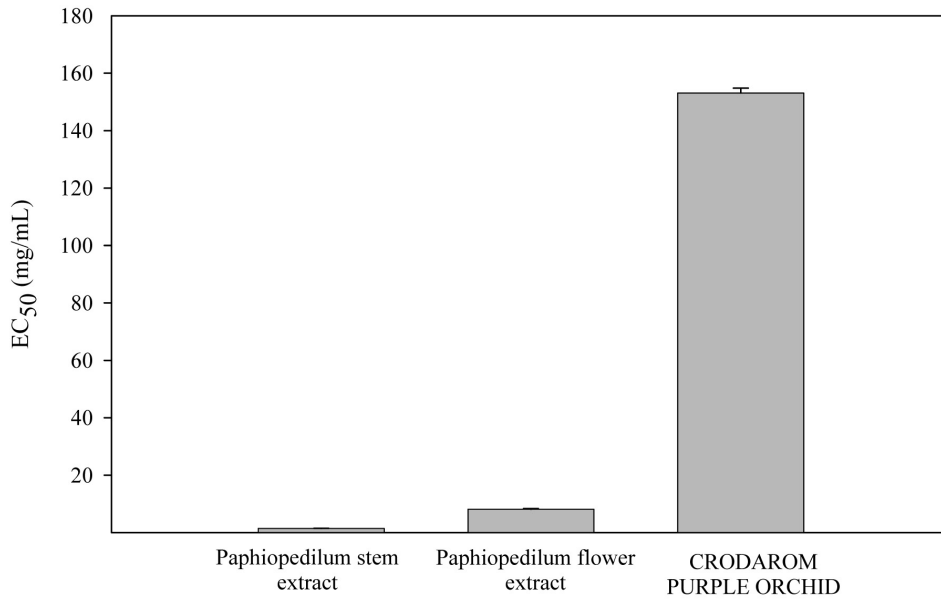


圖 5. 仙履蘭莖與花萃取及市售蘭花萃取之酪胺酸酶半抑制率比較圖(n=3)

