



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102319272 A

(43) 申请公布日 2012. 01. 18

(21) 申请号 201110236640. 9

A61K 125/00(2006. 01)

(22) 申请日 2011. 08. 18

A61K 127/00(2006. 01)

A61K 131/00(2006. 01)

(71) 申请人 王青

地址 210035 江苏省南京市栖霞区石油三村
72 幢 151 室

(72) 发明人 王青 雷红

(51) Int. Cl.

A61K 36/16(2006. 01)

A61P 17/00(2006. 01)

A61P 17/06(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

A61P 37/08(2006. 01)

A61P 31/00(2006. 01)

A61P 31/10(2006. 01)

A61P 33/14(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 12 页

(54) 发明名称

银杏酚酸在制备治疗皮肤病的外用制剂中的
用途

(57) 摘要

本发明涉及银杏酚酸在制备治疗皮肤病的外用制剂中的用途。所述银杏酚酸包括银杏酸、银杏酚、银杏二酚等,可通过化学分离方法,从银杏的叶、果、外种皮、根茎等部位的提取物中得到。所述皮肤病为感染性、炎症性、变态反应性或过敏性皮肤病。含有银杏酚酸的治疗皮肤病的药物、化妆品或消毒剂外用制剂,含银杏酚酸 0. 001-80% (以重量百分比计),以及药学上常用的外用制剂基质或可接受的载体;所述制剂是任何一种药剂学上所说的外用剂型。药理学试验研究表明,本发明具有抗皮肤常驻病原体感染、抗炎、抗过敏、抗变态反应、止痛、止痒、促进伤口愈合的显著作用。临床试用表明本发明对多种皮肤病具有显著的治疗作用,有效率达 100%,使用安全无副作用。

1. 银杏酚酸在治疗皮肤病中的用途。
2. 银杏酚酸在制备防治皮肤病的外用制剂中的用途。
3. 如权利要求 2 所述的银杏酚酸用途,所述皮肤病为细菌、病毒、真菌、寄生虫昆虫感染性皮肤病;及炎症性、变态反应性、过敏性皮肤病。
4. 如权利要求 2 所述的银杏酚酸用途,所述皮肤病为脓疱疮、毛囊炎、疱疹、疣、癣、湿疹、荨麻疹、皮肤瘙痒症、皮炎、螨虫病、疥疮、灰指甲、鸡眼胼胝、银屑病等多种皮肤病。
5. 如权利要求 2 所述的银杏酚酸外用制剂,为含有银杏酚酸的治疗皮肤病的药物、化妆品或消毒剂外用制剂;以及包含银杏酚酸和任何物质组合用于治疗皮肤病的药物、化妆品或消毒剂外用制剂;其特征是,所述制剂是任何一种药剂学上所说的外用剂型,可以是液体制剂、膏霜剂、凝胶剂、膜剂、洗剂、粉剂、气雾喷雾剂、栓剂、透皮吸收制剂等。
6. 如权利要求 5 所述的药物、化妆品或消毒剂外用制剂,其特征是,含有银杏酚酸 0.001-80%,以重量百分比计。
7. 如权利要求 5 所述的药物、化妆品或消毒剂外用制剂,其特征是,含有银杏酚酸 0.001-30%,以重量百分比计。
8. 如权利要求 5 所述的药物、化妆品或消毒剂外用制剂,其特征是,含有银杏酚酸 0.5-20%,以重量百分比计。
9. 所述银杏酚酸包括银杏酸、银杏酚、银杏二酚等,可通过化学分离方法,从银杏的叶、果、外种皮、根茎等部位的提取物中得到;或对银杏叶、果、外种皮、根茎提取加工产物在提取加工过程中剩余的废料中重新回收;或从其它植物含有本类化合物的各部分提取物中获得;或通过化学合成的方法获得;包括银杏酚酸药学上可接受的盐、酯、溶剂化物,结晶形态的物质。

银杏酚酸在制备治疗皮肤病的外用制剂中的用途

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药及治疗性化妆技术领域,具体涉及银杏酚酸在制备治疗皮肤病的外用制剂中的用途。

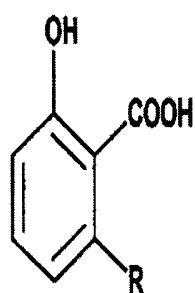
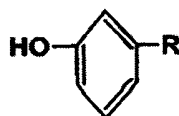
背景技术

[0002] 皮肤病是临床最常见的疾病之一,随着人们生活水平的提高,多种皮肤病在各地有逐年上升的趋势。由于多数皮肤病持续时间长,易反复发作,给患者带来痛苦,严重影响患者的身心健康。常见的皮肤病有炎症性和变态反应性皮肤病。炎症性皮肤病(皮炎)可分为感染性和非感染性,感染性皮肤病可由细菌、病毒、真菌和病原虫引起,如脓疱疮、毛囊炎、痤疮、疱疹、手足癣、体癣、螨虫病、疥疮等;变态反应性或过敏性皮肤病,现代医学免疫学认为多与 I 型(速发型)、III 型(免疫复合物型)及 IV 型(迟发型)超敏反应有关,如神经性皮炎、湿疹、荨麻疹、汗疹、皮肤瘙痒症等。皮炎的临床表现有局部皮肤红、肿、热、痛等表现,变态反应性或过敏性皮肤病临床表现亦有皮炎的症状,往往还伴有瘙痒。因此上述皮肤病的发病机理有相通之处。目前治疗感染性皮肤病多为抗菌药、抗病毒药或抗真菌药,治疗炎症性和变态反应性皮肤病的药物多为皮质类固醇激素、抗组胺药,这些药物虽有一时效果,但停药后常出现皮损恶化,即所谓“反跳现象”;而且长期应用会引起诸多副作用。为了避免此类不良现象的发生,市场需要研制开发一种来源于天然、效果显著、作用广泛、无明显不良反应的治疗皮肤病的外用制剂,以减轻患者痛苦。皮肤病种类繁多且患者众多,因此开发此类治疗皮肤病的外用制剂产品具有良好的临床应用前景,对患者是十分有益和必要的。

