

# 發明專利說明書 200528124

(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：94101032

※申請日期：94年01月13日

※IPC分類：A61K 35/78, 7/02,

## 一、發明名稱：

A23L 1/30

(中) 來自天然物的活性氧消除劑及其用途

(英) Active oxygen eliminator derived from natural substance and use thereof

## 二、申請人：(共 1 人)

1. 姓名：(中) 日本蠟膠股份有限公司  
(英) NIHON PROPOLIS, CO., LTD.

代表人：(中) 1. 菅澄子  
(英) 1. SUGA, SUMIKO

地址：(中) 日本國栃木縣那須鹽原市下厚崎字東原五番地四五二  
(英)

國籍：(中英) 日本 JAPAN

## 三、發明人：(共 3 人)

1. 姓名：(中) 綠川淑  
(英) MIDORIKAWA, KIYOSHI

國籍：(中) 日本  
(英) JAPAN

2. 姓名：(中) 門田重利  
(英) KADOTA, SHIGETOSHI

國籍：(中) 日本  
(英) JAPAN

3. 姓名：(中) 松繁克道  
(英) MATSUSHIGE, KATSUMICHI

國籍：(中) 日本  
(英) JAPAN

四、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利  主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 日本 ; 2004/01/16 ; 2004-008862  有主張優先權

(1)

## 九、發明說明

### 【發明所屬之技術領域】

本發明係關於來自天然物的活性氧消除劑及其用途。更詳細而言，本發明係關於含有效成份之類黃酮類或羥基肉桂酸衍生物等，有效地作為食品用或化粧品用等之來自天然物的活性氧消除劑，以及含該活性氧消除劑之食品及化粧品者。

### 【先前技術】

氧雖然對於生物體係由代謝產生能量等之維持生命所必須之物質，但因生物體內外之各反應系，亦即一部份之免疫反應或紫外線、放射線照射等而產生富有反應性之活性氧物質（reactive oxygen species）（超氧陰離子： $O_2^-$ 、過氧化氫： $H_2O_2$ 、氫氧自由基： $OH\cdot$ 、單態氧： $^1O_2$ 等）或自由基。已知此等活性氧物質或自由基，例如於某免疫反應中，扮演將入侵細菌等異物不活性化之角色，另一方面，與生物體成份反應，引起脂質過氧化，蛋白質或核酸變性，成為促進各種疾病或老化的原因等。已知尤其皮膚係身體的最外層，所以容易受到因紫外線或放射線等外來因素所發生的活性氧物質或自由基之影響，此等若產生過多於皮膚時，由自由基反應而增強過氧化脂質生成或產生黑斑、雀斑等之皮膚異常色素。

生物體內，由各種原因所產生之超氧陰離子  $O_2^-$  係由超氧歧化酵素（以下簡稱為 SOD）轉換成  $H_2O_2$ ，進而，

(2)

$H_2O_2$  因酵素過氧化氫酶或麩胺基硫過氧化酶 ( Glutathione Peroxidase ) 的作用，分解成水與氧。除了這些酵素，另外加上生物體存在維生素 C 或維生素 E 等來自食品之抗氧化物質，此等形成抑制生物體內自由基反應或氧化反應之網路，認為與防禦由活性氧或自由基之各種障礙相關。然而，已知由於周圍及生物體內環境的變化，例如細菌或病毒等之感染、食物之攝取狀態或營養狀態之變化、紫外線照射過量、接受來自周圍之各種壓力、以及加齡、老化等，而使上述網路平衡崩潰時，生物體所產生的活性氧或自由基之代謝平衡崩潰，結果出現過氧化脂質量增加、皮膚炎、黑斑、皺紋、濕疹及雀斑等成為美容上障礙之各種症狀，進而，引起關節炎、動脈硬化、糖尿病、肝炎、腎炎或癌等疾病。

另外，關於人類所攝取的食物或食品添加物，已知因紫外線或放射線作用所發生的活性氧或自由基所引起的氧化或通常的氧化，引起包含於此等之脂質其他成份的過氧化或變性，攝取此等氧化、變性物，對於健康上並不適宜。另外，已知化粧品、皮膚外用劑所配合之含不飽和脂質之天然油脂或界面活性劑中，有容易受紫外線等作用而氧化者，結果係常引起變色或異臭發生等令人厭惡的現象。容易地推測由使用如此容易受氧化的化粧品基劑，因上述各原因而使皮膚所產生之脂質過氧化物量增多，增大成為上述美容上障礙之各症狀。

傳統上，作為化粧品、食品、食品添加物及飼料所添

(3)

加之抗氧化劑，有二丁基羥基甲苯（BHT）、丁基羥基茴香醚（BHA）及乙氧基奎寧（Ethoxyquin）等之合成抗氧化劑，以及抗壞血酸或維生素 E 等之天然抗氧化劑。上述之合成抗氧化劑雖然抗氧化效果優異，但仍有致癌性等安全性上的問題，關於其使用亦有受局限者。另一方面，上述之來自天然之抗氧化劑，雖然安全性上受到好評，但有抗氧化效果比合成抗氧化劑差很多之缺點。

近年來，如此狀況下，由香粧品科學上、食品科學上或藥學上觀點，盛行進行搜尋具有消除活性氧或自由基效果或抗氧化效果物質或組成物，其結果係逐漸知道相當多的活性氧與自由基消除劑或抗氧化劑。例如，提出含有黃芩所含類黃酮成分之黃芩素 (baicalein) 的活性氧消除劑（例如參考特公平 4-34969 號公報）、橄欖油或其成份之 dehydrodieugenol 所形成之活性氧消除與除去劑（例如參考特開平 3-227938 號公報）、以胡桃殼萃取物為有效成份之活性氧消除劑（例如參考特開平 7-69912 號公報）等。

另一方面，傳統上已知作為天然的抗菌性物質或促進健康物質之蜂膠。此蜂膠係蜜蜂為保護蜂巢所製作的濃綠色至茶褐色之黏著性物質，蜜蜂由樹木所採取之膠質、樹液、植物色素系物質及香油等之聚集體中，混合自身的分泌物、蜜蠟等而製作。關於該蜂膠，報告指出具有抗腫瘤活性、抗氧化活性、抗炎症活性及抗菌活性等各種生物活性。作為具有生理活性之化合物群，可舉例如肉桂酸衍生

(4)

物、類黃酮類、酯類或其他酚性化合物等，報告指出亞熱帶產的蜂膠中，並存在萜烯類。

【發明內容】

〔發明之揭示〕

本發明係以提供高的消除活性氧或自由基能力，而且對人體安全，有效地使用於各種用途之來自天然物的活性氧消除劑及其用途為目的者。

本發明者為達成上述目的，努力研究的結果，發現例如萃取處理蜂膠原塊粉末可得到含類黃酮類、羥基肉桂酸衍生物及其他酚性化合物等多種有效成份之來自天然物的物質，可達成該目的，基於此發現而完成本發明。

