



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103402528 B

(45) 授权公告日 2016. 08. 10

(21) 申请号 201280012357. 0

(22) 申请日 2012. 03. 08

(30) 优先权数据

10-2011-0021389 2011. 03. 10 KR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2013. 09. 09

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2012/001711 2012. 03. 08

(87) PCT国际申请的公布数据

W02012/121560 KO 2012. 09. 13

(73) 专利权人 庆熙大学校产学协力团

地址 韩国京畿道

(72) 发明人 姜东昊 洪彬娜

(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理

有限公司 44224

代理人 黎艳 刘培培

(51) Int. Cl.

A61K 36/43(2006. 01)

A61K 36/804(2006. 01)

A61P 27/16(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1115654 A, 1996. 01. 31,

董泽宏等. 聪耳汤治疗青少年感音神经性耳聋 35 例. 《新中医》. 1995, (第 7 期),

李玉霞. 辨证治疗神经性耳聋 15 例疗效观察. 《云南中医中药杂志》. 2005, 第 26 卷 (第 5 期),

齐望. 中医辨治糖尿病性耳聋. 《农村医药报(汉)》. 2009,

朱明烈. 老年耳聋治验三则. 《湖北中医杂志》. 1989, (第 3 期),

李水银. 噪音致病的辨证论治. 《中药报》. 2002,

审查员 耿锬锬

权利要求书1页 说明书13页 附图6页

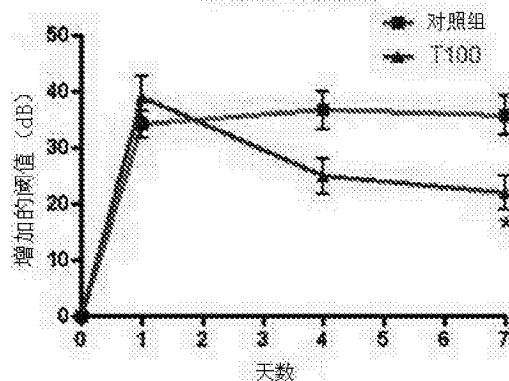
(54) 发明名称

用于预防或治疗听力损失的组合物

(57) 摘要

本发明提供用于预防或治疗听力损失的药物组合物, 该药物组合物包含金灯藤提取物, 或地黄和金灯藤的提取物。此外, 本发明提供用于预防或改善听力损失的食品组合物, 该食品组合物包含金灯藤提取物, 或地黄和金灯藤的提取物。本发明的组合物可通过有效地抑制由噪音引发的阈移来抑制听力损失, 特别地, 可抑制声创伤、暂时性或永久性听力损失。因此, 本发明的组合物对预防或治疗听力损失有效。此外, 可口服给药, 从而提高患者的药物依从性。

短声的增加阈值



1.地黄和金灯藤的提取物作为唯一活性成分在制备用于预防或治疗噪音引发的听力损失的药物组合物中的用途,

其中,所述地黄和金灯藤的提取物由1:1.8~1:9比例的地黄和金灯藤制成。

2.根据权利要求1所述的用途,其特征在于,所述提取物通过提取过程获得,该提取过程包括用提取溶剂对地黄和金灯藤进行提取的提取步骤,所述提取溶剂选自水、C₁~C₄醇、以及水和C₁~C₄醇的混合溶剂。

3.根据权利要求1或2所述的用途,其特征在于,所述地黄为选自干地黄和熟地黄中的至少一种,而所述金灯藤为选自中国菟丝子、五角菟丝子、日本菟丝子和南方菟丝子中的至少一种。

4.地黄和金灯藤的提取物作为唯一活性成分在制备用于预防或改善噪音引发的听力损失的食品组合物中的用途,

其中,所述地黄和金灯藤的提取物由1:1.8~1:9比例的地黄和金灯藤制成。

5.根据权利要求4所述的用途,其特征在于,所述提取物通过提取过程获得,该提取过程包括用提取溶剂对地黄和金灯藤进行提取的提取步骤,所述提取溶剂选自水、C₁~C₄醇、以及水和C₁~C₄醇的混合溶剂。

6.根据权利要求4或5所述的用途,其特征在于,所述地黄为选自干地黄和熟地黄中的至少一种,而所述金灯藤为选自中国菟丝子、五角菟丝子、日本菟丝子和南方菟丝子中的至少一种。

用于预防或治疗听力损失的组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及用于预防或治疗听力损失的组合物,该组合物包含金灯藤(*Cuscuta japonica* Choisy)提取物,或地黄(*Rehmannia glutinosa* Libschitz var. *purpurea* MAKINO)和金灯藤的提取物。

背景技术

[0002] 耳可分为外耳、中耳和内耳,其中从耳廓至外耳道都属于外耳,中耳包括鼓膜和听小骨,内耳包括耳蜗管和听觉神经。由于声音为声能,它从耳廓通过外耳道进行传送而使鼓膜振动。鼓膜的振动以机械能的方式传到由三块小骨组成的、与鼓膜相连的听小骨。镫骨,听小骨的末端骨,与耳蜗管相连,从而将能量传导至耳蜗管内的淋巴液。所传输的能量可引起淋巴液的波动,由此可刺激耳蜗管内的毛细胞。毛细胞的运动会引起离子变化,从而向与毛细胞相贴的听觉神经传送神经递质,在听觉神经中响声会以电能形式传到大脑。声音传递器官,如外耳和中耳,在多数情况下通过治疗或手术可从疾病如炎症中得以恢复,待治疗后也可以改善由此引起的听力损失。这种听力损失被称作传导性听力损失(*conductive hearing loss*)。此外,由能感知声音的器官耳蜗管、以电能传递声音的听觉神经、以及参与综合作用如声音的辨别与理解的大脑区域引起的听力损失被称作神经性听力损失(*sensorineural hearing loss*)。

[0003] 在人体的感觉器官中,听觉器官是沟通中最为基础且重要的感觉,能让我们学习语言,获得知识,参与社交活动以及享受人的生活。由于大部分听力损失相当于神经性听力损失,目前除了预防就没有治疗方法,一旦发病,会采取补助手段如助听器或在体内植入机械装置来帮助听力。神经性听力损失可根据发病的起因或时间进行分类,例如,根据发病时间分为先天性听力损失和后天性听力损失。先天性听力损失相当于在出生前由遗传、胎儿或胚胎的问题造成的损伤。大多数先天性听力损失在程度上都非常严重,因此在没有单独的培训或教育之下无法学习语言。对于大部分的先天性听力损失,会采用高输出助听器或人工耳蜗(*cochlear implant*,通过植入体内的电刺激器刺激听觉神经并通过单独携带的外部装置来收听的装置)来帮助听力。然而,如果听力损失的严重程度,辅助装置如助听器或人工耳蜗的效果会降低,这与正常的听力能力有天壤之别,从而给日常生活留下诸多不便。对于后天性听力损失,它是由出生后的疾病、噪音、药物或意外造成的,发病因素有如噪音、药物、衰老、创伤、病毒。其中,近来明显有增加由噪音和衰老引发的后天性听力损失。科学技术的发展延长了寿命,由此使全世界的老年人人口得到迅速增长。由于大多数老年性听力损失也相当于神经性听力损失,除了预防或管理就没有用于治疗或缓解疾病的药物或治疗方法。如今的产业化社会也促进了由于噪声患有听力损失的人口的迅速增长。不仅与职业如在噪音环境中工作的工人或士兵有关的噪音引发的听力损失在增长,而且与文化 and 休闲活动有关的噪音引发的听力损失也在增长。根据韩国工业事故法,暴露于不小于90分贝的环境噪音时可造成听觉损伤。根据美国职业安全与健康管理局(OSHA),会对噪音不小于85分贝的环境实行噪音管理。根据研究,有报告称不小于75分贝的噪音会影响人的听觉

器官。鉴于此,不小于75分贝的噪音水平相当于有车辆行驶的路边的噪音,可以认为在工业社会中每个人都生活在有害于听觉器官的噪音中。除了不得不听到的环境噪音外,还有很多青少年会接触大的声音如休闲活动中使用MP3。因此,最近在各个年龄层中可见到噪音引发的听力损失。由于从年轻时起使用MP3等而引起的噪音引发的听力损失可损害听力,从而他们步入40岁后只能通过借助助听器才能进行对话。有了身体衰老的相伴,听力损失的程度将愈发严重。随着听力损失的程度变得严重,辅助装置如助听器的效果就会降低。深度的听力损失将最终导致交流上的严重问题。亦即,正经历电流噪音引发的听力损失的年轻一代会在他们年老时承受更加严重的听力损失。听力损失对决定从老年人到年轻人的各个时代的生活质量起着重要作用。

