

化妝品用中藥材之安全性測試（一）

Safety Testing of Chinese Herbs in Cosmetics（一）

私立靜宜大學應用化學系暨研究所

官 常 慶

摘 要

可供化妝品用之中藥材，首先要了解其安全性，因為使用對象為人的皮膚，依化妝品定義，必須對皮膚作用溫和，不產生任何傷害，因此用在化妝品之中藥材，需先完成安全性試驗，充分了解中藥材對皮膚的影響。

此計畫先選擇十五種較常用於中藥化妝品之中藥材做試驗，其為：白芷、茯苓、白芨、杏仁、當歸、天花粉、人參、檀香、知母、何首烏、天門冬、麥門冬、紫草、黃芩和黃耆等。藥材經確認後，用水萃取和 50%酒精萃取，過濾之，取其萃取液測試之。

依照常用的 Draize 氏法和 Ames 氏法以及其他的修改方法，用兔子、大白鼠、小白鼠和沙門氏菌，作為測試對象。兔子皮膚刺激性試驗結果，上述十五種藥材，除了當歸、紫草表現輕微的刺激性，其他的中藥材萃取液，沒有刺激的現象。兔子眼睛刺激性採用低劑量眼睛刺激性試驗，十五種中藥材，均沒有明顯的眼睛刺激性。單一劑量毒性試驗，十五種中藥材之萃取液，一次口服劑量在 10000mg/kg 時，均沒有明顯毒性反應。Ames 氏的基因突變試驗，由衛生署中醫藥委員會的研究計劃報告中，委託陽明

醫學院廖的計劃，整理出致突變性的結果顯示白芷有致突變性。

關鍵詞：中藥材、皮膚刺激性、眼睛刺激性、單一劑量毒性

Abstract

The evaluation of safety for the usage of Chinese herbs as the ingredients in the cosmetics formulation is necessary and plays an important role. Cosmetics are used on the outward surface of the body. It is generally mild in effect and has no negative side effects.

The subjects of this research are including: Primary Skin Irritation (white rabbit, Draize method), Ocular Irritation (white rabbit, Draize method), Acute Oral Toxicity (rat, LD₅₀ mg/kg), and Mutagenicity (Ames test).

Both the aqueous and the ethanol extracts of fifteen Chinese herbs will investigate for the evaluation of safety. These fifteen Chinese herbs are: *Angelica dahurica*, *Armeniaca vulgaris*, *Angelica sinensis*, *Trichosanthes kirilowii*, *Panax ginseng*, *Polygonum multiflorum*, *Liriope spicata* Lour., *Lithospermum erythrorhizon*, *Scutellaria baicalensis*, *Hedysarum polybotrys*, *Anemarrhena asphodeloides*, *Santalum album*, *Poria cocos*, *Bletilla striata*, *Asparagus cochinchinensis*.

Key Words : Chinese herbs, Primary Skin Irritation, Acute Oral Toxicity

壹、緒 論

保養用化妝品的發展史，由基礎的保濕功能化妝品（cosmetics），到追求防曬或醫療效果的含藥化妝品（cosmedics），直到最近十年來的發展外用藥化妝品化（cosmeceuticals），此種集合化妝品和醫藥品的發展趨勢，是未來不可避免的主流，尤其東方人種的文化和習俗，對美白、除痘、防皺和抗老化方面的保養品需求量高，尤其我國經濟發展的成功，使我國躋身已開發國家，現在正面對加入 WTO 的市場開放政策，國內產業界將接受另一技術昇級的挑戰和市場開發的瓶頸。

我國古代的人們就懂得用鳳仙花染指甲，用青黛畫眉，用動植物油脂護膚，這是最早自然的動植物用於化妝品上。然而隨著科技的發展，人們發現人工合成的化學品，比自然動植物更容易獲取，製造和使用也更方便，成本甚至更低廉，於是捨棄天然動植物原料而追逐化學品。雖然化學品的應用與人們的生活息息相關，卻也使得人們的生活環境遭受破壞，最近環保人士提倡回覆自然、保護地球，化妝品工業也不例外，原料來源也講求來自天然，放棄化學合成物，以期減少環境的污染與破壞。