亦即，本發明係提供

(1) 含水、有機溶劑與乳化劑，以及含對香豆酸、3,4-二鄰咖啡醯奎尼酸、3,5-二鄰咖啡醯奎尼酸、4-羥基-3-異戊烯基肉桂酸及3,5,7-三羥基-4'-甲氧基黃酮醇為主要有效成份為特徵之來自天然物的活性氧消除劑，

(2) 另外，含3,5-二異戊烯基-4-羥基肉桂酸、kaempferide、betuletol、綠原酸、ermanin、白楊黃素、咖啡酸、kaempferol及香草醛為有效成份之上述(1)項記載之活性氧消除劑，

(3) 有機溶劑係分子中有2個以上羥基之多元醇系化合物之上述(1)或(2)項記載之來自天然物的活性氧

(5)

消除劑，

(4) 乳化劑係至少 1 種選自甘油脂肪酸酯、聚甘油脂肪酸酯、丙二醇脂肪酸酯、山梨糖醇酐脂肪酸酯、蔗糖脂肪酸酯、卵磷脂類及類皂角苷類之上述 (1)、(2) 或 (3) 項記載之來自天然物的活性氧消除劑，

(5) 含上述 (1) 至 (4) 項中任一項記載之活性氧消除劑為特徵之食品，

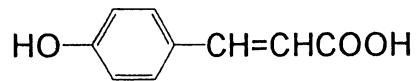
(6) 含上述 (1) 至 (4) 項中任一項記載之活性氧消除劑為特徵之化粧料者。

依據本發明，可提供高的消除活性氧或自由基能力，而且對人體安全，有效地使用於各種用途之來自天然物的活性氧消除劑，及含該活性氧消除劑之食品及化粧料。

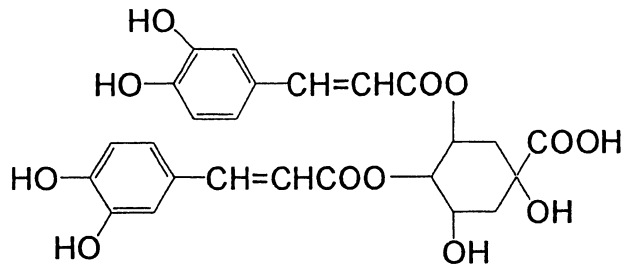
[ 用以實施發明之最佳型態 ]

本發明之活性氧消除劑係含水、有機溶劑與乳化劑，以及含具有下述結構之對香豆酸 (p-coumaric acid)、3,4-二鄰咖啡醯奎尼酸 (3,4-di-O-caffeoylquinic acid)、3,5-二鄰咖啡醯奎尼酸 (3,5-di-O-caffeoylquinic acid)、4-羥基-3-異戊烯基肉桂酸 (4-hydroxy-3-prenylcinnamic acid) 及 3,5,7-三羥基-4'-甲氧基黃酮醇 (3,5,7-tri hydroxy-4'-methoxyflavonol) 為主要有效成份之來自天然物者。

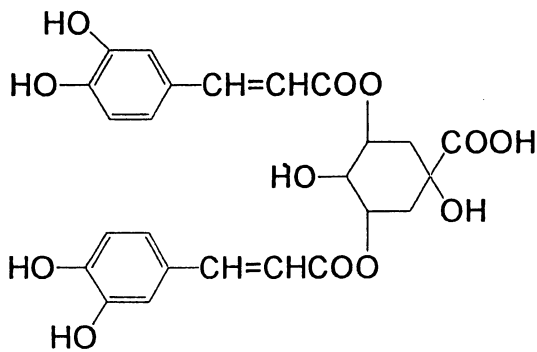
(6)



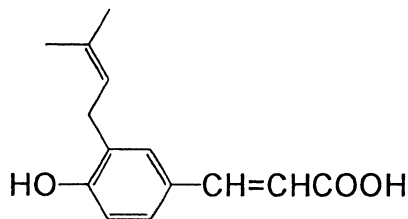
對香豆酸



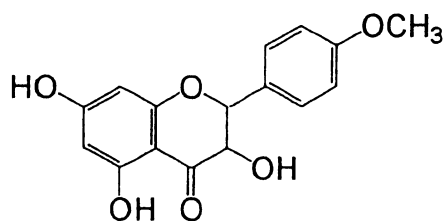
3,4-二鄰咖啡醯奎尼酸



3,5-二鄰咖啡醯奎尼酸



4-羥基-3-異戊烯基肉桂酸

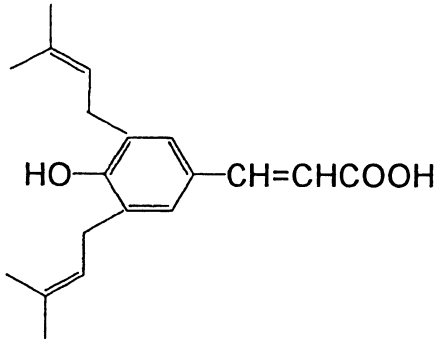


3,5,7-三羥基-4'-甲氧基黃酮醇

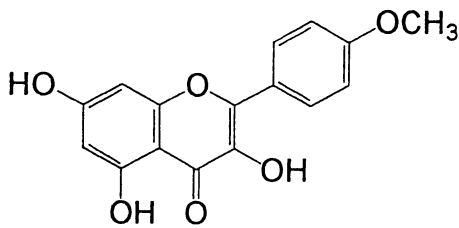
本發明之活性氧消除劑可再含具有下述結構之 3,5-二異戊烯基-4-羥基肉桂酸 (阿特盤尼西) [3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (artepillinC)]、

(7)

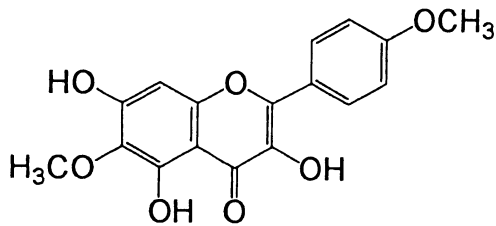
kaempferide、betuletol ( beturetol )、綠原酸 ( chlorogenic acid )、ermanin、白楊黃素 ( chrysin )、咖啡酸 ( caffeic acid )、kaempferol 及香草醛 ( vanillin ) 為有效成份。