[0004] 目前,有报告称对抗氧化剂、N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartate,NMDA)拮抗剂、细胞凋亡抑制剂、生长因子等做了前临床研究,以发现用于预防和治疗听力损失的有效物质,但它们显示出对进行临床研究阶段的限制(Prasher D., Lancet, 352, pp1240-1242, 1998)。从研究阶段初期,在动物实验中证明了为中和活性氧簇(ROS)和活性氮簇(RNS)而使用的抗氧化剂可抑制耳蜗的细胞损伤,但所述物质还未被开发成药物。有报告称,N-乙酰半胱氨酸(N-acetyl cysteine,NAC)和蛋氨酸(methionine,MET)有助于预防听力损失,而且NAC,作为GSH的前药,可增加GSH的生成(Meister A., Pharmacol. Ther., 51, pp155-194, 1991)。高水平的NAC对噪音引发的听力损失显示出预防作用,其中所述NAC具有用于治疗呼吸系统疾病的黏多糖水解酶,且其中MET被转化成天然氨基酸的半胱氨酸。其他研究人员将重点放在了抑制细胞凋亡上,而且根据报告,谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)模拟物对由噪音引发的外毛细胞的损伤起预防作用。在这些研究中,直到临床阶段为止,镁、NAC和依布硒啉(Ebselen)显示了其疗效。每天向300名年轻士兵给予4g颗粒状镁,然后暴露于噪音1周后,与给予安慰剂的对照组进行比较,报告称他们具有较低程度的永久性听力损失(Attias J. et al., Am. J. Otolaryngol., 15, pp26-32, 1994)。向暴露于更低水平的噪音中的士兵给予镁时,显示出暂时性听力损失有在下降,而在2周的武器训练内向600名美国海军士兵给予NAC时,显示出永久性听力损失有在下降。从动物模型实验中,有报告称高用量的NAC对噪音引发的听力损失具有预防作用,而对永久性听力损失具有有限的效果(Kopke R.D. et al., Hear. Res., 149, pp138-146, 2000; Kramer S. et al., American Academy of Audiology Annual Convention and Expo, Washington D.C., USA, Poster Presentation, pp502, 2005)。在武器训练过程中向60名美国士兵进行为期2周的依布硒啉给药时,有报告称对暂时性和永久性听力损失均有效果(Yamasoba T. et al., Neurosci. Lett., 380, pp234-238, 2005)。

[0005] 至今,还没有公认的用于预防和治疗噪音引发的听力损失的药物,而只对临床前期的研究以及对临床阶段中的镁、NAC和依布硒啉药物有学术报告。

[0006] 此外,在东方医学领域,有报告称,过去熟地黄曾用于内耳疾病,如耳鸣和听力损失,而且熟地黄的乙醇提取物可抑制脂质过氧化作用并去除自由基的活性以从顺铂(cisplatin)引发的损伤中保护HEI-OC1听觉细胞(Hyeon-Hee Yu et al., Journal of Ethnopharmacology, Volume 107, Issue 3, pp383-388, 2006)。

[0007] 基于此,本发明人在自然物质中寻找了各种具有高安全性的、用于预防或治疗听力损失的活性物质。令人惊讶地,发现金灯藤提取物能有效地抑制由噪音引发的听力阈值

的转移即阈移,而且进一步发现地黄和金灯藤的提取物比单独的提取物显示出更优异的效果,从而完成了本发明。

发明内容

[0008] 技术问题

[0009] 本发明的目的在于提供用于预防或治疗听力损失的药物组合物。

[0010] 此外,本发明的目的在于提供用于预防或治疗听力损失的食物组合物。

[0011] 技术方案

[0012] 本发明提供用于预防或治疗听力损失的药物组合物,该药物组合物包含金灯藤提取物。

[0013] 本发明提供用于预防或治疗听力损失的药物组合物,该药物组合物包含地黄和金灯藤的提取物。

[0014] 本发明提供用于预防或治疗听力损失的食物组合物,该食物组合物包含金灯藤提取物。

[0015] 本发明提供用于预防或治疗听力损失的食物组合物,该食物组合物包含地黄合金灯藤的提取物。

[0016] 本发明的组合物可优选地适用于预防或治疗由各种原因引发的听力损失,特别地用于噪音引发的听力损失。

[0017] 所述金灯藤提取物可通过提取工艺获得,该提取工艺包括用选自水、C₁~C₄醇、以及水和C₁~C₄醇混合溶剂中的提取溶剂对金灯藤进行提取的步骤,优选为乙醇水溶液。

[0018] 所述地黄和金灯藤的提取物可通过提取工艺获得,该提取工艺包括用选自水、C₁~C₄醇以及水和C₁~C₄醇混合溶剂中的提取溶剂分别对地黄和金灯藤进行提取的步骤,优选为乙醇水溶液,然后包括将各提取物进行混合的步骤,或者用上述提取溶剂对地黄和金灯藤同时进行提取的步骤。

[0019] 所属地黄可以为选自生地黄、干地黄和熟地黄中的至少一种,而所属金灯藤可以为选自中国菟丝子(*Cuscuta chinensis* Lam.)、五角菟丝子(*Cuscuta pentagona* Engelm.)、日本菟丝子(*Cuscuta japonica* Choisy)和南方菟丝子(*Cuscuta australis* R. Br.)中的至少一种。

[0020] 有益效果

[0021] 本发明的组合物可有效地抑制由噪音等引发的听力阈移,从而抑制听力损失,特别地,可抑制声创伤、暂时性或永久性噪音引发的听力损失。因此,本发明的组合物能有助于预防或治疗听力损失。此外,它可口服,从而可提高患者的服药依从性。

附图说明

[0022] 图1展示了暴露于噪音后在瞬态诱发性耳声发射(transient evoked otoacoustic emission,TEOAE)测试中对金灯藤提取物的测定(对照组:未处理组,T100:用金灯藤提取物处理的测试组)。

[0023] 图2展示了暴露于噪音后通过听性脑干反应(auditory brainstem response,ABR)用短刺激声的听力阈值测试中对金灯藤提取物的测定(对照组:未处理组,T100:用金

灯藤提取物处理的测试组)。

[0024] 图3展示了暴露于噪音后通过听性脑干反应(ABR)用3kHz TB刺激声的听力阈值测试中对金灯藤提取物的测定(对照组:未处理组,T100:用金灯藤提取物处理的测试组)。

[0025] 图4展示了暴露于噪音后通过听性脑干反应(ABR)用4kHz TB刺激声的听力阈值测试中对金灯藤提取物的测定(对照组:未处理组,T100:用金灯藤提取物处理的测试组)。

[0026] 图5展示了暴露于噪音后通过听性脑干反应(ABR)用6kHz TB刺激声的听力阈值测试中对金灯藤提取物的测定(对照组:未处理组,T100:用金灯藤提取物处理的测试组)。

[0027] 图6展示了暴露于噪音后通过听性脑干反应(ABR)用8kHz TB刺激声的听力阈值测试中对金灯藤提取物的测定(对照组:未处理组,T100:用金灯藤提取物处理的测试组)。

[0028] 图7展示了暴露于噪音后在瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)测试中对地黄和金灯藤的提取物的测定(对照组:未处理组,S100:用熟地黄提取物处理的对比测试组,TS100:用地黄和金灯藤的提取物处理的测试组)。

[0029] 图8展示了暴露于噪音后通过听性脑干反应(ABR)用短刺激声的听力阈值测试中对地黄和金灯藤的提取物的测定(对照组:未处理组,S100:用熟地黄提取物处理的对比测试组,TS100:用地黄和金灯藤的提取物处理的测试组)。

[0030] 图9展示了暴露于噪音后通过听性脑干反应(ABR)用3kHz TB刺激声的听力阈值测试中对地黄和金灯藤的提取物的测定(对照组:未处理组,S100:用熟地黄提取物处理的对比测试组,TS100:用地黄和金灯藤的提取物处理的测试组)。

[0031] 图10展示了暴露于噪音后通过听性脑干反应(ABR)用4kHz TB刺激声的听力阈值测试中对地黄和金灯藤的提取物的测定(对照组:未处理组,S100:用熟地黄提取物处理的对比测试组,TS100:用地黄和金灯藤的提取物处理的测试组)。

[0032] 图11展示了暴露于噪音后在通过听性脑干反应(ABR)用6kHz TB刺激声的听力阈值测试中对地黄和金灯藤的提取物的测定(对照组:未处理组,S100:用熟地黄提取物处理的对比测试组,TS100:用地黄和金灯藤的提取物处理的测试组)。

[0033] 图12展示了暴露于噪音后通过听性脑干反应(ABR)用8kHz TB刺激声的听力阈值测试中对地黄和金灯藤的提取物的测定(对照组:未处理组,S100:用熟地黄提取物处理的对比测试组,TS100:用地黄和金灯藤的提取物处理的测试组)。

具体实施方式

[0034] 在本说明书中所用的术语“听力损失”包括传导性听力损失和神经性听力损失。优选地,它包括由各种原因如噪音、药物、衰老、创伤和病毒引发的传导性听力损失。特别地,神经性听力损失包括噪音引发的听力损失(NIHL),代表症状有由各种噪音引起的耳蜗管和听觉神经的损伤。所述噪音引发的听力损失包括由短期噪音引起的声创伤型听力损失、暂时性阈移(TTS),以及由长期噪音引起的永久性阈移(PTS)。

