

臺灣小葉芭樂枝葉萃取物之成分分析

龔圓淑、黃啟瑞、黃信綸、楊繼江*

摘要

臺灣小葉芭樂或稱小葉番石榴(*Psidium guajava* Linnaeus 'Odorata'), 別名: 香芭樂、小果芭樂、細葉芭樂, 屬於桃金娘科(*Myrtaceae*), 番石榴屬(*Psidium*)的植物, 原產自熱帶南美洲於臺灣馴化野生, 為臺灣臺東野生種, 主要產地在臺東縣卑南鄉利嘉村之河床上。目前, 國內外針對臺灣小葉芭樂(*Psidium guajava* Linnaeus 'Odorata')的相關成分研究甚少, 本文的目的是將小葉芭樂(*Psidium guajava* Linnaeus 'Odorata')的枝葉利用不同溶劑萃取後, 將取得萃取液採用高效能液相層析-串聯質譜儀(LC-MS/MS)進行多酚性及黃酮類化合物成分資料庫比對。經由比對, 共有 13 種多酚性成分可以小葉芭樂的萃取物被偵測到; 這些化合物在過去的研究, 發現具有多項的生物活性功能, 未來可以進行小葉芭樂的機能功效評估及產業應用。

關鍵字: 小葉芭樂、高效能液相層析-串聯質譜儀、黃酮類化合物、多酚類化合物

龔圓淑, 國立臺東大學生物醫學碩士學位學程研究生、臺北榮民總醫院臺東分院檢驗室醫檢師。E-mail: yung200036@gmail.com

黃啟瑞, 國立臺東大學醫農食研究中心助理研究員、國立臺東大學生物醫學碩士學位學程兼任助理教授、財團法人石材暨資源產業研究發展中心水資源組研究員、經濟部東部深層海水創新研發中心研究員。Email: crhuang.ksn@gmail.com

黃信綸, 國立臺東大學生物醫學碩士學位學程兼任助理教授、國立臺東大學食品生物技術應用二年制在職學位學程兼任助理教授、財團法人石材暨資源產業研究發展中心水資源組專案經理、經濟部東部深層海水創新研發中心特色原料分析實驗室經理。Email: tom1203@srdc.org.tw

楊繼江(通訊作者), 國立臺東大學生物醫學碩士學位學程教授、國立臺東大學醫農食研究中心主任。Email: cyang@nttu.edu.tw

Polyphenol composition of small-leaf guava (*Psidium Guajava* Linnaeus 'Odorata') twig's extracts

Yuan Shu Kung, Chi-Ruei Huang, Hsin-Lun Huang, Chi-Chiang Yang*

Abstract

Taiwan small-leaf guava (*Psidium guajava* Linnaeus 'Odorata'), aliases: scented guajava, guava, and guava, belonging to the Myrtaceae, guava genus (*Psidium*) plant, native to tropical South America domesticated wild in Taiwan, is a wild species of Taitung, Taiwan. It is mainly from the riverbed of Lijia village, Beinan township, Taitung county. At present, there is little research on the relevant ingredients of Taiwan guajava Linnaeus 'Odorata'. The purpose of this paper is to compare the leaf of *Psidium guajava* Linnaeus 'Odorata' with different solvents to obtain the extract using high-energy liquid phase tomography-series spectrometer (LC-MS) for polyphenolicity and flavonoid composition database. By comparison, a total of 13 polyphenolic components can be detected by the extracts. These compounds have been studied in the past and found to have a number of biologically active functions that could be used in the future to evaluate the functional efficacy of Taiwan small-leaf guava and industrial applications.

Keywords: high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometer, flavonoids, polyphenols

Yuan Shu Kung, Master Student, Master Program in Biomedicine, College of Science and Engineering, National Taitung University; Medical Technologist, Taipei Veterans General Hospital Taitung Branch. E-mail: yung200036@gmail.com

Chi-Ruei Huang, Adjunct Assistant Researcher, Biomedicine, Agriculture and Food Sciences Research Center; Adjunct Assistant Professor, Master Program in Biomedicine, College of Science and Engineering, National Taitung University; Researcher, Division of Water Resource, Stone and Resource Industry Research and Development Center; Researcher, Eastern Taiwan Deep Sea Water Innovation and Research Center, Ministry of Economic Affairs. Email: crhuang.ksn@gmail.com

Hsin-Lun Huang, Adjunct Assistant Professor, Master Program in Biomedicine; On-Job Degree Program of Food Biotechnology Application, College of Science and Engineering, National Taitung University; Manager, Functional Ingredients and Food Inspection Integration Laboratory, Eastern Taiwan Deep Sea Water Innovation and Research Center, Ministry of Economic Affairs; Project Manager, Division of Water Resource, Stone and Resource Industry Research and Development Center. Email: tom1203@srcd.org.tw

Chi-Chiang Yang (Corresponding Author), Professor, Master Program in Biomedicine; Director, Biomedicine, Agriculture and Food Sciences Research Center, College of Science and Engineering, National Taitung University. Email: cyang@nttu.edu.tw

壹、前言

臺灣小葉芭樂或稱小葉番石榴(*Psidium guajava* Linnaeus 'Odorata'), 別名: 香芭樂、小果芭樂、細葉芭樂, 屬於桃金娘科(*Myrtaceae*), 番石榴屬(*Psidium*)的植物("行政院農業委員會臺南區農業改良場新勇坡友善農業教育園區," 2021), 原產自熱帶南美洲於臺灣馴化野生, 為臺灣臺東原生種, 產地集中在臺東縣卑南鄉利嘉村之河床上。小葉芭樂(*Psidium guajava* Linnaeus 'Odorata')的葉片小而厚實, 芭樂果如十元硬幣大小, 專採嫩葉製茶所以都不留果, 所製的茶葉, 可以品嚐到有種特殊果香, 所以才稱為香芭樂心葉茶。和小葉番石榴同屬於桃金娘科(*Myrtaceae*)番石榴屬(*Psidium*)的植物-番石榴(學名: *Psidium guajava* Linn.), 別名: 菝仔、芭樂, 多生長於熱帶及亞熱帶的水果, 芭樂在臺灣一年四季都有種植也是臺灣人經常食用的水果。芭樂含有豐富的單寧酸, 多酚類, 類胡蘿蔔素, 植物凝集素, 維生素, 纖維素和脂肪酸, 為許多生理活性之主要成分。芭樂果實的維生素 C 含量比柑橘高 (100 克水果中含有 80 毫克維生素 C), 並且還含有大量維生素 A。明代醫書《本草綱目》寫到, 可將芭樂葉仿照茶葉泡成飲品, 芭樂樹的不同部分, 即根、葉、樹皮、莖和果實, 已在許多國家用於治療胃痛、糖尿病、腹瀉和其他健康疾病。芭樂葉連同果肉和種子用於處理某些呼吸和胃腸道疾病, 並增加登革熱患者的血小板(Laily et al., 2015)。芭樂葉也被廣泛用於解痙、止咳鎮靜、抗發炎、止瀉、抗高血壓、抗肥胖和抗糖尿病(Chen et al., 2007)。對動物模型的研究還確定了芭樂葉萃取物在抗腫瘤和細胞毒劑方面的作用(Ashraf et al., 2016; Jiang et al., 2020)。根據過去研究新鮮的番石榴葉中, 經由各種管柱層析, 純化出十五種化合物, 其結構分別確認為 Gallic acid, Methyl gallate, 1-O-Galloylglucose, 1, 2, 3, 4, 6-O-Penta-galloyl-β-D-glucose, Pedunculagin, Iso-strictinin, Eugeniin, Casuarinin, Castalagin, Catechin, Epicatechin, Gallocatechin, Procyanidin B-1, Procyanidin B-3, Quercetin(吳, 1992), 這十五種化合物中大多屬於多酚類物質。

多酚由植物次級代謝物所產生, 並具有許多生物活性(Kim & Uyama, 2005), 是決定水果, 蔬菜和植物的營養品質的重要決定因素(Naczki & Shahidi, 2006)。這些化合物具有一個芳環, 帶有一個或多個羥基及其結構的範圍可以從簡單的酚類分子到複雜的高分子聚合物。多酚類物質可作為植物抗毒素(Popa et al., 2008)、拒食劑、傳粉媒介的引誘劑、植物色素沉澱的貢獻者、抗氧化劑和紫外線保護劑等(Naczki & Shahidi, 2006)。這些生物活性特性使多酚類化合物在植物生長和繁殖中發揮重要作用(Popa et al., 2002), 有助於水果和蔬菜顏色和感官的特徵, 更提供有效的保護以抵禦病原體和捕食