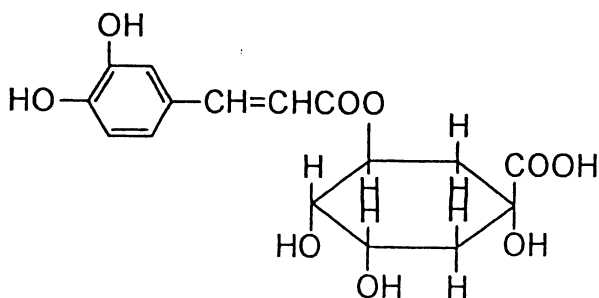
3,5-二異戊烯基-4-羥基肉桂酸



kaempferide

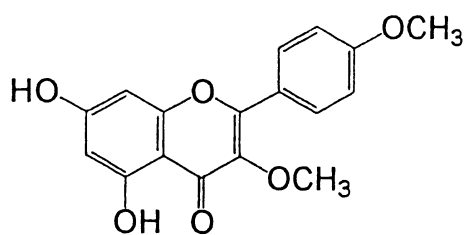


betuletol

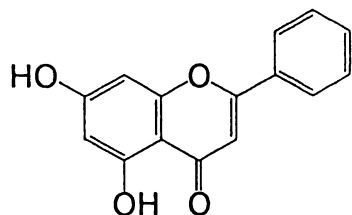


綠原酸

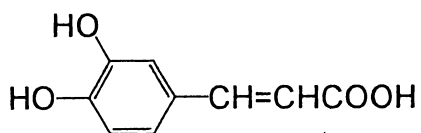
(8)



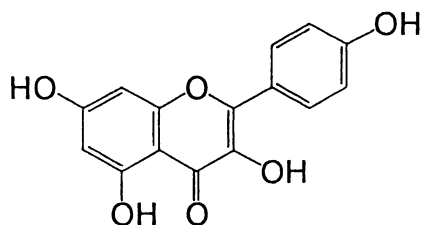
ermanin



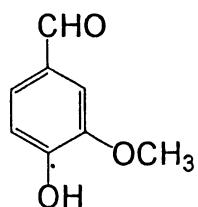
白楊黃素



咖啡



kaempferol



香草醇

另外，kaempferide 係 4'-甲氧基 - 3,5,7-三羟基黄色素，betuletol 係 4',6-二甲氧基 - 3,5,7-三羟基黄色素

(9)

素，ermanin 係 3,4'-二甲氧基-5,7-二羥基黃色素，白楊黃素係 5,7-二羥基黃色素，kaempferol 係 3,4',5,7-四羥基黃色素。

本發明之活性氧消除劑所含之有機溶劑係以分子中有 2 個以上羥基之多元醇系化合物為宜，具體上可舉例如甘油、乙二醇、二乙二醇、丙二醇、二丙二醇、甘油之環氧化物加成物、乙二醇之環氧化物加成物、丙二醇之環氧化物加成物、葡萄糖酸內酯(Glucono-delta-lactone)，另外，木糖醇、己糖醇、甘露糖醇及山梨糖醇等之糖醇等。此等係可含 1 種，亦可含 2 種以上，但使用該活性氧消除劑於食品用途時，尤其以甘油及各種糖醇為宜。

另一方面，作為乳化劑，可舉例如甘油脂肪酸酯、聚甘油脂肪酸酯、丙二醇脂肪酸酯、山梨糖醇酐脂肪酸酯、蔗糖脂肪酸酯、卵磷脂類及類皂角苷類。

作為上述之甘油脂肪酸酯，可舉例如甘油單月桂酸酯、甘油單棕櫚酸酯、甘油單硬脂酸酯、甘油單油酸酯、甘油單亞油酸酯及甘油單蓖麻醇酸酯等。

作為聚甘油脂肪酸酯，可舉例如二甘油單月桂酸酯、二甘油單棕櫚酸酯、二甘油單硬脂酸酯、二甘油單油酸酯、二甘油單亞油酸酯、二甘油單蓖麻醇酸酯、四甘油單月桂酸酯、四甘油二月桂酸酯、四甘油單棕櫚酸酯、四甘油二棕櫚酸酯、四甘油單硬脂酸酯、四甘油二硬脂酸酯、四甘油單油酸酯、四甘油二油酸酯、四甘油單亞油酸酯、四甘油二亞油酸酯、四甘油單蓖麻醇酸酯、四甘油二蓖麻

(10)

醇酸酯、四甘油單二十二烷酸酯、四甘油二二十二烷酸酯、五甘油單月桂酸酯、五甘油二月桂酸酯、五甘油單棕櫚酸酯、五甘油二棕櫚酸酯、五甘油單硬脂酸酯、五甘油二硬脂酸酯、五甘油單油酸酯、五甘油二油酸酯、五甘油單亞油酸酯、五甘油二亞油酸酯、五甘油單蓖麻醇酸酯、五甘油二蓖麻醇酸酯、五甘油單二十二烷酸酯、五甘油二二十二烷酸酯、十甘油單月桂酸酯、十甘油二月桂酸酯、十甘油三月桂酸酯、十甘油單棕櫚酸酯、十甘油二棕櫚酸酯、十甘油三棕櫚酸酯、十甘油單硬脂酸酯、十甘油二硬脂酸酯、十甘油三硬脂酸酯、十甘油單油酸酯、十甘油二油酸酯、十甘油三油酸酯、十甘油單亞油酸酯、十甘油二亞油酸酯、十甘油三亞油酸酯、十甘油單蓖麻醇酸酯、十甘油二蓖麻醇酸酯、十甘油三蓖麻醇酸酯、十甘油單二十二烷酸酯、十甘油二二十二烷酸酯、十甘油三二十二烷酸酯、十甘油單異硬脂酸酯、十甘油倍半異硬脂酸酯、十甘油二異硬脂酸酯、十甘油三異硬脂酸酯、十甘油單（12-羥基）硬脂酸酯、十甘油二（12-羥基）硬脂酸酯及十甘油三（12-羥基）硬脂酸酯等。

作為丙二醇脂肪酸酯，可舉例如丙二醇單月桂酸酯、丙二醇單棕櫚酸酯、丙二醇單硬脂酸酯、丙二醇單油酸酯、丙二醇單亞油酸酯、丙二醇單蓖麻醇酸酯、丙二醇單異硬脂酸酯及丙二醇單（12-羥基）硬脂酸酯等。

作為山梨糖醇酐脂肪酸酯，可舉例如山梨糖醇酐單月桂酸酯、山梨糖醇酐二月桂酸酯、山梨糖醇酐單棕櫚酸

(11)

酯、山梨糖醇酐二棕櫚酸酯、山梨糖醇酐單硬脂酸酯、山梨糖醇酐二硬脂酸酯、山梨糖醇酐單油酸酯、山梨糖醇酐二油酸酯、山梨糖醇酐單亞油酸酯、山梨糖醇酐二亞油酸酯、山梨糖醇酐單蓖麻醇酸酯、山梨糖醇酐二蓖麻醇酸酯、山梨糖醇酐單二十二烷酸酯、山梨糖醇酐二二十二烷酸酯、山梨糖醇酐單異硬脂酸酯、山梨糖醇酐二異硬脂酸酯、山梨糖醇酐單（12-羥基）及山梨糖醇酐二（12-羥基）硬脂酸酯等。