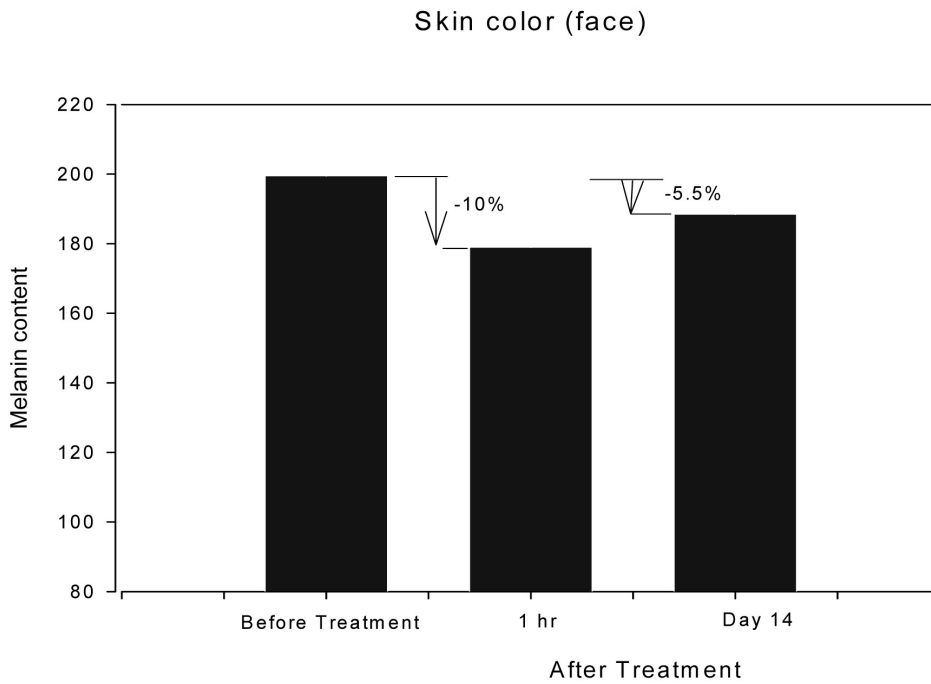


圖 6. 自製仙履蘭莖萃取精華液－使用前後黑色素含量比較圖

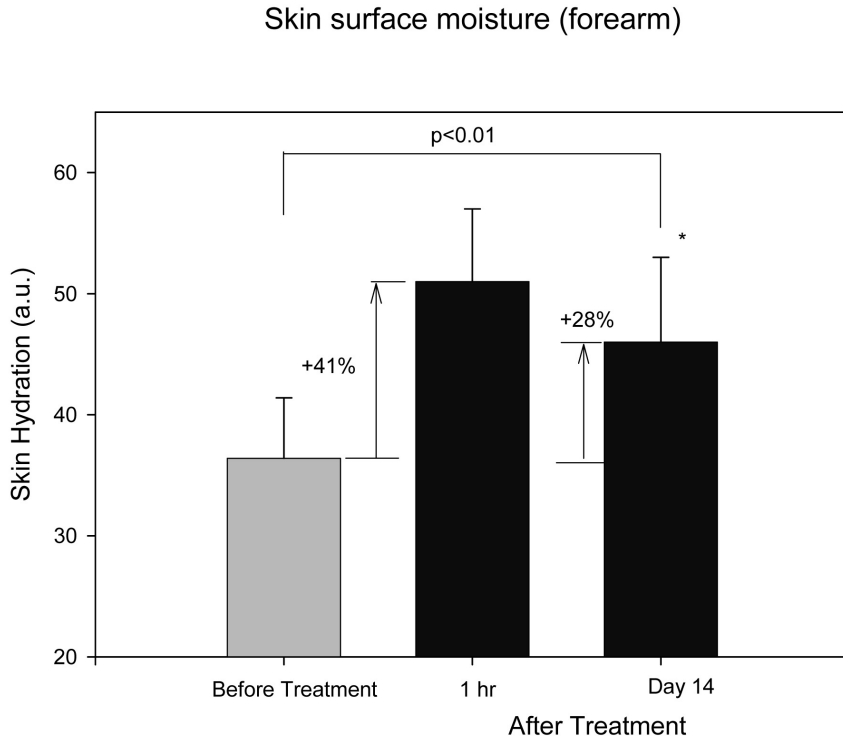


圖 7. 自製仙履蘭莖萃取精華液一使用前後皮膚水含量數值比較圖

(Hydration) 增加 41 %，連續早晚使用經二周後，手臂內側皮膚水含量參數較使用前增加 28 %，經統計學計算與使用前比較具有顯著差異 ($P < 0.01$)，可見受測樣品發揮柔膚鎖水增加皮膚保溼度之功效。

由皮膚黑色素含量及表皮水含量檢測結果可知，自製仙履蘭莖萃取精華液使用於受測部位短時間(1 小時)即可增加表皮水含量與降低黑色素含量，再經長時間使用後(兩週)，證實持續使用添加仙履蘭莖萃取精華液，可達到保溼及美白功效。並推測可能是由蘭科植物所含有之黃酮類、生物鹼、花青素、菲類、苊酮類等成份所貢獻^[1]。

肆、結論

仙履蘭自從被生物學之父—分類學家卡爾·林奈以其獨特的花型外觀，命名為仙女之足後，就一直成為觀賞及園藝栽培的熱門品項，受到眾多收藏家的喜愛。但對於其生物活性及藥理作用卻未曾探討過，因此本研究選定仙履蘭為研究主題。研究結果發現，仙履蘭的莖與花部位萃取物，具有抗氧化活性及酪胺酸酶抑制能力，具備開發成為抗氧化與美白成份之潛力。並可由自製仙履蘭莖萃取精華液配方的功效性試驗結果得知，仙履蘭萃取物加入配方中，使用後確實可減少皮膚黑色素，並增加表皮水含量，具有美白及保溼功效。未來可進一步分析仙履蘭成份組成，純化出美白與保溼效果之成份。

伍、參考文獻

1. Hossain, M. M. (2011). Therapeutic orchids: traditional uses and recent advances – An overview. *Fitoterapia*, 82(2), 102-140.
2. 莊于彥 (2005)。文心蘭花色與色素組成之研究。國立屏東科技大學農園生產系碩士論文。
3. 陳秋媛 (2010)。以活體動物及離體細胞培養模式探討木犀草素對於 *TGFβ1* 調控上皮—間質轉化及細胞轉移能力的影響及其作用機轉 (國科會專題研究計畫成果報告編號: NSC 98-2320-B-343 -001)。嘉義: 南華大學自然醫學研究所。
4. Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F., & Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*, 101(3), 1012-1018.
5. 黃玟瑄 (2010)。紅肉李萃取物對於以 H_2O_2 誘發 PC-12 神經細胞氧化壓力之影響。台北醫學大學保健營養學研究所碩士論文。
6. Hamalainen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M., & Moilanen, E. (2007). Anti-inflammatory effects of flavonoids: genistein, kaempferol, quercetin, and daidzein inhibit STAT-1 and NF-kB activations, whereas flavone, isorhamnetin, naringenin, and pelargonidin inhibit only NF-kB activation along with their inhibitory effect on iNOS expression and NO production in activated macrophages. *Mediators Inflamm*, 2007(1), 1-10.
7. 陳加忠 (2012)。當蝴蝶蘭開花株成為原料: 國立中興大學生物系統工程研究室。上網日期 2012年05月22日檢自 http://amebse.nchu.edu.tw/new_page_404.htm
8. 麥奮 (1987)。拖鞋蘭之芭菲爾鞋蘭屬。台北: 淑馨。
9. Lin, Y.-H., Chang, C., & Chang, W.-C. (2000). Plant regeneration from callus culture of a Paphiopedilum hybrid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 62(1), 21-25.
10. 王瓊瑩 (2007)。六種芭菲爾鞋蘭之生產改進。國立臺灣大學園藝學研究所碩士論文。
11. 張麗卿 (2006)。現代化妝品新論。台北: 高立。
12. Rufino, M. d. S. M., Alves, R. E., de Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121(4), 996-1002.
13. Braca, A., De Tommasi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., & Morelli, I. (2001). Antioxidant Principles from Bauhinia tarapotensis. *Journal of Natural Products*, 64(7), 892-895.
14. Luo, A., He, X., Zhou, S., Fan, Y., Luo, A., & Chun, Z. (2010). Purification, composition analysis and antioxidant activity of the polysaccharides from Dendrobium nobile Lindl. *Carbohydrate Polymers*, 79(4), 1014-1019.
15. 邱嘉玲 (2008)。龍膽萃取物之生物活性與化妝品應用。弘光科技大學化妝品科技研究所碩士論文。
16. 朱靜慧 (2009)。六種短鏈肽之合成及其化妝品功能性分析。弘光科技大學化妝品科技研究所碩士論文。
17. 張簡正揚 (2009)。天然物活性評估與在化