者(Alasalvar, 2001)。據報導天然酚類具有作為食品防腐劑的特性(Valenzuela, 1992) 以及在防止多種病理障礙方面具有重要作用，例如動脈粥樣硬化、腦功能障礙和癌症(Gordon, 1996)。此外，多酚有許多工業應用，例如，它們可用作食品的天然色素和防腐劑，或用於生產油漆、紙張和化妝品。此外，酚類化合物還可以用作抗生素和止瀉藥，抗潰瘍藥和抗發炎藥，還可以用於治療高血壓，血管脆弱性，過敏，高膽固醇血症(Kuhnau, 1976；Saito et al., 1998；Singleton, 1981)。

小葉芭樂(*Psidium guajava* Linnaeus 'Odorata')的種植從育苗、移植、定植，長達兩年的時間，才能夠採到嫩葉。在種植過程中需定期修剪枝葉才能有良好品質及較高產量的嫩葉。然而修剪後之樹枝葉，會產生大量的農業廢棄物，本研究目的是將小葉芭樂樹枝葉農業廢棄物將其回收再利用，若能證實其酚類化合物之成分，酚類化合物的成分分離技術是多酚類實際應用在未來開發產品和功效性研究最重要的步驟。

貳、文獻回顧

一、多酚類化合物(polyphenolic compounds)

近年來，天然存在的植物化合物例如酚酸，類黃酮和高分子量多酚作為有益的保護劑已引起了相當大的關注。

多酚類化合物在所有植物器官中無處不在，因此是人類飲食中不可或缺的一部分。目前許多食品中標榜含有多酚類(polyphenol)，因為多酚類的抗氧化和清除自由基的能力及其對人體健康的潛在相關影響。

8000 多種多酚類中包括 4000 多種類黃酮已經確定，並且數量還在不斷增加。多酚類化合物包含多種分子，這些分子具有多酚結構(即在芳環上具有多個羥基)，但也具有一個酚環的分子，例如酚酸和酚醇。多酚類根據其所含酚環的數量以及將這些環彼此結合的結構元素分為幾類，主要的類別是：類黃酮(Flavonoids)，酚酸(Phenolic acid)，丹寧酸(Tannins)(可水解和縮合)，二苯乙烯(stilbenoid)和木脂素(Lignans)(Harborne, 1999)。

類黃酮，是低分子量化合物，由 15 個碳原子組成，排列為 C₆-C₃-C₆ 結構。該結構由兩個芳香環 A 和 B 組成，這些芳香環(aromatic rings)通常通過雜環 C(heterocyclic ring C)的形式通過一個 3 碳橋(3-carbon bridge)連接。芳香環 A 源自乙酸酯/丙二酸酯途徑(acetate/malonate pathway)，而環 B 由苯丙氨酸(phenylalanine)通過莽草酸途徑(shikimate pathway)衍生(Merken & Beecher, 2000)。

根據連接鏈 C₃ 的化學結構、氧化程度和不飽和度，將類黃酮分為七個主要類別，即黃酮(flavones)(例如：芹菜素(apigenin)，木犀草素(Luteolin)和香葉木素(Diosmetin)，黃酮醇(flavonols)(例如：槲皮素(Quercetin)，楊梅素(Myricetin)和山柰酚(Kaempferol))，黃烷酮(flavanones)，異黃酮(isoflavonoids)，黃烷酮醇(flavanonols)，兒茶素(Catechin)，花青素(anthocyanidin)和查耳酮(Chalcone)。

類黃酮是最常見的植物化學物質，這些化學物質通常有助於保護植物免受紫外線的傷害，真菌寄生蟲，草食動物，病原體和氧化細胞損傷(Cook & Samman, 1996)。人們定期食用類黃酮時可以減少諸如癌症和心臟病等疾病的發病率(Beecher, 2003)。類黃酮在食品中主要以糖苷和聚合物的形式存在(Hammerstone et al., 2000)。類黃酮的生物學特性取決於取代基的程度，性質和位置以及羥基數(Schroeter et al., 2002)。在某些條件下，類黃酮的抗氧化活性認為與羥基的總數成正比，並且還可以調節細胞信號傳導(Cao et al., 1997)。通常類黃酮核上的羥基數量越多，抗氧化活性越高(Cao et al., 1997)。例如，糖苷配基黃酮醇槲皮素在 3-，3'-，4'-，5-和 7-位具有游離羥基。在槲皮素的 3 位和 5 位上進行羥基化可以在這些位點的任何一個處與鐵形成配體(Markham, 1982)。槲皮素和山柰酚的糖苷中缺少 3-羥基，這大大降低了它們的金屬結合能力，因為 3-羥基-4-酮基的螯合是最強的金屬結合基團(Letan, 1966)。研究表明，類黃酮對抗氧化活性最重要的結構特徵是 B 環鄰位 3'，4'-二羥基方向(Dziedzic et al., 1983)。氧發生酵素或非酵素的轉化，在銅或鐵原子存在下，過氧化物會形成高度破壞性的羥基(OH)(Duthie et al., 1993)。類黃酮與金屬結合的能力在其作為抗氧化劑的作用中起著重要作用。這些因素還決定了類黃酮是否會充當抗氧化劑或酶活性的調節劑，或具有抗突變或細胞毒性特性。類黃酮類化合物的活性最新報導是抵抗氧化壓力的保護作用(Rice-Evans, 2001)。因此，類黃酮可以清除過氧自由基，並且是脂質過氧化的有效抑制劑，並且可以螯合氧化還原活性金屬，進而防止過氧化氫的催化分解(Fenton chemistry)。

酚酸約佔膳食多酚的三分之一，可能以游離和結合形式存在於植物中(Robbins, 2003)。結合酚類物質可能通過酯鍵、醚鍵或縮醛鍵與各種植物成分相連(Zadernowski et al., 2009)。不同形式的酚酸導致對不同萃取條件的不同適用性和不同的降解敏感性(Ross et al., 2009)。酚酸由羥基苯甲酸(hydroxybenzoic)和羥基肉桂酸(hydroxy cinnamic acids)所組成。

羥基苯甲酸包括沒食子酸(gallic acid、對羥基苯甲酸(p-hydroxy benzoic acid)、原

兒茶酸(protocatechuic acid)、香草酸(vanillic acid)和丁香酸(syringic acid)，它們具有共同的 C₆-C₁ 結構。另一方面，羥基肉桂酸(hydroxy cinnamic acids)是具有三碳側鏈(C₆-C₃)的芳香族化合物，咖啡酸(caffeic acid)、阿魏酸(ferulic acid)對香豆酸(p-coumaric acid)和芥子酸(sinapic acid)是最常見的代表(Bravo, 1998)。

參、研究動機

一、實驗材料

剪枝後的小葉芭樂(*Psidium guajava* Linnaeus 'Odorata')樹枝條，自然風乾，將樹枝條剪碎磨粉後儲存於乾燥箱備用。

二、實驗方法

(一) 小葉芭樂枝葉萃取液製備

小葉芭樂枝葉使用電動研磨機磨成粉末，將小葉芭樂枝葉粉末，分別溶於純水、95%乙醇及95%乙醇+水三種溶劑中(小葉芭樂枝葉粉末與溶劑比例為1g:10mL)，在室溫環境下，混合震盪24小時，以4000rpm離心30分鐘，收集上清液，使用0.45μm孔徑的PTFE膜針頭過濾器，將過濾後之上清液放入烘箱中，以溫度40°C烘乾。乾燥後秤萃取物乾重，每0.3g的萃取物加入1.5c.c的純水溶解後，再以1500rpm離心5分鐘，收集上清液使用0.22μm孔徑的PTFE膜針頭過濾器過濾，取得三種溶劑的萃取液分別為水、95%乙醇及95%乙醇+水萃取液(濃度200mg/ml)。放置-20°C冷凍保存備用。