作為蔗糖脂肪酸酯，可舉例如蔗糖單月桂酸酯、蔗糖二月桂酸酯、蔗糖單棕櫚酸酯、蔗糖二棕櫚酸酯、蔗糖單硬脂酸酯、蔗糖二硬脂酸酯、蔗糖單油酸酯、蔗糖二油酸酯、蔗糖單亞油酸酯、蔗糖二亞油酸酯、蔗糖單蓖麻醇酸酯、蔗糖二蓖麻醇酸酯、蔗糖單異硬脂酸酯、蔗糖二異硬脂酸酯、蔗糖單（12-羥基）及蔗糖二（12-羥基）硬脂酸酯等。

另外，作為卵磷脂類，可舉例如大豆卵磷脂或其他植物之卵磷脂等，作為類皂角苷類，可舉例如皂樹皮萃取物（Quillaja）或大豆皂角苷等。

此等乳化劑係可含 1 種，亦可含 2 種以上，另外，上述乳化劑係可作為食品用，所以使用該活性氧消除劑於食品用途時，含有亦無妨。

本發明之活性氧消除劑中，水與上述有機溶劑與上述乳化劑之含有比率係以此等之合計量為 100 質量%時，通常的範圍係水：5 至 50 質量%，有機溶劑：45 至 94.9 質

(12)

量 % 及乳化劑：0.1 至 10 質量 %，以水：5 至 30 質量 %，有機溶劑：65 至 94.5 質量 % 及乳化劑：0.1 至 5 質量 % 為宜。

本發明之活性氧消除劑中，上述有效成份之合計含量雖可因應該活性氧消除劑用途而適當地選擇，但通常為 3 至 40 質量 % 程度。

本發明之活性氧消除劑係如下所示，可由萃取處理蜂膠原塊而製造。

為有效地進行粉碎及萃取處理原料之蜂膠原塊，要求使用保存於 15°C 以下，以 0 至 10°C 程度溫度者為宜。

首先，由粉碎機粉碎處理上述蜂膠原塊。此時，粉碎機所安裝的篩網孔徑，通常直徑為 1 至 5 mm，以 2 至 3 mm 為宜。其次，相對於 1 質量份之此蜂膠原塊粉碎物，加入 3 至 7 質量份程度之含上述比率之水與上述有機溶劑與上述乳化劑之混合液所形成之萃取溶劑。萃取溶劑之使用量為 3 質量份未滿時，因蜂膠原塊粉碎物與萃取溶劑之黏性，成為萃取作業效率降低的原因，另外，超過 7 質量份時，則有有效成份含量降低之虞。

其次，加熱溫度係於 50 至 90°C 程度，以 65 至 80°C 為宜，進行 30 至 120 分鐘程度之萃取處理。萃取處理後，過濾處理以去除固形物，而得本發明之活性氧消除劑。

如此所得之本發明之活性氧消除劑，為成為適合用途之濃度，可餾去或添加萃取溶劑，進行調整濃度。進而，

因應需要，亦可進行冷凍乾燥或噴霧乾燥，以粉末狀使用。

本發明之活性氧消除劑係含有類黃酮類、羥基肉桂酸衍生物及其他酚性化合物等之親水性至疏水性範圍大的成份，具有高的消除活性氧與自由基能力以及抗氧化能力，可使用於例如食品用途、化粧品用途、進而飼料用途等。

本發明之活性氧消除劑係可直接以液狀品配合於食品或化粧品等之組成物，或配合預先將該有效成份製劑化者於上述組成物，賦予消除活性氧效果及抗氧化效果，而可提高上述組成物之商品價值。

製劑化例，錠劑、膠囊劑、散劑或顆粒劑時，可將上述有效成份依配方適當地組合澱粉、乳糖或甘露糖醇等之賦型劑、羧甲基纖維素或羥丙基纖維素等之結合劑、結晶纖維素或羧甲基纖維素鈣等之崩壞劑、滑石或硬脂酸鎂等之潤澤劑，因應其他需要之濕潤劑、著色劑或香料等而製劑化。另外，作為液劑，可為水性或油性之乳濁劑或糖漿劑，可適當地組合僅糖漿、山梨糖醇、甲基纖維素或羧甲基纖維素鈉等之懸濁化劑、蛋黃卵磷脂、山梨糖醇酐單脂肪酸酯、月桂基聚乙二醇或蓖麻油等之乳化劑，因應其他需要之防腐劑、保存劑或安定化劑等而製劑化。軟膏時，可適當地配合凡士林、鏈烷烴、矽、增塑基劑、植物油或蠟類等之疏水性基劑、精製含水羊毛脂、羧乙烯聚合物、丙二醇或 1,3-丁二醇等之親水性基劑、聚乙醇胺等之乳化劑等而製劑化。

(14)

本發明另外提供含上述活性氧消除劑之食品及化粧品。

作為上述食品型態，可舉例如該活性氧消除劑本身、或味噌、醬油、美乃滋等之調味料、沙拉油等之食用油、各種調理食品、甜點類、冰果、餡、口香料或果汁等之點心及飲料等。此等食品中，可使用因應使用目的之任意成份。例如冰果或飲料時，可適當地配合果汁、甘味料、酸味料、著色料或香料等。本發明之有效成份於食品之添加量係依其型態而可適當地改變。

另一方面，可舉例如作為化粧品型態之各種物品，例如化粧水、乳液、乳霜為始之洗面乳、面膜料、彩粧化粧料、頭髮化粧料、嘴唇化粧料、指甲用化粧料、浴劑或抑汗劑等。此等化粧品中，可使用因應使用目的之任意成份，例如乳霜時，可依常法適當地配合凡士林、鏈烷烴、三十碳烷等之疏水性基劑、含水羊毛脂、丙二醇及 1,3-丁二醇等之親水性基劑、脂肪酸單甘油酯類、山梨糖醇酐脂肪酸酯類等之乳化劑、防腐劑、顏料、香料，因應其他需要之營養劑、保濕劑、美白劑及紫外線吸收劑等。同樣地，關於其他製品，亦可適當地配合因應其種類之必要成份。本發明之有效成份於化粧品之添加量係依其形態而可適當地改變。

另外，本發明之活性氧消除劑亦可配合於飼料。作為飼料之型態，可舉各種物品，例如家畜、家禽及魚類用之粉狀、煉製品狀或錠狀之配合飼料。此等飼料中，可使用

因應使用目的之任意成份，例如煉製品狀之飼料時，可適當地配合著色料或香料等。本發明之有效成份於飼料之添加量係依其形態而可適當地改變。

## 【實施方式】

### 實施例

其次係由實施例更詳細地說明本發明，但本發明並非局限於此等例者。

### 實施例 1

#### (1) 蜂膠原塊萃取物

作為萃取溶劑，係使用 4 種之 (a) 水單獨、(b) 甘油單獨、(c) 10 質量% 之水及 90% 之甘油之混合液、以及 (d) 10 質量% 之水及 89% 之甘油及 1% 之乳化劑 (甘油單油酸酯) 之混合液。