[0003] 银杏是我国珍贵的药用植物,银杏的叶、果和外种皮等皆具有药用开发价值。据《本草纲目》记载,银杏性甘、苦、平、涩;有定喘止咳、止带浊、止痛之功;主治寒嗽痰喘、哮喘、小便频数、赤白带下、手足皴裂等。特别是近几十年来人们发现银杏叶中含有多种有效成分,主要有效成分为黄酮类和萜类内酯化合物,具有防治心脑血管疾病的功能。我国民间早有将银杏外种皮浸泡液作为农药使用,对蚜虫、稻螟虫等害虫有杀灭作用。

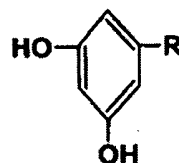
[0004] 银杏酚酸为无色或淡黄色的油状或粉末状物质,是存在于银杏叶、果和外种皮中一类具有重要生理活性的组分。本发明所涉及的银杏酚酸为烷基或烯基苯酚酸类物质,根据分子中苯环上是否连接有羧基,将其分为银杏酸和银杏酚两大类。银杏酸是水杨酸分子在苯环 C6 位上有饱和或不饱和长链烷基的系列化合物,按化学结构可分为 5 种,侧链 R 为 $C_{13}H_{27}$ 、 $C_{15}H_{29}$ 、 $C_{15}H_{31}$ 、 $C_{17}H_{31}$ 和 $C_{17}H_{33}$,对应的分子量分别为 320、346、348、372、374。银杏酚酸包括白果酸、氢化白果酸、白果新酸、白果亚酸、氢化白果亚酸、漆树酸、银杏酚、银杏二酚、白果醇等。银杏酚酸(银杏酸、银杏酚、银杏二酚)结构见下图。

[0005]

1 $R=C_{13}H_{27}$ (C13:0)2 $R=C_{15}H_{29}$ (C15:1)3 $R=C_{17}H_{31}$ (C17:2)4 $R=C_{15}H_{31}$ (C15:0)5 $R=C_{17}H_{33}$ (C17:1)

银杏酚

ginkgol(cardanols)

 $R=C_{15}H_{29}$ (C₁₅:1) $R=C_{17}H_{33}$ (C₁₇:1)

银杏二酚

bilobol, hydrobilobol(cardols)

 $R=C_{15}H_{29}$ (C₁₅:1) $R=C_{17}H_{33}$ (C₁₇:1)

[0006] 银杏酚酸的结构

[0007] 随着对银杏酚酸类物质研究的逐渐深入,发现银杏酚酸具有多种生物活性。已有研究表明,银杏酚酸对体外多种细菌有良好的抑制作用,能抑制部分农业病原菌的生长;银杏酚酸对肿瘤细胞株的生长有良好的抑制作用。有关银杏酚酸的提取、分析及体外抗菌活性、抗农业病原菌和病原虫、抗肿瘤活性已有文献报道。目前尚未见银杏酚酸在制备治疗炎症性和变态反应性皮肤病的外用制剂中的用途的报道。因此,有关银杏酚酸外用制剂防治皮肤病新型药物、化妆品、消毒剂的研究开发,以及对银杏资源的充分开发利用,将产生巨大的社会和经济效益。

发明内容

[0008] 本发明的目的是提供银杏酚酸的新用途,即银杏酚酸在制备防治皮肤病的外用制剂中的用途。它具有防治感染性、炎症性和变态反应性皮肤病的功能,具有疗效显著、作用广泛、使用安全的特点。

[0009] 本发明的目的是这样实现的:

[0010] 提供银杏酚酸在治疗皮肤病中的用途。

[0011] 提供银杏酚酸在制备治疗皮肤病的外用制剂中的用途。

[0012] 所述银杏酚酸包括银杏酸、银杏酚、银杏二酚等,可通过化学分离方法,从银杏的叶、果、外种皮、根茎等部位的提取物中得到;或对银杏叶、果、外种皮、根茎提取加工产物在提取加工过程中剩余的废料中重新回收;或从其它植物含有本类化合物的各部分提取物中获得;或通过化学合成的方法获得。本发明要求保护该类化合物及其药学上可接受的盐、酯、溶剂化物、结晶形态等物质。

[0013] 所述皮肤病为细菌、病毒、真菌、寄生虫昆虫感染性皮肤病;所述皮肤病为炎症性、变态反应性、过敏性皮肤病。

[0014] 更进一步的,所述皮肤病为脓疱疮、毛囊炎、疱疹、疣、癣、湿疹、荨麻疹、皮肤瘙痒症、皮炎、螨虫病、疥疮、灰指甲、鸡眼胼胝、银屑病等多种皮肤病。

[0015] 还提供含有银杏酚酸的治疗皮肤病的药物、化妆品或消毒剂外用制剂,含有银杏酚酸 0.001-80%,以重量百分比计,以及药学上常用的外用制剂基质或外用制剂可接受的载体。

[0016] 更进一步的,含有银杏酚酸 0.001-30%,以重量百分比计。

[0017] 更进一步的,含有银杏酚酸 0.5-20%,以重量百分比计。

[0018] 按上述重量比范围取主药银杏酚酸、药学上常用的外用制剂基质或可接受的载体制备得到银杏酚酸外用制剂;以及包含银杏酚酸和任何物质组合用于治疗皮肤病的药物、

化妆品或消毒剂外用制剂。所述制剂是任何一种药剂学上所说的外用剂型,可以是液体制剂、膏霜剂、凝胶剂、膜剂、洗剂、粉剂、气雾喷雾剂、栓剂、透皮吸收制剂等;并进行相关的药理试验和临床试用试验。

