



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102988264 A

(43) 申请公布日 2013.03.27

(21) 申请号 201210583217.0

(22) 申请日 2012.12.28

(71) 申请人 青岛华仁信息技术开发有限公司

地址 266071 山东省青岛市市南区中国香港
中路 32 号(五矿大厦)11 层 1101-A

(72) 发明人 杨高林

(74) 专利代理机构 北京科亿知识产权代理事务

所(普通合伙) 11350

代理人 汤东风

(51) Int. Cl.

A61K 8/98(2006.01)

A61K 8/97(2006.01)

A61Q 19/02(2006.01)

权利要求书 2 页 说明书 15 页

(54) 发明名称

银杏叶祛斑美白霜及其制备方法

(57) 摘要

本发明提供一种银杏叶祛斑美白霜,所述银杏叶祛斑美白霜各种原料的重量份数为:银杏叶 10~30 份,益母草 10~20 份,白芷 10~20 份,当归 10~20 份,白及 10~20 份,丹参 10~20 份,桃花 10~20 份,苍术 10~20 份,没药 10~20 份,金盏花 10~20 份,凌霄花 10~20 份,黄芩 10~20 份,白芍 10~20 份,金银花 10~20 份,合欢花 10~20 份,蜂胶 10~20 份,鸡血藤 10~20 份,薄荷 10~20 份,珍珠 10~20 份。银杏提取物具有很强的清除自由基和抗氧化作用,银杏叶中的黄甙、氨基酸和氨基酸合成胶原蛋白成份对人体美容,抑制黑色素生长,保持皮肤光泽与弹性起着不小的作用,适合长期使用。本发明适合夜间使用。

1. 一种银杏叶祛斑美白霜,其特征在于,包括以下重量份数的原料药:银杏叶 10~30 份,益母草 10~20 份,白芷 10~20 份,当归 10~20 份,白及 10~20 份,丹参 10~20 份,桃花 10~20 份,苍术 10~20 份,没药 10~20 份,金盏花 10~20 份,凌霄花 10~20 份,黄芩 10~20 份,白芍 10~20 份,金银花 10~20 份,合欢花 10~20 份,蜂胶 10~20 份,鸡血藤 10~20 份,薄荷 10~20 份,珍珠 10~20 份。

2. 根据权利要求 1 所述银杏叶祛斑美白霜,其特征在于,所述原料药的重量份数为:银杏叶 10~30 份,益母草 10~15 份,白芷 10~15 份,当归 10~15 份,白及 10~15 份,丹参 10~15 份,桃花 10~15 份,苍术 10~15 份,没药 10~15 份,金盏花 10~15 份,凌霄花 10~20 份,黄芩 10~20 份,白芍 10~20 份,金银花 10~20 份,合欢花 10~20 份,蜂胶 10~20 份,鸡血藤 10~20 份,薄荷 10~20 份,珍珠 10~20 份。

3. 根据权利要求 1 所述银杏叶祛斑美白霜,其特征在于,所述原料药的重量份数为:银杏叶 10~30 份,益母草 10~20 份,白芷 10~20 份,当归 10~20 份,白及 10~20 份,丹参 10~20 份,桃花 10~20 份,苍术 10~20 份,没药 10~20 份,金盏花 10~20 份,凌霄花 10~15 份,黄芩 10~15 份,白芍 10~15 份,金银花 10~15 份,合欢花 10~15 份,蜂胶 10~15 份,鸡血藤 10~15 份,薄荷 10~15 份,珍珠 10~15 份。

4. 一种如权利要求 1~3 中任一项所述银杏叶祛斑美白霜的制备方法,其特征在于,制备步骤包括:

- a. 银杏叶预备粉碎;
- b. 银杏叶提取;
- c. 银杏叶提取物抽滤;
- d. 银杏叶提取物浓缩成膏剂;
- e. 将剩余原料制成膏剂;
- f. 将上述得到的膏剂与制成的银杏叶提取物膏剂混合后加入甘油、防腐剂罐装。

5. 根据权利要求 4 所述银杏叶祛斑美白霜的制备方法,其特征在于:所述步骤 a 中,取新鲜银杏叶,洗净,晾干,于 70℃烘箱中,烘 8-12h,取出置于干燥箱内冷却,用粉碎机粉碎过 100 目筛,粉末置于棕色广口瓶中存储。

6. 根据权利要求 4 所述银杏叶祛斑美白霜的制备方法,其特征在于:所述步骤 b 中,取 60% 乙醇溶液;然后取银杏叶粉于 60% 乙醇中,在水浴锅内加热到 60℃~70℃,浸提 2h,每 10min 搅拌一次,用纱布过滤,残渣中加入 60% 乙醇 700mL,60℃~70℃继续浸提 2h,每 10min 搅拌一次,纱布过滤,合并浸提液。

7. 根据权利要求 4 所述银杏叶祛斑美白霜的制备方法,其特征在于:所述步骤 c 中,将银杏叶提取液先用纱布粗滤,去除大颗粒沉淀,以提高抽滤速度;安装抽滤仪器,往布氏漏斗中加入少量浸提液进行抽滤,抽滤结束后,取滤液弃滤渣。

8. 根据权利要求 4 所述银杏叶祛斑美白霜的制备方法,其特征在于:所述步骤 d 中,安装蒸馏、浓缩仪器,抽滤液中含大量乙醇溶液,用蒸馏装置进行乙醇浓缩,成膏状物体。

9. 根据权利要求 4 所述银杏叶祛斑美白霜的制备方法,其特征在于:所述步骤 e 中,先将苍术、薄荷和没药蒸馏法汽化成结晶物;再将剩余原料组份放入 10 倍量乙醇中,加热回流提取 2 次,每次 1~2 小时,将 2 次提取液合并静置;再将上述乙醇提取过的组份原料药材的药渣加 10 倍量水加热回流提取 2 次,每次 1~2 小时,将 2 次提取液合并静置;将上述

两种提取液合并,减压浓缩相对密度为 80℃时 1.36 时的滤液,回收乙醇,将所得滤液调整比重到 1.06,减压得浸膏剂。

10. 根据权利要求 4 所述银杏叶祛斑美白霜的制备方法,其特征在于:所述步骤 f 中,将步骤 e 中制得到浸膏与上述步骤制好的银杏叶提取物的浸膏剂混合后加入苍术、薄荷和没药蒸馏法汽化成结晶物,再加入甘油和防腐剂调和后罐装。

银杏叶祛斑美白霜及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及含有来源于植物组份的祛斑美白化妆品,特别涉及一种银杏叶祛斑美白霜及其制备方法。

背景技术

[0002] 银杏叶是一种具有很高药用价值的植物,银杏树是中国古老的树种之一,它是神奇的医疗之树,2亿5千多年前侏罗纪恐龙掌控地球时,银杏是最繁盛的植物之一。地球生命历经千亿万年的变动,尤其是第四世纪冰川覆盖之后,只有银杏仍保持它最原始的面貌,在生物演化学史上被称为“活化石”。其叶、果实、种子都有比较高的药用价值,其药理作用不断被认识,临床应用范围逐步扩大。银杏树又名白果树,是我国的瑰宝,珍稀可贵,被誉为地球的“长寿树”、“活化石”。

[0003] 现代人们的生活饮食过于精细,运动量减少,或暴饮暴食,或劳倦过度,使得人体代谢机能逐渐衰退,导致脏腑功能失调,容易引起面部黄褐斑、雀斑等色素沉着性病变。中医认为,面部色斑是因脏腑经络气血不调,血虚不容于面;或因七情内伤,肝郁气滞,肝脾不和;或因饮食劳倦,月经不调;或因火郁经络之血分,风邪外搏而发所致。采用西药治疗这类疾病,多是外擦或内服维生素类、黄酮醇类药物。由于致病原因较多,采用西药治疗效果不一,也不易根治,有些药副作用较大。