於 25g 之蜂膠原塊 (巴西產 *Baccharis draculifolia* 基源型) 粉碎物中，分別加入 200g 之上述萃取溶劑 (a) 至 (d)，於攪拌下，以 70°C 萃取 1 小時後過濾，而得 4 種蜂膠原塊萃取物 (a)、(b)、(c) 及 (d)。

#### (2) 蜂膠食品規格成份含量

關於上述 (1) 所得之 4 種蜂膠原塊萃取物 (a)、(b)、(c) 及 (d)，適用財團法人日本健康、營養食品協會蜂膠食品規格成份含量測定法 (平成 7 年改定)，

(16)

使用吸光光度法（ $\lambda = 415\text{nm}$ ），測定槲黃素（quercetin）（東京化成）當量。其結果如表 1。

另外，由財團法人日本健康、營養食品協會蜂膠食品規格成份含量測定法（平成 13 年改定），測定蜂膠食品規格成份含量（質量%）。其結果如表 1 所示。

### （3）DPPH 自由基消除活性

關於上述（1）所得之 4 種蜂膠原塊萃取物（a）、（b）、（c）及（d），為評估抗氧化活性，製作此等之各種濃度之乙醇溶液，混合同量的 60 微莫耳/L 濃度之 DPPH（1,1-二苯基-2-苦醯肼（picrylhydrazyl））（和光純藥工業）乙醇溶液，測定 30 分鐘後之吸光度（ $\lambda = 520\text{nm}$ ），求取各膠膠原塊萃取物之 DPPH 自由基消除之  $IC_{50}$  值。其結果如表 1 所示。

表 1

萃取溶劑 之種類	Quercetin 當量 (mg)	蜂膠規格 成分含量 (質量%)	DPPH 自由基 消除活性 (% $IC_{50}$ )
(a)	180	5.3	0.057
(b)	321	9.7	0.021
(c)	298	9.4	0.020
(d)	353	11.0	0.020

由表 1 可知，使用水與有機溶劑與乳化劑之混合液所

(17)

形成之萃取溶劑 ( d ) 所得之蜂膠原塊萃取物 ( d ) ( 本發明之活性氧消除劑 ) 之蜂膠食品規格成份含量 ( Quercetin 當量 , 質量 % ) 係比使用其他萃取溶劑 ( a ) 、 ( b ) 及 ( c ) 所得之蜂膠原塊萃取物 ( a ) 、 ( b ) 及 ( c ) 顯示高值。

另外 , 可知蜂膠原塊萃取物 ( d ) 係顯示與蜂膠原塊萃取物 ( b ) 及 ( c ) 約相同程度高之 DPPH 自由基消除活性。

( 4 ) 由 HPLC 分析含有成份

關於上述 ( 1 ) 所得之蜂膠原塊萃取物 ( a ) 、 ( b ) 、 ( c ) 及 ( d ) , 由高效能液相層析法 ( HPLC ) 進行分析。

HPLC 之測定條件係使用管柱 CLC - ODS ( 150 × 6.0mm , i.d. ) , 管柱溫度 40°C , 移動相係 HPLC 用之輸送液 , 線性梯度條件 , 由開始時之 0.5% 醋酸 ( 和光純藥工業 ) - 甲醇 ( 和光純藥工業 ) ( 70 : 30v/v ) , 30 分鐘後保持為 0.5% 醋酸 - 甲醇 ( 80 : 20v/v ) 30 分鐘 , 分析時間為 50 分鐘 , 流量為 1.0ml/分 , 測定波長  $\lambda = 275\text{nm}$ 。

蜂膠原塊萃取物 ( a ) 、 ( b ) 、 ( c ) 及 ( d ) , 溶解於 HPLC 用蒸餾水 ( 和光純藥工業 ) 或 HPLC 用甲醇 ( 濃度 : 10mg/ml ) 後 , 以 Sartorius Minisart 過濾 ( 0.45 $\mu\text{m}$  , Goettingen , Germany ) 後 , 使用 10 $\mu\text{l}$  濾液於 HPLC 分析。

(18)

將蜂膠原塊萃取物 ( a ) 、 ( b ) 、 ( c ) 及 ( d ) 之層析圖，分別如圖 1、圖 2、圖 3 及圖 4 所示，並且以層析圖之滯留時間為指標，相對應之波峰面積及波峰高度如表 2 所示。

表 2

化合物	R.T.	萃取物(a)		萃取物(b)		萃取物(c)		萃取物(d)	
		波峰面積	高度	波峰面積	高度	波峰面積	高度	波峰面積	高度
a	5.1	125290	6068	102569	4791	118675	5196	116167	5088
b	5.4	64218	3516	46914	2708	48786	3089	49486	3048
c	6.8	67983	2923	49105	2668	62464	3141	62474	3148
d	8.5	36815	2422	28592	2137	46542	2485	45092	2452
e	9.5	613175	63510	736791	79462	857236	90101	858366	90377
f	10.2	452055	26322	485907	31914	599082	35311	591450	35039
g	12.1	30527	2569	42026	4122	55639	4936	58157	5020
h	12.5	470342	31374	551542	39007	637013	42228	634979	41826
i	13.5			37333	2824	47636	3484	51477	3869
j	14.0			24799	2254	44366	3166	33045	3091
k	14.8			48871	4511	66827	4881	54559	5328
l	15.4			22556	1933	92674	2938	92312	2965
m	16.8	60700	3357	131557	9200	163546	10024	165998	10080
n	17.4			50201	4998	63077	5497	69077	6073
o	19.2	43709	3403	185670	19187	172834	16222	212072	20240
p	21.6			49904	2512	49549	1957	51501	2031
q	26.0			183990	13576	149566	10422	215098	15207
r	27.1			55024	5542	51095	4697	62991	5840
s	27.7			54329	5180	45326	3843	65628	5931
t	28.2			115784	11797	89560	8834	139402	14079
u	29.1			123128	5785	104342	3467	166476	5674
v	29.9			94387	8707	54525	2650	115563	7012
w	30.8			115012	8519	74578	6122	154801	10109
x	31.5			43888	2120	27047	1620	47771	2711
y	33.2			42724	4575	31290	3187	51312	5149
z	34.5			132448	14993	104284	11750	183655	20617
AA	39.4			154791	11187	126105	9084	232224	16489
AB	41.5			44139	2726	34879	2154	61039	3745

未記載波峰面積為30000以下時之數據。R.T.=滯留時間(分)

(19)

化學名係 a：綠原酸 (chlorogenic acid)、c：咖啡酸 (caffeic acid)、d：香草醛 (vanillin)、e：對香豆酸 (p-coumaric acid)、f：3,5-二鄰咖啡醯奎尼酸 (3,5-di-O-caffeoylquinic acid)、h：3,4-二鄰咖啡醯奎尼酸 (3,4-di-O-caffeoylquinic acid)、o：3,5,7-三羥基-4'-甲氧基黃酮醇 (3,5,7-trihydroxy-4'-methoxyflavonol)、p：kaempferol、q：4-羥基-3-異戊烯基肉桂酸 (4-hydroxy-3-prenylcinnamic acid)、s：白楊黃素 (chrysin)、u：kaempferide、z：3,5-二異戊烯基-4-羥基肉桂酸 (阿特盤尼西) [3,5-diprenyl-4-hydroxycinnamic acid (artepillinC)]。

