



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1882354 B

(45) 授权公告日 2012.07.04

(21) 申请号 200480026054.X

A61P 37/00(2006.01)

(22) 申请日 2004.09.10

A61K 31/05(2006.01)

A61K 31/122(2006.01)

(30) 优先权数据

60/502,755 2003.09.12 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2006.03.10

(86) PCT申请的申请数据

PCT/IB2004/051742 2004.09.10

(87) PCT申请的公布数据

W02005/025586 EN 2005.03.24

(73) 专利权人 捷通国际有限公司

地址 美国密执安州

(72) 发明人 R·K·伦道夫 H·罗哈-舒密特

M·A·默里 A·W·卡罗福特

K·W·格伦贝克 D·J·普萨特里

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

72001

代理人 温宏艳 王景朝

(51) Int. Cl.

A61K 36/9064(2006.01)

(56) 对比文件

HU 64860 A, 1994.03.28, 全文.

HU 64860 A, 1994.03.28, 全文.

HU 64860 A, 1994.03.28, 全文.

冯永红等. 白藜芦醇药理作用研究进展. 国外医药·植物药分册 4.1996, (4), 摘要.

Martin Guerin 等. Haematococcus astaxanthin: applications for human

health and nutrition. TRENDS IN

BIOTECHNOLOGY 21 5.2003, 21(5), 210-215.

J. WANG, and MAZZA. INHIBITORY EFFECTS OF ANTHOCYANINS AND OTHER PHENOLIC COMPOUNDS

ON NITRIC OXIDE PRODUCTION IN LPS/

IFN-GAMMA-ACTIVATED RAW264.7 MACROPHAGES.

AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY 4

50.2002, 4(50), 850-857.

审查员 王荣霞

权利要求书 1 页 说明书 17 页 附图 2 页

(54) 发明名称

细胞因子调节剂及相关用法

(57) 摘要

本发明涉及用于调节细胞因子从而调节炎症应答或免疫调节应答的组合物。该组合物可包括选自以下的至少一种：蔷薇果、越桔、黑莓、接骨木、酸果蔓、迷迭香、丁香、小白菊、荨麻根、朝鲜蓟、灵芝、橄榄提取物、绿茶提取物、葡萄籽提取物、白藜芦醇、非洲豆蔻、齿叶乳香提取物、boswellia forte、依普黄酮、生育三烯酚、月见草油、INM-176、琉璃苣油、磷虾油、叶黄素中的至少一种（如变胞藻黄素）、生咖啡提取物和阿魏酸。具体地，本发明的组合物可包括：蔷薇果，和黑莓、越桔、接骨木中的至少一种，和任选的磷虾油；或包括：蔷薇果，白藜芦醇，和非洲豆蔻和变胞藻黄素中的至少一种。基于组合物的细胞因子调节和细胞因子应答抑制，该组合物可用于调节免疫

调节和/或炎症应答，并因此用于治疗与炎症应答有关的疾病和/或异常状况，如心血管状况、关节炎、骨质疏松症和阿尔茨海默氏病。

1. 治疗受试者的炎症应答的组合物, 包括以下组合:

干蔷薇果 (*Rosa canina*)、或蔷薇果提取物、或蔷薇果油、或蔷薇果粉末, 其量提供约 50mg 的日剂量, 用于抑制受试者中至少 IL-1 的合成, 以及

干越桔 (*Vaccinium cyanococcus*)、或越桔提取物、或越桔粉末, 其量提供约 200mg 的日剂量, 用于抑制受试者中至少 IL-1 的合成。

2. 权利要求 1 的组合物, 其中受试者患有炎性状况、炎性疾病和炎性症状中的至少一种。

3. 一种组合物, 它包括以下组合:

干蔷薇果 (*Rosa canina*)、或蔷薇果提取物、或蔷薇果油、或蔷薇果粉末, 其量提供约 50mg 的日剂量, 用于抑制受试者中至少 IL-1 的合成, 以及

干越桔 (*Vaccinium cyanococcus*)、或越桔提取物、或越桔粉末, 其量提供约 200mg 的日剂量, 用于抑制受试者中至少 IL-1 的合成;

且其中所述组合物还包括: 以下成分中的至少一种: 提供约 100mg 日剂量的量的黑莓 (*Rubus fruticosus*) 成分, 用于至少抑制受试者的 IL-1 应答; 和提供约 200mg 日剂量的量的接骨木 (*Sambucus canadensis*) 成分, 用于抑制受试者的至少 IL-1 的合成。