[0004] 妇女面色无华,面部有斑,其病理机制复杂,内分泌失调、紫外线照射、药物与化妆品、精神因素等均可导致本病的发生。黄褐斑与肝、肾有关而后天失调,脾失健运,气血不能上荣于面,亦生褐斑。总之,本病与肝、脾、肾三脏,尤其与肝脏关系密切。黄褐斑又名黧黑斑,表现为面黑、黧黑、面尘、面垢、肝斑、面生黑斑等症状,为一种多因性色素沉着病,影响患者容貌,给其造成严重的心理压力。

[0005] 银杏叶中含有天然活性黄酮及苦内酯等与人体健康有益的多种成份,具有溶解胆固醇,扩张血管的作用,对改善脑功能障碍、动脉硬化、高血压、眩晕、耳鸣、头痛、老年痴呆、记忆力减退等有明显效果。其防病、治病、健身的价值在明代李时珍的《本草纲目》中早有记载。经国家卫生部门检测证明:饮用银杏茶可明显降低血清胆固醇、甘油三脂和低密度脂蛋白,减少体内贮存脂肪的作用。对于高血脂的调节、高血压和冠心病等心脑血管系统疾病患者辅助性防治以及肥胖型人群的减肥等有良好的功效,是预防治疗老年痴呆的理想饮品。是目前世界公认的治、防心脑血管疾病最理想的药物成份。敛肺,平喘,活血化瘀,止痛。用于肺虚咳嗽;冠心病,心绞痛,高血脂,抗凝固,有一定概率提高记忆力。银杏叶虽能促进血液循环,预防心血管病,但不能同时服用其它治心血管药物(例如阿司匹林),银杏提取物具有很强的清除自由基和抗氧化作用,银杏叶中的黄甙、氨基酸和氨基酸合成胶原蛋白成份对人体美容,抑制黑色素生长,保持皮肤光泽与弹性起着不小的作用。

[0006] 银杏叶保健作用虽然很强,但银杏叶含有毒成分,用其泡茶喝可引起阵发性痉挛、神经麻痹、瞳孔放大、过敏和其它副作用。孕妇与幼儿,老人都要谨慎。银杏叶中有一种成分叫银杏酸,如果用的剂量过大,或者服用时间比较长,会损害心脏。银杏内含有大量的银

杏酸,银杏酸是含有毒性的,一般买来的叶子未经过深加工和提取,里面的银杏酸含量高达3000-4000ppm,特别银杏酸是水溶性的,一泡水不但没有吃到里面的银杏黄酮和银杏内脂等有效物质,反而效果是相反的,里面全是毒。银杏酸,使用不当或剂量太大,很容易造成中毒。所以目前迫切需要一种工艺,既能开发使用银杏叶的保健作用,又使其有毒的物质降到最低。孕妇与幼儿,老人都要谨慎。

[0007] 目前,多数研究认为,色斑患者皮损部位黑色素细胞活性增强,黑素和黑素小体均增加,进而表现出色斑。病理状态下,真皮内巨噬细胞可吞噬滴落入真皮的黑色素体,或沉着于真皮上层,或在细胞内降解,一部分经淋巴转移。色素的产生与排泄失去平衡,并过剩地聚集在表皮细胞内的部分,就形成色素沉着。黑色素的排泄有两条途径:一是从肾内排泄,另一是经皮肤排出,即黑色素被转移到角质蛋白中,随表皮生长移行到角质层,最后随角质层周期换新而脱落。治疗色斑的方法包括针灸推拿(如局部针刺、体针、穴位注射、拔罐、刮痧、推拿、神阙穴贴敷、埋线、埋针、耳穴等)、外治法(如乳霜、面膜、洗剂、熏蒸方)和方药治疗等。已有方药包括祛斑霜、加味祛斑霜、六味地黄汤、桃红四物汤、血府逐瘀汤、二至丸、归脾汤等;最常用的中药依次为当归、茯苓、川芎、白芍、柴胡、红花、甘草、熟地、白术、桃仁、丹皮、生地、赤芍、丹参、白芷、山萸肉、益母草、山药、女贞子、苍术等。但这些治疗方法的效果不是很理想,不能从根本上治疗色斑,并且还有一定的副作用。因此,提高一种高效安全的防治色斑,祛斑美白霜皮肤的中药保健品已成为人们的迫切需求。

发明内容

[0008] 本发明所要解决的技术问题在于,针对现有技术存在很多缺陷,比如银杏叶含有毒成分,银杏叶中有一种成分叫银杏酸,如果用的剂量过大,或者服用时间比较长,会损害心脏。但银杏提取物具有很强的清除自由基和抗氧化作用,银杏叶中的黄甙、氨基酸和氨基酸合成胶原蛋白成份对人体美容,抑制黑色素生长,保持皮肤光泽与弹性起着不小的作用,但提炼起来难度颇大。本发明解决了银杏叶有毒性的缺点;并且极大的保留了银杏叶的有益成分,使其没有在加工中流失,在制作中避免了二次污染,完全是绿色健康环保的保健品。加上一些活血化瘀,补气活血、补气升阳、疏肝解郁、平肝潜阳、滋阴补肾、清热解毒、抑制黑色素生长的天然中药,能扶正祛邪,通腑泄毒,活血散瘀,调节皮肤的新陈代谢机能,达到提高人体血液循环及皮肤解毒能力,达到美化肌肤,美白祛斑的作用。

[0009] 为解决上述技术问题,本发明提供一种银杏叶祛斑美白霜,其所述银杏叶祛斑美白霜各种原料的重量份数为:银杏叶10~30份,益母草10~20份,白芷10~20份,当归10~20份,白及10~20份,丹参10~20份,桃花10~20份,苍术10~20份,没药10~20份,金盏花10~20份,凌霄花10~20份,黄芩10~20份,白芍10~20份,金银花10~20份,合欢花10~20份,蜂胶10~20份,鸡血藤10~20份,薄荷10~20份,珍珠10~20份。

[0010] 所述银杏叶祛斑美白霜,其所述银杏叶祛斑美白霜各种原料的重量份数可以优选为:银杏叶10~30份,益母草10~15份,白芷10~15份,当归10~15份,白及10~15份,丹参10~15份,桃花10~15份,苍术10~15份,没药10~15份,金盏花10~15份,凌霄花10~20份,黄芩10~20份,白芍10~20份,金银花10~20份,合欢花10~20份,蜂胶10~20份,鸡血藤10~20份,薄荷10~20份,珍珠10~20份。

[0011] 所述银杏叶祛斑美白霜,其特征在于,所述银杏叶祛斑美白霜各种原料的重量份数还可以优选为:银杏叶 10~30 份,益母草 10~20 份,白芷 10~20 份,当归 10~20 份,白及 10~20 份,丹参 10~20 份,桃花 10~20 份,苍术 10~20 份,没药 10~20 份,金盏花 10~20 份,凌霄花 10~15 份,黄芩 10~15 份,白芍 10~15 份,金银花 10~15 份,合欢花 10~15 份,蜂胶 10~15 份,鸡血藤 10~15 份,薄荷 10~15 份,珍珠 10~15 份。

[0012] 为解决上述技术问题,本发明还提供了一种银杏叶祛斑美白霜的制备方法,所述祛斑美白霜霜的制备步骤包括:

[0013] a. 银杏叶预备粉碎;

[0014] b. 银杏叶提取;

[0015] c. 银杏叶提取物抽滤;

[0016] d. 银杏叶提取物浓缩成膏剂;

[0017] e. 将剩余原料组份制成膏剂;

[0018] f. 将上述得到的膏剂与制成的银杏叶提取物膏剂混合后加入甘油、防腐剂后罐装。

[0019] 所述步骤 a 中,可以取新鲜银杏叶,洗净,晾干,于 70℃烘箱中,烘 8-12h,取出置于干燥箱内冷却,用粉碎机粉碎过 100 目筛,粉末置于棕色广口瓶中存储。

[0020] 所述步骤 b 中,可以取 60% 乙醇溶液;然后取银杏叶粉于 60% 乙醇中,在水浴锅内加热到 60℃~70℃,浸提 2h,每 10min 搅拌一次,用纱布过滤,残渣中再加入 60% 乙醇,60℃~70℃继续浸提 2h,每 10min 搅拌一次,纱布过滤,合并浸提液。