如圖 1 至圖 4 所示，與蜂膠原塊萃取物 (a) 相比較，可知蜂膠原塊萃取物 (b)、(c) 及 (d) 之層析圖，明顯地隨著移動相之甲醇比率上昇，出現蜂膠原塊萃取物 (a) 之層析圖中未出現的波峰，依此，進而使用各個波峰作比較，依據認為於蜂膠原塊萃取物 (b)、(c) 及 (d) 之層析圖上顯示疏水性之化合物波峰群的出現，證明上述 (2) 及 (3) 所表示的結果。更詳細而言，確認親水性化合物 a 至 h 之波峰面積及波峰高度係 4 種蜂膠原塊萃取物約相同程度，或蜂膠原塊萃取物 (d) 具優勢的傾向。另外，關於 i 至 AB 之化合物，除了化合物 m, o (3,5,7-三羥基-4'-甲氧基黃酮醇) 及 z (3,5-二異戊烯基-4-羥基肉桂酸) 以外，雖於蜂膠原塊萃取物 (b)、(c) 及 (d) 之層析圖上明確地確認，但確認於

(20)

蜂膠原塊萃取物 (d) 上具優勢的傾向。

更詳細地而言，於未改變滯留時間 15 分鐘以前所溶出之生理活性物質 a (綠原酸)、c (咖啡酸)、f (3,5-二鄰咖啡醯奎尼酸) 及 h (3,4-二鄰咖啡醯奎尼酸) 等之測定值下，關於滯留時間 25 分鐘以後所溶出之有效的生理活性成份 u (kaempferide) 及 z (3,5-二異戊烯基-4-羥基肉桂酸)，與蜂膠原塊萃取物 (b)、(c) 及 (d) 之比較中，可確認蜂膠原塊萃取物 (d) 測定值明顯地增加。然而，上述 (2) 中之測定值增加，認為係與化合物 u 及 z 之增加有關，蜂膠原塊萃取物 (d) (本發明之活性氧消除劑) 係含有親水性至疏水性範圍大之成份，顯示具有以消除自由基能力為始之可期待的生理活性。

#### [ 產業上利用性 ]

本發明之活性氧消除劑係對於人體安全性高，而且具有高的消除活性氧與自由基能力及抗氧化能力，適合使用於食品用、化粧品用及飼料用等。

#### 【圖式簡單說明】

圖 1 係使用水為萃取溶劑所得之蜂膠原塊萃取物之一例之高效能液相層析圖。

圖 2 係使用甘油為萃取溶劑所得之蜂膠原塊萃取物之一例之高效能液相層析圖。

圖 3 係使用水與甘油之混合液為萃取溶劑所得之蜂膠

(21)

原塊萃取物之一例之高效能液相層析圖。

圖 4 係使用水與甘油與乳化劑之混合液為萃取溶劑所得之蜂膠原塊萃取物之一例之高效能液相層析圖。

### 五、中文發明摘要

發明之名稱：來自天然物的活性氧消除劑及其用途

含水、有機溶劑與乳化劑，以及含對香豆酸、3,4-二鄰咖啡醯奎尼酸、3,5-二鄰咖啡醯奎尼酸、4-羥基-3-異戊烯基肉桂酸及3,5,7-三羥基-4'-甲氧基黃酮醇為主要有效成份之來自天然物的活性氧消除劑，及含該活性氧消除劑之食品及化粧品。

### 六、英文發明摘要

發明之名稱：

(1)

## 十、申請專利範圍

1. 一種來自天然物的活性氧消除劑，其特徵為，含水、有機溶劑與乳化劑，以及含對香豆酸、3,4-二鄰咖啡醯奎尼酸、3,5-二鄰咖啡醯奎尼酸、4-羥基-3-異戊烯基肉桂酸及3,5,7-三羥基-4'-甲氧基黃酮醇為主要有效成份。

2. 如申請專利範圍第1項之來自天然物的活性氧消除劑，其中再含3,5-二異戊烯基-4-羥基肉桂酸、kaempferide、betuletol、綠原酸、ermanin、白楊黃素、咖啡酸、kaempferol及香草醛為有效成份。

3. 如申請專利範圍第1項或第2項之來自天然物的活性氧消除劑，其中有機溶劑係分子中有2個以上羥基之多元醇系化合物。

4. 如申請專利範圍第1項至第3項中任一項之來自天然物的活性氧消除劑，其中乳化劑係至少1種選自甘油脂肪酸酯、聚甘油脂肪酸酯、丙二醇脂肪酸酯、山梨糖醇酐脂肪酸酯、蔗糖脂肪酸酯、卵磷脂類及類皂角苷類。