[0035] 本发明提供用于预防或治疗听力损失的药物组合物,该药物组合物包括金灯藤提取物。

[0036] 进一步,本发明提供用于预防或治疗听力损失的药物组合物,该药物组合物包含地黄和金灯藤的提取物。

[0037] 本发明的金灯藤为属旋花科的一年生植物金灯藤(中草药名称:金灯藤)的蛋状果

实内的种子,而且该金灯藤可以为选自中国菟丝子、五角菟丝子、日本菟丝子和南方菟丝子中的至少一种。

[0038] 本发明的地黄可以为选自生地黄、干地黄和熟地黄中的至少一种,优选地使用熟地黄。熟地黄是指将生地黄蒸干各9次而得到的产物,而生地黄是指将属玄参科的多年生植物地黄(中草药名称:地黄)的表皮层剥去后的根部,干地黄是指通过干燥地黄而制得的产物。

[0039] 地黄和金灯藤的提取物不仅指通过同时提取地黄和金灯藤所制得的提取物(地黄和金灯藤的混合提取物),而且还指通过分别提取它们所制得的提取物的混合物(地黄提取物和金灯藤提取物的混合物)。

[0040] 本发明的地黄和金灯藤的提取物包括1:1.8~1:9比例的地黄和金灯藤。在上述比例内混合的地黄和金灯藤的提取物对听力损失有优选的预防或治疗效果。

[0041] 所述金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物可通过提取工艺获得,该提取工艺包括用选自水、C₁~C₄醇以及水和C₁~C₄醇的混合溶剂中的提取溶剂(首次提取溶剂)对金灯藤,或地黄和金灯藤进行提取的步骤。优选地,所述首次提取溶剂为乙醇水溶液。地黄和金灯藤的提取物还可以通过如上述分别提取地黄和金灯藤而获得地黄提取物和金灯藤提取物,然后将两者混合而获得。

[0042] 基于金灯藤的重量,或基于地黄和金灯藤的重量,可用约1~20w/w,优选约3~10w/w的所述首次提取溶剂,优选地用水和乙醇的混合溶剂进行所述提取工艺。对于所述混合溶剂,优选地可使用约70%乙醇水溶液。提取可用本领域熟知的提取方法进行,该提取方法包括浸渍、用热水的提取、超声提取和回流提取,但不限于此。本领域技术人员可采用各种适合所选的提取方法的提取温度,例如,该提取温度包括20~100℃,但不限于此。进一步,提取时间可根据提取方法而不同,而且本领域技术人员可适当选取,例如,该提取时间包括约1小时~10天的范围,可用于单次或多次,但不限于此。优选地,所述提取可以在室温中用所述首次提取溶剂进行约2天,并重复做2或3次。用所述首次提取溶剂提取的提取物可通过传统方法过滤而得到无杂质的液体形式,或进一步将液体形式的提取物通过减压浓缩和/或干燥而得到粉末形式。

[0043] 此外,所述提取工艺可有选择地进一步包括选取阶段来获得具有高比例活性成分的馏分。亦即,用所述首次溶剂提取而获得的提取物分散到水中,然后用第二提取溶剂如水保和C₄醇进行提取来提高所得提取物中活性成分的比例。

[0044] 本发明的药物组合物可包含基于所述组合物总重量的1~80重量%的金灯藤提取物,或地黄和金灯藤的提取物。

[0045] 本发明的药物组合物可包含药学上可接受的载体,而且根据惯用方法可制成口服制剂,如粉剂、颗粒剂、片剂、胶囊剂、悬浮液、乳剂、糖浆剂和气雾剂,以及外用制剂、栓剂和无菌注射剂。

[0046] 对于所述药学上可接受的载体,可包括本领域所惯用的载体,该载体包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露糖醇、木糖醇、赤藓醇、麦芽糖醇、淀粉、阿拉伯胶、藻酸盐、明胶、磷酸钙、硅酸钙、纤维素、甲基纤维素、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、水、羟基苯甲酸甲酯、羧基苯甲酸丙酯、滑石粉、硬脂酸镁和矿物油,但不限于这些载体。进一步,本发明的药物组合物包括稀释剂、赋形剂和其它药学上可接受的添加剂,如填充剂、膨胀剂、粘合剂、湿润

剂、崩解剂和表面活性剂。

[0047] 将本发明的药物组合物制成口服固体制剂时,它包括片剂、丸剂、粉剂、颗粒剂、胶囊剂等,其中这种固体制剂可包含至少一种赋形剂如淀粉、碳酸钙、蔗糖或乳糖和明胶、以及润滑剂如硬脂酸镁和滑石,但不限于这些。

[0048] 将本发明的药物组合物制成口服液体制剂时,它包含悬浮液、饮剂、乳剂和糖浆剂,其中这种制剂可包含稀释剂如水和液体石蜡、润湿剂、增甜剂、增味剂和防腐剂,但不限于这些。

[0049] 将本发明的药物组合物制成母剂,包括无菌溶液、非水溶剂、悬浮液、乳剂、冻干制剂和栓剂,其中这种制剂可包含非水溶剂或悬浮剂如丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油,以及可注射酯如ethylolate,但不限于这些。栓剂的基底可包含witepsol、聚乙二醇、吐温61、可可脂、洛琳娜酱和glycerogeletain,但不限于这些。

[0050] 本发明的药物组合物中含有的金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物的剂量将根据患者的状态、体重和年龄、疾病的严重程度、剂型、给药途径和期间而不同,但本领域的技术人员可适当选取该剂量。例如,可以1~2000mg/kg/天的剂量给予所述金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物,优选为10~2000mg/kg/天,上述剂量可以一天一次或一天分几次来进行给药。

[0051] 本发明的药物组合物可通过各种途径向包括大鼠、小鼠、家畜和人的哺乳动物进行给药,例如口腔、腹腔或静脉、肌肉、皮下、宫内、鞘内或脑室内的注射。

[0052] 本发明的药物组合物对预防或治疗包括传导性听力损失和神经性听力损失的听力损失有效,特别对预防或治疗噪音引发的听力损失有效,该噪音引发的听力损失包括声损伤型听力损失、由短期噪音引发的暂时性阈移以及由长期噪音引发的永久性阈移。

[0053] 此外,本发明包括用于预防或改善听力损失,优选为噪音引发的听力损失的食品组合物,该食品组合物包含金灯藤提取物,或地黄和金灯藤的提取物。

[0054] 本发明的食品组合物可用作保健功能食品。所述“保健功能食品”指根据健康功能食品法第6727号令通过使用对人体有用的功能性的材料和物质所制造并加工的食品,其中“功能性”指为获得有用的保健用途的目的而吸收,如为身体的结构和功能而控制营养素或影响生理。

[0055] 本发明的食品组合物可包含常用的食品添加剂,而且如果没有对食品添加剂有其他规定,所述“食品添加剂”的合格性要按照韩国食品添加剂药典的一般原则和测试方法对相关项目的规范及标准来进行判断。

[0056] 所述“韩国食品添加剂药典”包括,例如,如酮、甘氨酸、柠檬酸钾、烟碱酸和肉桂酸的化学合成添加剂,如柿子色素、甘草提取物、结晶纤维素、高粱红色素和瓜尔胶的天然添加剂,以及如L-谷氨酸钠、面类碱添加剂、防腐剂和焦油色素的化合物添加剂。

[0057] 为预防和/或改善听力损失,优选地预防和/或改善噪音引发的听力损失的目的,本发明的食品组合物可包含基于组合物总重量的0.01~95重量%金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物,优选为1~80重量%金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物。本发明的食品组合物中含有的金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物可通过制备上述药物组合物时提到的相同方法来获得。

[0058] 此外,为预防和/或改善听力损失的目的,本发明的食品组合物可制备并加工成片

剂、胶囊剂、粉剂、颗粒剂、液体、丸剂等形式。

[0059] 例如,所述片剂形式的保健功能食品可通过将金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物与赋形剂、粘合剂、崩解剂和其它添加剂的混合物根据惯用方法制粒而得,然后加入润滑剂等并将其压缩成型,或者直接将所述混合物压缩成型。进一步,所述片剂形式的保健功能食品可有选择地包含调味酸(tasty acids)等,而且可有选择地用适当的包衣剂进行包衣。

[0060] 在胶囊剂形式的保健功能食品中,硬胶囊可通过将金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物与添加剂如赋形剂的混合物,或者其颗粒或包衣颗粒填充于传统硬胶囊中而制得,相比之下,软胶囊可通过将熟地黄和金灯藤的提取物与添加剂如赋形剂的混合物填充于胶囊基底如明胶中而制得。软胶囊剂可有选择地包含如甘油或山梨糖醇的增塑剂、着色剂和防腐剂。

[0061] 丸剂形式的保健功能食品可通过将金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物与赋形剂、粘合剂、崩解剂等的混合物用适当的方法制成,并且有选择地用白糖或其他适合的包衣剂进行包衣,或者用淀粉、滑石粉或适当的物质制成助流包衣。

[0062] 颗粒剂形式的保健功能食品可通过将金灯藤提取物或地黄和金灯藤的提取物与赋形剂、粘合剂、崩解剂等的混合物用适当的方法制成,而且有选择地包含香料、增味酸等。当用No.12(1680 μ m)、No.14(1410 μ m)和No.45(350 μ m)分子筛对颗粒剂形式的保健功能食品做粒度测试时,No.12分子筛是全部通过,没有通过No.14分子筛的剩余量小于基于其总量的5.0%,而通过No.45分子筛的量小于基于其总量的15.0%。