[0021] 所述步骤 c 中,可以将银杏叶提取液先用纱布粗滤,去除大颗粒沉淀,以提高抽滤速度;安装抽滤仪器,往布氏漏斗中加入少量浸提液进行抽滤,抽滤结束后,取滤液弃滤渣。

[0022] 所述步骤 d 中,可以安装蒸馏、浓缩仪器,抽滤液中含大量乙醇溶液,用蒸馏装置进行乙醇浓缩,成膏状物体。

[0023] 所述步骤 e 中,可以先将苍术、薄荷和没药蒸馏法汽化成结晶物,再将剩余原料组份放入 10 倍量乙醇中,加热回流提取 2 次,每次 1~2 小时,将 2 次提取液合并静置;再将上述乙醇提取过的组份原料药材的药渣加 10 倍量水加热回流提取 2 次,每次 1~2 小时,将 2 次提取液合并静置;将上述两种提取液合并,减压浓缩相对密度为 80℃时 1.36 时的滤液,回收乙醇,将所得滤液调整比重到 1.06,减压得浸膏剂。

[0024] 所述步骤 f 中,可以将步骤 9 中制得到浸膏与上述步骤制好的银杏叶提取物的浸膏剂混合后加入汽化后的结晶物,加入甘油和防腐剂调和后罐装。

[0025] 本发明适合在夜间 21-23 点期间使用。使用时均匀涂抹于面部,早上起床后清洗即可。适合每天长期使用。夜间是肌肤自我修复,美白保湿等功能性化妆品显效的最佳时机,本发明在此期间使用,可以达到抑制黑色素生长,保持皮肤光泽与弹性作用。

[0026] 银杏提取物具有很强的清除自由基和抗氧化作用,银杏叶中的黄甙、氨基酸和氨基酸合成胶原蛋白成份对人体美容,抑制黑色素生长,保持皮肤光泽与弹性起着不小的作用,适合长期使用,不会对身体造成伤害。本发明解决了银杏叶有毒性的缺点;并且极大的保留了银杏叶的有益成分,使其没有在加工中流失,在制作中避免了二次污染,完全是绿色

健康环保的化妆品。加上一些活血化瘀,补气活血、补气升阳、疏肝解郁、平肝潜阳、滋阴补肾、清热解毒、活化肌肤细胞,美白祛斑的天然中药,抑制黑色素生长,通腑泄毒,活血散瘀,调节人体的新陈代谢机能,提高人体血液循环及皮肤解毒能力,达到美化肌肤,祛斑美白的作用。

具体实施方式

[0027] 现代医学美白祛斑的原理主要是抑制黑色素细胞活性、抑制黑色素合成、去除已经生成的黑色素、破坏黑色素颗粒及运用具有防光效应的遮光剂等。目前主要有以下几种方法:(1)内服或静脉给予维生素 C,同时配合维生素 E 使用,可阻止黑色素代谢的氧化过程,抑制黑色素形成。(2)局部外用氢醌霜,可抑制酪氨酸转化为黑色素而阻止黑色素的生物合成,抑制黑色素颗粒的形成并增加其降解,抑制黑色素细胞 DNA 和 RNA 的合成。或用 20%的壬二酸霜局部外涂,壬二酸霜为酪氨酸酶的竞争性抑制剂,可直接干扰生物合成。不影响正常黑色素细胞,结合广谱遮光剂治疗表皮型和混合型色斑有一定疗效。或局部外用维甲酸霜,可抑制体外培养的黑素瘤细胞酪氨酸酶活性,阻止黑色素向角质形成细胞的转运,同时减少角质形成,增加药物渗透。或外用 3%熊果甙霜剂或洗剂等治疗。有关色斑的外治药物,西药主要是剥脱剂(如维甲酸、水杨酸)、糖皮质激素制剂、铅汞制剂、氧化剂或还原剂(如氢醌、双氧水),都有不同程度的副作用或引起某些并发症。而中药制品则因其取材天然、安全性好、低副作用、文献资料丰富、临床疗效佳而备受青睐。中药面霜疗法在色斑,美白皮肤的治疗中,近年来得到了广泛的应用,多数临床报道中药面霜美白祛斑取得较为明显的效果。

[0028] 中医气血理论认为,气血循环过程是人体一切组织器官进行工作的物质基础,气血以流畅平衡为贵,如果气血不流畅就会产生瘀血,瘀血阻于体内,将进一步导致气血循环的恶化,造成更严重的瘀塞,故中医以气血为纲,通过调气活血使之流畅平衡,可祛病强身、养血美容。皮肤斑点之根本在瘀,退斑必先祛瘀、祛瘀当须活血,活血更须补气、理气,气为血之帅,血随之而运行;血为气之守,气得之而静谧,气结则血凝,气虚则血脱,气迫则血走。气血和则俱和。而理气在肝,补气在肺肾,肺主皮毛。因气滞血瘀,影响到肺脾肝肾的气血运行功能,而致面部出现黄褐斑、雀斑等色斑,甚至出现头发脱落、斑秃。本发明主要根据传统中医学辨正施治的原理,集众医家所长,提取精华;基于中医学对面部色斑的发病机理的认识及治疗原则,参考古今中医学药理研究成就,筛选补气活血、补气升阳、疏肝解郁、平肝潜阳、滋阴补肾、清热解毒、清热泻火的天然中药,扶正祛邪,通腑泄毒,活血散瘀,调节人体的新陈代谢机能,提高人体血液循环及肝脏解毒能力,达到美化肌肤的作用。银杏提取物具有很强的清除自由基和抗氧化作用,银杏叶中的黄甙、氨基酸和氨基酸合成胶原蛋白成份对人体美容,抑制黑色素生长,保持皮肤光泽与弹性起着不小的作用。

[0029] 银杏叶中 VC、VE、胡萝卜素及钙、磷、硼、硒等矿物元素含量也十分丰富,超过一般水果蔬菜及可食植物原料。生物抗氧化剂是机体内直接和间接的具有抗氧化功能的一类物质。在银杏叶中含有两类抗氧化剂——营养性抗氧化剂及非营养性抗氧化剂。前者主要有胡萝卜素、VC、VE、硒、锌、铜等,后者主要有银杏黄酮、萜内酯、儿茶素、多酚类等,含量也十分丰富,它们在保护机体不受自由基所致的氧化损伤方面具有十重要的作用。因此,银杏叶集营养、保健、治疗功能为一体,将银杏叶作为高营养、保健功能价值的资源加以开发利用,

这对于提高银杏叶综合利用率有重要意义。银杏叶的开发利用从 20 世纪 30 年代起,日本和西德即开始了银杏叶的研究。随着现代药理研究的不断深入,发现银杏叶中不但含有黄酮类物质,而且还有萜内酯类、酚类等化合物,它们卓越的药理作用已被人们逐渐认识。临床观察证明,银杏叶有下面几种功效:1、降低人体血液中胆固醇水平,防止动脉硬化。对中老年人轻微活动后体力不支、心跳加快、胸口疼痛、头昏眼花等有显著改善作用。2、通过增加血管透性和弹性而降低血压,有较好的降压功效。3、消除血管壁上的沉积成分,改善血液流变化,增进红细胞的变形能力,降低血液粘稠度,使血流通畅,可预防和治疗脑出血和脑梗塞。对动脉硬化引起的老年性痴呆症亦有一定疗效。银杏叶制剂与降糖药合用治疗糖尿病有较好疗效,可用于糖尿病的辅助药。5、能明显减轻经期腹痛及腰酸背痛等症状。6、用于支气管哮喘的治疗,也有较好疗效。7、降低脂质过氧化水平,减少雀斑,润泽肌肤,美丽容颜。8、通便、利尿、排毒、解毒。9、对妇女更年期综合症有明显的改善作用。