5. 一種食品，其特徵為，含如申請專利範圍第1項至第4項中任一項之活性氧消除劑。

6. 一種化粧品，其特徵為，含如申請專利範圍第1項至第4項中任一項之活性氧消除劑。

圖1

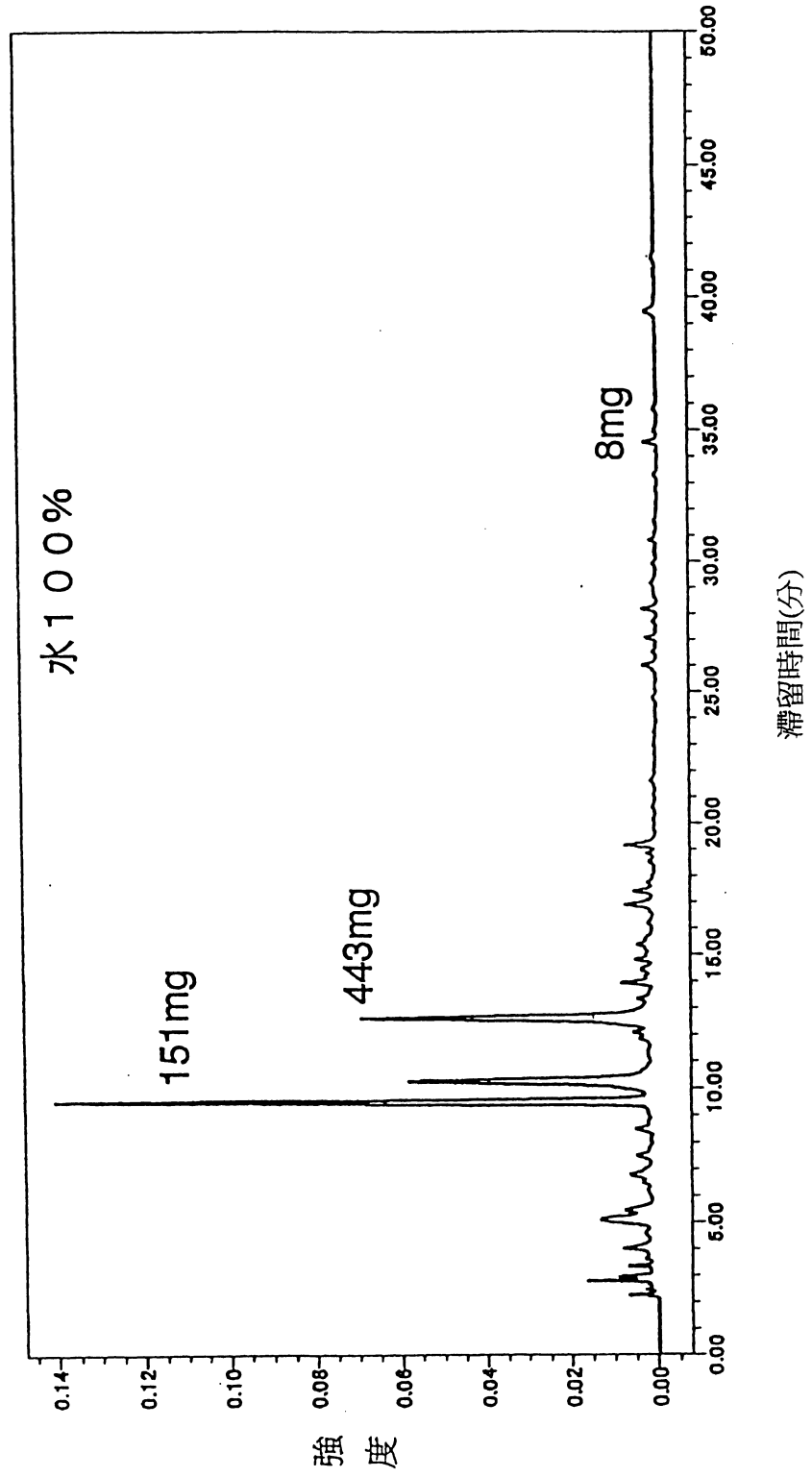


圖2

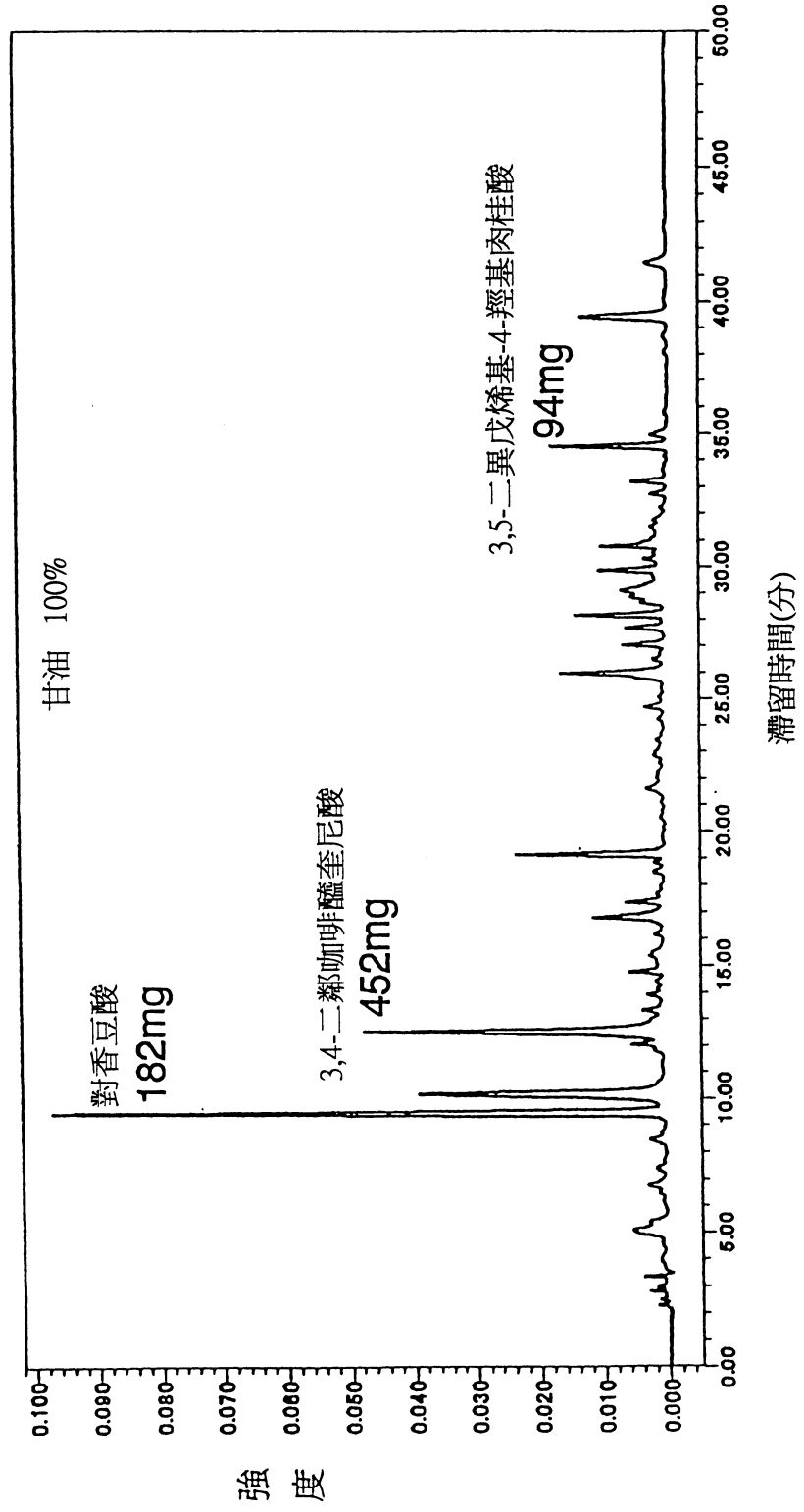


圖3