(二) 小葉芭樂枝葉萃取液之成分分析

小葉芭樂枝葉水、95%乙醇及95%乙醇+水三種萃取液稀釋100-1000倍並以0.22μm孔徑的PTFE膜針頭過濾器過濾，採用高效能液相層析-串聯質譜儀(LC-MS/MS)，使用C18管柱進行梯度分析試驗，移動向為乙腈(CH₃CN)與2.5%的甲酸溶液，並以梯度的形成做洗滌，有效分離出小葉芭樂枝葉水、95%乙醇及95%乙醇+水三種萃取液的多酚類化合物。

高效能液相層析-串聯質譜儀(LC-MS/MS)是將液相層析儀(Liquid Chromatograph)後端接上和兩個串聯的質量分析器(Mass Spectrometer)。質譜(MS)是一種分析技術也用於闡明分子的化學結構，如胜肽、多酚和其他化合物。質譜(MS)原理包括使化合物電離以產生帶電分子或分子碎片並測量它們的質荷比(Sparkman & Price, 2000)液相層析質譜儀(Liquid Chromatography Mass Spectrometry, 簡稱LC-MS)

技術是目前研究多酚植物的最佳分析方法。一般說來，它的使用方向是在多種其他化合物從在的複合混合物中，測出各種成分並有可能確定其詳細結構。LC-MS 用於分析天然產物和分析植物的次級代謝產物。在這方面，基於質譜的系統有助於從複雜的植物樣本中獲取更多關於化合物範圍廣泛的信息。LC-MS 也用於藥物開發的許多不同的階段，包括，胜肽圖、醣蛋白圖、天然產物的去重複化、生物親和性篩選。體內藥物篩選、代謝穩定性篩選、代謝物結構確定、雜質確定、降解產物的結構確定、定量生物分析和質量控制。

肆、結果與討論

臺灣臺東小葉芭樂枝葉利用水、95 %乙醇及 95 %乙醇-水三種溶劑萃取出萃取液採用高效能液相層析 - 串聯質譜儀(LC-MS-MS)分析成分結果如表一所示，圖一、圖二、圖三分別水、95 %乙醇及 95 %乙醇+水三種小葉芭樂枝葉萃取液的成分分析結果圖譜。臺灣臺東小葉芭樂枝葉之水、95 %乙醇及 95 %乙醇+水萃取液成分中含有 Quinic acid、Quercetin-3-glucoside、Gallic acid、p-Coumaric acid、Quercetin、Kaempferol、Baicalein、Cinnamic acid，其中以 Quercetin-3-glucoside、Gallic acid 得含量最高，槲皮素(Quercetin)，是一種植物性黃酮醇，屬於多酚類(polyphenol)中的黃酮類化合物，存在於水果、蔬菜和穀物等植物中。槲皮素和蘆丁(rutin)是最常見的類黃酮糖苷(flavonoid glycosides)(Bokkenheuser, 1988)。槲皮素被發現主要是因為糖苷(glycoside)，即糖基團如葡萄糖(glucose)，半乳糖(galactose)，鼠李糖(rhamnose)，芸香糖(rutinose)或木糖(xylose)鍵結到黃酮醇(flavonol)的一個羥基上(Havsteen, 1983)。槲皮素-3-葡萄糖苷(Quercetin-3-glucoside)，是一種類黃酮含氧陰離子，它是由槲皮素黃酮部分第 7 位的羥基去質子化而成的。槲皮素已被證明是一種體外抗氧化劑。在類黃酮家族中，槲皮素是最有效的 ROS 清除劑(scavenger)(Hanasaki et al., 1994)。槲皮素的這些抗氧化能力歸因於分子中存在兩種清除自由基(free radical scavenging)結構基團，即 B 環中的鄰苯二酚基團(catechol group)和 AC 環的 3 位上的 OH 基團(OH group)(Beun et al., 2002)。槲皮素(Quercetin)已知具有強大的抗發炎能力(Oršolić et al., 2004)。作為一種強大的抗氧化劑和金屬離子螯合劑，槲皮素被認為能夠防止紫外線的傷害(Sestili et al., 1998)。槲皮素可保護皮膚抗氧化系統，即穀胱甘肽過氧化物酶(glutathione peroxidase)，穀胱甘肽還原酶(glutathione reductase)，過氧化氫酶(catalase)和超氧化物歧化酶 superoxide dismutase 可抵禦使用大量 UVA 照射損傷大鼠(Inal & Kökent, 2001)。口服槲皮素可防止免疫抑制 SKH-1 無毛小鼠受到 UVB 誘導的傷害(Steerenberg et al., 1997)。槲皮素及

其半合成衍生物 quercetin 3- O-acetate、quercetin 3-O-propionate、quercetin 3-Opalmitate 被發現抑制脂質體膜中被 UVC 輻射誘導的過氧化作用(Saija et al., 2003)。已經有幾種不同的細胞株的體外研究顯示類黃酮能夠抑制脂多醣體誘導的細胞激素產生。例如，槲皮素抑制巨噬細胞中脂多醣體 (lipopolysaccharide ; LPS) 誘導的腫瘤壞死因子 (Tumor necrosis factor, TNF) 產生(Ghosh, 1999)和肺細胞中 LPS 誘導的 IL8 的產生 (Geraets et al., 2007)。在小神經膠質-神經元(microglial - neuronal)共同培養中，類黃酮的作用導致由小神經膠質(microglial)激活引起的凋亡神經元細胞死亡減少(Bureau, 2008)。體外研究顯示槲皮素還具有抗纖維化作用(Lee et al., 2003)，抗凝劑(Bucki, 2003)，抗菌(Cushnie & Lamb, 2005)，抗動脈粥樣硬化(Perez-Vizcaino et al., 2006)，抗高血壓(Duarte, 2001)。沒食子酸(Gallic acid)又稱三羥基苯甲酸(3,4,5-trihydroxybenzoic acid)，為一種酚酸類型的有機酸，是一種在植物和水果中普遍存在的抗氧化劑，並能防止色素作用(Badhani et al., 2015)。穀胱甘肽(Glutathione ; GSH)和 GSH 相關酶，包括 c-谷氨酸半胱氨酸連接酶(c-glutamate cysteine ligase ; c-GCL)和穀胱甘肽 S-轉移酶(glutathione S-transferase ; GST)是重要的抗氧化劑防禦措施，可維持細胞氧化還原平衡。沒食子酸對 UVA 誘導的黑色素生成(melanogenesis)具有保護作用，可能是通過改善 GSH 相關的抗氧化防禦能力來實現的(Panich et al., 2011)。目前的研究表明，比較沒食子酸與麴酸(kojic acid)的酪氨酸酶抑制活性(tyrosinase inhibitory activity)，發現沒食子酸明顯表現出比麴酸(kojic acid)更強的酪氨酸酶抑制活性(tyrosinase inhibitory activity)作用(Kim, 2006)。沒食子酸的結構為三羥基酚化合物(tri-hydroxyl phenolic compound)，因此，沒食子酸的酪氨酸酶抑制活性(tyrosinase inhibitory activity)作用很可能歸因於其酚醛結構(Kim, 2006)。黃芩苷元(Baicalein)又稱 5,6,7 三羥基黃酮(5,6,7-trihydroxyflavone)。黃芩苷元是從黃芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的根部提取的主要黃酮。黃芩苷元的幾種藥理活性，例如抗病毒，抗發炎，抗肝毒性和抗腫瘤作用已經被報導(Ahn et al., 2001; Huang et al., 2005; Hwang et al., 2005)。 α -促黑色素細胞刺激素(α -MSH)會誘發 MITF(Microphthalmia transcription factor ; 小眼相關轉錄因子)的濃度，MITF 會刺激酪氨酸酶的活化，而酪氨酸酶會導致黑色素的生成。黃芩苷元激活 ERK(extracellular regulated protein kinases)調降 MITF，進而抑制酪氨酸酶的產生。黃芩苷又稱 5, 6-二羥基-7-O-葡糖醛酸黃酮(5, 6-dihydroxy-7-O-glucuronide flavone)，是從黃芩(*Scutellaria baicalensis* Georgi)的根部提取的主要黃酮，具有多種藥理活性，包括抗氧化，抗發炎，抗病毒和抗細胞增殖活性(Huang et al., 2000)。根據研究結果顯