[0030] 本发明孕妇与幼儿,老人都要谨慎。银杏叶中有一种成分叫银杏酸,如果用的剂量过大,或者服用时间比较长,会损害心脏。

[0031] 本发明克服银杏叶有毒不宜提取的缺陷,极大的保留了银杏叶的有益成分,使其没有在加工中流失,在制作中避免了二次污染,完全是绿色健康环保的化妆品。银杏提取物具有很强的清除自由基和抗氧化作用,银杏叶中的黄甙、氨基酸和氨基酸合成胶原蛋白成份对人体美容,抑制黑色素生长,保持皮肤光泽与弹性起着不小的作用,适合长期使用,不会对身体造成伤害。并且加上一些活血化瘀,补气活血、补气升阳、疏肝解郁、平肝潜阳、滋阴补肾、清热解毒、活化肌肤细胞,美白祛斑的天然中药,抑制黑色素生长,通腑泄毒,活血散瘀,调节人体的新陈代谢机能,提高人体血液循环及皮肤解毒能力,达到美化肌肤,祛斑美白的作用。

[0032] 益母草味辛苦、凉。活血、祛瘀、调经、消水。治疗妇女月经不调,胎漏难产,胞衣不下,产后血晕,瘀血腹痛,崩中漏下,尿血、泻血,痈肿疮疡。益母草含益母草碱、延胡索酸等物质,有活血调经、降血压、利尿消肿等作用。

[0033] 白及性苦、甘、涩,微寒。归肺、肝、胃经。功能主治收敛止血,消肿生肌。用于咳血吐血,外伤出血,疮疡肿毒,皮肤皲裂;肺结核咳血,溃疡病出血。《神农本草经》:“主痈肿、恶疮、败疽,伤阴死肌,胃中邪气”;《本草纲目》:“气味(根)苦、平、无毒。”

[0034] 白芷性味归经:辛,温。归肺、胃经。祛风散寒,通窍止痛,消肿排脓,燥湿止带。《日华子本草》:治目赤胬肉,及补胎漏滑落,破宿血,补新血,乳痈、发背、瘰疬、肠风、痔瘕,排脓,疮痍、疥癣,止痛生肌,去面疔疵瘢。

[0035] 金盏花为为菊科金盏菊属植物金盏菊(拉丁名 *Cymbopogon citrat*) 的干燥花朵。金盏花性味淡平,花、叶有消炎、抗菌作用。根能行气活血,花可凉血、止血。超强的愈合能力,杀菌收敛伤口,治理发炎,暗疮,毛孔粗大,防止疤痕的产生。能镇定肌肤,改善敏感性肤质。具有修护疤痕的功效。能促进皮肤的新陈代谢。尤其针对干燥的肌肤,有高度的滋润效果。郁金辛、苦,寒。归肝、心、肺经。功能主治行气化瘀,清心解郁,利胆退黄。用于经闭痛经,胸腹胀痛、刺痛,热病神昏,癫痫发狂,黄疸尿赤。行气解郁,凉血破瘀。治胸腹胁肋诸痛,失心癫狂,热病神昏,吐血,衄血,尿血,血淋,妇女倒经,黄疸。《药性论》载其:治女人宿血气心痛,冷气结聚,温醋摩服之。《唐本草》载其:主血积,下气,生肌,止血,破恶血,血淋,尿血,金疮。

[0036] 凌霄花一种传统中药材,具有行血去瘀、凉血祛风利湿,清热解毒,味辛酸,性微寒归肝、心包经、功能活血散瘀,凉血祛风。主治月经不调、经闭症瘕、产后乳肿、皮肤瘙痒。《本草衍义补遗》:凌霄花,治血中痛之要药也,且补阴捷甚,盖有守而独行,妇人方中多用何哉。《南宁市药物志》:有消炎解毒、止血止痛、排脓生肌之功,治红白痢。

[0037] 合欢花含有合欢甙,鞣质,解郁安神,理气开胃,活络止痛,用于心神不安、忧郁失眠。治郁结胸闷,失眠,健忘,风火眼,能安五脏,和心志,悦颜色,有较好的强身、镇静、安神、美容的作用,也是治疗神经衰弱的佳品。也具有清热解暑,养颜祛斑解酒等功效。《本草经》说:“合欢花能安五脏,和心志,悦颜色。”尤其对孕妇,有较好的强身、镇静、安神、美容的作用,也是治疗神经衰弱的佳品。

[0038] 鸡血藤性苦、甘,温。归肝、肾经,补血,活血,通络。用于月经不调,血虚萎黄,麻木瘫痪,风湿痹痛活血舒筋;养血调经,《本草纲目拾遗》载其能医手足麻木;肢体瘫痪;风湿痹痛;凌霄花,鸡血藤内服是治疗血淤不散,养血化淤活血的良药。

[0039] 黄芩有清热燥湿,凉血安胎,解毒功效。主治温热病、上呼吸道感染、肺热咳嗽、湿热黄胆、肺炎、痢疾、咳血、目赤、胎动不安、高血压、痈肿疔疮等症。黄芩的临床应用抗菌比黄连还好,而且不产生抗药性。苦,寒。归肺、胆、脾、大肠、小肠经。清热燥湿,泻火解毒,止血,安胎,降血压。用于湿温、暑温胸闷呕恶,湿热痞满,泻痢,黄疸,肺热咳嗽,高热烦渴,血热吐衄,痈肿疮毒,胎动不安。

[0040] 丹参苦,微寒。归心、肝经。祛瘀止痛,活血通经,清心除烦。用于月经不调,经闭痛经,症瘕积聚,胸腹刺痛,热痹疼痛,疮疡肿痛,心烦不眠。用于胸肋胁痛,风湿痹痛,症瘕结块,疮疡肿痛,跌仆伤痛,月经不调,经闭痛经,产后瘀痛等。治疗胸肋疼痛、症瘕结块,以及月经不调、经闭经痛具有良效。《纲目》载:丹参,按《妇人明理论》云,四物汤治妇人病,不问产前产后,经水多少,皆可通用,惟一味丹参散,主治与之相同。盖丹参能破宿血,补新血,安生胎,落死胎,止崩中滞下,调经脉。丹参主要成分丹参酮有扩张血管、改善循环、解除血管内凝血等作用,具有活血化痕之功效,并能促进肝脏血液循环,利于肝细胞再生。

[0041] 蜂胶 (bee glue) 素有“血管清道夫”之美誉,近年来国内外学者所做的大量研究表明,蜂胶中的黄酮类 (flavonoid) 成分及多种活性成分,可以改善血管的弹性和渗透性,舒张血管,清除血管内壁积压存物,净化血液、降低血脂,降低血液粘稠度,改善组织微循环状态,并且具有较强的抗氧化、清除自由基的作用。毒理学实验结果表明蜂胶为实际无毒物质,因此通过长期服用蜂胶预防和治疗高脂血症是安全可行的。

[0042] 当归,其味甘而重,故专能补血,其气轻而辛,故又能行血,补中有动,行中有补,诚血中之气药,亦血中之圣药。大约佐之以补则补,故能养营养血,补气生精,安五脏,强形体,益神志,凡有形虚损之病,无所不宜。佐之以攻则通,故能祛痛通便,利筋骨,治拘挛、瘫痪、燥、涩等证。营虚而表不解者,佐以柴、葛、麻、桂等剂,大能散表卫热,而表不敛者,佐以大黄之类,又能固表。惟其气辛而动,故欲其静者当避之,性滑善行,大便不固者当避之。凡阴中火盛者,当归能动血,亦非所宜,阴中阳虚者,当归能养血,乃不可少。

[0043] 白芍入肝、脾经,养血柔肝,缓中止痛,敛阴收汗。治胸腹胁肋疼痛,泻痢腹痛,自汗盗汗,阴虚发热,月经不调,崩漏,带下,妇人血闭不通,消瘀血,能蚀脓,益女子血。《日华子本草》:治风、补劳,主女人一切病,并产前后诸疾,通月水,退热,除烦,益气,天行热疾,瘟瘧,惊狂,妇人血运,及肠风,泻血,痔瘻。发背,疮疥,头痛,明目,目赤努肉。赤色者多补气,