[0063] 对这些术语如赋形剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、增味酸、香料等的定义已在本领域所熟知的文献中描述,而且包括相同或相似的功能的术语(Korean Pharmacopoeia, Explanation, Moonsung Pub., Korea college of pharmacy conference, 5th Ed., p33-48, 1989)。

[0064] 下面,本发明将进一步详细地描述实施例和实验实施例。然而,这些实施例和实验实施例仅用于说明本发明,本发明的范围不受其限制。

实施例

[0065] 实施例1:金灯藤提取物的制备

[0066] 将500g金灯藤加入到10L的70%乙醇中,并在80℃下、萃取容器中进行提取。将所述过程重复3次而收集上清液,在45℃下用减压浓缩器(EYELA,N-N)进行浓缩,然后在不超过-40℃的温度下通过ILSHIN冻干机冻干至少12小时,获得149.8g金灯藤提取物。

[0067] 实施例2:地黄和金灯藤的提取物的制备

[0068] 将500g的根据总体积的25%熟地黄和75%金灯藤加入到10L的70%乙醇中,并在80℃下进行提取。将所述过程重复3次而收集上清液,在45℃下用减压浓缩器(EYELA,N-N)进行浓缩,然后在不超过-40℃的温度下通过ILSHIN冻干机冻干至少12小时,获得97.6g熟地黄和金灯藤的提取物。

[0069] 实施例3:地黄和金灯藤的馏分的制备

[0070] 将50g从上述实施例中获得的地黄和金灯藤的提取物悬浮于1L蒸馏水中,并加入1L水饱和正丁醇将其溶解,然后从漏斗中只分离出溶解于水饱和正丁醇层中的馏分并进行

真空干燥。这个过程重复5次,而获得9.8g馏分。

[0071] 对比实施例

[0072] 对比实施例1:熟地黄提取物的制备

[0073] 除了用500g熟地黄代替500g金灯藤外,进行与实施例1中所描述的相同的过程,而获得104.0g熟地黄提取物。

[0074] 实验实施例

[0075] 实验实施例1:暴露于噪音后金灯藤提取物对毛细胞保护效果的确认—瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)试验

[0076] 为确认被暴露于噪音后金灯藤提取物对耳蜗毛细胞的损伤的效果,进行瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)试验。

[0077] 瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)试验,将依据健康的毛细胞会通过对声音刺激的反应来产生声音的事实从外面测定耳蜗的毛细胞中所产生的声音。反之,在受损的毛细胞中这种反应将趋于变小或消失。由于噪音引发的刺激可对耳蜗的毛细胞造成严重伤害,进行瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)试验是为确认金灯藤提取物对噪音引发的听力损失的效果而进行的。

[0078] 将分成4组,每组包括8只要给予100mg/kg的实施例1中所制备的金灯藤提取物的小鼠和8只作为对照组(无处理)的小鼠,进行评估。将120dB宽范围噪音暴露2小时,待暴露于噪音24小时后喂食金灯藤提取物,而且每天在相同时间进行口服给药。待暴露于噪音后的第14天测定瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)。为瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)的测定,用氯胺酮(4.57mg/kg)和Silazine(0.43 mg/kg)麻醉小鼠,并将体温维持在 $37 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 下进行测试。在测定瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)时,将刺激声设为90dB,测试频率为1、2、3和4kHz。

[0079] 如图1所示,在1kHz TEOAE,金灯藤提取物(T100)处理组与对照组相比展示出显著更大的TEOAE反应,而2kHz时,金灯藤提取物(T100)处理组与对照组相比展示出更大但不明显的TEOAE反应。在3kHz TEOAE,金灯藤提取物(T100)处理组与对照组相比展示出显著更高的TEOAE反应,而且在4kHz时,金灯藤提取物(T100)处理组与对照组相比也展示出显著更高的TEOAE反应。特别在3和4kHz TEOAE,对照组以低程度的反应展示毛细胞的明显损伤,而金灯藤提取物(T100)处理组被暴露于噪音后在这两个频率都展示较少的损伤。

[0080] 实验实施例2:暴露于噪音后金灯藤提取物对听力的改善效果的确认—使用短刺激声

[0081] 为了通过在暴露于噪音后测定阈值来确认金灯藤提取物对听觉存在的效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0082] 听性脑干反应(ABR)试验,是通过测定由声音刺激引起的从听觉神经传送的电能来测试对声音的反应。由于从外耳通过中耳和耳蜗管到听觉神经的声音中获得的反应能反映外耳、中耳和耳蜗管的全部状态,它能证明到达大脑的实际声能。听力阈值指能听到的听觉最低点,而正常小鼠对平均20dB的小声音可显示出反应。

[0083] 分成4组,每组包括8只要给予100mg/kg实施例1中所制备的金灯藤提取物的小鼠和8只作为对照组(无处理)的小鼠,并进行评估。将120dB纯音噪音暴露2小时,待暴露于噪音24小时后喂食金灯藤提取物,而且每天在相同时间进行口服给药。测定暴露于噪音前的听力阈值,以及测定暴露于噪音后1天、4天和7天的听力阈值。为测试听性脑干反应(ABR),

肌肉注射氯胺酮(4.57mg/kg)和Silazine(0.43 mg/kg)来麻醉小鼠,而且体温维持 $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。在测定听性脑干反应(ABR)时,给予作为宽范围刺激声的短声,从90dB起逐渐减小到5dB,寻找阈值,即显示出反应的最小声。

[0084] 如图2所示,待暴露于噪音后第24小时起,对照组展示出听力阈值有增加,而且近似阈值保持了7天,这表明有永久性听力损伤。此外,待暴露于噪音后第4天起,金灯藤提取物(T100)处理组展示出阈值有降低,而且暴露后第7天起比给药前降低了17dB,这能确认与对照组相比具有显著的改善效果。从金灯藤提取物(T100)处理组对听力阈值的高的改善效果,可证明金灯藤提取物(T100)对预防和治疗噪音引发的听力损失有效。

[0085] 实验实施例3:暴露于噪音后金灯藤提取物对听力的改善效果的确认—使用3kHz TB刺激声

[0086] 为确认暴露于噪音后通过测定对3kHz刺激声的阈值时金灯藤提取物的改善效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0087] 除了给予的刺激声为3kHz短纯音(tone burst, TB)外,从70dB起逐渐减小到5dB,进行与实验实施例2相同的实验。所得结果在图3中展示。

[0088] 如图3所示,暴露于噪音后第24小时起,对照组展示出听力阈值有增加,而且近似阈值保持了7天,这表明有永久性听力损伤。此外,暴露于噪音后第4天起,金灯藤提取物(T100)处理组展示出阈值有降低,而且暴露后第7天起比给药前降低了7dB,可以确认与对照组相比具有显著的改善效果。与使用短刺激声时的测试结果中所发现的一样,发现金灯藤提取物(T100)处理组对听力阈值具有高的改善效果,这能证明金灯藤提取物(T100)对预防和治疗噪音引发的听力损失有效。

[0089] 实验实施例4:暴露于噪音后金灯藤提取物对听力的改善效果的确认—使用4kHz TB刺激声

[0090] 为确认暴露于噪音后通过测定对4kHz刺激声的阈值时金灯藤提取物的改善效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0091] 除了给予的刺激声为与噪音中的刺激声相同的4kHz短纯音(TB)外,从70dB起逐渐减小到5dB,进行与实验实施例2相同的实验。所得结果在图4中展示。

[0092] 如图4所示,暴露于噪音后第24小时起,对照组展示出听力阈值有增加,而且近似阈值保持了7天,这表明有永久性听力损伤。此外,暴露于噪音后第4天起,金灯藤提取物(T100)处理组展示出阈值有降低,而且暴露后第7天起比给药前降低了15dB,可以确认与对照组相比具有显著的改善效果。与使用短刺激声和3kHz TB刺激声时的测试结果中所发现的一样,发现金灯藤提取物(T100)处理组对听力阈值具有高的改善效果,这能证明金灯藤提取物(T100)对预防和治疗噪音引发的听力损失有效。

[0093] 实验实施例5:暴露于噪音后金灯藤提取物对听力的改善效果的确认—使用6kHz TB刺激声

[0094] 为确认暴露于噪音后通过测定对6kHz刺激声的阈值时金灯藤提取物的改善效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0095] 除了给予的刺激声为与噪音中的刺激声具有类似频率的6kHz短纯音(TB)外,从70dB起逐渐减小到5dB,进行与实验实施例2相同的实验。所得结果在图5中展示。

[0096] 如图5所示,暴露于噪音后第24小时起,对照组展示出听力阈值有增加,而且近似

阈值保持了7天,这表明有永久性听力损伤。此外,暴露于噪音后第4天起,金灯藤提取物(T100)处理组展示出阈值有降低,而且暴露后第7天起比给药前降低了13dB,可以确认与对照组相比具有显著的改善效果。与使用短刺激声以及3kHz和4kHz TB刺激声时的测试结果中所发现的一样,发现金灯藤提取物(T100)处理组对听力阈值具有高的改善效果,这能证明金灯藤提取物(T100)对预防和治疗噪音引发的听力损失有效。

