贻贝粘蛋白产品治疗和预防黑色素相关疾病中的应用

技术领域

本发明大体涉及药品、化妆品、医疗产品、消毒产品、保健品、食品以及日化产品技术领域，更具体地，涉及贻贝粘蛋白产品及其在治疗和预防黑色素相关疾病中的应用。

背景技术

黑色素是动物皮肤或者毛发中存在的一种黑褐色的色素，由一种特殊的细胞即黑色素细胞生成并且储存在其中。黑色素广泛存在于人的皮肤、粘膜、视网膜、软脑膜、胆囊与卵巢等处。正是由于黑色素的存在，皮肤才有了颜色。黑色素是一种生物色素，由酪氨酸或 3,4-二羟苯丙氨经过一连串化学反应形成，并且通常是以聚合的方式存在。

黑色素本质上是一种蛋白质。它们存在于皮肤基底层的细胞（也叫做“色素母细胞”）中间，是一种被称作“黑色素原生物质”的物质。色素母细胞分泌麦拉宁色素，当紫外线(UVA 和 UVB)照射到皮肤上，UVB 作用于皮肤基底层，肌肤就会处于“自我防护”状态，通过紫外线刺激麦拉宁色素，激活酪氨酸酶的活性，从而保护皮肤细胞。多巴是黑色素的前身，经酪氨酸氧化而成，释放出黑色素。黑色素又经由细胞代谢的层层移动，到达肌肤表皮层形成雀斑、晒斑、黑斑等形状。

黑色素的产生多与内分泌失调，日光照射有关，黑色素细胞的多少主要取决于遗传，也与内分泌激素及营养状况有关，由黑色素导致的疾病例如雀斑、黄褐斑、黑变病等色素沉着性疾病，是美容界广泛研究的课题。

色素在其生成过程中的抑制有别于已经生成的色素的治疗。抑制色素的沉着在于中止从酪氨酸到多巴再到二羟基吲哚，直至生成黑色素的过程。这一过程可以通过抑制炎症，阻止炎症因子的生成，从而实现色素抑制作用；或是通过可以与色素形成过程中的物质进行反应的物质来阻断色素的生成；或是通过抗氧化阻止色素形成。而色素治疗是通过还原性物质使已经形成的黑色素分解，从而使色素最终消失。

贻贝粘蛋白（Mussel adhesive protein, MAP），也称作贻贝足丝蛋白（Mytilus edulis foot protein, Mefp），是海洋贝类紫贻贝（Mytilus edulis Linnaeus）、厚壳贻贝（Mytilus coruscus）、翡翠贻贝（Perna viridis）等分泌的一种特殊的蛋白质。贻贝通常成群地附着在海岸边的礁石

上或者轮船的底部，有在近海耐受波浪冲击的能力。实际上贻贝几乎可以极其牢固地附着在任何材料的基底上，如金属、木材、玻璃等。贻贝具有上述特性的主要原因是其足丝腺内可生成并储存这种特殊的粘蛋白，贻贝通过足丝释放粘蛋白到岩石一类的固体表面上，形成抗水的结合，从而将自己固定。

目前从贻贝中鉴定得到 11 种粘蛋白亚类，包括 mefp1、mefp-2、mefp-3、mefp-4、mefp-5、mefp-6、胶原蛋白 pre-COL-P、pre-COL-D、pre-COL-NG、足丝基质蛋白 PTMP 和 DTMP（朱曜曜等，海洋科学进展，2014,32(4)：560-568）。贻贝粘蛋白具有 2 个结构特点：（1）含有赖氨酸，使蛋白带有高载量正电荷；（2）含 3,4 二羟基苯丙氨酸（DOPA，多巴）。人体的细胞和组织带有负电荷。贻贝粘蛋白通过自身正电荷与人体的细胞和组织负电荷之间的静电相互作用与细胞和组织紧密结合，发挥防护和治疗的作用。此外，多巴氧化生成邻位二醌，可以和未被氧化的多巴相互交联形成膜或是网状支架，促使蛋白质更加紧密、稳固地附着在人体表面，起到保护作用。贻贝粘蛋白是大分子蛋白质，在人体内完全降解的时间约为 3 - 10 天，其附着于细胞组织的能力优异，使贻贝粘蛋白可以稳固于局部，持续发挥作用。

虽然贻贝粘蛋白具有以上特点，但目前其产品应用领域非常有限。商品化的贻贝粘蛋白产品有美国 BD Biosciences 公司的 Cell-Tak，韩国 Kollodis 的 MAP Trix 和瑞典 Biopolymer 的 Hydrogel。这些产品或者是以贻贝粘蛋白溶液状态直接使用，或者是以冻干粉制剂保存而在使用前溶解，它们的主要应用限于微观的细胞粘附和组织粘合剂。也有报道贻贝粘蛋白用于胎膜修复、作为抗海水腐蚀涂层、心脏载药支架等应用。

发明内容

本发明人发现贻贝粘蛋白作为一种多酚蛋白质，其分子中含有的多巴基团是参与黑色素合成的重要物质，在黄褐斑、雀斑、黑变病等黑色素引起的疾病中，贻贝粘蛋白分子中的多巴基团可增强酪氨酸酶的活性，进而影响黑色素的分泌，达到治疗和预防黑色素相关疾病的目的。