[0019] 本发明的有益效果是,药理药效学试验研究表明,本发明银杏酚酸外用制剂具有抗皮肤常驻细菌、真菌、病毒、寄生虫昆虫感染、抗炎、抗过敏、抗变态反应、止痛、止痒、去角质、促进伤口愈合的显著作用。对感染性、炎症性和过敏性皮肤病具有显著的治疗作用,作用广泛,且疗效优于糖皮质激素或抗生素,无长期使用糖皮质激素、抗生素所致的副作用。局部刺激性实验研究表明本发明安全,无皮肤刺激、过敏等不良反应。临床多种皮肤病患者试用结果表明,本发明对多种皮肤病具有显著的治疗作用,有效率达 100%,使用安全无副作用。

[0020] 下面是本发明的药理药效学及局部刺激性安全性评价实验及数据:

[0021] 实验一:对化学接触性皮肤炎症的治疗作用

[0022] 化学接触性皮肤炎症模型制作:实验用家兔仰位固定,腹部剪毛并用脱毛膏去毛,在腹部皮肤表面标记 3 处直径 2.5cm 的圆形区域,各区域均以 3 层无菌纱布覆盖,将二甲苯滴加于纱布上,并持续添加二甲苯保持纱布湿润,观察皮肤炎症反应,持续涂抹二甲苯 100 分钟后,造模成功。

[0023] 取造模成功家兔 8 只,局部皮肤出现 II 度、III 度炎症反应,表现为红斑、浸润、丘疹、水疱等。在同一家兔的 3 处炎症部位分别涂抹本发明银杏酚酸凝胶、无菌生理盐水、醋酸地塞米松软膏,每天 2 次,连续 3 天。观察家兔各给药区域与对照区域皮炎的状态。皮炎分度及疗效判定:皮炎判断标准按照国际接触性皮炎研究组推荐的分级标准:“-”阴性反应,“±”可疑反应(仅有轻度红斑),“+”弱阳性反应(红斑、浸润、可有少量丘疹),“++”强阳性反应(红斑、浸润、丘疹、水疱),“+++”极强反应(红斑、浸润、丘疹、出现大水疱)。疗效判定:炎症由“++”以上转为“-”,定为痊愈;炎症由“++”以上转为“±”,定为显效;炎症由“++”以上转为“+”,定为有效;炎症在用药后保持“++”度或恶化至“+++”,定为无效。

[0024] 实验结果表明,本发明银杏酚酸凝胶对化学接触性炎症有显著的治疗作用,痊愈率达 87.5%,显效率达 100%,起效时间 13.5 ± 3.2 分钟。醋酸地塞米松组痊愈率达 75%,显效率达 87.5%,起效时间 13.2 ± 3.6 分钟。而生理盐水对照组对化学接触性炎症无治疗作用。本发明在应用过程中,对病损皮肤部位的角质层具有良好的剥脱作用,能较快去除病灶部位的病损组织,使病灶处伤口迅速愈合。本发明应用过程中未见明显副作用,停药后观察 3 天,未见皮炎复发或加重的现象,即“反跳现象”;而醋酸地塞米松组有 2 处炎症部位出现皮肤炎症反应加重。

[0025] 实验二:对大鼠被动皮肤过敏反应的治疗作用

[0026] 大鼠被动皮肤过敏反应是抗 I 型变态反应药物常用的筛选方法。抗卵蛋白血清的制备:大鼠 5 只,以 5%鸡蛋清生理盐水溶液 0.5ml 肌肉注射于后腿两侧,同时腹腔注射百日咳疫苗(2×10^{10} /只),12 天后(IgE 高峰时间)采血,低速离心分离血清,混合血清置冰箱备用。

[0027] 另取大鼠 30 只,随机分为 3 组:模型对照组、氢化可的松乳膏组和本发明银杏酚酸软膏组,每组 10 只。用乙醚浅麻醉,在大鼠背中线两侧距脊柱 1.5cm 处剪毛,每侧两点间隔 2.0cm。取上述抗血清,用生理盐水分别稀释 1:1、1:4 倍数,于剪毛的各点皮内注射不

同浓度抗血清生理盐水 0. 1ml。于造模第 2 天,本发明银杏酚酸软膏组各只大鼠皮损处分别外涂本发明银杏酚酸软膏,氢化可的松乳膏组外涂氢化可的松乳膏,模型对照组外涂无菌生理盐水。每天 2 次,连续 3 天。末次外涂后 1h,尾静脉注入 0. 5%伊文斯蓝生理盐水溶液 1ml/kg,20 分钟后处死动物,剥下背部皮肤,用 1. 2cm 打孔器取等面积蓝染皮肤放入试管内,剪碎后加入丙酮 – 硫酸钠溶液 5ml,置暗处放置,每日轻摇 2-3 次,24 小时后,2000 转 / 分离心 10 分钟,取上清液于 610nm 处比色测定 OD 值。实验结果见表 1。结果表明,与模型对照组比较,本发明银杏酚酸软膏组 OD 值明显降低,氢化可的松组 OD 值亦明显降低,但降低程度不及本发明组。说明本发明银杏酚酸软膏对大鼠被动皮肤过敏反应具有明显的抑制作用,优于氢化可的松乳膏。本发明银杏酚酸软膏在应用过程中未见明显副作用。

[0028] 表 1. 对大鼠被动皮肤过敏反应的影响

	分组	不同血清浓度 OD 值	
		1: 1	1: 4
[0029]	模型对照	0. 082±0. 043	0. 049±0. 026
	银杏酚酸	0. 035±0. 021*	0. 027±0. 013*
	氢化可的松	0. 046±0. 025*	0. 028±0. 012*

[0030] $\bar{x} \pm s, n = 10$. 与模型组相比, *P < 0. 05.