白者治血。

[0044] 金银花,为中药材和植物的统称。植物金银花又名忍冬,为忍冬科多年生半常绿缠绕木质藤本植物。“金银花”一名出自《本草纲目》,由于金银花初开为白色,后转为黄色,因此得名金银花。药材金银花为忍冬科忍冬属植物忍冬及同属植物干燥花蕾或带初开的花。金银花自古被誉为清热解毒的良药。它性甘寒气芳香,甘寒清热而不伤胃,芳香透达又可祛邪。金银花既能宣散风热,还善清解血毒,用于各种热性病,如身热、发疹、发斑、热毒疮痍、咽喉肿痛等证,均效果显著。金银花还有美白肌肤、消肿明目的作用。

[0045] 薄荷它是辛凉性发汗解热药,治流行性感、头疼、目赤、身热、咽喉、牙床肿痛等症。外用可治神经痛、皮肤瘙痒、皮疹和湿疹等。从薄荷中提炼出来的精油可用于芳香疗法以及制作香水和化妆品,保护皮肤。薄荷含有挥发油、薄荷精以及单宁等物质,有助于抚平愤怒、沮丧等负面情绪,是消除疲劳、缓解压力、平心静气的心灵补药。

[0046] 桃花为蔷薇科植物桃花(拉丁名:Prunus persica)的干燥花朵。桃花可制成桃花丸、桃花茶等食品。其具有很高的观赏价值,是文学创作的常用素材。此外,桃花中元素有疏通经络、滋润皮肤的药用价值。桃花中含有多种维生素和微量元素,这些物质能疏通经络,扩张末梢毛血管,改善血液循环,促进皮肤营养和氧供给,滋润皮肤。防止色素在皮肤内慢性沉淀,有效地清除体表中有碍美容的黄褐斑、雀斑、黑斑。《千金药方》载:“桃花三株,空腹饮用,细腰身。”《名医别录》载:“桃化味苦、平、主除水气、利大小便,下三虫。”桃花性味甘,平无毒,可消食顺气,痰饮,积滞,小便不利,经闭。本方单味减肥美容护肤,是极好的美容品。桃花的美容作用,主要是源于花中含有山奈酚、香、豆精、三叶豆甙和维生素A、B、C等营养物质。这些物质能扩张血管,疏通脉络,润泽肌肤,改善血液循环,促进皮肤营养和氧供给,使促进人体衰老的脂褐质素加快排泄,防止黑色素在皮肤内慢性沉积,从而能有效地预防黄褐斑、雀斑、黑斑、碧桃中还富含植物蛋白和呈游离状态的氨基酸,容易被皮肤吸收,对防治皮肤干燥、粗糙及皱纹等有效,还可增强皮肤的抗病能力,从而防治皮肤病、脂溢性皮炎、化脓性皮炎、坏血病等,对皮肤大有裨益

[0047] 苍术具有燥湿健脾,祛风湿的功效。主治湿阻中焦,风寒湿痹,脚膝肿痛,痿软无力,雀目夜盲。《珍珠囊》曰:“能健胃安脾,诸湿肿非此不能除。”《本草纲目》曰:“治湿痰留饮……及脾湿下流,浊沥带下,滑泻肠风。”《本草纲目》:治湿痰留饮,或挟瘀血成窠囊,及脾湿下流,浊沥带下,滑泻肠风。

[0048] 没药主治胸腹瘀痛、痛经、经闭、症瘕、跌打损伤、痈肿疮疡、肠痛、目赤肿痛。有活血止痛、消肿生肌等功效。抗菌、抗微生物、抗炎、收敛、具香胶特质、除臭、祛肠胃胀气、消毒、利尿、通经、化痰、杀霉菌、激励、利胃、催汗、补身、利子宫、治创伤,对干裂、脱粗糙皮肤有助益。《本草衍义》:没药,大概通滞血,打扑损疼痛,皆以酒化服。血滞则气壅凝,气壅凝则经络满急,经络满急,故痛且肿。凡打扑着肌肉须肿胀者,经络伤,气血不行,壅凝,故如是。

[0049] 珍珠:镇心安神,养阴熄风,清热坠痰,去翳明目,解毒生肌。治惊悸,怔忡,癫痫,惊风搐搦,烦热消渴,喉痹口疳,目生翳障,疮疡久不收口。明代李时珍重视珍珠的药理作用,认为珍珠的药效在美肤,因而在《本草纲目》中特别写道:“珍珠味咸甘寒无毒,镇心点目;珍珠涂面,令人润泽好颜色。涂手足,去皮肤逆胼;坠痰,除面斑,止泻;除小儿惊热,安魂魄;止遗精白浊,解痘疗毒。令光泽洁白”等。同时,它还记载了珍珠药用的多种方法。抑制脂褐素和清除自由基的作用:小鼠腹腔注射珍珠粉混悬液 200mg/(kg·天)×25天,可使

心肌和脑组织中的脂褐素含量明显降低,对肝脏组织无明显影响。从三角蚌珍珠粉中提取的PFC及其分离后的产物,用化学发光法测定其对O之自由基的作用。结果表明,两者均有抑制发光作用,PFC提纯后的单体成分PCM-1作用较强,可抑制体内自由基反应。

[0050] 具体实施例1:

[0051] 预备:取新鲜银杏叶,洗净,晾干,于70℃烘箱中,烘9h(时间视样品水分含量定,可以8~12h),取出置于干燥箱内冷却,用粉碎机粉碎过80目筛,粉末置于棕色广口瓶中存储。

[0052] 浸提:配制60%乙醇溶液(取640mL95%乙醇,360mL纯净水配成60%乙醇溶液)。取100g银杏叶粉于700mL60%乙醇中,在水浴锅内加热到60℃~70℃,浸提2h,每10min搅拌一次,用纱布过滤,残渣中加入60%乙醇700mL,60℃~70℃继续浸提2h,每10min搅拌一次,纱布过滤,合并浸提液。同时做平行实验。

[0053] 抽滤:先用纱布粗滤,去除大颗粒沉淀,以提高抽滤速度。安装抽滤仪器,往布氏漏斗中加入少量浸提液进行抽滤,由于银杏叶中含有胶状沉淀物,滤纸易造成堵塞,导致抽滤速度下降,故应经常更换滤纸。抽滤结束后,取滤液弃滤渣。

[0054] 蒸馏、浓缩:安装蒸馏、浓缩仪器,抽滤液中含大量乙醇溶液,用蒸馏装置进行乙醇浓缩。一定量的乙醇也具有杀菌作用,在测定提取物抑菌作用时,应尽量排除乙醇溶剂的干扰,使乙醇完全挥发干净。为了不破坏提取物中有效成分,水浴温度控制在60℃~70℃,而95%乙醇的沸点在75℃左右,故蒸馏速度慢,时间长。可采取简单的方法,直接水浴加热,在空气中挥发乙醇,此法缺点:不能回收乙醇。最终得到的提取物为一部分沉淀浸膏,颜色为深棕色粘稠物。

[0055] 干燥:由于浓缩的浸提液中仍含有部分乙醇和水分,采用真空干燥法,温度控制在60℃~70℃之间,利用增大真空度来降低沸点,去除最后的乙醇和残留的部分水分。如果条件允许还可以采用冰冻干燥法干燥。此时的提取物中除含有黄酮类和内酯外,还含有一定量的杂质。

[0056] 其余原料制粒:将其余原料益母草,白芷,当归,白及,丹参,桃花,苍术,没药,金盏花,凌霄花,黄芩,白芍,金银花,合欢花,蜂胶,鸡血藤,薄荷,珍珠浓缩制成浸膏。

[0057] 包装:将上述制好的浸膏,与前述银杏叶提取物混合,加适量甘油调和,罐装。

[0058] 具体实施例2:

[0059] 采摘1000g鲜嫩的银杏叶,洗净,晾干,于70℃烘箱中,烘10h,取出置于干燥箱内冷却,用粉碎机粉碎过60目筛,粉末置于棕色广口瓶中存储配制60%乙醇溶液。取1000g银杏叶粉于7000mL60%乙醇中,在水浴锅内加热到60℃~70℃,浸提2h,每10min搅拌一次,用纱布过滤,残渣中加入60%乙醇7000mL,60℃~70℃继续浸提2h,每10min搅拌一次,纱布过滤,合并浸提液。同时做平行实验。先用纱布粗滤,去除大颗粒沉淀,以提高抽滤速度。安装抽滤仪器,往布氏漏斗中加入少量浸提液进行抽滤,由于银杏叶中含有胶状沉淀物,滤纸易造成堵塞,导致抽滤速度下降,故应经常更换滤纸。抽滤结束后,取滤液弃滤渣,抽滤液中含大量乙醇溶液,用蒸馏装置进行乙醇浓缩。一定量的乙醇也具有杀菌作用,在测定提取物抑菌作用时,应尽量排除乙醇溶剂的干扰,使乙醇完全挥发干净。为了不破坏提取物中有效成分,水浴温度控制在60℃~70℃,而95%乙醇的沸点在75℃左右,故蒸馏速度慢,时间长。可采取简单的方法,直接水浴加热,在空气中挥发乙

醇，此法缺点：不能回收乙醇。最终得到的提取物为一部分沉淀浸膏，颜色为深棕色粘稠物。由于浓缩的浸提液中仍含有部分乙醇和水分，采用真空干燥法，温度控制在 60℃～70℃之间，利用增大真空度来降低沸点，去除最后的乙醇和残留的部分水分。先将苍术 500g，没药 500g，薄荷 500g 蒸馏法汽化，蒸馏成结晶体，将其余益母草 500g，白芷 500g，当归 500g，白及 500g，丹参 500g，桃花 500g，金盏花 500g，凌霄花 500g，黄芩 500g，白芍 500g，金银花 500g，合欢花 500g，蜂胶 500g，鸡血藤 500g，珍珠 500g 将其放入 10 倍量乙醇中，加热回流提取 2 次，每次 1～2 小时，将 2 次提取液合并静置；再将上述乙醇提取过的组份原料药材的药渣加 10 倍量水加热回流提取 2 次，每次 1～2 小时，将 2 次提取液合并静置；将上述两种提取液合并，减压浓缩相对密度为 1.36(80℃) 的滤液，回收乙醇，将所得滤液调整比重到 1.06，减压得浸膏；然后与上述步骤得到的银杏叶提取物浸膏，和汽化后得到的结晶体，用乳化剂，例如聚山梨酯-80、没酸山梨坦、普流罗尼克 F-68，卵磷脂、豆磷脂；抗氧化剂，例如亚硫酸钠、焦亚硫酸钠、二丁基苯酸等；增溶剂，例如吐温-80、胆汁、甘油等调和，罐装。

[0060] 具体实施例 3：

[0061] 采摘 500g 银杏叶，洗净，晾干，于 70℃烘箱中，烘 9h，取出置于干燥箱内冷却，用粉碎机粉碎过 60 目筛，粉末置于棕色广口瓶中存储配制 60% 乙醇溶液（取 640mL 95% 乙醇，360mL 纯净水配成 60% 乙醇溶液）。取 500g 银杏叶粉于 3500mL 60% 乙醇中，在水浴锅内加热到 60℃～70℃，浸提 2h，每 10min 搅拌一次，用纱布过滤，残渣中加入 60% 乙醇 3500mL，60℃～70℃继续浸提 2h，每 10min 搅拌一次，纱布过滤，合并浸提液。同时做平行实验。先用纱布粗滤，去除大颗粒沉淀，以提高抽滤速度。安装抽滤仪器，往布氏漏斗中加入少量浸提液进行抽滤，由于银杏叶中含有胶状沉淀物，滤纸易造成堵塞，导致抽滤速度下降，故应经常更换滤纸。抽滤结束后，取滤液弃滤渣。安装蒸馏、浓缩仪器，抽滤液中含大量乙醇溶液，用蒸馏装置进行乙醇浓缩。为了不破坏提取物中有效成分，水浴温度控制在 60℃～70℃，而 95% 乙醇的沸点在 75℃左右，故蒸馏速度慢，时间长。最终得到的提取物为一部分沉淀浸膏，颜色为深棕色粘稠物。由于浓缩的浸提液中仍含有部分乙醇和水分，采用真空干燥法，温度控制在 60℃～70℃之间，利用增大真空度来降低沸点，去除最后的乙醇和残留的部分水分。先将苍术 230g，没药 220g，薄荷 210g 蒸馏法汽化，蒸馏成结晶体，将其余益母草 220g，白芷 240g，当归 250g，白及 230g，丹参 230g，桃花 210g，金盏花 220g，凌霄花 210g，黄芩 210g，白芍 220g，金银花 220g，合欢花 230g，蜂胶 240g，鸡血藤 230g，珍珠 240g，将其放入 10 倍量水中浸泡。投入多功能提取罐提取两次，第一次加 8-10 倍量水煎煮 1-2 小时，第二次加 4-8 倍量水煎煮 1-2 小时，合并两次煎液，过滤得滤液；加热浓缩至糊状，然后与上述步骤得到的银杏叶提取物浸膏，和汽化后得到的结晶体，用乳化剂，例如聚山梨酯-80、没酸山梨坦、普流罗尼克 F-68，卵磷脂、豆磷脂；抗氧化剂，例如亚硫酸钠、焦亚硫酸钠、二丁基苯酸等；增溶剂，例如吐温-80、胆汁、甘油等调和，罐装。

[0062] 药理学毒性试验

[0063] 本发明银杏叶祛斑美白霜急性毒性试验

[0064] 急性毒性实验资料

[0065] 1、实验方法

[0066] 将豚鼠背部脊柱两侧均匀涂上脱毛剂，使去毛范围约 40 平方厘米。洗净脱毛剂归笼观察 24 小时，每组豚鼠分别涂本发明 0.2、0.4 和 0.8g，分别含生药 92mg、184mg 和

368mg),另一组涂溶媒(生理盐水)0.8ml 每日三次,连续一周,实验结束后,将豚鼠处死,心,肝,肾及脱毛皮肤做病理检验。

[0067] 2、结果

[0068] 上述三组用药豚鼠躯干脱毛区,未见局部皮肤有水肿、充血、红斑、出血点及溃疡。用药组豚鼠毛发色泽、摄食、四肢活动等对照组无明显差异,病理组织学检查,给药组心、肝、肾及脱毛皮与对照字比较也无明显差异。

[0069] 长期毒性实验资料

[0070] 1、实验方法

[0071] 将豚鼠随机份成4组,每组15只。在豚鼠背部脊柱两侧将脱毛剂均匀涂上,使其脱毛范围约40平方厘米。洗净脱毛剂,观察24小时后每组豚鼠分别涂本发明0.2、0.4和0.8ml,分别含生药92、184和368mg),另一组涂溶媒0.8ml 每日二次,连续60天,观察豚鼠的一般情况,实验结束后处死动物进行血液学、血液生化及病理学检查。

[0072] 2、结果

[0073] 上述三组用药豚鼠躯干去毛区,未见局部皮肤有水肿、充血、红斑、出血点及溃疡。用药组与对照组动物毛发色泽、摄食、四肢活动等对照组无明显差异,血液生化检查,用药组与对照组均在正常范围。病理组织学检查,实验各组心、肝、肾及局部皮肤均未见明显病变。提示,本发明长期用药对局部皮肤及全身重要脏器均未见明显的毒性作用。试验结果表明:本发明实验安全可靠。

[0074] 药效试验:

[0075] 1. HMB45 标记的皮肤黑色素细胞的病理形态学观察

[0076] 1) 常规石蜡包埋切片(5um),脱蜡至水。蒸馏水冲洗,PBS 浸泡5分钟。

[0077] 2) 3% H2O2 室温孵育5-10分钟,以消除内源性过氧化物酶的活性,PBS 冲洗,2分钟*3次。

[0078] 3) 10%正常山羊血清封闭,室温孵育10分钟,滴加一抗 HMB45,4℃过夜。

[0079] 4) PBS 冲洗,2分钟*3次。滴加适当比例稀释的生物素标记二抗(1% BSA-PBS 稀释),37度孵育10-30分钟;