最近化妝品原料使用天然物的產品漸增，尤其植物萃取液的應用最多，可當作保濕作用的、預防皮膚老化的、使皮膚美白的、或治療粉刺、面皰殺菌消炎的，只要能使皮膚美化的植物（或動物）都被拿來測試或使用。最近幾年參加國際化妝品年會，與歐美研究人員討論中，他們對中國傳統中草藥有很大的興趣，但是他們受限於中文資料和文化背景，無法多方面的研究，到目前僅有少數中草藥（例如白芷、白果）使用在化妝品上，我國如能利用這有利的條件，使中草藥的傳統資源能重新利用在化妝品方面，對我國化妝品工業的發展一定有很大助益，如國能再利用現在的生物科技知識對中草

藥的應用，以科學數據證明中草藥的特殊功效（例如酪胺酸酵素的抑制、自由基的清除或殺菌作用等），再加上典籍記載的臨床經驗，對中草

藥的應用將能發展另一興盛的時期。依本人在化妝品的研究經驗，現代的研究技術，對傳統中草藥的應用，能開發出更多典籍上沒有記載的功效，如此能把中草藥的經濟價值大大的增加。

化妝品原料的安全性非常重要，因為使用對象是人體表面之皮膚，所以對皮膚的刺激性和毒性是我們首先要考慮的。刺激性和毒性測試的模式有很多方法，其中 Ames 方法和 Draize 方法最常被使用。

中草藥使用在化妝品，是很好的構想也是很本土化的研究方針，目前我國國科會的生物技術計畫中，就有結合中藥和醫學的研究計畫，如果能擴展中藥應用到化妝品的話，將能快速且有效地增加中草藥的經濟價值。把中草藥應用在化妝品之前，先要了解中草藥的安全性，例如對皮膚的刺激性和毒性，即是利用化妝品的研究方法（Draize 氏法和 Ames 氏法）去測定中草藥的刺激性和毒性，在此初級測試中（Primary screening）先做動物試驗和微生物試驗：兔子皮膚刺激性測試、兔子眼睛刺激性測試、老鼠單一劑量毒性測試，以及微生物基因突變測試。

第一次先選定十五種較常用於化妝品的中草藥作為測定對象，其名稱如下：白芷、茯苓、白芨、杏仁、當歸、天花粉、人參、檀香、知母、何首烏、天門冬、麥門冬、紫草、黃芩、黃耆等十五項品目。試驗時取其萃取液測定，在此計劃中藥材的萃取法分兩種，一種為水萃取液；另一種為 50 % 酒精萃取液，比較兩者萃取液的內容物，酒精萃取液較能把藥材的成分萃取出來，但是水溶解性不好，用作測試液時較難處理。

當測試結果以 Draize Score 法評定分數作為刺激性的指標。LD₅₀ 用萃取液 mg/kg 表示，如超過 10000 mg/kg 時，表示口服毒性極微，不再增加量餵食測定。

貳、實驗方法

一、中草藥萃取液製備方法

1. 中藥材

選用的藥材為中醫藥委員在「化妝品含中藥成分」相關事宜會議中選出目前較常用的十五種中草藥，分別為白芷、茯苓、白芨、杏仁、當歸、天花粉、人參、檀香、知母、何首烏、天門冬、麥門冬、紫草、黃芩、黃耆等，均購自台中市中藥行。

2. 水溶液萃取液製備方法

各取十五種中藥材打成碎片，加入四倍的蒸餾水，於 95°C 的水浴鍋加熱萃取，加熱萃取六小時後，加水補足至原先總重量，趁熱過濾，取濾液供測試用，存放於 5°C 備用。

3. 酒精溶液萃取液製備方法

各取十五種中藥材打成碎片，加入四倍的 50 % 酒精，於 85°C 的水浴鍋加熱萃取，因防酒精溶劑揮發，加裝冷凝管，加熱萃取六小時後，趁熱過濾，取濾液供測試用，存放於 5°C 備用。

二、皮膚刺激性及眼黏膜刺激性測試

1. 動物

選用紅眼睛紐西蘭白兔，體重約為 2 公斤公斤，購自台中市畜牧場，將欲試驗白兔於動物籠觀察 3~5 天使其適應環境並觀察其健康狀況；飼養室溫度為一般室溫（23°C），每天供應適量的飼料及飲水。