[0031] 实验三 :对 2,4 二硝基氯苯 (DNCB) 所致小鼠 IV 型变态反应的治疗作用

[0032] 小鼠 30 只,随机分为 3 组 :模型对照组、氢化可的松乳膏组和本发明银杏酚酸酞剂组,每组 10 只。试验第 1d,各组每只小鼠皮下注射 3. 5% DNCB- 丙酮油溶液 0. 04ml 致敏。试验第 10d,于各小鼠右耳正反两面均匀涂上 1% DNCB- 丙酮油溶液 0. 03ml 进行攻击。试验第 11d,本发明银杏酚酸酞剂组各只小鼠右耳分别外涂本发明银杏酚酸酞剂,氢化可的松乳膏组各只小鼠右耳分别外涂氢化可的松乳膏,模型对照组各只小鼠右耳分别外涂 75% 乙醇溶液,每天 2 次,连续 3 天。末次涂抹后 24 小时处死小鼠,用直径 6mm 打孔器取下左右耳片,在分析天平上称重,以两耳片重量之差作为 IV 型变态反应强度。治疗后右耳壳皮损病理改变和浸润细胞观察 :在 HE 染色切片下观察耳壳病理改变,光镜下用网格目镜测微尺计数每平方毫米炎性细胞数 (包括单一核细胞和多形核白细胞)。免疫组化法测定小鼠皮损处干扰素 γ (INF γ) 水平,利用图像分析系统分析阳性区域积分吸光度值 (A 值),以 A 值大小代表阳性产物表达的多少。实验结果见表 2、3。结果表明,本发明银杏酚酸酞剂对皮炎模型鼠的耳肿胀具有明显抑制作用,并可明显减少皮损部位炎性细胞浸润,降低脾指数,增加胸腺指数,提高干扰素 γ 水平。说明本发明银杏酚酸酞剂可减轻充血、水肿等炎症反应,并具有降低变态反应引起的免疫损伤,增强机体细胞免疫功能的作用,作用优于糖皮质激素氢化可的松。提示本发明具有抗炎和免疫调节作用。本发明银杏酚酸酞剂应用过程中未见明显副作用。

[0033] 表 2. 对 DNCB 致小鼠 IV 型变态反应的影响

	分组	肿胀度 /mg	抑制率 /%	炎性细胞计数/个/mm ²
[0034]	模型对照	14.64±3.95	—	621.75±125.91
	银杏酚酸	7.19±2.58**	50.89	216.82±79.29**
	氢化可的松	9.15±3.62*	37.5	298.73±72.21**

[0035] $\bar{x} \pm s, n = 10$. 与模型组相比, *P < 0.05, **P < 0.01.

[0036] 表 3. 对 DNCB 致小鼠 IV 型变态反应的影响

[0037]

分组	脾指数 $\times 10^{-1}$ (mg. g ⁻¹)	胸腺指数 $\times 10^{-1}$ (mg. g ⁻¹)	INF γ (A 值)
模型对照	52.67±16.13	8.46±2.48	76.18±9.30
银杏酚酸	31.28±13.57*	15.92±3.13**	125.83±13.95**
氢化可的松	35.72±10.29*	10.51±3.35	85.62±11.78

[0038] $\bar{x} \pm s, n = 10$. 与模型组相比, *P < 0.05, **P < 0.01.

[0039] 实验四: 对豚鼠组胺致痒反应的治疗作用

[0040] 采用实验性豚鼠组胺致痒反应动物模型。取豚鼠 30 只, 随机分为 3 组: 模型对照组、扑尔敏霜组和本发明银杏酚酸凝胶组, 每组 10 只。用电动剃毛刀剃去各组豚鼠右后足背部毛, 面积 4cmX4cm, 用粗砂纸擦伤右后足背部剃毛处, 面积 1cmX1cm, 以伤及表皮、有轻度渗血为度。在豚鼠右后足创面处滴 0.05% 磷酸组胺溶液 0.05ml/ 只。记录豚鼠出现回头口舔右足的时间。造模成功后, 本发明银杏酚酸凝胶组各只豚鼠皮损处分别外涂本发明银杏酚酸凝胶, 扑尔敏霜组各只豚鼠分别外涂扑尔敏霜, 模型对照组分别外涂无菌生理盐水。再次记录豚鼠出现回头口舔右足的时间, 并记录涂抹后 30 分钟内舔足次数。结果见表 4。实验结果表明, 本发明银杏酚酸凝胶可明显延长再次舔足时间, 并减少添足次数, 作用优于扑尔敏霜。说明本发明银杏酚酸凝胶具有显著的止痒作用, 在应用过程中未见明显副作用。

[0041] 表 4. 对豚鼠组胺致痒反应的治疗作用

[0042]

分组	初次舔足时间 /s	再次舔足时间 /s	添足次数
模型对照	24.3±5.2	21.2±6.1	31.5±6.3
银杏酚酸	25.1±5.9	40.7±6.5**	13.7±5.9**
扑尔敏	24.5±5.7	31.5±6.6**	22.8±6.7*

[0043] $\bar{x} \pm s, n = 10$. 与模型组相比, *P < 0.05, **P < 0.01.

[0044] 实验五镇痛作用

[0045] 昆明种小白鼠 40 只, 体重 18-22g, 雌雄各半。将小白鼠腹部的毛剪掉, 随机分为 2 组, 即本发明银杏酚酸酞剂组和模型对照组, 每组 20 只。本发明银杏酚酸酞剂组各鼠分别于剪毛处外涂银杏酚酸酞剂, 模型对照组外涂 75% 乙醇溶液, 涂药体积每次 0.2ml/ 只, 10

分钟 1 次,共 3 次。涂药后 30 分钟,于腹腔注射 0.7%醋酸 0.1ml/10g 体重,5 分钟后观察并记录小白鼠 15 分钟内扭体次数。实验结果表明,模型对照组小鼠 15 分钟内扭体次数为 46.15 ± 9.63 ;本发明银杏酚酸酊剂组小鼠 15 分钟内扭体次数为 12.67 ± 3.71 ,两组比较有显著性差异 ($P < 0.01$),说明本发明银杏酚酸酊剂对醋酸所致小白鼠扭体反应有明显的抑制作用。提示本发明具有显著的镇痛作用。