本发明人进一步发现贻贝粘蛋白分子量高达 100 kD，经皮直接使用时的吸收率低，影响作用效果。采用皮肤表面形成微创或加入酶水解贻贝粘蛋白可提高经皮作用的效率，更有效治疗黄褐斑、雀斑、黑变病、其他色素沉着性皮肤病，有效抑制以黑色素瘤为代表的皮肤癌，预防因日晒或痤疮等皮肤疾病可能产生的色素沉着。

本发明的一个目的是提供一种贻贝粘蛋白产品。

在本文中使用的贻贝粘蛋白是指从贻贝科（Mytilidae）双壳类软体动物中的紫贻贝（Mytilus edulis Linnaeus）、厚壳贻贝（Mytilus coruscus）或翡翠贻贝（Perna viridis）等海洋贻贝中纯化获得的、目前已知的贻贝粘蛋白 11 个亚类：mefp1、mefp-2、mefp-3、mefp-4、mefp-5、mefp-6、胶原蛋白 pre-COL-P、pre-COL-D、pre-COL-NG、足丝基质蛋白 PTMP 和 DTMP 中的一种或几种的混合物。在本文中使用的贻贝粘蛋白在水溶液中的酸碱度可以是 pH 1.0 - 7.0，特别是可以在 pH 3.0 - 6.5 的范围内以使其治疗效果更佳。

在本文中使用的贻贝粘蛋白可以采用以下制备方法获得，例如中国专利号 ZL200710179491.0 的一种使用混合吸附色谱分离纯化贻贝粘蛋白的方法，中国专利号 ZL200710179492.5 的一种使用羧甲基离子交换色谱纯化贻贝粘蛋白的方法，中国专利号 ZL200910087567.6 的一种使用盐析和透析分离纯化贻贝粘蛋白的方法等。

在本文中使用的贻贝粘蛋白可以是溶液或冻干粉形式，特别是贻贝粘蛋白在产品中的浓度可以是 0.1 - 15.0 mg/ml，当浓度过低时，贻贝粘蛋白的功效不大，当浓度过高时，可引起细胞毒性、皮肤刺激等作用，从而不利于皮肤黑色素的治疗。

在本文中使用的贻贝粘蛋白也可以与辅料结合而制备成液体剂。示例性的贻贝粘蛋白液体剂是将贻贝粘蛋白溶液母液或冻干粉溶解或稀释至一定浓度或 pH 值制得，溶解或稀释用溶液可以是水、生理盐水、磷酸盐溶液、醋酸盐溶液、硼酸盐溶液等等。最终产品中贻贝粘蛋白的酸碱度可以是 pH 1.0 - 7.0，特别是可以在 pH 3.0 - 6.5 的范围内治疗效果更佳。

在本文中使用的贻贝粘蛋白也可以与辅料结合而制备成凝胶剂。示例性的贻贝粘蛋白凝胶剂是将贻贝粘蛋白溶液或冻干粉与凝胶基质材料混合制得，所述凝胶基质材料可以是选自纤维素衍生物、卡波姆和海藻酸盐、西黄蓍胶、明胶、果胶、卡拉胶、结冷胶、淀粉、黄原胶、阳离子瓜尔胶、琼脂、非纤维素多糖、乙烯聚合物、丙烯酸树脂、聚乙烯醇或聚羧乙烯中之一或其任意组合。

在本文中使用的贻贝粘蛋白也可以与辅料结合而制备成凝露。示例性的贻贝粘蛋白凝露是由贻贝粘蛋白溶液或冻干粉与凝露基质混合制得，所述凝露基质可以包括纤维素衍生物、甘油、非纤维素多糖、丙二醇中之一或其任意组合。

在本文中使用的贻贝粘蛋白也可以与辅料结合而制备成糊剂。示例性的贻贝粘蛋白糊剂是由贻贝粘蛋白与糊剂基质材料混合制得，所述糊剂基质材料可以包括甘油、凡士林、石蜡

等。

在本文中使用的贻贝粘蛋白还可以与基质材料结合形成用于皮肤表面的敷料和敷贴。示例性的贻贝粘蛋白敷贴中的液体可以是贻贝粘蛋白溶液，或是其与纤维素衍生物、卡波姆和海藻酸盐、西黄蓍胶、明胶、果胶、卡拉胶、结冷胶、淀粉、黄原胶、阳离子瓜尔胶、琼脂、非纤维素多糖、乙烯聚合物、丙烯酸树脂、聚乙烯醇或聚羧乙烯、明胶、鱼胶、果胶、海藻酸盐、甘油、凡士林、石蜡、聚乙二醇、维生素、谷胱甘肽中的一种或多种组合。上述贻贝粘蛋白溶液或组合浸泡在基质材料如纱布、无纺布、蚕丝纸上，所述敷贴可以是例如创口贴、面膜、眼膜、手膜、脚膜等。