4. 权利要求 3 的组合物, 包括蔷薇果、黑莓、越桔和接骨木。

细胞因子调节剂及相关用法

[0001] 发明背景

[0002] 本申请要求 2003 年 9 月 12 日提交的美国临时申请 60/502,755 的优先权,所述申请被并入本文作为参考。

[0003] 本发明涉及体内的炎症,更具体地,涉及调节炎症以治疗与其相关的状况和疾病。

[0004] 已知炎症与影响身体的多种状况和疾病有关。例如,已知关节内的炎症使关节炎和类风湿性疾病以及骨和关节破坏性疾病的症状和由关节炎和类风湿性疾病以及骨和关节破坏性疾病引起的结构畸形恶化,关节炎和类风湿性疾病为例如粘液囊炎、腱炎、肌炎和骨关节炎,骨和关节破坏性疾病为例如骨质疏松症。

[0005] 还已知炎症有助于多种心血管疾病和代谢疾病的进程,所述疾病为例如动脉粥样硬化、血栓形成和与肥胖有关的胰岛素抵抗力。动脉粥样硬化可增加中风和心肌梗死的可能性,而胰岛素抵抗力可导致糖尿病。

[0006] 还认为炎症有助于神经系统病症如阿尔茨海默氏病的进展。

[0007] 实际上,现在有许多研究发现炎症与多种慢性退行性疾病有关。这些研究已经识别了某些产生促炎化学物质(细胞因子)的细胞-巨噬细胞,所述促炎化学物质(细胞因子)诱导产生炎症应答的信号级联。这些细胞因子在应答外源传染物、创伤性或慢性损伤和异常化学或物理应激的炎症应答中起作用。

[0008] 因此,已经开发了用于调节炎症细胞因子的释放或炎症细胞因子(特别是得自巨噬细胞的白介素-1(IL-1)细胞因子)信号传输的治疗。例如,授权给 Vignery 的美国专利 5,635,478 公开了使用降钙素基因相关肽(CGRP)调节 IL-1 释放并从而治疗类风湿性关节炎。虽然高特异性 CGRP 在调节 IL-1 中有效,但是其应用受到价格过高的限制,并且目前尚未确定这种化合物长期使用是否有毒性。

[0009] 发明概述

[0010] 上述问题在本发明中得以解决,本发明提供了调节白介素细胞因子和/或调节由白介素细胞因子引起的生理反应的组合物。这种调节在控制免疫应答和/或炎症状况中是有效的。一方面,该组合物可包括蔷薇果(rosehips),以及黑莓(blackberry)、越桔(blueberry)和接骨木(elderberry)中的至少一种。另一方面,该组合物可包括蔷薇果和磷虾油。又一方面,该组合物可包括蔷薇果、黑莓、越桔、接骨木和磷虾油。再一方面,该组合物可包括蔷薇果、白藜芦醇和非洲豆蔻(Aframomum melegueta)。再一方面,该组合物可包括蔷薇果、白藜芦醇和变胞藻黄素。

[0011] 第四方面,该组合物可包括选自以下的至少一种成分:蔷薇果、越桔、黑莓、接骨木、酸果蔓、迷迭香、丁香、小白菊、荨麻根、朝鲜蓟、灵芝(reishi mushroom)、橄榄提取物、绿茶提取物(没食子酸表儿茶素)、葡萄籽提取物、白藜芦醇、非洲豆蔻、齿叶乳香(boswellia serrata)提取物、boswellia forte、依普黄酮、生育三烯酚、月见草油、INM-176、琉璃苣油、磷虾油、叶黄素中的至少一种(如变胞藻黄素)、生咖啡提取物(绿原酸)和阿魏酸。在更具体的方面,该组合物可包括蔷薇果、荨麻根、橄榄提取物和朝鲜蓟。在另一个具体的方面,该组合物可包括蔷薇果、白藜芦醇和变胞藻黄素。

[0012] 第五方面,本发明可提供控制受试者的免疫应答和 / 或炎性状况的方法,该方法包括对受试者给药有效量的本发明的组合物以控制免疫应答和 / 或炎性状况。在具体的方面,该组合物可抑制免疫调节细胞或促炎细胞如巨噬细胞和 / 或白细胞的功能。在更具体的方面,该组合物可通过例如阻止产生白介素细胞因子的基因的基因转录而抑制所述基因的表达。在更具体的方面,该组合物可抑制白介素细胞因子炎症应答机制。在这些方面中,该组合物可减少和 / 或消除骨质、关节、肌肉、组织、动脉、静脉、毛细管和其它组织、系统和 / 或细胞中的促免疫调节应答 (pro-immunomodulatory) 和 / 或促炎应答。

[0013] 第六方面,本发明可提供通过对受试者给药有效量的所述组合物调节和 / 或控制免疫细胞如巨噬细胞、白细胞和淋巴细胞的功能的方法。

[0014] 另一方面,本发明可提供通过对受试者给药细胞因子抑制量的所述组合物调节细胞因子从受试者的细胞释放 (也称为分泌) 的方法。

[0015] 另一方面,本发明可提供通过对受试者给药有效量的本发明的组合物抑制细胞对白介素细胞因子的应答的方法。在具体的方面,这种给药可调节炎症生物标志物 (biomarker) 如 C 反应蛋白的产生,所述 C 反应蛋白为一指示机体内过度炎症的肝脏产生的生物标志物。