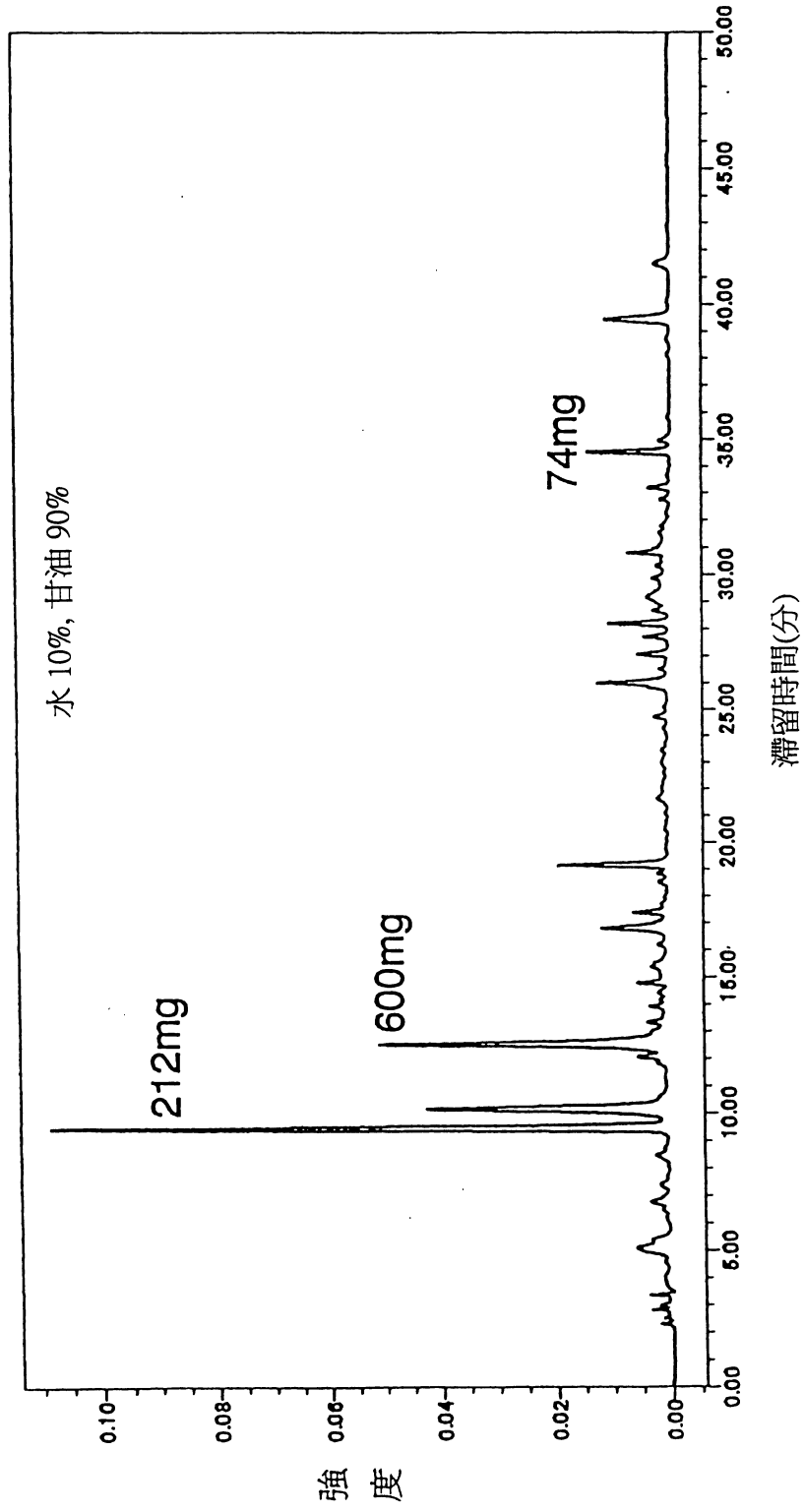
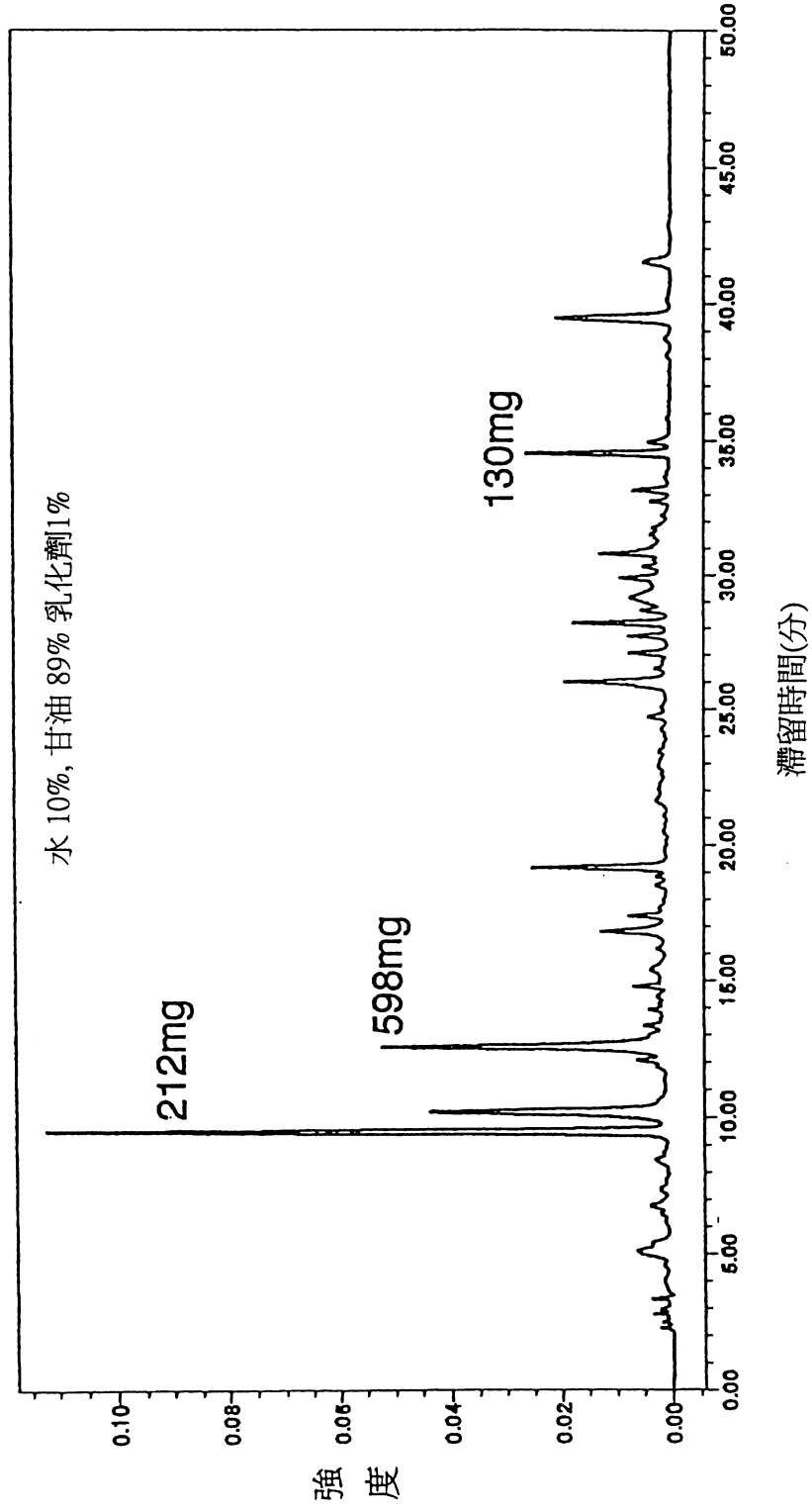


圖4



七、指定代表圖：

(一)、本案指定代表圖為：無

(二)、本代表圖之元件代表符號簡單說明：無

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：