2. 皮膚刺激性

於正式上藥前 24 小時，將其背部脊柱兩側的毛髮剪掉或剃掉，避免傷及皮膚，將每隻白兔背部區分成六塊直徑約 2.5 公分的圓面積，每一圓面上均勻塗抹所欲測試藥劑，欲測試藥劑的劑量為 0.1mL、0.2mL、0.3mL、0.4mL、0.5mL 中藥萃取液（1：4 水煎劑

及 50 %酒精煎劑)；塗抹完畢後將白兔以固定器將其固定，避免其將試驗藥劑舔掉；於 24 小時觀察前，以溫水除去殘留受試物，紀錄於 24 小時、48 小時、72 小時觀察塗抹部位皮膚的反應，利用 Draize 方法評估刺激性的分數。

3. 眼黏膜刺激性

一組為三隻白兔，將中藥萃取液(1:4 水煎劑及酒精煎劑) 0.01mL 滴入白兔欲測結膜囊內，另一眼做為對照組，觀察剛滴完後及 1 小時、24 小時後眼睛角膜刺激反應並記錄之，並依據 Draize 方法給予刺激數值。

三、單一劑量毒性測試

1. 動物

單一劑量急性毒性試驗使用 5 週齡之 SD 品系大鼠，雌、雄大鼠體重分別約為 150 公克及 200 公克，購自國科會動物中心。飼養室溫度控制在 24°C，明、暗各十二小時的環境，使用福壽牌大鼠飼料，飲水經逆滲透處理。

2. 單一劑量急性毒性試驗

雌、雄大鼠分開飼養，每組大鼠三隻(二母一公)，實驗前絕食 12 小時，但不絕水；經口胃灌食一次試驗中藥萃取液，投與量為每 100g 動物體重 1 毫升，觀察中毒症狀及紀錄十四天內體重變化和死亡情形。換算成 LD₅₀ 為中藥材萃取液 10000mg/kg 動物體重。

四、微生物致突變性測試

參考國立陽明醫學院藥理學科暨研究所-廖志飛之衛生署中醫藥委員會研究計畫報告：(DOH 81-CM-064)、(DOH 83-CM-018)、(DOH 84-CM-003)、(DOH-CD21)

1. 中藥水抽提

取適量以五倍量之二次水煮沸 60 分鐘後取抽提液，如此反覆抽提三次。把抽提液經 Whatman1 號濾紙過濾後經 60 度 C 加熱濃縮至

約 500 毫升後冷凍，再經冷凍真空乾燥以製得粉末狀水抽提物。取適量之水抽提物以適量之 DMSO 或二次水配成之溶液用於致突變性之測試。測試劑量或濃度均以原藥材重量計，而不是以水抽提物之重量計。

2. 致突變性測試 (Ames test)

參考美國環境保護局 (EPA) 出版之 "Health Effects Test Guide-line" 中所述之致突變性測試 HG-Gene Muta-S, typhimurium 與相關之資料，使用於計畫中所建立之 Ames test 測試法，進行有關之致突變性實驗。

所建立之 Ames test 測試法採用直接平板混合法 (direct plate incorporation method)。使用之菌種係 Salmonella typhimurium TA98 及 TA100，是由美國加州大學 Dr. Bruce N. Ames 供給，可分別測定引起框構位移及鹽基對置換之突變物質。

依各藥材水抽提物之水溶解度，於 Ames test 以 DMSO 製得每毫升溶液含 1 或 0.5 克被測藥材水抽提物當起試劑量。

參、結果與討論

1. 中藥材之萃取法，此處用水萃取法和 50%酒精萃取兩種。由萃取液的外觀和試驗的結果，可推測 50%酒精萃取液較能把中藥材的各成分萃取出來，水溶液萃取的成分僅是水溶性的成分。

因此，中藥材應用在化妝品要表現出特殊的功能或療效，則需先了解此特殊功能是由藥材的哪些成分所產生的作用，再決定中藥材的萃取法。

2. 白兔皮膚刺激性測試結果顯示，十五種中藥材之水萃取液僅黃耆在高劑量 (每 5cm² 塗 0.4ml) 時有輕微的刺激性。至於 50%酒精萃取液，有紫草呈輕微的刺激性，當歸在高劑量 (每 5cm² 塗 0.4ml) 時亦有輕微刺激性。