示黃芩苷沒有直接抑制酪氨酸酶活性(tyrosinase activity)作用。黃芩苷處理的黑色素細胞(melanocytes)顯示出酪氨酸酶活性的濃度依賴性降低。黃芩苷可控制的酪氨酸酶蛋白的水平，並因此抑制黑色素(melanin)合成(Jeong, 2015)。肉桂酸(Cinnamic acid)又稱 3-苯基丙烯酸(3-phenylacrylic acid)，為不飽和羧酸(carboxylic acid)，在肉桂(*Cinnamomum cassia*)中被發現。化妝品中使用了各種肉桂酸衍生物，可吸收及過濾紫外線。防曬原理是利用吸收紫外線的方式，把紫外線與化學防曬乳結合並過濾紫外線，減輕對皮膚的傷害。但也因為吸收，因此化學防曬乳可能導致皮膚過敏等不良反應，加上這些化學成分長時間暴露在陽光下，可能產生損害細胞的自由基。目前四種肉桂酸衍生物允許在化妝品防曬劑中使用：4-甲氧基肉桂酸的 2-乙基己酯(2-ethylhexyl ester of 4-methoxycinnamic acid) (INCI：甲氧基肉桂酸乙基己酯(ethylhexyl methoxycinnamate)，也稱為甲氧基肉桂酸辛酯(Octinoxate)；甲氧基肉桂酸(isopentyl ester of 4-methoxycinnamic acid；INCI：對甲氧基肉桂酸異戊酯(isoamyl p-methoxycinnamate)，也稱為阿米洛酸酯；amiloxate)；2-氰基-3,3-二苯基丙烯酸的 2-乙基己酯(2-ethylhexyl ester of 2-cyano-3,3-diphenylacrylic acid；INCI：辛二烯酸酯；octocrylene)；和 4-甲氧基肉桂酸的 2-乙氧基乙酯(2-ethoxyethyl ester of 4-methoxycinnamic acid；INCI：肉桂酸酯(cinoxate)。這些物質的使用僅限於化妝品中的最大濃度，可能會有所不同(Stiefel & Schwack, 2015)。

甲氧基肉桂酸辛酯(Octinoxate)的範圍為 320 nm(310 nm 的峰值吸收)，甲氧基肉桂酸辛酯(Octinoxate)是目前最常廣泛使用的 UVB 防曬乳，對皮膚刺激性小，但卻會擾亂荷爾蒙、造成皮膚老化，並產生自由基破壞皮膚細胞。辛二烯酸酯(octocrylene)為 290-360 nm，肉桂酸酯(cinoxate)的為 270-328nm (Burnett et al., 2012; De Groot & Robert, 2014)。上述肉桂酸衍生物主要在 UVB 區域吸收 UV 輻射，該類別的紫外線濾光片的特點是水溶性差(Scheuer & Warshaw, 2006)。山奈酚(Kaempferol)又稱 3',4',5,7-四羥基黃酮(3',4',5,7-Tetrahydroxyflavone)，是薑科(*Zingiberaceae*)，山奈屬(*Kaempferia*)根莖的提取物，並且主要以糖苷形式存在於自然界中(Li et al., 2015)。山奈酚的許多有益功能已有報導，例如心血管(Suchal et al., 2017)，抗氧化劑(Arif et al., 2017)，抗糖尿病(Li et al., 2017)，抗發炎(Nascimento et al., 2017)，保肝(Zhao et al., 2017)和神經保護作用(Wu et al., 2016)。山奈酚由於其在癌症化學療法中的應用以及其他各種藥理作用而受到關注(Pei et al., 2017)。流行病學證據顯示，食用富含山奈酚的食物可降低發生某些類型癌症的風險，包括肝癌，結腸癌和皮膚癌(Neuhaus, 2004)等，抑制癌症的擴散並促進

癌細胞的凋亡。

根據研究草藥天然產物作為化妝品成分的應用在化妝品工業中是當前的趨勢。槐花(*Sophora japonica* L.)，進行了研究抗氧化作用和美白成分，從槐花的 95% 乙醇萃取物中分離出以下四種成分：(1)木犀草素 7-O-β-D-葡萄糖苷(luteolin 7-O-β-D-glucoside)，(2) 山奈酚(Kaempferol)，(3)蘆丁(rutin)(4)槲皮素(querletin)皆具有 DPPH 清除活性(DPPH scavenging activity)並抑制酪氨酸酶活性。

對香豆酸(p-Coumaric acid)又稱 4-羥基肉桂酸(p-coumaric acid)，是一種具有多種健康益處的植物化學物質(Croft, 1998)，化學結構與酪氨酸酶的受質 L-酪氨酸(L-tyrosine)非常相似。對香豆酸具有許多的生化特性其作為皮膚美白劑的使用。對香豆酸是酪氨酸酶的有效和選擇性抑制劑，並且比眾所周知的酪氨酸酶-熊果素(Arbutin)和麴酸(Kojic Acid) 具有更高的活性(An et al., 2010)。對香豆酸具有減弱細胞黑色素的能力(Seo et al., 2011)。對香豆酸強烈吸收 UVB 並防止 UVB 誘導的細胞死亡，且似乎在動物和人類皮膚中減輕了 UVB 引起的紅斑和色素沉澱(Boo, 2013)。

奎寧酸(Quinic acid)又稱環己烷甲酸(cyclohexanecarboxylic acid)，是一種與植物和微生物中莽草酸途徑(shikimate pathway)有關的代謝物。奎寧酸以前是從金雞納樹皮(cinchona bark)中分離出來的。過去研究，沒食子酸和奎寧酸具有明顯的酪氨酸酶抑制作用，因此，含有這些化合物的植物將提供在美白產品開發方面(Akihisa et al., 2013; Le Bourvellec, 2004)。根據研究美白皮膚的特性，貫葉連翹(*Hypericum calycinum*)的甲醇萃取物採用 LC-MS/MS 分離出化合物有綠原酸(chlorogenic acid)，槲皮素，奎寧酸，結果顯示出具有抑制酪氨酸酶活性(Ersoy et al., 2019)。

小葉芭樂枝葉之 95 %乙醇+水萃取液中的成分-原兒茶酸(Protocatechuic acid)又稱 3,4-二羥基苯甲酸(dihydroxybenzoic acid)，為一種酚酸(phenolic acid)，它是綠茶中發現的多酚的主要代謝產物(Lin et al., 2007)。具有抗氧化劑和抗發炎作用(Liu et al., 2002)。根據研究人毛囊黑色素細胞(hair follicle melanocytes；HFM)以原兒茶酸處理後，酪氨酸酶相關蛋白 1 (tyrosinase-related protein 1；TRP-1)，酪氨酸酶相關蛋白 2(tyrosinase-related protein 2；TRP-2)和小眼症相關轉錄因子(microphthalmia-associated transcription factor；MITF)的 mRNA 轉錄和蛋白表達水平顯著降低，另外還測量原兒茶酸處理的人毛囊黑色素細胞(hair follicle melanocytes；HFM)中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase；SOD)和穀胱甘肽(glutathione；GSH)的含量，原兒茶酸(Protocatechuic acid)以顯著提高 SOD 和 GSH 活性。這項研究顯示原兒茶酸(Protocatechuic acid)通過下調

黑色素生成相關蛋白的表達和抗氧化作用對黑色素(melanin)的產生具有抑制作用，這可能對治療黑色素的過量生成或美白皮膚很有用(Li et al., 2020)。

小葉芭樂枝葉之 95 %乙醇+水萃取液中的成分龍膽酸 (Gentisic acid)，又稱二羥基苯(dihydroxybenzoic acid)，為一種酚酸(phenolic acid)，是來自龍膽屬(*Gentiana*) 根部的天然產物。對人體健康具有有益的作用，例如抗發炎，保肝，保護神經，抗微生物活性，抗氧化活性(Abedi et al., 2020)。龍膽酸的苯氧基具有抗氧化活性和防護輻射性能。在化妝品中已用作皮膚美白劑，抗氧化劑和刺激皮膚更新(Arraudeau & Aubert, 1998)。最近的一項研究顯示，龍膽酸是一種安全，溫和的藥物，用於治療皮膚色素沉澱，包括黃褐斑和紫外線引起的雀斑(Schved & Kahn, 1992)。龍膽酸 (GA) 在化妝品中用作美白劑，用於治療皮膚色素沉澱是通過抑制酪氨酸酶活性來影響黑色素的合成。