[0080] 5) PBS 冲洗,2分钟*3次。滴加适当比例稀释的辣根酶标记链霉卵白素(PBS 稀释),37度孵育10-30分钟;

[0081] 6) PBS 冲洗,2分钟*3次。显色剂显色(DAB)5-10分钟。

[0082] 7) 自来水充分冲洗,苏木素复染,脱水透明、封片。

[0083] 采用 Image-Pro Plus5.0 图像分析系统软件分析、计算各组黑色素细胞及黑色素颗粒阳性表达部位的面积和光密度。

[0084] 2 皮肤黑色素细胞 NOS 的表达

[0085] 1) 常规石蜡包埋切片(5um),脱蜡至水。蒸馏水冲洗,PBS 浸泡5分钟

[0086] 2) 3% H2O2 室温孵育5-10分钟,以消除内源性过氧化物酶的活性,PBS 冲洗,2分钟*3次。

[0087] 3) 10%正常山羊血清封闭,室温孵育10分钟,滴加一抗 NOS,4℃过夜。

[0088] 4) PBS 冲洗,2分钟*3次。滴加适当比例稀释的生物素标记二抗(1% BSA-PBS 稀释),37度孵育10-30分钟;

[0089] 5) PBS 冲洗, 2 分钟 *3 次。滴加适当比例稀释的辣根酶标记链霉卵白素 (PBS 稀释), 37 度孵育 10-30 分钟;

[0090] 6) PBS 冲洗, 2 分钟 *3 次。显色剂显色 (DAB) 5-10 分钟。

[0091] 7) 自来水充分冲洗, 苏木素复染, 脱水透明、封片。

[0092] 采用 Image-Pro Plus 5.0 图像分析系统软件分析、计算各组 NOS 阳性表达部位的面积和光密度。

[0093] 4.5 皮肤酪氨酸酶的 mRNA 表达

[0094] 1) 冰冻切片 (5um), 置打孔液中室温 10 分钟, 给细胞打孔改变组织细胞的通透性使探针快速顺利的穿透细胞膜。0.1M PBS 冲洗 3 次。

[0095] 2) 置 H₂O₂ 封闭液室温 20 分钟, 以封闭内源性 H₂O₂ 酶。0.1MPBS 冲洗 3 次。

[0096] 3) 滴加复合消化工作液, 覆盖组织表面, 室温 20 分钟, 0.1M PBS 冲洗 3 次。0.2Xssc 冲洗一次 (室温 3 分钟)。

[0097] 4) 滴加预杂交工作液, 盖上原位杂交专业盖玻片, 覆盖组织 42℃ 湿盒孵育 4 小时。

[0098] 5) 揭去盖玻片, 以 0.2Xssc 冲洗三次, 每次洗涤 5 分钟。

[0099] 6) 滴加杂交工作液, 覆盖组织 37℃ 湿盒孵育 5 小时。

[0100] 7) 揭去盖玻片, 以 2Xssc 37℃ 冲洗三次, 每次洗涤 5 分钟。0.2Xssc 37℃ 冲洗三次, 每次洗涤 5 分钟。0.1M TBS 37℃ 冲洗 3-5 次, 每次洗涤 5 分钟。

[0101] 8) 滴加小鼠抗地高辛生物素标记的抗体工作液, 覆盖组织 37℃ 湿盒孵育 45-60 分钟。0.1M PBS 冲洗 3 次, 每次洗涤 5 分钟。

[0102] 9) 滴加高敏过氧化氢酶链亲和素复合物工作液, 覆盖组织 37℃ 湿盒孵育 50 分钟, 0.1M PBS 冲洗 3 次, 每次洗涤 5 分钟。

[0103] 10) DAB 显色, 光学显微镜下观察至细胞内胞浆阳性颜色与细胞外背景颜色反差对比明显时用蒸馏水冲洗, 终止反应。

[0104] 11) 苏木素复染, 脱水透明、封片。

[0105] 引物序列如下: 鼠酪氨酸酶: 5' -GGTCC CTCAG GTGTT CCATCGCATA AA 探针浓度: 8ug/ml 杂交液, 探针适用于小鼠。

[0106] 3、数据统计和图像分析

[0107] 3.1 数据统计采用 SPSS 11.0 软件进行多组间单因素的分差分析以及治疗前后对照的配对 T 检验进行统计分析。

[0108] 3.2 图像分析图像在 Imagepro Plus 5.0 图像分析系统进行图像分析。每组 8-10 张切片, 每张切片分析 3 个视野进行图像处理。处理前先用同等条件下拍摄的测微尺图像和空白片进行空间和光密度校正, 分别测量各分区任意面积平均光密度 (mean optical density, MOD)、积分吸光度 (integral optical density, IOD) 和阳性物面积 (area, μm)。数据结果按如下

[0109] 公式计算: 阳性面积 = 阳性物面积 / 测量总面积, IOD = 积分吸光度测量值 / 测量总面积。

[0110] 表 1 皮肤总 SOD 活性的变化 ($\bar{x} \pm s$, /mg 蛋白)

[0111]

组别	n	色斑区域SOD (nu)	皮肤总SOD (nu)
空白组	10	81.96±9.09★	89.76±23.45★★
祛斑霜组	8	78.24±13.05★★	79.26±12.78★★
本发明高剂 量组	10	69.65±9.16	82.97±16.94★★
本发明中剂 量组	10	74.83±13.35★★	84.53±14.38★★
本发明低剂 量组	10	59.35±11.75*	71.13±16.64*★

[0112] 注:祛斑霜治疗组死亡2只,样本量为8。与空白组比较,*P<0.05,**P<0.01;与模型组比较,★P<0.05,★★P<0.01。肝脏F=4.624,皮肤F=5.010

[0113] 3.3 皮肤MDA活性的测定和统计

[0114] 与空白组对照,本发明组的皮肤MDA活性值升高,具有极显著的差异。与模型组对照,祛斑霜、本发明高、中剂量组有极显著的差异,低剂量组有显著差异,见表3。可见慢性束缚+紫外线+黄体酮法建立的黄褐斑小鼠模型皮肤MDA明显活性升高,祛斑霜、本发明高、中、低剂量均能降低皮肤MDA活性,其中祛斑霜、本发明高、中剂量具有极显著的作用,与空白组无显著差异。

[0115] 表2MDA活性的变化(x±s, /mg 蛋白)

[0116]

组别	n	色斑区域 MDA活性(nmol)	皮肤MDA活 性(nmol)
空白组	10	5.11±2.65★	4.63±0.96★
祛斑霜组	8	8.57±4.17*★	6.84±2.74★
本发明高剂 量两组	10	10.35±3.65★	8.050±4.81★
本发明中剂 量两组	10	9.09±3.17*★	7.17±3.16★
本发明低剂 量两组	10	8.80±3.43**	6.44±3.10*★

[0117]

[0118] 注:祛斑霜治疗组死亡2只,样本量为8。与空白组比较,*P<0.05,**P<0.01;与模型组比较,★P<0.05,★★P<0.01。肝脏F=9.572,皮肤F=4.867。

[0119] 4.1HMB45标记的皮肤黑色素细胞病理形态学观察

[0120] 4. 2HMB45 标记的皮肤黑色素细胞的整体观察

[0121] 正常组:鳞状上皮较菲薄,由排列整齐的基底细胞和棘细胞组成,共 2-3 层,表面有少量角质。真皮中见毛囊,皮脂腺与表皮相连,未见汗腺。皮下脂肪组织未见特殊。HMB45 标记表皮中几乎未见黑色素细胞,毛囊、皮脂腺基底细胞中见少量黑色素细胞。

[0122] 模型组:HMB45 标记的黑色素阳性细胞明显增多,与空白组有极显著差异,成簇分布于毛囊基底细胞团中,呈强阳性反应,表皮基底细胞和棘细胞层中亦见单个散在分布的黑色素细胞,伴细胞核增大及核上移。表皮细胞数增多,局部呈疣状增生。治疗组:表现基本同模型组,黑色素阳性细胞减少,与模型组有显著差异,提示慢性束缚+紫外线+黄体酮法建立的肝郁型黄褐斑小鼠模型皮肤黑色素细胞较正常小鼠显著增多,祛斑霜和本发明组有治疗作用。