3. 白兔眼睛刺激性測試，十五種中藥材之水萃取液有麥門冬、白芷、何首烏、知母和紫草在初期有輕微刺激性，但是約一分鐘即消失，在 24 小時之觀察對眼睛無任何不良反應。
至於 50%酒精萃取液，當歸、何首烏、黃芩、黃耆、紫草和檀香有刺激性，其中何首烏和檀香在 24 小時恢復正常，當歸、黃芩、黃耆和紫草，在 48 小時恢復正常。
4. 單一劑量毒性試驗 (LD₅₀)，此十五種中藥材之水萃取液和 50%酒精萃取液，單一劑量毒性均超出 10000mg/kg。以化妝品的觀點，可視為沒有皮膚毒性。
5. 微生物致突變試驗，根據廖教授之文獻和計劃報告有下列結論：根據廖教授之文獻和計劃報告有下列結論：
黃芩、白芷 (DOH 81-CM-064)、苦杏仁 (DOH 83-CM-018)、知母、紫草、黃耆 (DOH 84-CM-003) 之水抽提物對沙門菌致突變性之測定，結果顯示白芷的水抽提物對沙門菌有致突變。
而人參、當歸 (DOH-CD21) 之 50%乙醇抽提物對沙門菌沒有致突變性。

表一、皮膚刺激性（50% 酒精溶液萃取液）（Draize 評分）

藥材	塗抹劑量	0.1mL	0.2mL	0.3mL	0.4mL	0.5mL
	時間					
天門冬	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
麥門冬	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
白芷	24hr	0	0	0	0	1
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
白芨	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
茯苓	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
人參	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
當歸	24hr	1	1	1	2	2
	48hr	0	0	0	1	1
	72hr	0	0	0	0	0
何首烏	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
杏仁	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
知母	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
黃芩	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
黃耆	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
紫草	24hr	2	2	2	2	2
	48hr	1	1	1	1	1
	72hr	0	0	0	1	1
檀香	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
天花	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0

表二、皮膚刺激性（水溶液萃取液）（Draize 評分）

藥材	塗抹劑量	0.1mL	0.2mL	0.3mL	0.4mL	0.5mL
	時間					
天門冬	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
麥門冬	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
白芷	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
白芨	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
茯苓	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
人參	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
當歸	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
何首烏	24hr	0	0	0	0	1
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
杏仁	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
知母	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
黃芩	24hr	0	0	0	0	1
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
黃耆	24hr	0	0	1	2	2
	48hr	0	0	0	1	1
	72hr	0	0	0	0	0
紫草	24hr	0	0	0	1	1
	48hr	0	1	1	0	1
	72hr	0	0	0	1	0
檀香	24hr	0	0	0	0	0
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0
天花	24hr	0	0	0	1	1
	48hr	0	0	0	0	0
	72hr	0	0	0	0	0

表三、眼黏刺激性（50% 酒精溶液萃取液）觀察

藥材	時間 劑量	0hr	24hr	48h
	天門冬	0.01mL	立即閉眼， 約 50 秒開眼	無任何不良反應
麥門冬	0.01mL	立即閉眼， 約 90 秒開眼	無任何不良反應	
白芷	0.01mL	立即閉眼， 約 15 秒開眼	無任何不良反應	
白芨	0.01mL	無反應， 眼睛沒閉	無任何不良反應	
茯苓	0.01mL	立即閉眼， 約 10 秒開眼	無任何不良反應	
人參	0.01mL	立即閉眼， 約 50 秒開眼	無任何不良反應	
當歸	0.01mL	立即閉眼， 約 60 秒開眼	有眼屎， 結膜有一點紅	恢復正常
何首烏	0.01mL	立即閉眼，約 36 秒 開眼，眼清有點紅	無任何不良反應	
杏仁	0.01mL	立即閉眼， 約 10 秒開眼	無任何不良反應	
知母	0.01mL	立即閉眼， 約 1 分鐘開眼	無任何不良反應	
黃芩	0.01mL	立即閉眼，約 50 秒 開眼，眼睛較紅	有眼屎	恢復正常
黃耆	0.01mL	立即閉眼， 約 20 秒開眼	有眼屎	恢復正常
紫草	0.01mL	立即閉眼，約 20 秒 開眼，眼睛有流眼淚	有眼屎	恢復正常
檀香	0.01mL	會眨眼， 眼睛立刻發紅	無任何不良反應	
天花	0.01mL	立即閉眼， 約 10 秒開眼	無任何不良反應	