[0016] 第九方面,本发明可提供通过给药治疗有效量的所述组合物治疗由炎症所致的疾病或异常状况的方法。在具体的方面,疾病或异常状况包括以下的至少一种:心血管疾病或状况、血栓形成、与胰岛素抵抗力和肥胖有关的新陈代谢状况、创伤性损伤、关节炎、骨质疏松症和阿尔茨海默氏病。在更具体的方面,该方法可包括对患有炎性状况的受试者给药组合物,以减轻或缓解创伤性损伤、手术或可能引起炎症的其它事件之后的疼痛、触痛、感染和 / 或不适。

[0017] 本发明提供用于治疗多种基于免疫调节和基于炎症的状况、症状和疾病的组合物和相关方法。因为使用的成分容易得到且相对廉价,本发明提供了简单且有成本效益的治疗多种由炎症所致的疾病和状况的方法。此外,因为各成分是相对稳定的,许多成分可以与其它材料混合并作为多功能增补剂或食品提供。

[0018] 通过参考附图和发明详述可更容易了解和理解本发明的这些及其它目的、优点和特点。

附图说明

[0019] 图 1 为实施例 3 中的有动脉粥样硬化斑块发展的受试者在用本发明的组合物治疗之前的血管剖视图;

[0020] 图 2 为说明实施例 3 中的动脉粥样硬化斑块发展中白介素细胞因子的作用的受试者的血管与肝脏的第二剖视图;和

[0021] 图 3 为说明实施例 3 中的组合物对动脉粥样硬化斑块发展中白介素细胞因子的作用的受试者的血管与肝脏的第三剖视图。

[0022] 发明详述

[0023] I. 组合物

[0024] 本发明的组合物可包括选自以下的一种或多种成分:蔷薇果、越桔、黑莓、接骨木、酸果蔓、迷迭香、丁香、小白菊、荨麻根、朝鲜蓟、灵芝、橄榄提取物、绿茶提取物 (没食子酸

表棓儿茶素)、葡萄籽提取物、白藜芦醇、非洲豆蔻、齿叶乳香提取物、boswellia forte、依普黄酮、生育三烯酚、月见草油、INM-176、琉璃苣油、磷虾油、叶黄素中的至少一种(如变胞藻黄素)、生咖啡提取物(绿原酸)和阿魏酸。具体地,本发明的组合物可包括蔷薇果,以及黑莓、越桔、接骨木和磷虾油中的至少一种。一组合物也可包括蔷薇果、白藜芦醇和非洲豆蔻。另一个组合物可包括蔷薇果、白藜芦醇和变胞藻黄素。组合物可以本文中所述的任何剂量给药,用于抑制细胞因子的表达、产生、接收、分泌和/或释放,以及抑制细胞因子应答,从而减少或消除免疫调节应答和/或炎症应答。

[0025] 可有效地调节细胞因子如调节示例性细胞因子如 IL-1 和/或 IL-6 的产生、接收、分泌和/或释放的成分的可接受剂量在以下表 I 中示出。表 I 中的各个剂量为预测的有效日剂量,以毫克表示。此外,表 I 中的所有剂量都处在从所述下限值附近到所述上限值附近的范围内。例如,荨麻剂量 A 表述为“250-2500”,其表示每天约 250 毫克到约 2500 毫克的荨麻剂量。

[0026] 表 I :用于调节细胞因子的各成分的可接受剂量

[0027]

成分	剂量 A	剂量 B
荨麻提取物	250-2500	500-1250
朝鲜蓟	150-1500	300-750
小白菊	50-500	100-250
灵芝	300-3000	600-1500
橄榄提取物	300-3000	600-1500
绿茶提取物	150-1500	300-750
葡萄籽提取物	100-1000	200-500
非洲豆蔻提取物	150-1500	300-750
齿叶乳香提取物	350-3500	700-1750
依普黄酮	100-1000	200-500
生育三烯酚	50-500	100-250
月见草油	500-5000	1000-2500
INM-176	100-1000	200-500
琉璃苣油	500-5000	1000-2500

磷虾油	300-3000	600-1500
生咖啡提取物（绿原酸）	100-1000	200-500
阿魏酸	100-1000	200-500
蔷薇果	50-500	500-5000
黑莓粉	100-1000	200-500
越桔粉	200-2000	300-1500
酸果蔓提取物	100-1000	200-500
迷迭香提取物	100-1000	200-500
丁香提取物	100-1000	200-500
白藜芦醇	100-1000	200-500
接骨木提取物	400-4000	700-2500

[0028] 上述表 I 中所述成分可容易地购得。根据应用和 / 或供应商,成分可为具有特定效价的提取物、纯的成分、与赋形剂混合的成分,并且为多种物理形态,如液体或粉末。表示为 INM-176 的成分为得自韩国首尔 Scigenic Company, Ltd. 的未知组成的化合物。