可以向上述包括贻贝粘蛋白的各种制剂中进一步添加甘油、聚乙二醇、维生素、谷胱甘肽等本领域公知的可增加其保湿、抗氧化等能力的成分进一步提高其保湿、抗氧化的能力。

可以向上述包括贻贝粘蛋白的各种制剂中进一步添加芦荟、葡萄籽、茶叶、人参、蜗牛等提取物，氨基酸、胶原蛋白、透明质酸等成分，增加其营养皮肤和皮肤附属器官的能力，增加滑润程度。

以上所有制剂都可以采用本领域周知的方法制备，详细操作步骤可参照例如《制剂学》。

在本文中使用的贻贝粘蛋白可以作为主要原料，采用药学上可接受的载体制备药品。所述药品可以是液体剂、凝胶剂、凝露、糊剂、敷贴、泡沫剂。所述药品可用于体外使用，特别是可用于皮肤外用。

在本文中使用的贻贝粘蛋白可以作为主要原料，制备医疗器械。本文中使用的术语医疗器械是指直接或间接用于人体的材料及其他类似或相关的物品。所述医疗器械可以是液体剂、凝胶剂、凝露、糊剂、敷贴、泡沫剂。所述医疗器械可用于体外使用，特别是可用于皮肤外用。

在本文中使用的贻贝粘蛋白可以作为主要原料，采用化妆品领域可接受的辅料制备化妆品。所述化妆品可以是液体剂、凝胶剂、凝露、糊剂、敷贴、泡沫剂。所述化妆品可用于体外使用，特别是可用于皮肤外用。

在本文中使用的贻贝粘蛋白可以作为主要原料，采用消毒产品领域可接受的辅料制备消毒产品。本文中使用的术语消毒产品是指用化学、物理、生物的方法杀灭或者消除环境中病原微生物的消毒剂、消毒器械、卫生用品和一次性使用的医疗用品。所述消毒产品可以是液体剂、凝胶剂、凝露、糊剂、敷贴、泡沫剂。所述消毒产品可用于体外使用，特别是可用于皮肤外用。

在本文中使用的贻贝粘蛋白可以作为主要原料，采用保健品或食品领域可接受的辅料制备保健品或食品。所述保健品或食品可以是液体剂、凝胶剂、凝露、糊剂、敷贴、泡沫剂。所述保健品或食品可用于体外使用或食用，特别是可用于皮肤外用。

在本文中使用的贻贝粘蛋白可以作为主要原料，采用日化产品领域可接受的辅料制备日化产品。本文中使用的术语日化产品是指平日常用的科技化学制品，包括洗发水、沐浴露等。所述日化产品可以是液体剂、凝胶剂、凝露、糊剂、敷贴、泡沫剂。所述日化产品可用于体外使用，特别是可用于皮肤外用。

本发明的另一个目的是提供贻贝粘蛋白产品在治疗和预防黑色素沉着中的应用。特别是用于治疗黄褐斑、雀斑、黑变病等形成色素沉着的疾病，抑制以黑色素瘤为代表的皮肤癌，预防因日晒或痤疮等皮肤疾病可能产生的色素沉着。

在本文中使用的术语治疗是指干预或改变特定健康状态的过程，为解除病痛所进行的活动。在本文中使用的术语抑制是指组织或机体受刺激后，使原有损害减弱的过程。

在本文中使用的术语预防是指预先做好疾病治疗过程中可能出现偏离主观预期轨道或客观普遍规律的应对措施，避免产生可能存在的损害。

黄褐斑是指面部的黄褐色色素沉着。其多对称蝶形分布于颊部。

雀斑是发生在面部皮肤上的黄褐色点状色素沉着斑，属于常染色体显性遗传。其好发于面部，特别是鼻部和两颊，可累及颈、肩、手背等暴露部位，非暴露部位无皮疹。损害为浅褐或暗褐色针头大小到绿豆大斑疹，圆形、卵圆形或不规则。散在或群集分布，孤立不融合。

黑变病是由于工人长期接触沥青、煤焦油、石油类产品或长期吸入这类物质的挥发物而致皮肤慢性炎症，最终发生皮肤色素沉着。

黑色素瘤是由皮肤和其他器官的黑素细胞产生的肿瘤。皮肤黑素瘤表现为色素性皮损在数月或数年中发生明显改变。

皮肤病引起的色素沉着是由炎症性皮肤病所致或由各种药物引起。例如日光性皮炎或痤疮治疗后导致色素沉着。扁平苔藓和扁平苔藓样药疹导致色素沉着。固定型药疹可留下特征性环形色素沉着斑。可引起色素沉着的药物包括乙胺碘呋酮、四环素、美满霉素、争光霉素、环磷酰胺、抗疟药氯喹和喹宁、氯丙嗪和其他可引起暴露部位皮肤灰蓝色色素改变的吩噻嗪类药物。

根据本发明的一个方面，贻贝粘蛋白可以独立使用用于黑色素沉着的治疗和预防。当贻贝粘蛋白独立使用用于黑色素沉着的治疗和预防时，可以直接使用，也可以先形成微小创面

后使用。形成微小创面的方法包括：微针（可以由硅、二氧化硅、纤维素等制成）、滚针（可以由不锈钢、钛、聚四氟乙烯等制成）、激光（如：点阵激光）。

根据本发明的另一个方面，贻贝粘蛋白可以与酶结合，经酶降解后使用。其中贻贝粘蛋白抑制黑色素形成的氧化过程，与黑色素形成过程中的多巴（3,4-二羟基苯丙氨酸）结合中止色素的进一步形成过程。此外，由于贻贝粘蛋白分子量大，经皮给药困难，能被利用的程度低，采用酶水解贻贝粘蛋白提高经皮给药的效率，增强治疗效果。