[0046] 实验六对细菌感染性皮肤病的治疗作用

[0047] 细菌接种培养:将临床分离的金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞杆菌鉴定,接种于培养基中,35℃连续培养。实验感染时,用液体培养基稀释至 1×10^7 个 /ml 备用。皮肤感染模型制备:选用兔耳无皮损感染的家兔,于兔耳内侧制备直径为 7mm 的皮损,直至出血,用无菌棉球压迫止血。待止血后,用配有 4 号针头的 1ml 注射器小心地在皮损表面滴 2 滴金黄色葡萄球菌或铜绿假单胞杆菌液,将兔耳皮损处放平,待其自然干燥,即制得皮肤感染模型。

[0048] 家兔 30 只,兔耳 60 只,左右分开,顺序编号,分成 6 组,每组 10 只兔耳。前 3 组于给药前 24 小时感染金黄色葡萄球菌,后 3 组感染铜绿假单胞杆菌。24 小时后外涂本发明银杏酚酸软膏、氧氟沙星软膏或无菌生理盐水,每天 2 次,连续 3 天,观察并记录感染皮肤红肿面积的变化。结果见表 5。实验结果表明,金黄色葡萄球菌及铜绿假单胞杆菌皮肤感染 24 小时后,局部皮肤红肿,温度升高,外涂本发明银杏酚酸软膏后对皮肤感染有显著抑制作用,红肿面积明显缩小;作用优于氧氟沙星软膏。本发明应用过程中,对病损皮肤部位的角质层具有良好的剥脱作用,能较快去除病灶部位的病损组织,使病灶处伤口迅速愈合。本发明应用过程中未见明显副作用。

[0049] 表 5. 对皮肤金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞杆菌感染的治疗作用

[0050]

分组	金黄色葡萄球菌感染面积 (cm ²)		铜绿假单胞杆菌感染面积 (cm ²)	
	2 天	3 天	2 天	3 天
模型对照	182.3 ± 35.8	149.5 ± 32.9	190.2 ± 38.3	165.0 ± 42.1
银杏酚酸	$76.1 \pm 29.7^{**}$	$56.2 \pm 30.2^{**}$	$117.5 \pm 31.5^{**}$	$71.3 \pm 29.9^{**}$
氧氟沙星	$92.4 \pm 32.1^{**}$	$68.5 \pm 34.3^{**}$	171.8 ± 39.1	152.6 ± 33.5

[0051] $\bar{x} \pm s, n = 10$. 与模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

[0052] 实验七:对疱疹病毒感染性皮肤病的治疗作用

[0053] 取豚鼠 30 只,随机分为 3 组:模型对照组、阿昔洛韦乳膏组本发明银杏酚酸凝胶组,每组 10 只。感染模型的建立:将豚鼠背部去毛,面积 4cmX4cm,用针头刺入皮肤深层,1-1.2cm 直径内呈梅花样均匀刺 7 针,以临床分离原倍单纯疱疹病毒 (HSV-1) 液 0.07ml 滴加于针刺区内,用无菌玻棒涂开感染。于感染第 5 天,本发明银杏酚酸凝胶组各感染区内外涂银杏酚酸凝胶;阿昔洛韦乳膏组各感染区内外涂阿昔洛韦乳膏;模型对照组外涂无菌生理盐水。每日 2 次进行治疗,连续 6 天。每日观察记录感染区皮肤病损程度,分为 4 级:0 级:皮肤正常或恢复结痂脱落;1 级:感染面轻微发红或恢复结痂;2 级:感染面红肿;3 级:感染面红肿较重或伴有疱疹。统计学处理:以秩和检验 (两组顺序检验) 法将各观察日各组皮肤病损程度进行比较;以下式计算各观察日皮肤病损程度:平均病损程度 = Σ (某级

感染面数 × 该级指数) / 该组感染面总数。结果见表 6。实验结果表明,本发明银杏酚酸凝胶能明显抑制疱疹病毒(HSV-1)感染,对疱疹病毒感染的豚鼠皮肤有显著的保护作用,与模型对照组比较差异显著,且作用优于阿昔洛韦。本发明应用过程中,对病损皮肤部位的角质层具有良好的剥脱作用,能较快去除病灶部位的病损组织,使病灶处伤口迅速愈合。本发明应用过程中未见明显副作用。

[0054] 表 6. 对疱疹病毒感染豚鼠皮肤病的治疗作用

[0055]

分组	平均皮肤病损程度				
	2 天	3 天	4 天	5 天	6 天
模型对照	2.7±0.71	2.6±0.68	2.7±0.70	2.4±0.83	2.1±0.92
银杏酚酸	1.8±0.73*	1.6±0.76*	1.4±0.81**	0.8±0.79**	0.5±0.90**
阿昔洛韦	2.2±0.76	2.0±0.75	1.8±0.65*	1.5±0.77*	1.1±0.86*

[0056] $\bar{x} \pm s, n = 10$. 与模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