表四、眼黏膜刺激性（水溶液萃取液）觀察

藥材	時間 劑量	0hr	24hr	48h
	天門冬	0.01mL	立即閉眼， 約 20 秒開眼	無任何不良反應
麥門冬	0.01mL	立即閉眼， 約 1 分鐘秒開眼	無任何不良反應	
白芷	0.01mL	立即閉眼， 約 40 秒開眼	無任何不良反應	
白芨	0.01mL	無反應， 眼睛沒閉	無任何不良反應	
茯苓	0.01mL	立即閉眼， 約 5 秒開眼	無任何不良反應	
人參	0.01mL	無反應， 眼睛沒閉	無任何不良反應	
當歸	0.01mL	立即閉眼， 約 10 秒開眼	無任何不良反應	
何首烏	0.01mL	會一直眨眼，但不 會閉眼約 50 秒	無任何不良反應	
杏仁	0.01mL	無反應， 眼睛沒閉	無任何不良反應	
知母	0.01mL	立即閉眼， 約 90 秒開眼	無任何不良反應	
黃芩	0.01mL	無反應， 眼睛沒閉	無任何不良反應	
黃耆	0.01mL	無反應， 眼睛沒閉	無任何不良反應	
紫草	0.01mL	會一直眨眼，但不 會閉眼約 1 分鐘	無任何不良反應	
檀香	0.01mL	無反應， 眼睛沒閉	無任何不良反應	
天花	0.01mL	無反應， 眼睛沒閉	無任何不良反應	

表五、眼黏膜刺激性 (Draize 評分)

50% 酒精溶液萃取液

藥材	劑量	0.01mL
	時間	
天門冬	0hr	2
	24hr	0
	48hr	0
麥門冬	0hr	2
	24hr	0
	48hr	0
白芷	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
白芨	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
茯苓	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
人參	0hr	2
	24hr	0
	48hr	0
當歸	0hr	4
	24hr	2
	48hr	0
何首烏	0hr	4
	24hr	0
	48hr	0
杏仁	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
知母	0hr	2
	24hr	0
	48hr	0
黃芩	0hr	4
	24hr	2
	48hr	0
黃耆	0hr	2
	24hr	2
	48hr	0
紫草	0hr	4
	24hr	2
	48hr	0
檀香	0hr	4
	24hr	0
	48hr	0
天花	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0

水溶液萃取液

藥材	劑量	0.01mL
	時間	
天門冬	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
麥門冬	0hr	2
	24hr	0
	48hr	0
白芷	0hr	2
	24hr	0
	48hr	0
白芨	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
茯苓	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
人參	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
當歸	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
何首烏	0hr	2
	24hr	0
	48hr	0
杏仁	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
知母	0hr	2
	24hr	0
	48hr	0
黃芩	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
黃耆	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
紫草	0hr	2
	24hr	0
	48hr	0
檀香	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0
天花	0hr	0
	24hr	0
	48hr	0

表六、單一劑量毒性試驗 (LD50)

50% 酒精溶液萃取液

藥材	死亡率	LD ⁵⁰ (mg/kg)
天門冬	0	> 10000
麥門冬	0	> 10000
白芷	0	> 10000
白芨	0	> 10000
茯苓	0	> 10000
人參	0	> 10000
當歸	0	> 10000
何首烏	0	> 10000
杏仁	0	> 10000
知母	0	> 10000
黃芩	0	> 10000
黃耆	0	> 10000
紫草	0	> 10000
檀香	0	> 10000
天花	0	> 10000

水溶液萃取液

藥材	死亡率	LD ^{50*} (mg/kg)
天門冬	0	> 10000
麥門冬	0	> 10000
白芷	0	> 10000
白芨	0	> 10000
茯苓	0	> 10000
人參	0	> 10000
當歸	0	> 10000
何首烏	0	> 10000
杏仁	0	> 10000
知母	0	> 10000
黃芩	0	> 10000
黃耆	0	> 10000
紫草	0	> 10000
檀香	0	> 10000
天花	0	> 10000

*藥材萃取液 10000mg/kg 動物體重