[0029] 更具体地,组合物可包括一种或多于一种的蔷薇果成分。蔷薇果成分的例子包括但不限于干蔷薇果、蔷薇果油和蔷薇果提取物。蔷薇果成分可得自属于蔷薇属的多种植物物种中的任一种,如犬蔷薇 (*Rosacantha*)。此外,蔷薇果可包括蔷薇属植物的果实、花瓣和 / 或籽。

[0030] 可使用任何方法制备蔷薇果成分。例如,可使用常规的收割和干燥方法制备干蔷薇果。蔷薇果油可以通过标准方法生产并与纤维素进行加工用于制片或用于粉末组合物。另外,蔷薇果可以购自加利福尼亚州托兰斯的 MB North America。

[0031] 本发明的组合物可以包含一种或多于一种的蔷薇果成分。例如,食物增补剂可以包含干蔷薇果以及蔷薇果提取物。另外,组合物可以包含任何量的蔷薇果组分。例如,食物增补剂的至少约 1% (如至少约 2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90%) 可为蔷薇果成分。典型地,组合物包含约 500mg 到约 5000mg 的蔷薇果成分。

[0032] 更具体地,组合物可包括一种或多于一种的黑莓成分。黑莓成分的例子包括但不限于干黑莓、黑莓粉和黑莓提取物。黑莓成分可得自属于悬钩子属的多种植物物种中的任一种,如 *Rubus fruticosus*。

[0033] 可使用任何方法制备黑莓成分。例如,可使用常规的收割、干燥和粉化方法制备黑莓粉。另外,黑莓可以购自加利福尼亚州 Santa Rosa 的 Van Drunen Farms Futureceuticals。

[0034] 本发明的组合物可以包含一种或多于一种的黑莓成分。例如，食物增补剂可以包含黑莓粉以及黑莓提取物。另外，组合物可以包含任何量的黑莓组分。例如，食物增补剂的至少约 1%（如至少约 2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90%）可为黑莓成分。典型地，组合物包含约 100mg 到约 1000mg 的黑莓成分。

[0035] 更具体地，组合物可包括一种或多于一种的越桔成分。越桔成分的例子包括但不限于干越桔、越桔粉和越桔提取物。越桔成分可得自属于越桔属的多种植物物种中的任一种，如高大越桔 (*Vaccinium corymbosum*)。

[0036] 可使用任何方法制备越桔成分。例如，可使用常规的收割、干燥和粉化方法制备越桔粉。另外，越桔可以购自加利福尼亚州 Santa Rosa 的 Van Drunen Farms Futureceuticals。

[0037] 本发明的组合物可以包含一种或多于一种的越桔成分。例如，食物增补剂可以包含越桔粉以及越桔提取物。另外，组合物可以包含任何量的越桔组分。例如，食物增补剂的至少约 1%（如至少约 2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90%）可为越桔成分。典型地，组合物包含约 200mg 到约 2000mg 的越桔成分。

[0038] 更具体地，组合物可包括一种或多于一种的接骨木成分。接骨木成分的例子包括但不限于接骨木提取物、干接骨木和接骨木粉。接骨木成分可得自属于接骨木属的多种植物物种中的任一种，如美洲接骨木 (*Sambucus canadensis*)。

[0039] 可使用任何方法制备接骨木成分。例如，可使用常规的提取技术制备接骨木提取物。另外，接骨木可以购自印第安纳州 Fort Wayne 的 Artemis International。

[0040] 本发明的组合物可以包含一种或多于一种的接骨木成分。例如，食物增补剂可以包含接骨木粉以及接骨木提取物。另外，组合物可以包含任何量的接骨木组分。例如，食物增补剂的至少约 1%（如至少约 2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90%）可为接骨木成分。典型地，组合物包含约 400mg 到约 4000mg 的接骨木成分。

[0041] 此外，组合物可包括非洲豆蔻。非洲豆蔻成分的例子包括但不限于粉碎的非洲豆蔻籽、非洲豆蔻粉和非洲豆蔻提取物。

[0042] 可使用任何方法制备非洲豆蔻成分。例如，可使用常规的收割、干燥和提取方法制备非洲豆蔻提取物。另外，非洲豆蔻可以购自衣阿华州 Norway 的 Frontier Natural Products Cooperative。

[0043] 本发明的组合物可以包含一种或多于一种的非洲豆蔻成分。例如，食物增补剂可以包含非洲豆蔻粉以及非洲豆蔻提取物。另外，组合物可以包含任何量的非洲豆蔻组分。例如，食物增补剂的至少约 1%（如至少约 2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90%）可为非洲豆蔻成分。典型地，组合物包含约 500mg 到约 1500mg 的非洲豆蔻成分。

[0044] 本发明的组合物可包括磷虾油。磷虾油可得自磷虾属的任何成员，如南极磷虾 (*Euphausia superba*)。可使用常规生产油的技术得到磷虾油。另外，磷虾油可购自加拿大魁北克的 Neptune Technologies and Bioresources。