[0097] 实验实施例6:暴露于噪音后金灯藤提取物对听力的改善效果的确认—使用8kHz TB刺激声

[0098] 为确认暴露于噪音后通过测定对8kHz刺激声的阈值时金灯藤提取物的改善效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0099] 除了给予的刺激声为8kHz短纯音(TB)外,从70dB起逐渐减小到5dB,进行与实验实施例2相同的实验。所得结果在图6中展示。

[0100] 如图6所示,暴露于噪音后第24小时起,对照组展示出听力阈值在增加,而且近似阈值保持了7天,这表明有永久性听力损伤。此外,暴露于噪音后第4天起,金灯藤提取物(T100)处理组展示出阈值有降低,而且暴露后第7天起比给药前降低了20dB,可以确认与对照组相比具有显著的改善效果。与使用短刺激声以及3、4和6kHz TB刺激声时的测试结果中所发现的一样,发现金灯藤提取物(T100)处理组对听力阈值具有高的改善效果,这能证明金灯藤提取物(T100)对预防和治疗噪音引发的听力损失有效。

[0101] 实验实施例7:暴露于噪音后地黄和金灯藤的提取物对毛细胞保护效果的确认—瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)试验

[0102] 为比较暴露于噪音后熟地黄提取物与地黄和金灯藤的提取物对耳蜗毛细胞的效果,进行瞬态诱发性耳声发射(TEOAE)试验。

[0103] 除了是3组外,进行与实验实施例1相同的实验,每组包括8只要用100mg/kg从实施例2中制得的地黄和金灯藤的提取物处理的测试组、8只要用100mg/kg从对比实施例1中制得的熟地黄提取物处理的测试组、以及8只未经处理的对照组,并且进行测试。所获的结果在图7中展示。

[0104] 如图7所示,在1kHz TEOAE,熟地黄提取物(S100)处理组及地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理组与对照组相比展示出显著更大的TEOAE反应,而2kHz时,用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组展示出最大的TEOAE反应,但没有明显的差别。在3kHz TEOAE,用地黄和金灯藤的提取物处理(TS100)的测试组展示出显著更高的TEOAE反应,而且在4kHz TEOAE时,只有用地黄和金灯藤的提取物(T100)处理的测试组展示出显著高的TEOAE反应。特别在3和4kHz TEOAE,对照组以低程度的反应展示出毛细胞的明显损伤,而用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组被暴露于噪音后在这两个频率都展示较少的损伤。

[0105] 实验实施例8:暴露于噪音后地黄和金灯藤的提取物对听力的改善效果的确认—使用短刺激声

[0106] 为了通过在暴露于噪音后测定阈值来比较熟地黄提取物、以及地黄和金灯藤的提取物的效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0107] 除了是3组外,进行与实验实施例1相同的实验,每组包括8只要用100mg/kg从实施例2中制得的地黄和金灯藤的提取物处理的测试组、8只要用100mg/kg从对比实施例1中制得的熟地黄提取物处理的测试组、以及8只未经处理的对照组,并且进行测试。所获的结果

在图8中展示。

[0108] 如图8所示,暴露于噪音后第24小时起,3组都展示出相近的阈值增加,而对照组展示出在7天内保持相近的听力阈值的增加,这表明有永久性听力损伤。熟地黄提取物(S100)处理组被暴露于噪音后第4天起展示出阈值有稍微的下降,但与对照组相比没有展示出显著区别。此外,暴露于噪音后第4天起,地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理组展示出阈值有大幅下降,而且暴露后第7天起比给药前减少了20dB,可以确认与对照组相比具有显著的改善效果。由于地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理组与熟地黄提取物(S100)处理组相比展示出更大的对听力阈值的改善效果,可以确认地黄和金灯藤的提取物(TS100)对噪音引发的听力损失的预防和治疗效果。

[0109] 实验实施例9:暴露于噪音后地黄和金灯藤的提取物对听力的改善效果的确认—使用3kHz TB刺激声

[0110] 为比较暴露于噪音后通过测定3kHz刺激声的阈值时熟地黄提取物与地黄和金灯藤的提取物对听力的改善效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0111] 除了在ABR测试中给予的刺激声为3kHz短纯音(TB)外,从70dB起逐渐减小到5dB,进行与实验实施例8相同的实验。所得结果在图9中展示。

[0112] 如图9所示,暴露于噪音后经测定,3组都展示出25~30dB的阈值增加,而对照组在7天内展示出相近或有增加的听力阈值,这表明有永久性听力损伤。熟地黄提取物(S100)处理组展示出与对照组相近程度的听力阈值,而没有显示出对听力的改善效果。此外,暴露于噪音后第4天起,用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组展示出阈值有大幅降低,而且暴露后第7天起比给药前减少了10dB,可以确认与对照组相比具有显著的改善效果。与使用短刺激声时的测试结果相同,用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组与熟地黄提取物(S100)处理组相比展示出对听力阈值的更高的改善效果,从而能证明地黄和金灯藤的提取物(TS100)对噪音引发的听力损失有预防和治疗效果。

[0113] 实验实施例10:暴露于噪音后地黄和金灯藤的提取物对听力的改善效果的确认—使用4kHz TB刺激声

[0114] 为比较暴露于噪音后通过测定4kHz刺激声的阈值时熟地黄提取物与地黄和金灯藤的提取物对听力的改善效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0115] 除了在ABR测试时给予的刺激声为4kHz短纯音(TB)外,从70dB起逐渐减小到5dB,进行与实验实施例8相同的实验。所得结果在图10中展示。

[0116] 如图10所示,暴露于噪音后经测定,3组都展示出30~40dB的阈值增加,而对照组在7天内展示出相近或有增加的听力阈值,这表明有永久性听力损伤。暴露后第7天起,熟地黄提取物(S100)处理组展示出听力阈值降低9dB,但与对照组相比没有显示出显著区别。此外,暴露于噪音后第4天起,用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组展示出阈值有大幅降低,而且暴露后第7天起比给药前减少了17dB,可以确认与对照组相比具有显著的改善效果。与使用短刺激声和3kHz TB刺激声时的测试结果相同,用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组与熟地黄提取物(S100)处理组相比展示出对听力阈值的更高的改善效果,从而能证明地黄和金灯藤的提取物(TS100)对噪音引发的听力损失有预防和治疗的效果。

[0117] 实验实施例11:暴露于噪音后地黄和金灯藤的提取物对听力的改善效果的确认—

使用6kHz TB刺激声

[0118] 为比较暴露于噪音后通过测定6kHz刺激声的阈值时熟地黄提取物与地黄和金灯藤的提取物对听力的改善效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0119] 除了在ABR测试时给予的刺激声为接近噪音中使用的刺激声频率的6kHz短纯音(TB)外,从70dB起逐渐减小到5dB,进行与实验实施例8相同的实验。所得结果在图11中展示。

[0120] 如图11所示,暴露于噪音后经测定,3组都展示出43~51dB的阈值增加,而对照组在7天内展示出相近或有增加的听力阈值,这表明有永久性听力损伤。暴露后第7天起,熟地黄提取物(S100)处理组展示出听力阈值降低10dB,但与对照组相比没有显示出显著区别。此外,暴露于噪音后第4天起,用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组展示出阈值有大幅降低,而且暴露后第7天起比给药前减少了21dB,可以确认与对照组相比具有显著的改善效果。与使用短刺激声以及3kHz和4kHz TB刺激声时的测试结果相同,用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组与熟地黄提取物(S100)处理组相比展示出对听力阈值的更高的改善效果,从而能证明地黄和金灯藤的提取物(TS100)对噪音引发的听力损失有预防和治疗的效果。

[0121] 实验实施例12:暴露于噪音后地黄和金灯藤的提取物对听力的改善效果的确认—使用8kHz TB刺激声

[0122] 为比较暴露于噪音后通过测定8kHz刺激声的阈值时熟地黄提取物与地黄和金灯藤的提取物对听力的改善效果,可用听性脑干反应(ABR)进行听力阈值试验。

[0123] 除了在ABR测试时给予的刺激声为8kHz短纯音(TB)外,从70dB起逐渐减小到5dB,进行与实验实施例8相同的实验。所得结果在图12中展示。

[0124] 如图12所示,暴露于噪音后经测定,3组都展示出41~50dB的阈值增加,而对照组在7天内展示出相近或有增加的听力阈值,这表明有永久性听力损伤。暴露后第7天起,熟地黄提取物(S100)处理组展示出听力阈值有降低17dB,但与对照组相比没有显示出显著区别。此外,暴露于噪音后第4天起,用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组展示出阈值有大幅降低,而且暴露后第7天起比给药前减少了23dB,可以确认与对照组相比具有显著的改善效果。与使用短刺激声以及3、4和6kHz TB刺激声时的测试结果相同,用地黄和金灯藤的提取物(TS100)处理的测试组与熟地黄提取物(S100)处理组相比展示出对听力阈值的更高的改善效果,从而能证明地黄和金灯藤的提取物(TS100)对噪音引发的听力损失有预防和治疗的效果。