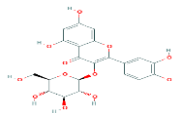
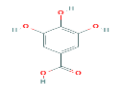
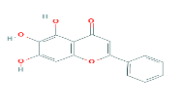
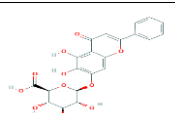

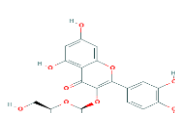


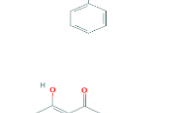
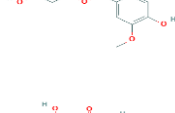

小葉芭樂枝葉之 95 %乙醇+水萃取液中的成分綠油酚(Chrysoeriol)又稱 3'-O-甲基木犀草素(3'-O-methyl luteolin) 是木犀草素(luteolin)的 3'-甲氧基衍生物，並廣泛存在於許多植物、蔬菜、水果、草藥中(Lin et al., 2008)。已經針對各種生物學功能進行了研究，例如神經保護(Nabavi et al., 2015)，心臟保護(Luo et al., 2017)，抗發炎，抗癌(Turkey, 2016)和抗菌作用(Zhang et al., 2018)。綠油酚以其抗 CK2 活性而聞名，比其他黃酮類化合物採用更低的濃度抑制 CK2 的不同分子形式(Baier et al., 2018)。根據研究採用高效液相層析法 (High performance liquid chromatography, HPLC) 分離純化中藥天花粉漿(*Trichosanthes pulp*)的美白活性成分-金聖草素具有良好的抗氧化活性和酪氨酸酶抑制活性(Zhang et al., 2020)。


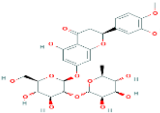
小葉芭樂枝葉之 95 %乙醇取液中的成分金絲桃苷(Hyperoside)，又稱槲皮素 3-半乳糖苷(Quercetin 3-galactoside)，是一種黃酮糖苷，主要存在於金絲桃屬和山楂屬植物中，包括多種蔬菜和水果。它具有多種有效的藥理活性，包括各種實驗模型中的抗發炎，抗血栓形成，抗糖尿病，保肝和抗氧化作用。金絲桃苷(Hyperoside)可以保護人類黑色素細胞抵抗 H₂O₂ 誘導的氧化損傷(Yang, 2016)。已經證明，黃酮醇苷元(flavonol aglycones)例如槲皮素(quercetin)，山萘酚(kaempferol)都能抑制黑色素生成，直接抑制酪氨酸酶的活性，而槲皮素 3-O-葡萄糖苷(quercetin 3-O-glucoside)和金絲桃苷(Hyperoside)可降低酪氨酸酶的表達(Kubo & Kinst-Hori, 1999; Ohguchi et al., 2010)。

小葉芭樂枝葉之 95 %乙醇+水萃取液及小葉芭樂枝葉之水萃取液中的成分新橙皮苷(Neohesperidin)在化學上被分類為黃烷酮糖苷，其中含有橙皮苷(糖苷配基形式)和蔗糖(Nemeth et al., 2003)。在 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 自由基清除試驗中，

新橙皮苷作為抗氧化劑，顯著抑制 HCl/乙醇誘導的胃損傷，並且增加粘液含量，顯著減少胃分泌液和胃酸產生的量，並且升高 pH 值(Lee et al., 2009)。新橙皮苷抑制 CaCO-2，CEM/ADR5000 和 CCRF-CEM 白血病細胞的生長(Johnston et al., 2005)。

表一 小葉芭樂萃取液所含之多酚成分。

Common names	Structures	Molecular Formula	Molecular Weight
Quercetin-3-glucoside		C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	463.4 g/ml
Gallic acid		C ₇ H ₆ O ₅	170.120 g/ml
Baicalein		C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.24 g/ml
Baicalin		C ₂₁ H ₁₈ O ₁₁	446.4 g/ml
Protocatechuic acid		C ₇ H ₆ O ₄	154.12 g/ml
Hyperoside		C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464.4 g/mol
Gentisic acid		C ₇ H ₆ O ₄	154.12 g/mol
Cinnamic acid		C ₉ H ₈ O ₂	148.1586 g/mol
Chrysoeriol		C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.26g/mol
Kaempferol		C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.24 g/mol
p-Coumaric acid		C ₉ H ₈ O ₃	164.16 g/mol

Quinic acid		C ₇ H ₁₂ O ₆	192.17 g/mol
Neohesperidin		C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	610.56 g/mol