[0045] 组合物可以包含任何量的磷虾油。例如,食物增补剂的至少约 1% (如至少约 2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90%) 可为磷虾油。典型地,组合物包含约 300mg 到约 3000mg 的磷虾油成分。

[0046] 在组合物包括白藜芦醇时,白藜芦醇可得自葡萄皮或其它葡萄组分的提取物。白藜芦醇在组合物中可以以一种或多种不同的形式存在,例如,提取物形式和粉末形式。白藜芦醇可以购自密歇根州 Holland 的 Charles Bowman&Co.。

[0047] 组合物可以包含任何量的白藜芦醇组分。例如,食物增补剂的至少约 1% (如至少约 2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90%) 可为白藜芦醇。典型地,组合物包含约 100mg 到约 1000mg 的白藜芦醇成分。

[0048] 当组合物包括叶黄素中的至少一种时,叶黄素可为变胞藻黄素。变胞藻黄素可得自天然来源或合成获得。例如,变胞藻黄素可得自藻类、真菌类和 / 或甲壳类动物。一种类型的变胞藻黄素可购自夏威夷 Kailua-Kona 的 Cyanotech Corporation。

[0049] 组合物可以包含任何量的变胞藻黄素成分。例如,食物增补剂的至少约 1% (如至少约 2%、3%、4%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、50%、60%、70%、80%、或 90%) 可为变胞藻黄素。典型地,组合物包含约 0.5mg 到约 50mg 的变胞藻黄素成分。

[0050] 该组合物可包括一种或多种可药用赋形剂,如交联羧甲基纤维素钠、麦芽糖糊精、硅化微晶纤维素、二氧化硅、硬脂酸、羟丙基甲基纤维素 (HPMC)、乳糖、葡萄糖、蔗糖、玉米淀粉、马铃薯淀粉、醋酸纤维素、乙基纤维素等。可根据使用的组合物的形式使用稀释剂及其它添加剂,如一种或多种可药用粘合剂、填料、载体、增稠剂、味觉改善剂、着色剂、防腐剂、蛋白质、抗微生物剂、螯合剂、惰性气体、稳定剂、调节剂、乳化剂或其混合物。

[0051] 可将组合物的成分加工为具有不同递送系统的形式。例如,可对成分加工并将其引入胶囊、片剂、凝胶片 (gel tabs)、锭剂、条、颗粒、粉末、浓缩物、溶液、洗液、膏或悬浮液中。也可将成分通过喷雾、雾、或气雾剂给药到呼吸道中,例如在哮喘、过敏性休克及其它急性休克状况的治疗中。可以将成分分别配制或与其它食物组合配制,以提供预定量的营养增补剂、增补食品,例如,单次服用块 (single serving bars)。在一个实施例中,组合物可包括以片剂形式给药的一种成分和以胶囊形式给药的另一种组成物。一般地说,组合物可以配制为用于多种给药途径,如静脉内、肌内、皮下、经鼻、舌下、鞘内、局部或皮内给药途径。

[0052] 组合物的剂量可以根据治疗的疾病或状况进行增量给药。例如,在关节炎的治疗中,组合物可以多个连续的剂量给药,通常间隔约 6 到约 12 小时,甚至间隔长达约 2 周。可以以日剂量给药持续一段时间以获得炎症性触痛、肿胀和疼痛的症状减轻。可以调节剂量以维持这些症状的减轻。治疗可持续数周或数月,或者任选地,对于慢性疾病或状况可无限期地持续。

[0053] II. 生产组合物的方法

[0054] 可以根据以下方法生产片剂形式的包括蔷薇果、黑莓粉、越桔粉和接骨木提取物的本发明的示例性组合物。可根据药学工业公知的生产技术配制和制备其它给药介质如凝胶片、胶囊、液体和缓释制剂等。

[0055] 将上述表 II 中剂量 1 中所述量的蔷薇果、黑莓粉和越桔粉加入到二氧化硅中并置于聚乙烯薄膜袋中,混合,直到均匀和均一混合。将得到的混合物置于得自 Pennsylvania, East troudsburg 的 Patterson-Kelley Co. 的 Patterson Kelley (P. K.) 100 搅拌器中。然

后使以下成分以所列顺序通过装备有 20 目网筛的得自 Kentucky, Florence 的 Sweco, Inc. 的 Sweco 分离器直接进入 P. K. 100 搅拌器：右旋糖、交联羧甲纤维素钠和硅化微晶纤维素。将得到的组合物在 P. K. 100 中搅拌器混合 15 分钟。

[0056] 然后使植物由来的硬脂酸粉通过 Sweco 分离器直接进入 P. K. 100 搅拌器中。将得到的混合物另外混合五分钟。将得到的混合物排放到手提袋或超级袋 (super sacks) 中，压缩，并通过常规装置冲压成片剂。每片可接受的重量范围为约 250mg 到约 500mg。每片中蔷薇果的量为约 1200mg，黑莓的量为约 165mg，越桔的量为约 330mg。根据该方法生产的片剂可用于本文中所述的体内试验。