在本文中使用所的酶可以是：(1) 各种来源的胰蛋白酶，例如从鳕鱼胰脏、牛胰脏、猪胰脏、磷虾中提取的胰蛋白酶；(2) 各种来源的胶原酶；(3) 各种来源的酪蛋白酶；(4) 各种来源的靡蛋白酶；(5) 各种来源的羧肽酶；(6) 各种来源的角蛋白酶；(7) 各种来源的肠激酶；(8) 各种来源的凝乳酶等。可以与贻贝粘蛋白共同用于黑色素治疗的酶不局限于以上所述酶。

根据本发明，贻贝粘蛋白可以与酶组合用于治疗黑色素，使用形式可以包括：(1) 先喷涂酶降解皮肤表面角质层，然后再次喷涂酶，并立刻喷涂贻贝粘蛋白，共同作用一段时间；(2) 先喷涂贻贝粘蛋白，然后喷涂酶，共同作用一段时间；(3) 将贻贝粘蛋白与酶混合一段时间后喷涂使用；(4) 先喷涂酶，然后喷涂贻贝粘蛋白，共同作用一段时间。

根据本发明，贻贝粘蛋白与酶形成产品的形式可以包括：(1) 贻贝粘蛋白与酶在不同的包装物内：分别使用，或是在使用前用使用者自行混合；(2) 贻贝粘蛋白水解肽混合物：贻贝粘蛋白采用上述各种酶制备成水解肽的混合物，采用加热等手段中止酶的活性后形成产品，直接使用；(3) 贻贝粘蛋白单一水解肽：贻贝粘蛋白采用上述各种酶制备成水解肽的混合物，采用色谱等分离方法，去除酶，去除不含有多巴基团的肽并去除非预期分子量的肽，获得仅含有多巴基团的单一肽产品，直接使用。

根据本发明，当用于治疗黑色素时，贻贝粘蛋白与酶的摩尔比在 0.1:1- 100:1 的范围内，优选在 1:1 - 50:1 的范围内。

具体实施方式

本发明的实施方式包括：

1、贻贝粘蛋白在治疗和预防黑色素沉着中的应用。

2、根据实施方式 1 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白可以是来自亚类：mefp1、mefp-2、mefp-3、mefp-4、mefp-5、mefp-6、胶原蛋白 pre-COL-P、pre-COL-D、pre-COL-NG、

足丝基质蛋白 PTMP 和 DTMP 中的一种或几种的混合物。

3、根据实施方式 1 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白浓度可以是 0.1 - 15.0 mg/ml。

4、根据实施方式 1 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白可以是以液体剂、凝胶剂、凝露、糊剂、敷贴或泡沫剂使用。

5、根据实施方式 1 的贻贝粘蛋白应用，其中最终产品中的贻贝粘蛋白可以是在 pH 1.0 - 7.0 的范围内，特别是可以在 pH 3.0 - 6.5 的范围内。

6、根据实施方式 1-5 中任一项的贻贝粘蛋白应用，其中所述黑色素沉着可以是黄褐斑、雀斑、黑变病等色素沉着，黑色素瘤为代表的皮肤癌，因日晒或痤疮等皮肤疾病产生的色素沉着。

7、根据实施方式 1 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白可以单独使用或与酶组合使用。

8、根据实施方式 7 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白可以直接使用，或可以先形成微小创面后使用。

9、根据实施方式 8 的贻贝粘蛋白应用，其中形成微小创面的方法可以包括：微针（可以由硅、二氧化硅、纤维素等制成）、滚针（可以由不锈钢、钛、聚四氟乙烯等制成）、激光（如：点阵激光）。

10、根据实施方式 7 的贻贝粘蛋白应用，其中所述酶可以是：(1) 各种来源的胰蛋白酶，例如从鳕鱼胰脏、牛胰脏、猪胰脏、磷虾中提取的胰蛋白酶；(2) 各种来源的胶原酶；(3) 各种来源的酪蛋白酶；(4) 各种来源的靡蛋白酶；(5) 各种来源的羧肽酶；(6) 各种来源的角蛋白酶；(7) 各种来源的肠激酶；(8) 各种来源的凝乳酶等。

11、根据实施方式 7 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白与所述酶组合使用形式可以包括：(1) 先喷涂酶降解皮肤表面角质层，然后再次喷涂酶，并立刻喷涂贻贝粘蛋白，共同作用一段时间；(2) 先喷涂贻贝粘蛋白，然后喷涂酶，共同作用一段时间；(3) 将贻贝粘蛋白与酶混合一段时间后喷涂使用；(4) 先喷涂酶，然后喷涂贻贝粘蛋白，共同作用一段时间。

12、根据实施方式 7 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白与酶可以在不同的包装物内。

13、根据实施方式 7 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白与酶组合使用可以是以贻贝粘蛋白水解肽混合物的形式使用。