[0125] 如上所述,金灯藤提取物、及地黄和金灯藤的提取物可通过保护毛细胞免受伤害且降低从听觉神经中测得的听力阈值能有助于预防和治疗听力损失,如噪音引发的听力损失。因此,金灯藤提取物、及地黄和金灯藤的提取物可用于预防和治疗神经性听力损失。

[0126] 【制备实施例】

[0127] 通过使用从实施例2所制得的地黄和金灯藤的提取物,制备以下剂型。然而,以下制备实施例仅用于说明本发明,不会限制本发明的内容。

[0128] 剂型实施例1:片剂的制备

[0129] 地黄和金灯藤的提取物.....200mg

[0130] 乳糖.....100 mg

- [0131] 淀粉.....100 mg
- [0132] 硬脂酸镁.....适量
- [0133] 根据惯用方法将上述成分进行混合和压缩而制成片剂。
- [0134] 剂型实施例2:溶液剂的制备
- [0135] 地黄和金灯藤的提取物.....1000 mg
- [0136] 羧甲基纤维素钠(CMC-Na).....20 g
- [0137] 异构糖(Isomeroose).....20 g
- [0138] 柠檬香料.....适量
- [0139] 加入纯化水成1000mℓ。根据惯用方法将上述成分混合并填充到棕色瓶内而制成液剂。
- [0140] 剂型实施例3:胶囊剂的制备
- [0141] 地黄和金灯藤的提取物.....300 mg
- [0142] 结晶纤维素.....3 mg
- [0143] 乳糖.....14.8 mg
- [0144] 硬脂酸镁.....0.2 mg
- [0145] 根据惯用方法将上述成分进行混合并填充到明胶胶囊中而制成胶囊剂。
- [0146] 剂型实施例4:注射剂的制备
- [0147] 地黄和金灯藤的提取物.....300 mg
- [0148] 甘露醇.....180 mg
- [0149] 灭菌注射用蒸馏水.....2974 mg
- [0150] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$26 mg
- [0151] 根据制备注射剂的惯用方法,每ampℓe中用上述量的成分来进行制备。