[0057] 可生产包括磷虾油的组合物的软胶囊。可使用常规的胶囊生产工艺生产胶囊。各胶囊中磷虾油的量为约 300mg。这些胶囊可以单独给药或作为本文中所述体内试验的一部分与组合物的其它成分的片剂共同给药。

[0058] 可以根据上述制片方法生产片剂形式的包括蔷薇果和黑莓粉、或蔷薇果和越桔粉的本发明的其它组合物。蔷薇果 / 黑莓片剂中蔷薇果的量为约 300mg，黑莓的量为约 80mg。蔷薇果 / 越桔片剂中蔷薇果的量为约 300mg，越桔的量为约 40mg。根据该方法生产的片剂可如希望的那样用于本文中所述的体内试验。

[0059] 可以根据上述制片方法生产片剂形式的包括蔷薇果、白藜芦醇和非洲豆蔻的另一个组合物，其包括约 300mg 的蔷薇果、10mg 的白藜芦醇和 75mg 的非洲豆蔻提取物。

[0060] 可以根据上述制片方法生产片剂形式的包括蔷薇果、白藜芦醇和变胞藻黄素的本发明的另一个组合物，其包括约 300mg 的蔷薇果、10mg 的白藜芦醇和 1mg 的变胞藻黄素。

[0061] 可根据以下方法生产片剂形式的包括橄榄提取物、朝鲜蓟、苎麻根和蔷薇果的本发明的另一个组合物。将上述表 II 中剂量 1 中所述量的橄榄提取物、朝鲜蓟、苎麻根和蔷薇果加入到二氧化硅中并置于聚乙烯薄膜袋中，混合，直到均匀和均一混合。将得到的混合物置于得自 Pennsylvania, East Stroudsburg 的 Patterson-Kelley Co. 的 PattersonKelley (P. K.) 100 搅拌器中。然后使以下成分以所列顺序通过装备有 20 目网筛的得自 Kentucky, Florence 的 Sweco, Inc. 的 Sweco 分离器直接进入 P. K. 100 搅拌器：右旋糖、交联羧甲纤维素钠和硅化微晶纤维素。将得到的组合物在 P. K. 100 混合器中混合 15 分钟。

[0062] 然后使植物由来的硬脂酸粉末通过 Sweco 分离器直接进入 P. K. 100 搅拌器中。将得到的混合物另外混合五分钟。将得到的混合物排放到手提袋或超级袋中，压缩，并通过常规装置冲压成片剂。每片可接受的重量范围为约 250mg 到约 500mg。

[0063] III. 组合物成分的选择

[0064] 本发明可包括成分筛选方法，用于挑选对于特定健康条件为最佳的、以及可如希望的那样用于组合物中的成分。例如，在用于调节 IL-1 的营养增补剂的情况中，可以通过独特的筛选方法选择活性成分。多种因素包括生物学的、商业的、管理的和描述性的判别因素 (discriminators)。一些优选的判别因素及其加权值在表 2 中列出。优选地，判别因素根据商业或消费者驱动目标指定权重。在表 2 中，权重 3 表示该判别因素对于选择方法有重大影响或是重要的 (“因素 3 判别因素”)；2 表示该判别因素有重要的权重，但是小于选择方法中 3 的重量因数 (“因素 2 判别因素”)；1 表示判别因素具有最小的权重 (“因素 1 判别因素”)。

[0065] 表 II :用于选择细胞因子调节成分的判别因素

[0066]

判别因素	权重
在 IL-1 筛选试验中的性能 (EC < 50ug/ml)	3
提供可用性	3
每千克材料的成本	3
原料名称	1
植物学特性 / 母体提取物	1
任选的和次要的材料和供应商	2
专营权的潜力	2
纵向综合可能性	2
水性 - 疏水性相容性	2
已知活性成分 / 作用机制	2
级分的生物利用度*	2
基于体外 EC 50 的有效日剂量 (mg)	2
基于文献的有效日剂量 (mg)	2
基于生物试验 EC 50 和生物利用度预测的原料成本 (每月成本)	2
基于文献效力预测的原料成本 (每月成本)	2
安全性 / 毒性状况	3
在上市国家的技术 / 管理接受度	3
在来源公司产品中和在总的市场中的表现	2
知识产权风险	2

[0067] *级分生物利用度为吸收到体内并通常通过循环到达身体组织的口服摄取成分 (表达为级分) 中活性化合物的百分比。例如, 0.10 的级分利用度表示口服摄取成分的有效成分的 10% 从肠道被吸收并在循环中转运 (一段时间)。

[0068] 在上述实施例中, 主要任务是找到用于人用的、有效的和商业上成功的 IL-1 调节剂。通过将各个候选物的判别因素权重求和并比较总的权重得分选择出最好的候选物。因