14、根据实施方式 7 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白与酶组合使用可以是以贻贝粘蛋白单一水解肽的形式使用。

15、根据实施方式 7 的贻贝粘蛋白应用，其中所述贻贝粘蛋白与酶的摩尔比可以在 0.1:1-100:1 的范围内，优选可以在 1:1 - 50:1 的范围内。

16、贻贝粘蛋白作为活性成分在用于治疗和预防黑色素沉着的组合物中的应用，其中所述组合物是以液体剂、凝胶剂、凝露、糊剂、敷贴或泡沫剂使用。

17、根据实施方式 16 的贻贝粘蛋白应用，其中所述组合物是皮肤外用组合物。

18、贻贝粘蛋白作为活性成分在在用于治疗黑色素的药品中的应用。

19、贻贝粘蛋白作为活性成分在在用于治疗黑色素的医疗器械中的应用。

20、贻贝粘蛋白作为活性成分在在用于治疗黑色素的化妆品中的应用。

21、贻贝粘蛋白作为活性成分在在用于治疗黑色素的消毒产品中的应用。

22、贻贝粘蛋白作为活性成分在在用于治疗黑色素的保健品或食品中的应用。

23、贻贝粘蛋白作为活性成分在在用于治疗黑色素的日化产品中的应用。

24、根据实施方式 16-23 中任一项的贻贝粘蛋白应用，其中贻贝粘蛋白与酶组合使用。

25、一种用于治疗黑色素沉着的药品，包括贻贝粘蛋白和药学上可接受的载体，其中贻贝粘蛋白的浓度为 0.1 - 15.0 mg/ml。

26、一种用于治疗黑色素沉着的医疗器械，包括贻贝粘蛋白和医疗器械领域可接受的载体，其中贻贝粘蛋白的浓度为 0.1 - 15.0 mg/ml。

27、一种用于治疗黑色素沉着的化妆品，包括贻贝粘蛋白和化妆品领域可接受的载体，其中贻贝粘蛋白的浓度为 0.1 - 15.0 mg/ml。

28、一种用于治疗黑色素沉着的消毒产品，包括贻贝粘蛋白和消毒产品领域可接受的载体，其中贻贝粘蛋白的浓度为 0.1 - 15.0 mg/ml。

29、一种用于治疗黑色素沉着的保健品/食品，包括贻贝粘蛋白和保健品/食品领域可接受的载体，其中贻贝粘蛋白的浓度为 0.1 - 15.0 mg/ml。

30、一种用于治疗黑色素沉着的日化产品，包括贻贝粘蛋白和日化产品领域可接受的载体，其中贻贝粘蛋白的浓度为 0.1 - 15.0 mg/ml。

31、根据实施方式 25-30 中任一项的药品，进一步包括酶。

下面将结合具体实施例对本发明作进一步说明。需要指出的是，由本发明中的贻贝粘蛋白或贻贝粘蛋白的各种制剂形成的药品、医疗器械、化妆品、消毒产品、保健品或食品、日化产品在施用于受试者后，都可以应用于上文所述的适应症并展现出上文所述的功能，在本发明范围内的所有剂型均已测试，下文中，仅仅是为说明，只在实施例中描述了其中一少部分，然而不应将其理解为对本发明的限制。

除非特殊说明，否则本发明中所使用的试剂都是市售可购买的。

实施例1：贻贝粘蛋白凝胶剂化妆品在黄褐斑治疗中的应用。

取贻贝粘蛋白溶液与聚乙烯醇、羟丙基纤维素、甘油按照质量比为 2：2：1：2 混合，获得贻贝粘蛋白浓度 3 mg/g 的贻贝粘蛋白凝胶剂化妆品。

收集黄褐斑病例 10 例，要求入选患者患处为颊部，斑片颜色为深褐色，经皮肤科专家确诊后入组试验。在患处涂抹上述贻贝粘蛋白凝胶剂化妆品，每日 1 次，每次使用以能均匀涂抹在患处表面为准。每 10 天用色素测定仪测定患处色素值，10 例患者在涂抹贻贝粘蛋白凝胶剂化妆品 50 天后，患处色素值下降 9%（参见表 1），证明长期使用贻贝粘蛋白产品可以减化黄褐斑处色素沉积。

表 1：

第 0 天患处色素平均值	308 ± 10.7
使用 10 天后色素平均值	303.4 ± 9.9
使用 20 天后色素平均值	299.2 ± 9.5
使用 30 天后色素平均值	293.6 ± 8.2
使用 40 天后色素平均值	286.6 ± 5.8
使用 50 天后色素平均值	280.6 ± 6.8

实施例2：贻贝粘蛋白凝露日化产品在黄褐斑治疗中的应用。

取贻贝粘蛋白溶液与丙二醇、甘油按照质量比为 2：2：1 混合，获得贻贝粘蛋白浓度为 1.5 mg/g 的贻贝粘蛋白凝露日化产品。

收集黄褐斑病例 10 例，要求入选患者患处为颊部，斑片颜色为深褐色，经皮肤科专家确诊后入组试验。在患处涂抹上述贻贝粘蛋白凝露日化产品，每日 2 次，每次使用以能均匀涂