[0057] 实验八对皮肤真菌感染的治疗作用

[0058] 石膏样毛癣菌悬液制备:石膏样毛癣菌在 10ml 试管(内含马铃薯葡萄糖琼脂培养基 3ml)内于 30℃下活化 10 天后,向试管内加入 1ml 生理盐水(含 0.1%吐温 80),吸管轻轻抽吸,取含菌丝块的菌悬液放入研磨器中研磨均匀,肉眼无明显颗粒,呈毛玻璃状外观,镜下观察菌丝,用沙氏液体培养基调整菌悬液浓度至 2×10^5 cfu/ml 备用。小孢子癣菌悬液制备方法同上。感染动物模型的建立:于豚鼠背部两侧距第一颈椎 5cm 和 15cm 及距背部中线 5cm 的 4 个交点为圆心,用手拔制直径 10cm 的圆形脱毛面,24 小时后用 1ml 注射器在脱毛面圆心 30°角向头侧斜刺入豚鼠皮肤内(以不使皮肤出血为度),注入菌悬液 0.02ml,另取一小块菌苔植入针孔内,使其镶嵌在豚鼠皮肤上。感染 3-5 天后动物皮肤出现类似人类的体癣感染症状,说明模型成功。取石膏样毛癣菌感染豚鼠模型 30 只,分成 3 组,即本发明银杏酚酸软膏组、硝酸咪康唑乳膏组和模型对照组,每组 10 只。本发明银杏酚酸软膏组皮损处分别外涂银杏酚酸软膏,硝酸咪康唑乳膏组分别外涂硝酸咪康唑乳膏,模型对照组外涂无菌生理盐水,2 次/日,连续观察用药 10 天。小孢子癣菌感染豚鼠模型分组给药同石膏样毛癣菌感染豚鼠模型。观察指标:于治疗第 0、3、7、10 天大体观察皮损鳞屑、红斑、脓肿等感染征象,皮损部位行真菌镜检及培养,测量皮损直径,以直径为指标反映皮损面积。治疗标准:皮损处无任何感染征象,真菌镜检、培养均阴性为治愈;接种部位少量丘疹和红斑、颜色较淡或较治疗前有明显好转为有效;红斑扩散,伴脱屑、丘疹、局部脓肿或更为严重的扩散,伤及真皮的厚痂,甚至出血为无效。结果见表 7。实验结果表明,本发明银杏酚酸软膏对石膏样毛癣菌和小孢子癣菌感染豚鼠皮肤具有显著的治疗作用,可使感染皮损直径明显缩小至消失,皮损鳞屑、红斑、脓肿等感染征象明显缓解至消失,10 天真菌镜检、培养均为阴性;疗效优于硝酸咪康唑乳膏组。本发明应用过程中,对病损皮肤部位的角质层具有良好的剥脱作用,能较快去除病灶部位的病损组织,使病灶处伤口迅速愈合。本发明银杏酚酸软膏应用过程中未见明显副作用。

[0059] 表 7. 对石膏样毛癣菌和小孢子癣菌感染的治疗效果

[0060]

分组	石膏样毛癣菌感染			小孢子癣菌感染		
	治愈率	有效率	无效率	治愈率	有效率	无效率
模型对照	0	0	100%	0	0	100%
银杏酚酸	80%	20%	0	70%	30%	0
硝酸咪康唑	60%	30%	10%	60%	20%	20%

[0061] 表 8. 石膏样毛癣菌感染皮损直径 (mm) 变化

[0062]

分组	0 天	3 天	7 天	10 天
模型对照	7.89±2.41	8.73±2.69	9.15±2.77	9.36±2.82
银杏酚酸	7.91±2.46	5.56±1.48**	1.81±0.73**	0.15±0.09**
硝酸咪康唑	7.92±2.35	6.83±2.03	4.15±1.49**	2.48±0.72**

[0063] $\bar{x} \pm s, n = 10$. 与模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

[0064] 表 9. 小孢子癣菌感染皮损直径 (mm) 变化

[0065]

分组	0 天	3 天	7 天	10 天
模型对照	5.16±1.83	6.57±1.96	7.75±2.13	8.33±2.21
银杏酚酸	5.91±1.77	4.56±1.08*	1.92±0.92**	0.22±0.07**
硝酸咪康唑	5.47±1.56	4.92±1.39	3.71±1.53**	1.33±0.46**

[0067] $\bar{x} \pm s, n = 10$. 与模型组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

[0068] 实验九:抑制螨虫所致皮肤病的治疗作用

[0069] 蠕形螨寄生是毛囊炎及皮脂腺慢性炎症性皮肤病发病的原因之一。实验供试螨虫:人体面部蠕形螨,取之于螨虫感染者面部。受检者于晚睡前洗净面部,将 1.5cm×6cm 的透明胶带贴于鼻尖及一侧鼻唇沟部,次晨取下胶带贴于载玻片上镜检,每条胶带上成虫 3 条以上者为受试者,共选 20 份,随机分成 2 组,即本发明银杏酚酸酞剂组与对照组,每组 10 份,计数出每组螨虫总数。本发明银杏酚酸酞剂组:将符合实验条件的透明胶带胶面朝上并固定在载玻片上,均匀滴加本发明银杏酚酸酞剂于载玻片上,薄厚以能在高倍镜下观察到虫体为标准,并为保持玻片上药物与虫体的接触,随时补充药液,每张玻片固定在一台显微镜下观察,每 2 小时观察 1 次,每次观察 30 秒,记录虫体的活动情况,直到在高倍镜下虫体不动为止,确认虫体死亡。对照组:选符合受试条件的透明胶带 10 份,滴加 75%乙醇溶液,观察及判定方法同本发明银杏酚酸酞剂组。结果见表 10。实验结果表明,本发明银杏酚酸

酞剂 8h 时可杀死透明胶带上全部虫体 ;而对照组螨虫在 75%乙醇溶液中 8 小时螨虫的死亡率为 39%,30 小时才全部死亡,两组杀螨结果差异显著 (P < 0.01)。说明本发明银杏酚酸酞剂具有杀灭螨虫的作用,能抑制螨虫感染所致的皮肤病。

[0070] 表 10. 杀螨作用实验结果

[0071]

分组		0h	1h	2h	4h	6h	8h	10h	12h	24h	30h
对照组	活虫数	85	83	78	69	60	52	37	22	2	0
	死亡率	0	2.3%	8%	19%	29%	39%	56%	74%	98%	100%
银杏酚酸	活虫数	89	85	73	40	8	0				
	死亡率	0	4.5%	18%	55%	91%	100%				

[0072] 实验十 :局部刺激性实验

[0073] 取成年家兔 8 只,雌雄各半,每只动物分笼饲养,先在实验室条件饲养 3-4 天。然后将家兔脊柱两侧背毛用电动剃毛器剃去,每侧面积 5×10cm²。仔细检查脱毛区是否有红肿和损伤,如有应弃之,不能进行试验。采用多次给药的试验方法,在脱毛区涂抹本发明银杏酚酸外用制剂,每日 2 次,连续涂抹 7 天。末次涂抹 24 小时后用温水洗去涂抹物,分别于 1、24、48、72 小时后观察局部皮肤反应,如红斑、水肿、脱屑、结痂等,是否有出血点、皮肤粗糙或菲薄等,记录发生时间及消退时间。实验结果表明,在连续涂抹本发明银杏酚酸外用制剂 7 天后,各家兔皮肤均未表现出明显的皮肤刺激和过敏反应。表明本发明产品安全,无不良反应。