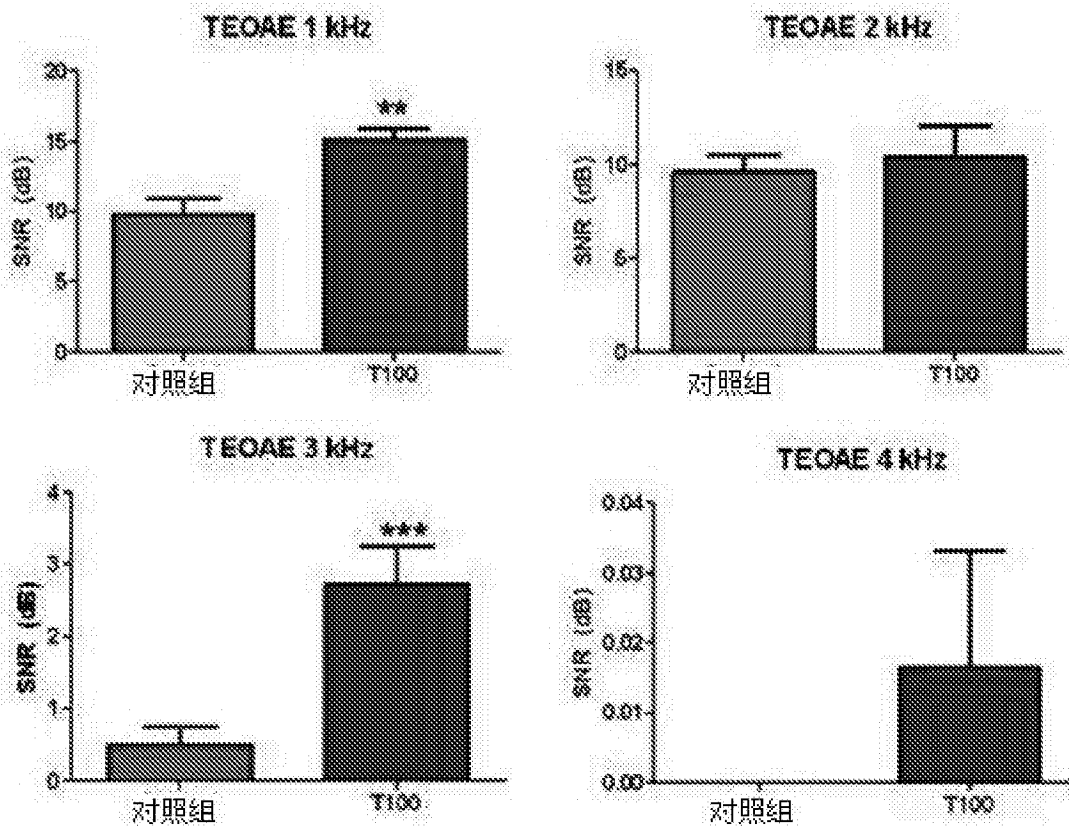


图1

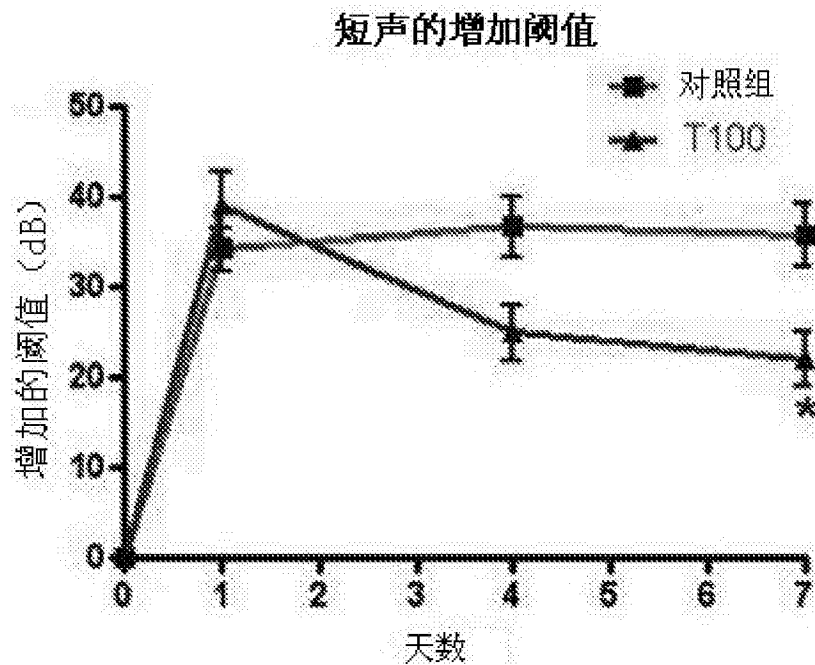


图2

TB 3kHz 的增加阈值

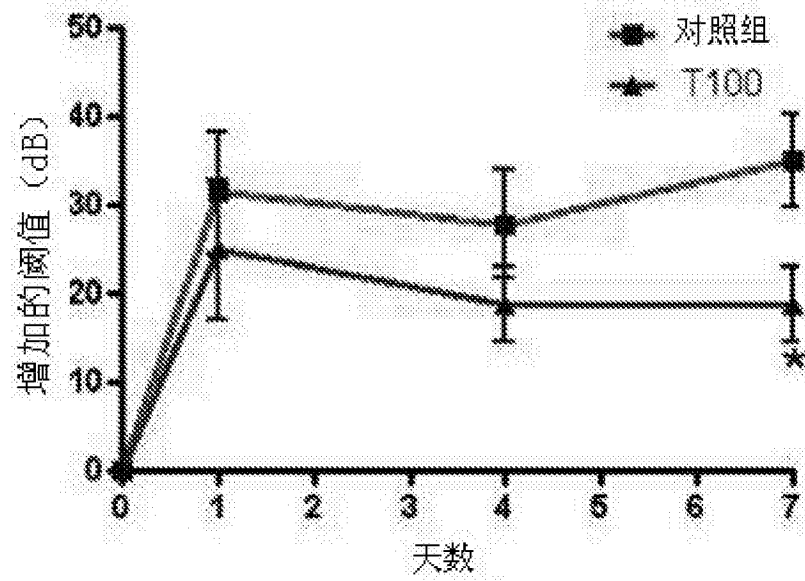


图3

TB 4kHz 的增加阈值

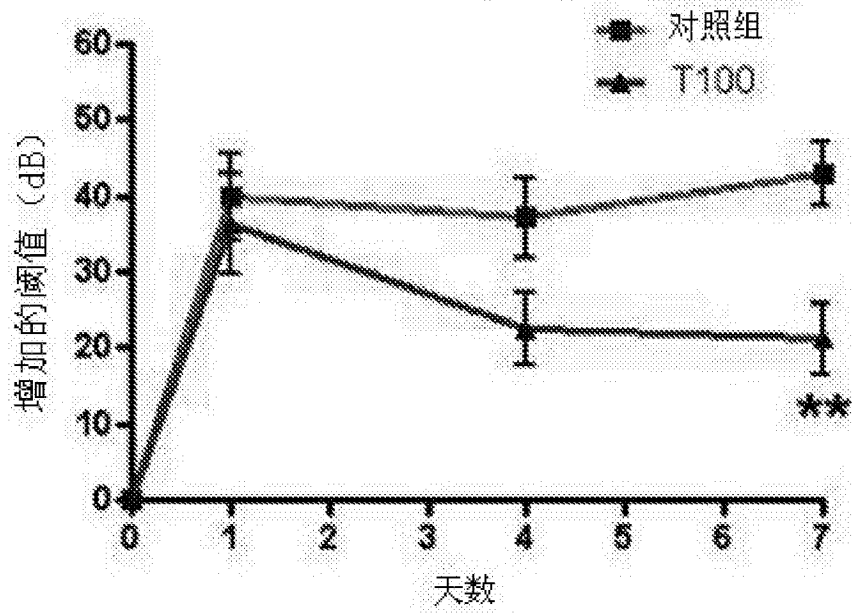


图4

TB 6kHz 的增加阈值

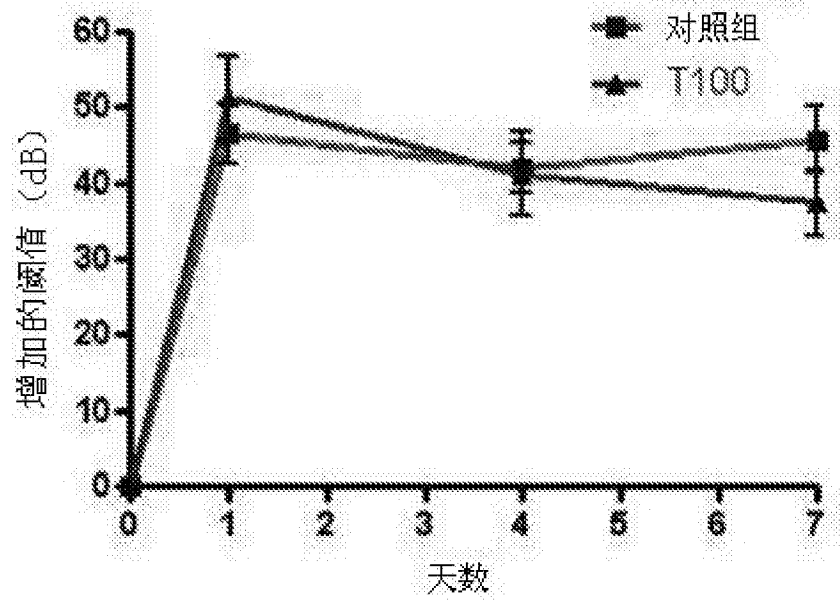


图5

TB 8kHz 的增加阈值

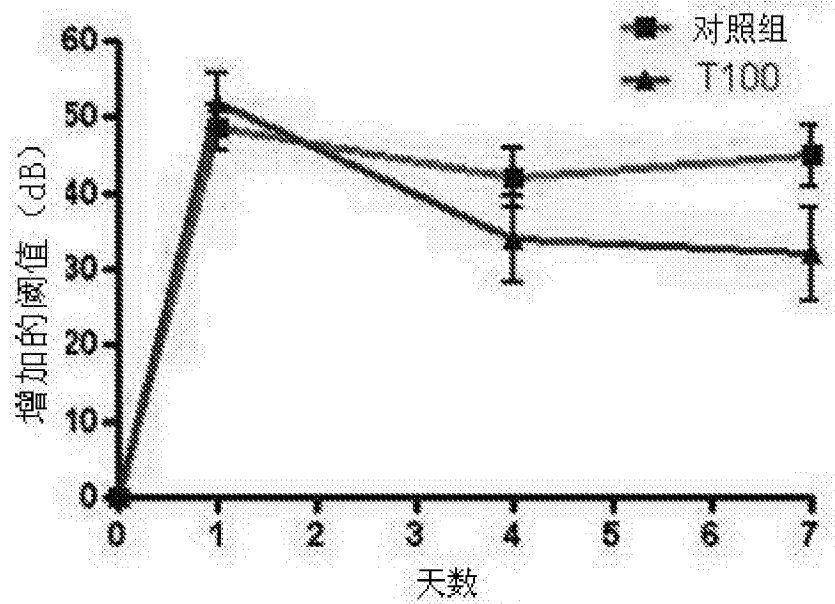


图6