抹在患处表面为准。每 10 天用色素测定仪测定患处色素值，10 例患者在涂抹贻贝粘蛋白凝露日化产品 50 天后，患处色素值下降 7.3%（参见表 2），证明长期使用贻贝粘蛋白产品可以减化黄褐斑处色素沉积。

表 2：

第 0 天患处色素平均值	316.0 ± 13.6
使用 10 天后色素平均值	313.8 ± 9.3
使用 20 天后色素平均值	309.4 ± 7.8
使用 30 天后色素平均值	302.3 ± 7.2
使用 40 天后色素平均值	298.6 ± 6.9
使用 50 天后色素平均值	293.9 ± 8.2

实施例3：贻贝粘蛋白液体医疗器械在黄褐斑治疗中的应用。

取浓度为 20.0 mg/ml 的贻贝粘蛋白溶液 1 ml，加入 9 ml 0.1%柠檬酸溶液，配制成贻贝粘蛋白浓度为 2.0 mg/ml 的水溶液。取鳕鱼酶 1.0 mg，加入 1.0 ml 去离子水配成浓度为 1.0 mg/ml 的溶液。

收集 30 例经皮肤科专家确诊的黄褐斑患者进行试验。患者患处有成片的黄褐。

入选患者随机分为三组，第一组采用市售祛斑液涂抹患处，记为组 A。第二组采用上述贻贝粘蛋白液体医疗器械喷涂患处，记为组 B；第三组采用贻贝粘蛋白液体医疗器械与酶的组合物喷涂患处，使用时先喷涂贻贝粘蛋白再喷涂酶制剂，记为组 C。三组患者使用时均每日 3 次，用量需能均匀涂抹患处。使用前测定患处黑色素值，以及患处周边无色斑处黑色素值。每 10－30 天测定患处黑色素值，并计算患处黑色素变化率（结果见表 3）。

黑色素变化率采用以下公式计算：

（使用前黑色素值－使用后黑色素值)/(使用前黑色素值－正常部位黑色素值）× 100%

表 3：

使用时间（天）	组 A 黑色素变化率（%）	组 B 黑色素变化率（%）	组 C 黑色素变化率（%）
10	0.6 ± 0.2	2.6 ± 0.4	8.3 ± 1.9
30	1.2 ± 0.3	5.8 ± 1.2	16.9 ± 2.7

60	4.3 ± 0.8	9.6 ± 1.8	20.6 ± 3.1
90	5.2 ± 1.6	13.7 ± 2.5	28.2 ± 2.8

结果表明：与市售祛斑产品相比，使用贻贝粘蛋白液体医疗器械 90 天后，患处色素值变化率超过一倍，祛斑效果优于市售产品。在组合使用贻贝粘蛋白液体医疗器械与酶 90 天后，患处色素值变化率达到 28.2%，起到明显改善患处黄褐斑的效果。另外，与单独使用贻贝粘蛋白产品相比，组合使用贻贝粘蛋白产品与酶，患处色素值变化率提高一倍，更有利于黄褐斑的治疗。

实施例4：贻贝粘蛋白化水凝胶化妆品在黄褐斑治疗中的应用。

取羧甲基纤维素钠 10 g，加入 20 ml 去离子水，90℃温浴 30 min 至完全溶解得到凝胶基质，另取浓度为 10.0 mg/ml 的贻贝粘蛋白溶液 2.5 ml，边搅拌边加入到凝胶基质中，混合均匀后形成贻贝粘蛋白化水凝胶化妆品，贻贝粘蛋白浓度为 1.1 mg/ml。取鳕鱼酶 1.0 mg，加入 1.0 ml 去离子水配成浓度为 1.0 mg/ml 的溶液。

收集 20 例经皮肤科专家确诊的黄褐斑患者进行试验。患者患处有成片的黄褐。

入选患者采用上述贻贝粘蛋白水凝胶化妆品喷涂患处，使用时先喷涂贻贝粘蛋白水凝胶化妆品再喷涂酶制剂，每日 3 次。使用前测定患处黑色素值，以及患处周边无色斑处黑色素值。每 10－30 天测定患处黑色素值，并计算患处黑色素变化率（结果参见表 4）。

黑色素变化率采用以下公式计算：

（使用前黑色素值－使用后黑色素值）/（使用前黑色素值－正常部位黑色素值）× 100%

表 4：

使用时间（天）	黑色素变化率（%）
10	9.6 ± 1.6
30	18.2 ± 1.9
60	29.6 ± 2.7
90	38.4 ± 1.8

结果表明：使用贻贝粘蛋白水凝胶化妆品与酶 10 天后，患处色素值已经开始下降，并且随着使用时间的延长，患处黑色素变化率增加，至使用 90 天后，患处色素变化超过 1/3。本发明的贻贝粘蛋白产品能减轻黄褐斑处色素沉着，可用于黄褐斑的治疗。

实施例5：贻贝粘蛋白液体药品在雀斑治疗中的应用。

取浓度为 10.0 mg/ml 的贻贝粘蛋白溶液 1 ml，加入 9 ml 0.1%柠檬酸溶液，配制成贻贝粘蛋白浓度为 1.0 mg/ml 的液体药品。取胰蛋白酶 1.0 mg，加入 1.0 ml 去离子水配成浓度为 1.0 mg/ml 的溶液。