[0123] 表 3HMB45 标记的小鼠皮肤黑色素细胞内黑色素颗粒阳性面积的变化

[0124]

组别	n	阳性面积($\bar{x} \pm s$)	IOD ($\bar{x} \pm s$)	MOD ($\bar{x} \pm s$)
空白组	10	0.006±0.0002★	0.0017±0.0006 ★★	0.1328±0.0538 ★★
祛斑霜组	8	0.0024±0.0026 ★★	0.0021±0.0010* ★★	0.137±0.0501★ ★
本发明高剂量组	10	0.0038±0.0003* *	0.0035±0.0015* *	0.2043±0.0308* *
本发明中剂量组	10	0.0029±0.0003* *	0.0033±0.0013* *	0.1799±0.0230* ★
本发明低剂量组	10	0.0024±0.0002 ★★	0.0026±0.0010* ★★★	0.1815±0.1310* *

[0125]

[0126] 注:祛斑霜治疗组死亡 2 只,样本量为 24。与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较★ $P < 0.05$,★★ $P < 0.01$ 。阳性面积的 $F = 61.170$,IOD 的 $F = 14.096$,MOD 的 $F = 11.896$ 。

[0127] 从表 3 看出:

[0128] (1) 模型组 HMB45 标记的小鼠皮肤黑色素细胞内黑色素颗粒的阳性面积较正常组显著升高 ($P < 0.01$),祛斑霜、本发明各剂量治疗组有下降趋势,其中祛斑霜治疗组和本发明低剂量组下降非常显著 ($P < 0.01$),本发明高、中剂量组下降趋势不明显。

[0129] (2) 模型组 HMB45 标记的小鼠皮肤黑色素细胞内黑色素颗粒的 IOD 较正常组显著升高 ($P < 0.01$),祛斑霜、本发明各剂量治疗组有下降趋势,其中祛斑霜治疗组和本发明低剂量组下降非常显著 ($P < 0.01$)。本发明中、高剂量组下降趋势不明显。

[0130] (3) 模型组 HMB45 标记的小鼠皮肤黑色素细胞内黑色素颗粒的 MOD 较正常组显著

升高 ($P < 0.01$), 祛斑霜、本发明各剂量治疗组有下降趋势, 其中祛斑霜治疗组下降非常显著 ($P < 0.01$), 本发明中剂量组下降明显 ($P < 0.05$)。本发明高、低剂量组下降趋势不明显。

[0131] 综上所述, 模型组 HMB45 标记的小鼠皮肤黑色素细胞内黑色素颗粒的阳性面积、IOD、MOD 均有显著的升高, 祛斑霜、本发明各剂量治疗组有下降趋势, 但是总体而言, 本发明高剂量组的效果最为显著, 对阳性面积、IOD、MOD 均有显著的降低作用, 其次是本发明中剂量组。

[0132] 临床试验资料:

[0133] 1、因脏腑功能失调, 引起的面部黄褐斑、色斑、雀斑等色素沉着性病变采用本发明的面霜, 跟踪治疗因脏腑功能失调, 引起的面部黄褐斑、雀斑等色素沉着性病变 100 例, 年龄 16-52 岁, 患者以青壮年为主。

[0134] 临床症状: 面部无华, 脸色偏暗, 面部长长期有黄褐斑、雀斑等色素沉着性病变, 有些还伴有痘、暗疮、痤疮等。眼袋, 黑眼圈明显。

[0135] 中医诊断认为, 该病症在脏腑内积滞, 脏腑失调, 气滞血瘀, 影响到脏腑的气血运行功能。其内在脏腑失调是因, 气血两亏、瘀滞不畅是果, 治疗应疏肝理气、活血化瘀、补气活血。

[0136] 使用方法: 本发明面霜, 每晚 21-23 点之间, 洁面后, 均匀涂抹于脸部。早上起床后清洗即可。

[0137] 银杏提取物具有很强的清除自由基和抗氧化作用, 银杏叶中的黄甙、氨基酸和氨基酸合成胶原蛋白成份对人体美容, 抑制黑色素生长, 保持皮肤光泽与弹性起着不小的作用。10 天为一疗程, 通常 1-3 个疗程有效, 顽症需 4-5 个疗程。

[0138] 治疗效果: 涂抹 1-3 个疗程后, 肉眼观察面部色斑由深变浅, 已逐渐消除, 临床症状完全消失的治愈患者为 43 人, 治愈率 43%; 肉眼观察面部色斑已明显淡化, 但没有完全消除, 临床症状基本消失的显效患者为 37 例, 显效率 37%, 这部份患者继续使用; 肉眼观察面部色斑略有淡化, 临床症状有部分减少的患者 8 例, 有效率 8%, 这部份患者继续使用; 5 个疗程后, 症状仍不能改变的患者为 12 例, 无效率 12%。随访治愈患者 2 年未见复发。

[0139] 2、因月经不调, 引起的面部黄褐斑、雀斑等色素沉着性病变

[0140] 采用本发明面霜, 女患者 100 例, 年龄 22-50 岁, 患史 2-30 年, 临床症状: 脸色偏暗, 面部长长期有黄褐斑、雀斑等色素沉着性病变, 伴有月经失调、行经不畅、经色暗红有块, 痛经。患者有脾胃虚寒、面色不华而晦暗, 面部有黄褐斑、雀斑、蝴蝶斑等色素沉着性病变, 多数患者有便秘现象。患者多使用过现有的多种治疗皮肤病的药物, 效果不明显, 或无效。中医诊断认为, 该病症在脏腑内积滞, 脏腑失调, 气滞血瘀, 影响到脏腑的气血运行功能。其内在脏腑失调是因, 气血两亏、瘀滞不畅是果, 治疗应疏肝理气、活血化瘀、补气活血、疏肝解郁、平肝潜阳、消积导滞、润肠通便、行气止痛。

[0141] 治疗方法: 涂抹本发明面霜。银杏提取物为浓缩膏状, 具有很强的清除自由基和抗氧化作用, 银杏叶中的黄甙、氨基酸和氨基酸合成胶原蛋白成份对人体美容, 抑制黑色素生长, 保持皮肤光泽与弹性起着不小的作用。每晚 21-23 点之间, 洁面后, 均匀涂抹于脸部。早上起床后清洗即可。一般 10 天为一疗程, 通常 1-3 个疗程有效, 顽症需 4-5 个疗程, 也可各种剂型可交替使用。

[0142] 治疗效果: 使用 1-3 个疗程后, 面部色斑由深变浅, 逐渐消除, 临床症状完全消失

的治愈患者为 45 人,治愈率 45%;面部色斑由深至浅,没有完全消除,临床症状基本消失的显效患者为 38 例,显效率 38%,这部份患者继续使用;面部色斑略有变浅,临床症状有部分减少的有效患者 12 例,有效率 12%,这部份患者继续使用;5 个疗程后,症状仍不能改变的患者为 5 例,无效率 5%。在跟踪治疗治愈患者中未见明显药物不良反应和毒副作用。随访治愈患者 2 年未见复发。

[0143] 讨论:银杏提取物具有很强的清除自由基和抗氧化作用,银杏叶中的黄甙、氨基酸和氨基酸合成胶原蛋白成份对人体美容,抑制黑色素生长,保持皮肤光泽与弹性起着不小的作用,适合长期使用,不会对身体造成伤害。本发明极大的保留了银杏叶的有益成分,使其没有在加工中流失,在制作中避免了二次污染,完全是绿色健康环保的化妆品。加上一些活血化瘀,补气活血、补气升阳、疏肝解郁、平肝潜阳、滋阴补肾、清热解毒、活化肌肤细胞,美白祛斑的天然中药,抑制黑色素生长,通腑泄毒,活血散瘀,调节人体的新陈代谢机能,提高人体血液循环及皮肤解毒能力,达到美化肌肤,祛斑美白的作用。适合广大爱美的人士长期使用。