Printing Time: 上午 11:35:56
 Printing Date: 2021年1月22日

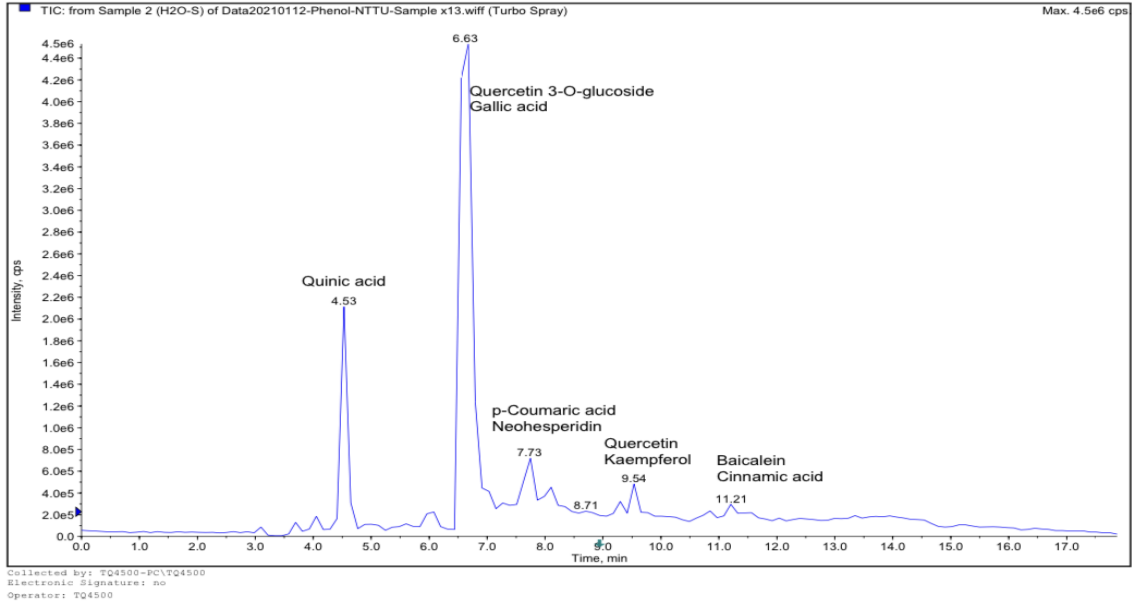


圖1. 小葉芭樂枝條水萃取液的LC-MS/MS多酚成分分析結果。

Printing Time: 上午 11:38:51
 Printing Date: 2021年1月22日

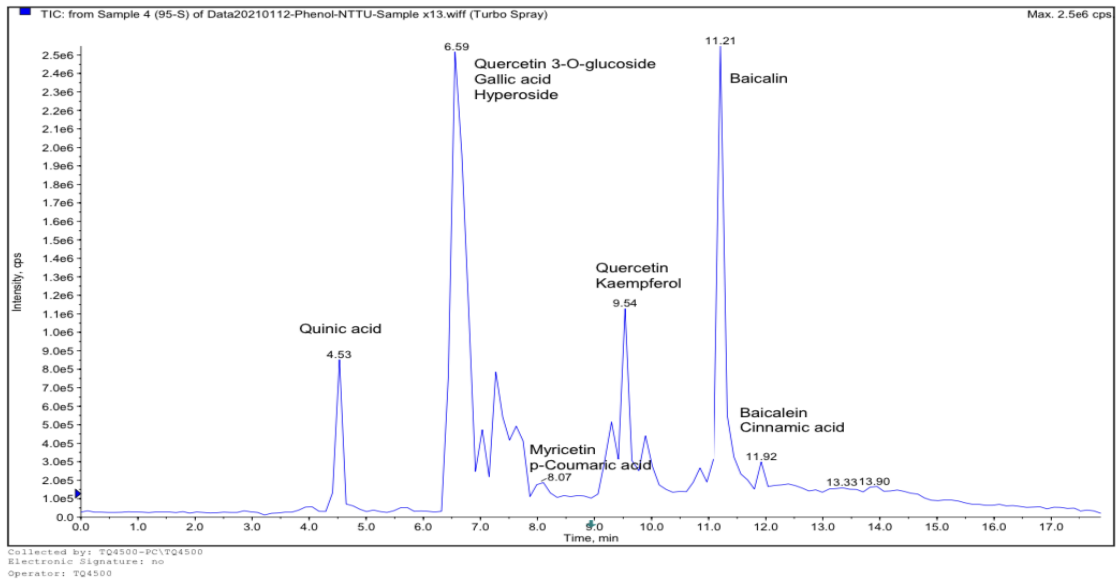


圖2. 小葉芭樂枝條95%酒精萃取液的LC-MS/MS多酚成分分析結果。

Printing Time: 上午 11:41:20
 Printing Date: 2021年1月22日

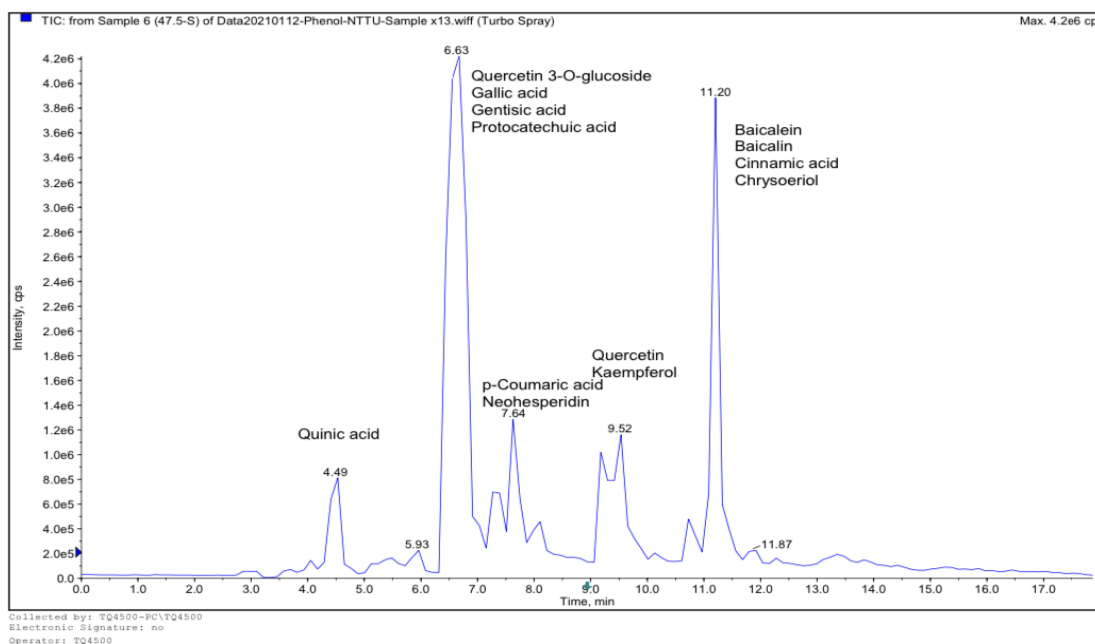


圖3. 小葉芭樂枝條95 %乙醇+水萃取萃取液的LC-MS/MS多酚成分分析結果。

伍、結果與討論

臺灣臺東小葉芭樂枝葉之水、95 %乙醇及 95 %乙醇+水萃取液中含有 Quercetin-3-glucoside、Gallic acid、Baicalein、Baicalin、Protocatechuic acid、Hyperoside、Gentic acid、Cinnamic acid、Chrysoeriol、Kaempferol、p-Coumaric acid、Quinic acid、Neohesperidin 等成分屬於多酚類中的黃酮類化合物，黃酮類化合物是一組種類繁多的植物化學物質，廣泛分佈於植物中，如水果、蔬菜、茶、橄欖油、煙草等。眾所周知，植物具有抗氧化和藥理特性與酚類物質的化合物存在有關，尤其是酚酸和黃酮類化合物。

本實驗採用高效能液相層析 - 串聯質譜儀 (LC-MS-MS) 分離臺灣臺東小葉芭樂枝葉中具有抗氧化活性黃酮類化合物，小葉芭樂枝葉在未來有很大的發展潛力作為氧化劑的成分，可以應用於功能性天然食品抗氧化劑和化妝品原物料的開發。

致謝

本研究所使用的小葉芭樂枝條取自臺東御心頻有限公司。

參考文獻

一、中文部分

行政院農業委員會臺南區農業改良場新勇坡友善農業教育園區. (2021)。

吳宗儒. (1992)。番石榴葉之酚性成分之研究。臺北醫學大學藥學系(碩博士班)學位論文。

林宜信、張永勳、陳益昇、謝文全、歐潤芝、謝伯舟. (2003)。臺灣藥用植物資源名錄 番石榴: 行政院衛生署中醫藥委員會編。

二、外文部分

Abedi F, Razavi BM, Hosseinzadeh H (2020). A review on gentisic acid as a plant derived phenolic acid and metabolite of aspirin: Comprehensive pharmacology, toxicology, and some pharmaceutical aspects. *Phytother Res.*, 34(4), 729-741.

Ahn HC, L. S., Kim JW, Son WS, Shin CG and Lee BJ. (2001). Binding aspects of baicalein to HIV-1 integrase. *Mol Cells*, 12(1), 127-30.

Akihisa, T., Kawashima, K., Orido, M., Akazawa, H., Matsumoto, M., Yamamoto, A., Fuji, J. (2013). Antioxidative and melanogenesis-inhibitory activities of caffeoylquinic acids and other compounds from Moxa. *Chemistry & Biodiversity*, 10(3), 313-327.

Alasalvar, C. (2001). Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *J Agric Food Chem*, 49(3), 1410-6. doi: 10.1021/jf000595h.

An, S.M., Koh, J.S., Boo, Y.C. (2010). p-Coumaric acid not only inhibits human tyrosinase activity in vitro but also melanogenesis in cells exposed to UVB. *Phytotherapy Research*, 24(8), 1175-1180.

Arif, H., Sohail, A., Farhan, M., Rehman, A. A., Ahmad, A., Hadi, S. M. (2018). Flavonoids-induced redox cycling of copper ions leads to generation of reactive oxygen species: A potential role in cancer chemoprevention. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 569-578.

Arraudeau, J., Aubert, L. (1998). *Use of benzoic acid derivatives to stimulate the process of epidermal renewal*. US patent No. 5,766,613.

Ashraf, A., Sarfraz, R.A., Rashid, M.A., Mahmood, A., Shahid, M., Noor, N. (2016). Chemical composition, antioxidant, antitumor, anticancer and cytotoxic effects of *Psidium guajava* leaf extracts. *Pharmaceutical Biology*, 54(10), 1971-1981.

Badhani, B., Sharma, N., Kakkar, R. (2015). Gallic acid: a versatile antioxidant with promising therapeutic and industrial applications. *Rsc Advances*, 5(35), 27540-27557.

Baier, A., Nazaruk, J.; Galicka, A.; Szyszka, R. (2018). Inhibitory influence of natural flavonoids on human protein kinase CK2 isoforms. *Mol Cell Biochem*, 444(1), 35-42.