收集 20 例经皮肤科专家确诊的雀斑患者进行试验。患者患处有成片的褐色斑点。

入选患者采用上述贻贝粘蛋白液体药品喷涂患处，使用时先喷涂贻贝粘蛋白液体药品再喷涂酶制剂，每日 3 次。使用前测定患处黑色素值，以及患处周边无色斑处黑色素值。每 10－30 天测定患处黑色素值，并计算患处黑色素变化率（结果见表 5）。

黑色素变化率采用以下公式计算：

（使用前黑色素值－使用后黑色素值)/(使用前黑色素值－正常部位黑色素值）× 100%

表 5：

使用时间（天）	黑色素变化率（%）
10	6.4 ± 1.4
30	21.6 ± 2.8
60	28.7 ± 2.9
90	35.2 ± 3.6

结果表明：使用贻贝粘蛋白液体药品与酶 10 天后，患处色素值已经开始下降，并且随着使用时间的延长，患处黑色素变化率增加，至使用 90 天后，患处色素变化达到 35.2%，证明本发明的贻贝粘蛋白产品能降低雀斑患者色素沉着，可用于雀斑的治疗。

实施例6：贻贝粘蛋白凝露日化产品在雀斑治疗中的应用。

取丙二醇和丙三醇按 1:1 比例混合形成凝露基质，另取浓度为 10.0 mg/ml 的贻贝粘蛋白溶液 2.5 ml，边搅拌边加入到凝露基质中，混合均匀后形成贻贝粘蛋白凝露日化产品，贻贝粘蛋白浓度为 3.0 mg/ml。

收集 30 例经皮肤科专家确诊的雀斑患者进行试验。患者患处有成片的褐色斑块。

入选患者随机分成三组，第一组使用市售祛斑凝露，记为组 A。第二组直接使用上述贻贝粘蛋白凝露日化产品涂抹患处，记为组 B；第三组先采用微针在患处形成微创面，再使用

该贻贝粘蛋白凝露日化产品涂抹患处，记为组C。三组使用方法均为每日 3 次，用量以能均匀涂抹患处。使用前测定患处黑色素值，以及患处周边无色斑处黑色素值。使用贻贝蛋白后每 10－30 天测定患处黑色素值，并计算患处黑色素变化率（结果见表 6）。

黑色素变化率采用以下公式计算：

（使用前黑色素值－使用后黑色素值)/(使用前黑色素值－正常部位黑色素值）× 100%

表 6：

使用时间（天）	组A黑色素变化率（%）	组B黑色素变化率（%）	组C黑色素变化率（%）
10	0.5 ± 0.3	3.9 ± 0.9	11.3 ± 2.6
30	1.1 ± 0.4	7.2 ± 1.6	28.5 ± 2.9
60	3.9 ± 0.7	11.6 ± 1.7	34.8 ± 3.8
90	5.0 ± 1.2	16.7 ± 2.4	42.6 ± 3.1

结果表明: 与市售产品相比，使用贻贝粘蛋白凝露日化产品 90 天后黑色素变化率提高 3 倍。在组合使用贻贝粘蛋白凝露日化产品与酶 90 天后，患处色素值变化率达到 42.6%，起到明显改善患处雀斑色素沉着的效果。另外，与单独使用贻贝粘蛋白产品相比，组合使用贻贝粘蛋白产品与酶，患处色素值变化率提高 2.5 倍，更有利于雀斑的治疗。

实施例7：贻贝粘蛋白凝露化妆品在黑变病治疗中的应用。

取贻贝粘蛋白冻干粉，与明胶、鱼胶和甘油，按照 3:1:1:0.5 的比例混合制剂，形成贻贝粘蛋白凝露化妆品，其中贻贝粘蛋白浓度为 5.5 mg/ml。

收集 12 例经皮肤科专家确诊的黑变病患者，患者每日使用 2 次上述贻贝粘蛋白凝露化妆品，用量以能完全覆盖测试区域，连续使用 90 天。

用色素测定仪测定患处色素情况，连续使用 20 天后，患处平均色素值开始下降，下降至初始值的 96%左右。至 90 天时，患处色素值下降至初始值的 82.6%（参见表 7），证明使用本发明的贻贝粘蛋白产品可以降低黑变病的色素沉着。

表 7：

第 0 天患处色素平均值	328.0 ± 23.7
使用 20 天后色素平均值	317.7 ± 19.5
使用 40 天后色素平均值	303.4 ± 15.8
使用 60 天后色素平均值	292.6 ± 16.9
使用 80 天后色素平均值	285.9 ± 18.1

使用 90 天后色素平均值	271.2 ± 28.8

实施例8：贻贝粘蛋白凝胶保健品在黑变病治疗中的应用。

取贻贝粘蛋白溶液，与明胶和甘油按照 1:1:1 的比例混合，形成贻贝粘蛋白凝胶保健品，其中贻贝粘蛋白浓度为 10.0 mg/ml。

收集 12 例经皮肤科专家确诊的黑变病患者，患者每日使用 2 次上述贻贝粘蛋白凝胶保健品，用量以能完全覆盖测试区域，连续使用 90 天。

用色素测定仪测定患处色素情况，连续使用 20 天后，患处平均色素值开始下降，下降至初始值的 96%。至 90 天时，患处色素值下降至初始值的 80%（参见表 8），证明使用本发明的贻贝粘蛋白产品可以降低黑变病的色素沉着。