[0074] 本发明与现有技术相比 :本发明来源于天然珍贵药用植物银杏,从银杏叶、果、外种皮等部位提取分离银杏酚酸,以银杏酚酸为有效成分制成皮肤外用制剂,具有抗病原体感染、抗炎、抗过敏、止痛止痒、去角质、促进伤口愈合等良好作用 ;对感染性、炎症性和过敏性皮肤病具有显著的治疗作用,且疗效优于糖皮质激素或抗生素,无长期使用糖皮质激素、抗生素所致的副作用。因此本发明银杏酚酸外用制剂使用安全,无不良反应,且在治疗多种皮肤病方面疗效突出,具有良好的临床应用前景。

具体实施方式

[0075] 下面结合实施例,对本发明作进一步地描述。

[0076] 实施例 1 :

[0077] 银杏果外种皮中银杏酚酸提取工艺如下 :将银杏果外种皮剥离下来,晒干,用粉碎机将其粉碎。准确称取一定量经粉碎的银杏外种皮,加入料液比为 1 : 6(W/V) 的 80%乙醇,在水浴温度 60℃下,搅拌浸提 2 次,每次提取时间 4 小时,(注 :加液后,烧杯口用保鲜膜封住,以防止乙醇的挥发)。浸提结束后,用抽滤器抽滤,收集滤液。用真空旋转蒸发仪浓缩滤液,条件为温度 55℃,压强 0.008-0.009MPa,减压浓缩。于 60℃真空干燥,得银杏酚酸浸膏,性状为 :浅褐色浸膏,微臭,溶于醇,不溶于水 ;称重,并测定银杏酚酸含量 (mg/g)。

[0078] 银杏酚酸含量测定 :采用 HPLC 法进行测定。银杏酚酸的标准品溶液在 100-1200 μ g/ml 之间,相应峰面积与银杏酚酸质量浓度有显著的线性关系,制订了标准曲

线。用无水乙醇（色谱纯）将银杏酚酸浸膏溶解，过滤。在柱温：室温；流动相：甲醇-水（9：1，v/v）；流速 1ml/min；进样量：20 μ l；检测波长 310nm；分析时间：25min 条件下测定浸膏中银杏酚酸含量。根据标样的保留时间进行定性，用外标法计算银杏酚酸的含量。浸膏中银杏酚酸含量为 626.35mg/g。

[0079] 银杏酚酸提取工艺和含量测定方法为公知公用的方法。

[0080] 凝胶剂的制备：将卡波普 10g 洒在 500ml 蒸馏水表面，溶胀过夜。称取甘油 60g，丙二醇 120ml，分别加入至溶胀好的卡波普中，迅速研磨均匀，得到透明的凝胶基质。取上述银杏酚酸浸膏 40g，溶解于 100ml 95%乙醇溶液中，缓慢加入至凝胶基质中，搅拌均匀。再缓慢加入三乙醇胺 15ml，补蒸馏水至足量 1000g，即得淡黄色银杏酚酸凝胶 1000g，银杏酚酸含量为 2.5%（W/W）。分装于 50 支小管中，每支 20g。

[0081] 凝胶剂制备工艺为公知公用的方法。

[0082] 实施例 2：

[0083] 银杏果实白果中银杏酚酸提取工艺如下：将白果去皮，放入组织捣碎机中粉碎。准确称取一定量经粉碎的白果，加入料液比为 1：10（W/V）的 80%乙醇，在水浴温度 60℃下，搅拌浸提 2 次，每次提取时间 4 小时，（注：加液后，烧杯口用保鲜膜封住，以防止乙醇的挥发）。浸提结束后，离心（5000 转/分，15 分钟），取上清液。用真空旋转蒸发仪浓缩上清液，条件为温度 55℃，压强 0.008-0.009MPa，减压浓缩，并于 60℃真空干燥，得银杏酚酸浸膏，性状为：浅褐色浸膏，微臭，溶于醇，不溶于水。称重，并测定银杏酚酸含量（mg/g）。

[0084] 银杏酚酸含量测定：同实施例 1。浸膏中银杏酚酸含量为 482.61mg/g。

[0085] 软膏剂的制备：取上述银杏酚酸浸膏 40g，溶解于 100ml 95%乙醇溶液中，再向其中加入三乙醇胺 50ml，加温至 70℃。将石蜡 300g、硬脂酸 300g、丙二醇 100ml 分别加入搅拌融化，补蒸馏水至足量 1000g，搅拌均匀至膏状，即得淡黄色银杏酚酸软膏 1000g，银杏酚酸含量为 1.93%（W/W）。分装于 50 支小管中，每支 20g。

[0086] 软膏剂制备工艺为公知公用的方法。

[0087] 实施例 3：

[0088] 银杏叶中银杏酚酸提取工艺如下：将银杏叶剪碎，放入粉碎机中将其粉碎。准确称取一定量经粉碎的银杏叶，加入料液比为 1：6（W/V）的 80%乙醇，在水浴温度 60℃下，搅拌浸提 2 次，每次提取时间 4 小时，（注：加液后，烧杯口用保鲜膜封住，以防止乙醇的挥发）。浸提结束后，离心（5000 转/分，15 分钟），取上清液。用真空旋转蒸发仪浓缩上清液，条件为温度 55℃，压强 0.008-0.009MPa，减压浓缩，并于 60℃真空干燥，得银杏酚酸浸膏，性状为：浅褐色浸膏，微臭，溶于醇，不溶于水。称重，并测定银杏酚酸含量（mg/g）。