此,按照获得特定成分的成本和该成分的可用性,活性成分在调节 IL-1 方面的性能也是有关的。与商业上获得成功有关的其它因素为成分的毒性和安全性、以及成分在该组合物销售市场上的技术和管理的接受性。可能存在其中一些成分没有满足一个因素 3 判别因素的情况,并且对于各个成分一个因素 3 判别因素是不同的。在这些情况中,因素 3 判别因素为指派的权重,而因素 2 和因素 1 判别因素也在选择方法中得以考虑。

[0069] 除了上述的成分筛选方法之外,优选使治疗用组合物或成分经过离体 (ex vivo) 临床评价,以证实生物学性质和作用。具体地,受试者使用治疗用组合物或成分。在使用之前和使用一段时间之后从受试者得到连续的血样,所述一段时间是指所述成分的活性组分可能被吸收并在体循环系统内转运的时间,对于大多数化学物质为 6 小时。将这些血样加入到体外生物识别系统,该系统具有对所感兴趣的系统的生理学变化敏感的试验或检测读数装置。这些试验(称为离体试验)结果可与体内临床得到的结果进行比较。体外结果与离体评价的结果越接近,则该治疗剂在身体内具有预期效果的可能性越大。

[0070] IV. 细胞因子抑制潜力的评价

[0071] 组合物的成分可以通过至少两种不同的生物学机制调节细胞因子。在第一种机制中,成分可以抑制白介素细胞因子的产生,即,合成。在这种机制中,据信成分阻止编码用于白介素细胞因子产生的基因的 mRNA 转录。因此,随着基因转录被阻断,机体不能合成细胞因子、或在机体内不能合成细胞因子。在第二种机制中,成分可以抑制机体内化学物质和细胞对白介素细胞因子的级联应答。更具体地,成分可以阻止急性期蛋白如 C 反应蛋白 (CRP) 连同其它化合物的产生。在创伤性和 / 或炎性状况下,CRP 在人肝脏中通过响应白介素细胞因子如 IL-1 和 IL-6 的肝细胞合成。成分可以影响细胞如肝细胞对白介素细胞因子的应答机制,使得那些细胞减少或停止 CRP 的产生。

[0072] 在以下实施例中,测量了所列举的不同成分的白介素细胞因子调节潜力,包括抑制细胞因子的合成和抑制由细胞因子引起的应答,并报告和评价了每次试验的结果。

[0073] 对于上述评价,在白血球中掺杂不同浓度的成分。然后向成分 + 细胞培养物以及未经处理的白血球对照样品中加入炎症刺激物脂多糖 (LPS)。将用成分处理的和未经处理的细胞中的 IL-1 细胞因子的产生进行比较,并外推得到引起由细胞产生的 IL-1 的浓度发生 50% 改变时的成分的浓度。

[0074] 提供这些实施例用于进一步说明和解释本发明,从任何角度都不应及其看作是对本发明的限制。除非另外说明,所有的温度测量值表示为摄氏度。

[0075] 实施例 1

[0076] 为了进行本实施例的抑制白介素合成的评价,将人白血球(具体地为得自 Virginia, Manassas 的 ATCC 的 THP-1 细胞)在 ATCC 推荐的条件下在具有 5% 二氧化碳的湿润的 37°C 培养箱中培养。为了检测不同化合物的 IL-1 抑制潜力,将多组 THP-1 细胞在 96 孔板中铺板。具体地,在补充有 10% 胎牛血清和抗生素如青霉素和链霉素的 RPMI 1640 中铺板 5×10^5 个 THP-1 细胞。在将这些细胞铺板后,进行剂量给药。

[0077] 在剂量给药时,将各个成分以不同的剂量对铺板的 THP-1 细胞给药,不同剂量具体为 100 μ g/ml、10 μ g/ml、1 μ g/ml 和 0 μ g/ml。例如,在一个板的细胞中,给药每毫升 100 微克的荨麻根提取物,在另一个板的细胞中,给药每毫升 10 微克的荨麻根提取物,在另一个板的细胞中,给药每毫升 1 微克的荨麻根提取物,在另一个板的细胞中,不给药荨麻根。

在将铺板的细胞用各成分处理之后,将已进行剂量给药各成分的 THP-1 细胞送回到培养箱中并在相同的条件下培养 4 小时。

[0078] 其后,将已知的炎症刺激物 LPS 加入到各个 96 孔板中到最终浓度为 100 毫微克/毫升。将用 LPS 处理的培养物送回到培养箱并再培养额外的 16 小时。然后将培养物以 1000Gs 离心约 5 分钟,得到上清液。然后将上清液标记并组构用于 IL-1 检测。