妝品上之應用。嘉南藥理科技大學化妝品科技研究所碩士論文。

18. 林昇鋒 (2011)。人體臨床試驗之法律關係與責任風險之歸屬。東吳大學法律學系碩士論文。
19. Roberts, W. E. (2009). Skin type classification systems old and new. *Dermatol Clin*, 27(4), 529-533.
20. Barel, A.O. and P. Clarys. (1998). Skin surface color measurements: A comparison between the Chromameter® and the Mexameter®. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 11(2), S158.
21. Huang, T.-H., Chou, J.-C., Sun, T.-P., & Hsiung, S.-K. (2008). A device for skin moisture and environment humidity detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 134(1), 206-212.
22. Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sciences*, 74(17), 2157-2184.
23. Wu, T.-Y., Chen, C.-C., & Lay, H.-L. (2010). Study on the Components and Antioxidant Activity of the Bletilla Plant in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*, 18(4), 279-289.
24. Shon, M.-Y., Choi, S.-D., Kahng, G.-G., Nam, S.-H., & Sung, N.-J. (2004). Antimutagenic, antioxidant and free radical scavenging activity of ethyl acetate extracts from white, yellow and red onions. *Food and Chemical Toxicology*, 42(4), 659-666.
25. Chirinos, R., Galarza, J., Betalleluz-Pallardel, I., Pedreschi, R., & Campos, D. (2010). Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. *Food Chemistry*, 120(4), 1019-1024.
26. 曾慧敏 (2008)。天然物經米麴菌醱酵後產物之美白機轉探討。嘉南藥理科技大學化妝品科技所碩士論文。
27. 余光昌 (2009)。碳酸氫溫泉美白機制研究(專題研究計畫成果報告編號：CN9811)。台南：嘉南藥理科技大學溫泉產業研究所。
28. 陳秋蘭 (2002)。荖葉對皮膚黑色素細胞去色素化/過度色素化之研究(國科會專題研究計畫成果報告編號：NSC91-2320-B-041-019)。台南：嘉南藥理科技大學藥學系。
29. 陳玉芬、張乃方、吳珮瑄 (1987)。化妝品調製學。台北：華格那。

Antioxidative and whitening activity of Paphiopedilum makuli extract

Tz-fang Li Jaw-Cherng Hsu*

Graduate School of Cosmetic science, Hungkuang University

Received 7 July 2012 ; accepted 29 August 2012

Abstract

Taiwan is known as the “Kingdom of orchids” . The technology of cultivation and breeding of Paphiopedilum was praised by the world. In addition to its ornamental value, there have been no studies for pharmacological and biological function. The Paphiopedilum of local cultivated was extracted by low temperature ultrasound-assisted method to reduce the high-temperature damage of activity compounds, and its efficacy in cosmetics were evaluated in this study.

The antioxidant activity and tyrosinase inhibition activity of Paphiopedilum stems and flower extract were compared to commercial orchid extract. Both Paphiopedilum extracts had higher total phenolic content (74 up to 114 times), excellent DPPH radical scavenging ability (6.3 up to 17.4 times) and stronger tyrosinase inhibition (18 up to 104 times) then commercial orchid extract.

In a short-term human skin cosmetic efficacy test of Paphiopedilum Essence, the melanin content reduced by 10 % and epidermal water content increased by 41%. After 2 weeks treatment, skin melanin content decreased by 5.5% and the epidermal water content increased by 28%. Results of the biological activity and cosmetic efficacy shows Paphiopedilum extract possesses antioxidant activity and whitening and moisturizing effect, with the development potential of novel cosmetic active ingredients.

Key words: *Paphiopedilum makuli*, Orchid, biological function, antioxidant activity, cosmetic efficacy

*Corresponding author