- Beecher, G. R. (2003). Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrences and intake. *J Nutr*, 133(10), 3248S-3254S.
- Beun, J.J., VanLoosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J.(2002). Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor. *Water Research*, 36(3),702-712.
- Bokkenheuser, V. D., and Jeanette Winter. (1988). Hydrolysis of flavonoids by human intestinal bacteria. *Prog Clin Biol Res.*, 280, 143-5.
- Boo, Y. C. (2013). p-Coumaric acid as a skin whitening agent – novel findings on its ability to attenuate melanin synthesis. *HPC Today*, 8(1), 34-37.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev.*, 56(11), 317-33.
- Bucki, R. (2003). Flavonoid inhibition of platelet procoagulant activity and phosphoinositide synthesis. *J Thromb Haemost.*, 1(8), 1820-8.
- Bureau, C. (2008). Transient elastography accurately predicts presence of significant portal hypertension in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.*, 27(12), 1261-8.
- Burnett, M. E., Hu, J.Y. and Wang, S.Q. (2012). Sunscreens: obtaining adequate photoprotection. *Dermatol Ther.*, 25(3), 244-51.
- Cao G, Sofic E, Prior RL. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radic Biol Med.*, 22(5), 749-60.
- Chen, H. Y., Yen, G. C. (2007). Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of extracts from guava (*Psidium guajava* L.) leaves. *Food chemistry*, 101(2), 686-694.
- Cook, N. C., & Samman, S. (1996). Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(2), 66-76.
- Croft, K. D. (1998). The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. *Ann N Y Acad Sci.*, 854,435-42.
- Cushnie, T. T., and Andrew J. Lamb. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *Int J Antimicrob Agents.*, 26(5), 343-56.
- de Groot, A. C., Robert D. W. (2014). Contact and photocontact allergy to octocrylene: a review. *Contact Dermatitis*. 70(4), 193-204.
- Duarte, J. (2001). Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rat. *Br J Pharmacol.*, 133(1), 117-24.
- Duthie, G. G., Arthur, J. R., Beattie, J. A., Brown, K. M., Morrice, P. C., Robertson, J. D., James, W. P. T. (1993). Cigarette smoking, antioxidants, lipid peroxidation, and coronary heart disease. *Ann NY Acad Sci*, 686(1), 120-129.
- Dziedzic, S. Z., Hudson B. J. F. (1983). Polyhydroxy chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chemistry*, 12(3), 205-212.

- Ersoy, E., Ozkan, E. E., Boga, M., Yilmaz, M. A., Mat, A.(2019). Anti-aging potential and anti-tyrosinase activity of three Hypericum species with focus on phytochemical composition by LC–MS/MS. *Industrial Crops and Products*, 141, 111735.
- Geraets, L., Moonen, H J J, Brauers, K, Wouters, E F M, Bast, A, Hageman GJ (2007). Dietary flavones and flavonoles are inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase-1 in pulmonary epithelial cells. *J Nutr.*, 137(10), 2190-5.
- Ghosh, B. (1999). Quercetin inhibits LPS-induced nitric oxide and tumor necrosis factor- α production in murine macrophages. *Int J Immunopharmacol.*, 21(7), 435-43.
- Gordon, M. H. (1996). Dietary antioxidants in disease prevention. *Nat. Prod. Rep.*, 13, 265-273.
- Hammerstone JF, Lazarus, S A, Schmitz H H. (2000). Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *J Nutr.*, 130(8S Suppl), 2086S-92S.
- Hanasaki, Y., Ogawa, S. and Fukui, S. (1994). The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med.*, 16(6), 845-50.
- Harborne, J. B. (1999). Classes and functions of secondary products from plants. *Chemicals from Plants*, 1-25. https://doi.org/10.1142/9789812817273_0001
- Havsteen, B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol*, 32(7), 1141-8.
- Huang R.L., Chen C.C, Huang H.L., Chang C.G., Chen C.F., Chang C.M., Hsieh M.T. (2000). Anti-hepatitis B virus effects of wogonin isolated from *Scutellaria baicalensis*. *Planta Med.*, 66(8), 694-698.
- Huang W.H., Lee A.R., Chien, P.Y., Chou T.C. (2005). Synthesis of baicalein derivatives as potential anti-aggregatory and antiinflammatory agents. *J Pharm Pharmacol.*, 57(2), 219-25.
- Hwang J.M., Tseng T.H., Tsai Y.Y., Lee H.J., Chou F.P., Wang C.J., Chu C.Y. (2005). Protective effects of baicalein on tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rat hepatocytes. *J Biomed Sci.*, 12(2), 389-397.
- Inal ME, Kahraman A, Kökent T (2001). Beneficial effects of quercetin on oxidative stress induced by ultraviolet A. *Clin Exp Dermatol.*, 26(6), 536-9.
- Jeong, H.S., et al. (2015). Baicalin-induced Akt activation decreases melanogenesis through downregulation of microphthalmia-associated transcription factor and tyrosinase. *Eur J Pharmacol.*, 15(761),19-27.
- Jiang, L., Lu, J., Qin, Y., Jiang, W., Wang, Y. (2020). Antitumor effect of guava leaves on lung cancer: A network pharmacology study. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(11), 7773-7797.
- Johnston K, Sharp P, Clifford M, Morgan L (2005). Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal CaCO-2 cells. *FEBS Lett.*, 579(7), 1653-7.

- Kim Y-J, Uyama H (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cell Mol Life Sci.*, 62(15),1707-23.
- Kim, Y.-J. (2006). Antimelanogenic and Antioxidant Properties of Gallic Acid. *Biol. Pharm. Bull.*, 30(6) 1052-1055
- Kubo I & Kinst-Hori I (1999). Flavonols from saffron flower: tyrosinase inhibitory activity and inhibition mechanism. *J. Agric. Food Chem.*, 47(10), 4121–4125.
- Kühnau J (1976). The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet.*, 24, 117-191.
- Laily, N.; Kusumaningtyas, R.W.; Sukarti, I.; Rini, M.R.D.K. 2015. The potency of guava *Psidium guajava* (L.) leaves as a functional immunostimulatory ingredient. *Procedia Chem.*14, 301–307.
- Le Bourvellec, C. (2004). Inhibition of apple polyphenol oxidase activity by procyanidins and polyphenol oxidation products. *J Agric Food Chem.*, 52(1),122-30.
- Lee E-S, Lee H-E, Shin J-Y, Yoon S, Moon J-O (2003). The flavonoid quercetin inhibits dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats. *J Pharm Pharmacol.*, 55(8), 1169-74.
- Lee, J. H., Lee, S. H., Kim, Y. S., Jeong, C. S. (2009). Protective effects of neohesperidin and poncirin isolated from the fruits of *Poncirus trifoliata* on potential gastric disease. *Phytother Res.*, 23(12), 1748-53.
- Letan, A. (1966). The relation of structure to antioxidant activity of quercetin and some of its derivatives. *Food Science*, 31(3), 395-399.
- Li B, Tan J, Zou B, Liu X, Yu Y (2020). Exploring the potential effect and mechanisms of protocatechuic acid on human hair follicle melanocytes. *Acta Pharm.*, 70(4), 539-549.
- Li H, Ji H-S, Kang J-H, Shin D-H, Park H-Y, Choi M-S, Lee C-H, Lee I-K, Yun B-S, Jeong T-S (2015). Soy leaf extract containing kaempferol glycosides and pheophorbides improves glucose homeostasis by enhancing pancreatic β -cell function and suppressing hepatic lipid accumulation in db/db mice. *J Agric Food Chem.*, 63(32), 7198-210.
- Li, F., Zhang, B., Chen, G., Fu, X. (2017). The novel contributors of anti-diabetic potential in mulberry polyphenols revealed by UHPLC-HR-ESI-TOF-MS/MS. *Food Res Int.*, 100(Pt 1):873-884.
- Lin H.H., Chen, J.H., Huang C.C., Wang C.J. (2007). Apoptotic effect of 3,4-dihydroxybenzoic acid on human gastric carcinoma cells involving JNK/p38 MAPK signaling activation. *Int J Cancer.*, 20(11):2306-16.
- Lin, Y., Shi, R., Wang, X., Shen, H. M. (2008). Luteolin, a flavonoid with potential for cancer prevention and therapy. *Curr Cancer Drug Targets.*, 8(7), 634-46.