[0089] 银杏酚酸含量测定：同实施例 1。浸膏中银杏酚酸含量为 511.55mg/g。

[0090] 酊剂的制备：取上述银杏酚酸浸膏 80g，溶解于 600ml 95%乙醇溶液中，再向其中分别加入三乙醇胺 50ml，丙二醇 200ml 搅拌，补 95%乙醇溶液至足量 1000ml，即得淡黄色银杏酚酸酊剂 1000ml，银杏酚酸含量为 4.1%（W/V）。分装于 50 支小管中，每支 20ml。

[0091] 酊剂制备工艺为公知公用的方法。

[0092] 实施例 4：

[0093] 银杏果外种皮中银杏酚酸提取工艺和含量测定方法同实施例 1，得银杏酚酸浸膏，银杏酚酸含量为 625.80mg/g。取银杏酚酸浸膏 80g，按实施例 1 凝胶剂制备工艺制备银杏

酚酸凝胶 1000g, 银杏酚酸含量为 5% (W/W)。分装于 50 支小管中, 每支 20g。

[0094] 实施例 5:

[0095] 银杏果实白果中银杏酚酸提取工艺同实施例 2, 含量测定方法同实施例 1, 得银杏酚酸浸膏, 银杏酚酸含量为 515.61mg/g。取银杏酚酸浸膏 10g, 按实施例 2 软膏剂制备工艺制备银杏酚酸软膏 1000g, 银杏酚酸含量为 0.52% (W/W)。分装于 50 支小管中, 每支 20g。

[0096] 实施例 6:

[0097] 银杏叶中银杏酚酸提取工艺同实施例 3, 含量测定方法同实施例 1, 得银杏酚酸浸膏, 银杏酚酸含量为 519.79mg/g。取银杏酚酸浸膏 200g, 按实施例 3 酊剂制备工艺制备银杏酚酸酊剂 1000ml, 银杏酚酸含量为 10.4% (W/V)。分装于 50 支小管中, 每支 20ml。

[0098] 实施例 7:

[0099] 银杏果外种皮中银杏酚酸提取工艺和含量测定方法同实施例 1, 得银杏酚酸浸膏, 银杏酚酸含量为 625.16mg/g。取银杏酚酸浸膏 300g, 按实施例 3 酊剂制备工艺制备银杏酚酸酊剂 1000ml, 银杏酚酸含量为 18.75% (W/V)。分装于 50 支小管中, 每支 20ml。

[0100] 实施例 8:

[0101] 银杏叶中银杏酚酸提取工艺同实施例 3, 含量测定方法同实施例 1, 得银杏酚酸浸膏, 银杏酚酸含量为 548.33mg/g。取银杏酚酸浸膏 200g, 按实施例 1 凝胶剂制备工艺制备银杏酚酸凝胶 1000g, 银杏酚酸含量为 11% (W/W)。分装于 50 支小管中, 每支 20g。

[0102] 实施例 9:

[0103] 银杏果外种皮中银杏酚酸提取工艺和含量测定方法同实施例 1, 得银杏酚酸浸膏, 银杏酚酸含量为 652.36mg/g。取银杏酚酸浸膏 500g, 按实施例 3 酊剂制备工艺制备银杏酚酸酊剂 1000ml, 银杏酚酸含量为 32.6% (W/V)。分装于 50 支小管中, 每支 20ml。

[0104] 实施例 10:

[0105] 银杏果实白果中银杏酚酸提取工艺同实施例 2, 含量测定方法同实施例 1, 得银杏酚酸浸膏, 银杏酚酸含量为 428.30mg/g。取银杏酚酸浸膏 1g, 按实施例 2 软膏剂制备工艺制备银杏酚酸软膏 1000g, 银杏酚酸含量为 0.043% (W/W)。分装于 50 支小管中, 每支 20g。

[0106] 用以上方法制成的银杏酚酸外用制剂, 经多种皮肤病患者试用, 具体病例和疗程见表 11。所有患者用本发明外涂病患皮损处, 每天 2 次。患者在治疗期间均不使用任何其它皮肤外用药物。疗效标准: 治愈: 临床皮肤病损表现全部消失, 病原体镜检为阴性; 显效: 临床皮肤病损表现基本消失, 病原体镜检为弱阳性; 有效: 临床皮肤病损表现部分消失, 病原体镜检为弱阳性; 无效: 临床皮肤病损表现不变或加重, 病原体镜检为阳性。治愈率 = 治愈人数 / 总病例 X 100%; 有效率 = (治愈人数 + 显效人数 + 有效人数) / 总病例 X 100%。结果见表 11。临床试用结果表明, 多种皮肤病患者使用本发明银杏酚酸外用制剂均有效, 有效率达 100%; 治愈率均超过 80%。所有患者在应用本发明期间均未出现皮肤刺激、过敏等不良反应。因此本发明是一种理想的治疗多种皮肤病的外用制剂, 疗效显著, 使用安全可靠。

[0107] 表 11 本发明银杏酚酸外用制剂治疗皮肤病的临床效果

[0108]

病症	例 数 (人)	疗程 (天)	治疗效果				治愈率 (%)	有效率 (%)
			治愈	显效	有效	无效		
脓疱疮	102	5	91	9	2	0	89.22	100
毛囊炎	125	3	118	6	1	0	94.4	100
痤疮	150	3	139	8	3	0	92.67	100
单纯疱疹	85	7	79	5	1	0	92.94	100
头癣	108	10	91	13	4	0	84.26	100
手足癣	135	10	116	13	6	0	85.93	100
湿疹	95	5	90	4	1	0	94.74	100
荨麻疹	80	5	72	6	2	0	90	100
神经性皮炎	60	5	55	4	1	0	91.67	100
皮肤瘙痒症	100	5	91	5	4	0	91	100
皮肤螨虫病	80	5	72	7	1	0	90	100
疥疮	50	10	41	6	3	0	82	100
鸡眼胼胝	140	3	128	8	4	0	91.43	100
灰指甲	110	10	92	12	6	0	83.64	100