表 8：

第 0 天患处色素平均值	353.3 ± 43.1
使用 20 天后色素平均值	341.7 ± 36.4
使用 40 天后色素平均值	316.6 ± 25.6
使用 60 天后色素平均值	300.3 ± 24.8
使用 80 天后色素平均值	290.9 ± 19.6
使用 90 天后色素平均值	282.2 ± 24.9

实施例9：贻贝粘蛋白液体保健品在黑变病治疗中的应用。

取浓度为 10.0 mg/ml 的贻贝粘蛋白溶液 10 ml，加入 10 ml 0.001%乙酸溶液，配制成贻贝粘蛋白浓度为 5.0 mg/ml 的水溶液。

收集 12 例经皮肤科专家确诊的黑变病患者进行试验。患者以激光微创技术在测试表面形成微创面，再使用上述贻贝粘蛋白液体保健品，每日使用 2 次，用量以能完全覆盖测试区域，连续使用 90 天。

使用前测定患处黑色素值，以及患处周边无色斑处黑色素值。每 10 - 30 天测定患处黑色素值，并计算患处黑色素变化率（结果见表 9）。

黑色素变化率采用以下公式计算：

（使用前黑色素值－使用后黑色素值)/(使用前黑色素值－正常部位黑色素值）× 100%

表 9：

使用时间（天）	黑色素变化率（%）
10	4.2 ± 1.1

30	25.6 ± 3.8
60	37.1 ± 3.6
90	42.2 ± 3.7

结果表明：使用贻贝粘蛋白液体保健品后，患处色素值已经开始下降，并且随着使用时间的延长，患处黑色素变化率增加，至使用 90 天后，患处色素变化达到 42.2%，证明本发明的贻贝粘蛋白产品能降低黑变病患者色素沉着，可用于黑变病的治疗。

实施例10：贻贝粘蛋白化水凝胶医疗器械在黑变病治疗中的应用。

取贻贝粘蛋白、卡波姆、丙二按质量比为 1:1:2 比例混合形成贻贝粘蛋白水凝露医疗器械，其中贻贝粘蛋白浓度为 2.5 mg/ml。

收集 12 例经皮肤科专家确诊的黑变病患者进行试验。患者以滚针微创技术在测试表面形成微创面，再使用贻贝粘蛋白水凝胶医疗器械，每日使用 2 次，用量以能完全覆盖测试区域，连续使用 90 天。

使用前测定患处黑色素值，以及患处周边无色斑处黑色素值。使用贻贝蛋白后每 10－30 天测定患处黑色素值，并计算患处黑色素变化率（结果见表 10）。

黑色素变化率采用以下公式计算：

（使用前黑色素值－使用后黑色素值)/(使用前黑色素值－正常部位黑色素值）× 100%

表 10：

使用时间（天）	黑色素变化率（%）
10	10.3 ± 1.6
30	23.6 ± 3.1
60	31.8 ± 2.8
90	39.2 ± 3.5

结果表明：使用贻贝粘蛋白水凝胶医疗器械 10 天后，患处色素值已经开始下降，并且随着使用时间的延长，患处黑色素变化率增加，至使用 90 天后，患处色素变化达到 39.2%，证明本发明的贻贝粘蛋白产品能降低黑变病患者色素沉着，可用于黑变病的治疗。

实施例11：贻贝粘蛋白液体化妆品在抑制烧伤后黑色素沉淀治疗中的应用。

取贻贝粘蛋白溶液，加入 0.01%柠檬酸调节溶液 pH 为 4.0，形成贻贝粘蛋白液体化妆品，其中贻贝粘蛋白的浓度为 10.0 mg/ml。

收集烧伤后愈合期患者 5 例，患者烧伤面积大于 2%人体表面积，经受试者自愿签署知情同意书后参加试验。患者每天使用上述贻贝粘蛋白液体化妆品 3 次，每次用量以能均匀覆盖患处为准。试验时选择同体相邻区域进行对照，即同体选择两块区域，一部分使用上述贻贝粘蛋白液体化妆品（试验组），另一部分按照正常中程序进行治疗（对照组）。使用第 0 天、7 天和 14 天分别测定试验组、对照组及健康皮肤的色素（参见表 11）。经过 14 天治疗，使用该贻贝粘蛋白液体化妆品的烧伤康复后皮肤未见明显黑色素沉着，而未使用的皮肤可见明显色素沉着。

表 11：

	健康的皮肤色素	试验组的皮肤色素	对照组的皮肤色素
第 0 天	138.7 ± 5.8	139.6 ± 6.1	139.6 ± 6.1
第 7 天	138.7 ± 5.8	142.6 ± 4.3	157.4 ± 5.5
第 14 天	138.7 ± 5.8	145.2 ± 4.9	170.2 ± 6.0