- Liu, C. L., Wang, J. M., Chu, C. Y., Cheng, M. T., Tseng, T. H. (2002). In vivo protective effect of protocatechuic acid on tert-butyl hydroperoxide-induced rat hepatotoxicity. *Food Chem Toxicol.*, 40(5):635-41.
- Luo, Y., Shang, P., Li, D. (2017). A flavonoid that has multiple cardio-protective effects and its molecular mechanisms. *Front Pharmacol.*, 8, 692.
- Markham, K. R. (1982). *Techniques of flavonoid identification*. London : New York.
- Merken H M, Beecher G R (2000). Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *J Agric Food Chem.*, 48(3), 577-99.
- Nabavi, S. F., Braidy, N., Gortzi, O., Sobarzo-Sanchez, E., Daglia, M., Skalicka-Woźniak, K., Nabavi, S. M. (2015). Luteolin as an anti-inflammatory and neuroprotective agent. *Brain Res Bull*, 119(Part A), 1-11.
- Naczka, M., and Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J Pharm Biomed Anal.*, 41(5), 1523-42.
- Nascimento, A. M., Maria-Ferreira, D., Dal Lin, F. T., Kimura, A., de Santana-Filho, A.P., Werner, M.F.D.P., deSouza, L.M. (2017). Phytochemical analysis and anti-inflammatory evaluation of compounds from an aqueous extract of croton cajucara benth. *J Pharm Biomed Anal.*, 145, 821-830.
- Nemeth K, P. G., Berrin JG, Juge N, Jacob R, Naim HY, Williamson G, Swallow DM, Kroon PA. (2003). Deglycosylation by small intestinal epithelial cell betaglucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans. *Eur J Nutr.*, 42(1), 29-42.
- Neuhouser M L (2004). Dietary flavonoids and cancer risk: evidence from human population studies. *Nutr Cancer.*, 50(1),1-7.
- Ohguchi, K., Nakajima, C., Oyama, M., Iinuma, M., Itoh, T., Akao, Y., Ito, M. (2010). Inhibitory effects of flavonoid glycosides isolated from the peel of Japanese persimmon (Diospyros kaki 'Fuyu') on melanin biosynthesis. *Biol Pharm Bull.*, 33(1), 122-4.
- Oršolić, N., Knežević, A. H., Šver, L., Terzić, S., Bašić, I. (2004). Immunomodulatory and antimetastatic action of propolis and related polyphenolic compounds. *J Ethnopharmacol.*, 94(2-3), 307-15.
- Panich, U.; Onkoksoong, T.; Limsaengurai, S.; Akarasereenont, P.; Wongkajornsilp, A. (2011). UVA-induced melanogenesis and modulation of glutathione redox system in different melanoma cell lines: The protective effect of gallic acid. *J Photochem Photobiol B.*, 108,16-22.
- Pei J, Chen A., Zhao L, Cao F, Ding G, Xiao W. (2017). One-pot synthesis of hyperoside by a Three-Enzyme Cascade Using a UDP-galactose regeneration System. *J Agric Food Chem.*, 65(29), 6042-6048.
- Perez-Vizcaino F, Duarte J, Andriantsitohaina R (2006). Endothelial function and cardiovascular disease: Effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radic Res.*, 40(10),1054-65.

- Popa VI, Agache C, Beleca C, Popa M (2002). Polyphenols from spruce bark as plant growth regulator. *Crop Research*, 24 (2002), 398-406.
- Popa, V. I., Dumitru, M., Volf, I., Anghel, N. (2008). Lignin and polyphenols as allelochemicals. *Industrial Crops and Products*, 27(2),144-149.
- Rice-Evans C. (2001). Flavonoid antioxidants. *Curr Med Chem.*, 8(7), 797-807.
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *J Agric Food Chem.*, 51(10), 2866-87.
- Ross, K. A., Beta, T., & Arntfield, S. D. (2009). A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chemistry*, 113(1), 336-344.
- Saija A, T. A., Trombetta D, Pellegrino ML, Tita B, Messina C, Bonina FP, Rocco C, Nicolosi G, Castelli F. (2003). In vitro antioxidant and photoprotective properties and interaction with model membranes of three new quercetin esters. *Eur J Pharm Biopharm.*, 56(2),167-74.
- Saito M, Hosoyama H, Ariga T, Kataoka S, and Yamaji N (1998). Antiulcer activity of grape seed extract and procyanidins. *J. Agric. Food Chem.* , 46(4), 1460-1464.
- Scheuer E, Warshaw E (2006). Sunscreen allergy: a review of epidemiology, clinical characteristics, and responsible allergens. *Dermatitis*, 17(1), 3-11.
- Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J. P., Williams, R. J., Cadenas, E., Rice-Evans, C. (2002). MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric acid. *Neurobiol Aging.*, 23(5), 861-80.
- Schved F, Kahn V (1992). Synergism exerted by 4-methyl catechol, catechol, and their respective quinones on the rate of DL-DOPA oxidation by mushroom tyrosinase. *Pigment Cell Res.*, 5(1), 41-8.
- Seo, Y. K., Kim, S. J., Boo, Y. C., Baek, J. H., Lee, S. H., Koh, J. S. (2011). Effects of p-coumaric acid on erythema and pigmentation of human skin exposed to ultraviolet radiation. *CED*, 36(3), 260-266.
- Sestili, P., Guidarelli, A., Dachà, M., Cantoni, O. (1998). Quercetin prevents DNA single strand breakage and cytotoxicity by tertbutylhydroperoxide: free radical scavenging versus iron chelating mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*, 25(2), 196-200.
- Singleton VL (1981). Naturally occurring food toxicants: phenolic substances of plant origin common in foods. *Adv Food Res.*, 27, 149-242.
- Sparkman, O.D., Price, P. (2000). *Mass spectrometry desk reference*. Pittsburgh, PA. : Global View Pub
- Steenberg PA, Garssen J, Dortant PM, van der Vliet H, Geerse E, Verlaan AP, Goettsch WG, Sontag Y, Bueno-de-Mesquita HB, van Loveren H. (1997). The effect of oral quercetin on UVB-induced tumor growth and local immunosuppression in SKH-1. *Cancer Lett.*, 114(1-2), 187-9.

- Stiefel C, Schwack W (2015). Photoprotection in changing times - UV filter efficacy and safety, sensitization processes and regulatory aspects. *Int J Cosmet Sci.*, 37(1), 2-30.
- Suchal, K., Malik, S., Khan, S. I., Malhotra, R. K., Goyal, S. N., Bhatia, J., Arya, D. S. (2017). Molecular pathways involved in the amelioration of myocardial injury in diabetic rats by kaempferol. *Int J Mol Sci.*, 18(5), 1001.
- Tuorkey, M. J. (2016). Molecular targets of luteolin in cancer. *Eur J Cancer Prev.*, 25(1), 65–76.
- Valenzuela, A., Nieto, S., Cassels, B. K., & Speisky, H. (1992). Inhibitory effect of boldine on fish oil oxidation. *JAOCS.*, 68(12), 935-937.
- Wu, Y., Sun, J., George, J., Ye, H., Cui, Z., Li, Z., Liu, Y. (2016). Study of neuroprotective function of *Ginkgo biloba* extract (EG b761) derived-flavonoid monomers using a three-dimensional stem cell-derived neural model. *Biotechnol Prog.*, 32(3), 735-44.
- Yang B, Yang Q, Yang X, Yan H-B, Lu Q-P (2016). Hyperoside protects human primary melanocytes against H₂O₂-induced oxidative damage. *Mol Med Rep.*, 13(6), 4613-9.
- Zadernowski, R., Czaplicki, S., & Naczka, M. (2009). Phenolic acid profiles of mangosteen fruits. *Food Chemistry*, 112(3), 685-689.
- Zhang, R., Hu, X., Zhang, B., Wang, Z., Hao, C., Xin, J., Guo, Q. (2020). Whitening Activity of Constituents Isolated from the *Trichosanthes* Pulp. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020: 2582579.
- Zhang, T., Qiu, Y., Luo, Q., Zhao, L., Yan, X., Ding, Q., Jiang, H., & Yang, H. (2018). The Mechanism by Which Luteolin Disrupts the Cytoplasmic Membrane of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *The journal of physical chemistry. B*, 122(4), 1427-1438 .
- Zhao, J., Zhang, S., You, S., Liu, T., Xu, F., Ji, T., Gu, Z. (2017). Hepatoprotective effects of nicotiflorin from *nymphaea candida* against concanavalin a-induced and d-galactosamine-induced liver injury in mice. *Int J Mol Sci.*, 18(3), 587.