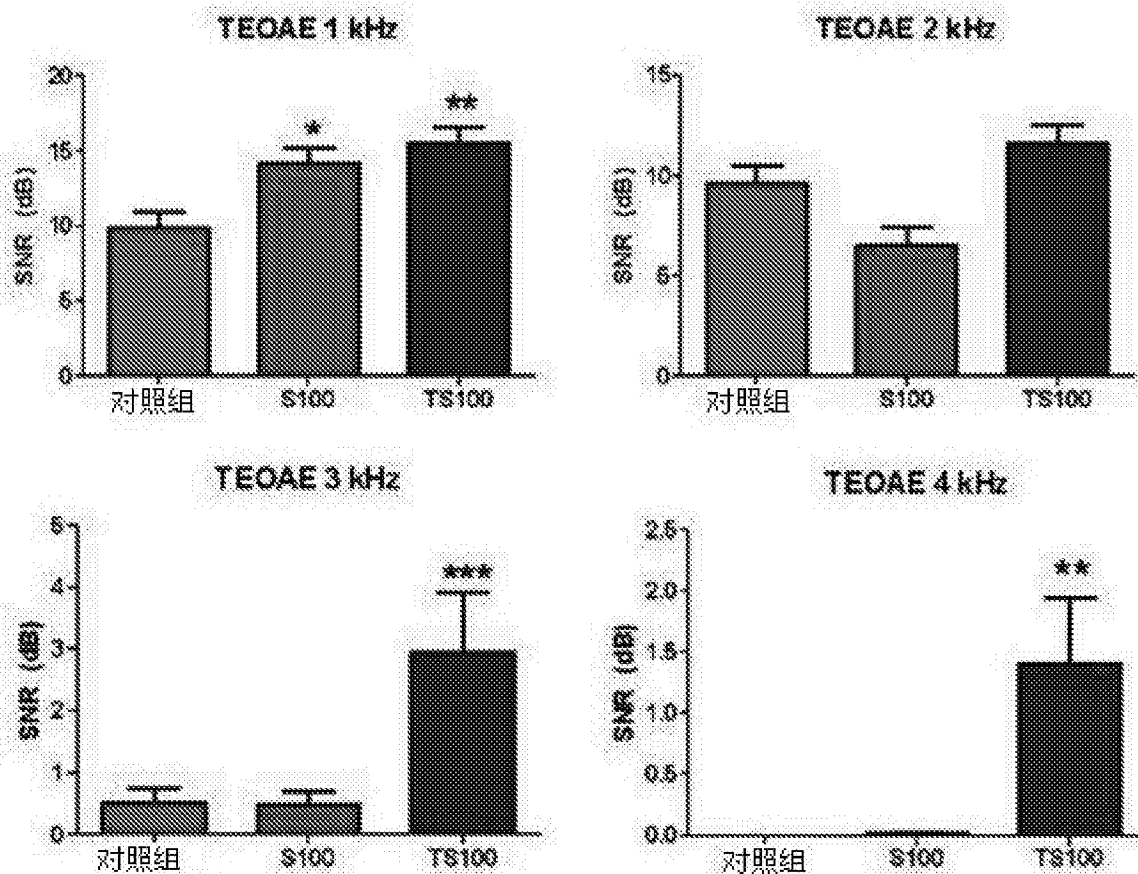


图7

短声的增加阈值

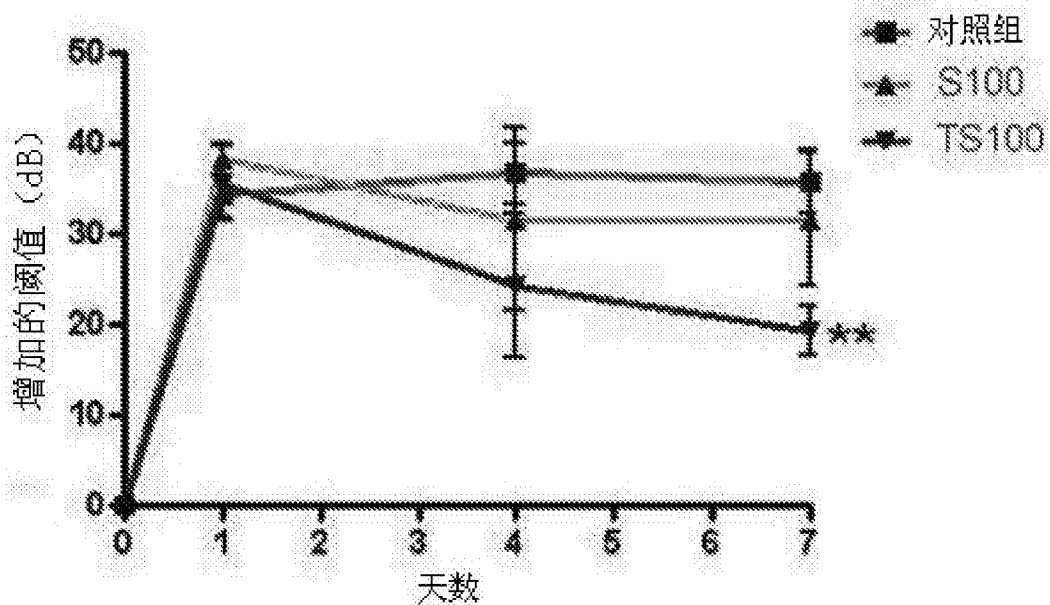


图8

TB 3kHz 的增加阈值

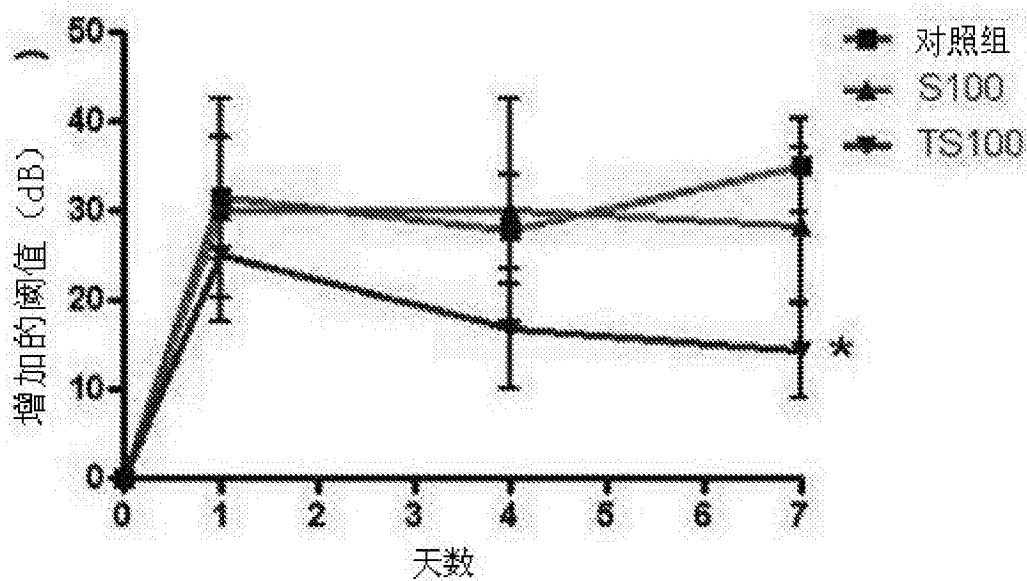


图9

TB 4kHz 的增加阈值

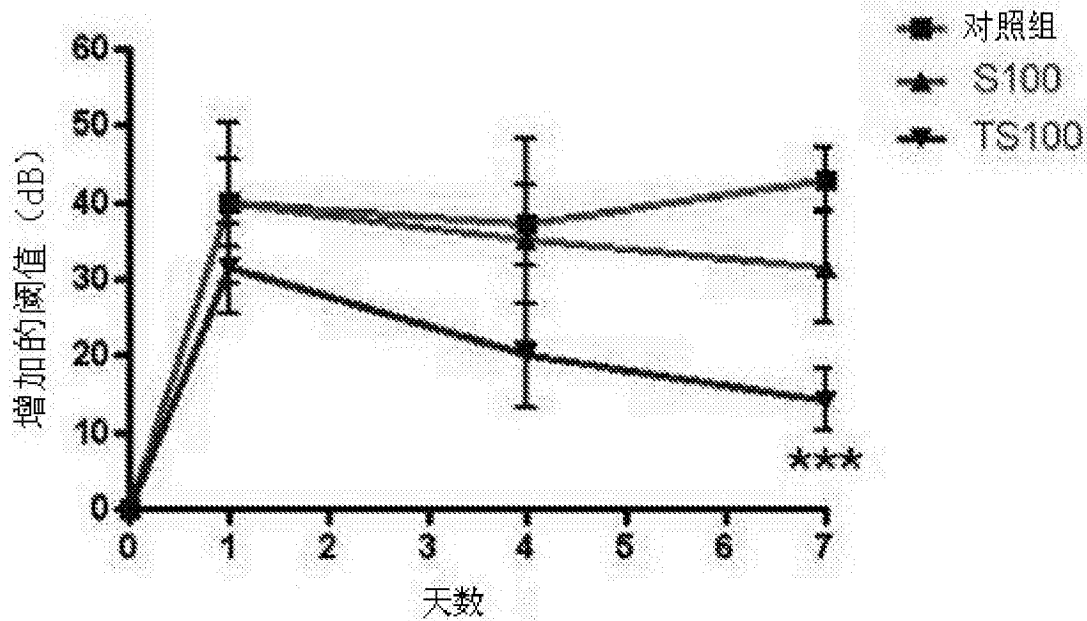


图10

TB 6kHz 的增加阈值

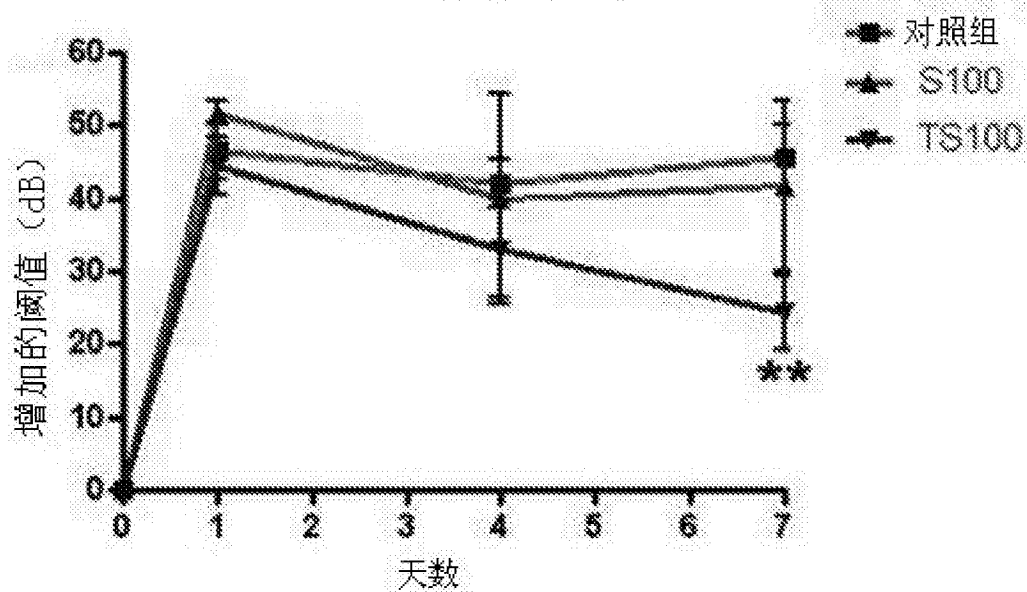


图11

TB 8kHz 的增加阈值

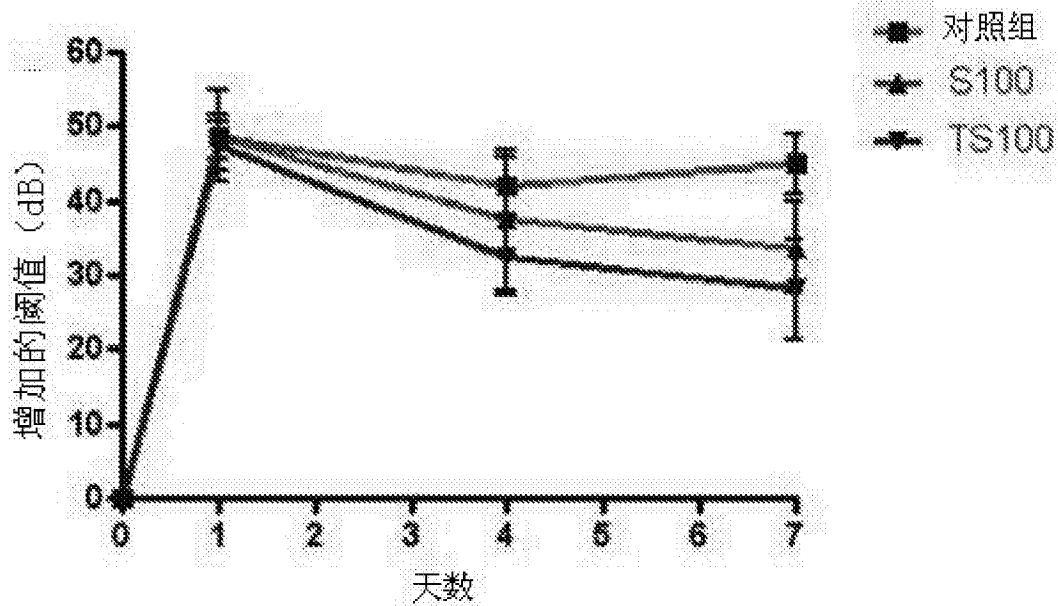


图12