[0079] 为检测以不同剂量给药的上清液中分泌的 IL-1 并由此评价各个成分在各剂量下的 IL-1 分泌抑制潜力,根据试验供应商 (California, Camarillo 的 Biosource International) 提供的常规 IL-1 试验流程检测各上清液中 IL-1 的存在。具体试验流程在参考文献 Protocol Booklet, Human IL-1, (2001) 中提供,得自 Biosource International, 其被并入本文作为参考。

[0080] 大体上,根据该流程,将 50 微升的各上清液样品加入到涂有抗 IL-1 的涂层板的孔中,并将其在室温下培养 2 小时。同样地,将设计用于建立已知的 IL-1 量的校准用标准品加入到涂有抗 IL-1 抗体的涂层板的指定孔中并在室温下培养 2 小时。

[0081] 其后,取出各个孔中的液体并将涂层板在洗涤缓冲液中洗涤 3 次。在第三次洗涤之后,将 100 微升的酶 (辣根过氧化物酶) 偶联的抗 IL-1 抗体加入到涂层板的各个孔中并在室温下培养 30 分钟。将板再一次如前所述进行洗涤并将 100 微升的底物溶液 (TMB) 加入到各个孔中,以显示在有或没有所述成分的存在下加入 LPS 炎症刺激物所产生的 IL-1 的量。其后,加入 100 微升的终止溶液如盐酸或硫酸,以终止反应。底物溶液 (TMB) 与偶联于抗 IL-1 抗体的辣根过氧化物酶的反应产生有色产物,其在 450nm 波长具有特异性的光谱吸光度。通过测量由偶联有结合酶的抗 IL-1 抗体的量产生的 450nm 处的吸光度测定 IL-1 的存在量,所述吸光度随着 IL-1 存在量的不同而不同。

[0082] 校准用标准样品经过与上清液样品一样的流程,以测定存在于那些校准试样中的 IL-1。检测校准用标准样品的光密度以建立已知的不同水平 (如每毫升校准稀释液中 1500 到 50、125、62.5、31.2、0 皮克) 的 IL-1 的吸光度。然后将标准校准样品的光密度绘图以确定标准化的 IL-1 吸光度校准曲线。

[0083] 对于经过检测和光学测量的每个样品的上清液,将吸光度对照标准 IL-1 吸光度校准曲线绘图,以确定存在于样品上清液中的 IL-1 的量。

[0084] 根据存在于样品上清液中的 IL-1 的量,如以下表 III 所示记录不同成分的 IL-1 抑制潜力结果。如其中所示,结果报告为 EC₅₀ 值,其为通常被接受的有效剂量的量度。一般而言,EC₅₀ 为当与对照样品相比时引起 IL-1 浓度发生 50% 变化时所需的成分浓度。

[0085] 表 III: 实施例 1 的 IL-1 试验结果

[0086]

成分	EC ₅₀ μ g/ 毫升 (体外 50%有效剂量)
没食子酸表儿茶素	< 1
葡萄籽提取物	< 1
葡萄籽提取物	< 1

依普黄酮	< 1
荨麻根提取物	< 1
蔷薇果	< 1
生育三烯酚	1-10
琉璃苣油	1-10
月见草油	1-10
生咖啡提取物	1-10
INM-176	1-10
齿叶乳香	< 1-10
Boswellia forte	1-10
荨麻根提取物	1-10
橄榄提取物	1-10
磷虾油	1-10
灵芝	1-10
非洲豆蔻提取物	1-10
小白菊	1-10
朝鲜蓟	1-10
阿魏酸	10

[0087] 表 III 中的试验结果说明这些成分在减少和 / 或抑制细胞因子如 IL-1 的分泌或产生中的有效性。

[0088] 实施例 2

[0089] 在本实施例中, 试验了本发明组合物中可包括的其它成分, 用于 (a) 评价这些成分在减少和 / 或抑制细胞因子如 IL-1 的分泌或产生中的有效性; (b) 评价这些其它成分与任选的主要成分 (蔷薇果、朝鲜蓟提取物、橄榄提取物和荨麻根) 之间的相互作用; 和 (c) 通过测量由肝细胞所致的 C 反应蛋白 (CRP) 分泌评价这些其它成分对肝细胞中白介素细胞因子如 IL-1 应答的作用。

[0090] 具体地, 测量 IL-1 β 从用或未用不同剂量的其它成分、或这些其它成分与任选的主要成分的组合进行预处理的、接触脂多糖 (LPS) 后的 THP-1 细胞中的释放, 以评价其它成

分对单核细胞 IL-1 β 分泌的作用。通过测量用或未用不同剂量的其它成分进行预处理的、接触 IL-1 和 IL-6 后的培养物上清液中的 CRP 评价肝细胞对 IL-1 的应答。

[0091] 受试的其它成分为：黑莓提取物、越桔提取物、酸果蔓提取物、迷迭香提取物、丁香提取物和白藜芦醇。表 IV 表示这些其它成分在有或没有另外的小剂量的 4 种主要成分的存在下通过 LPS 活化测量的对 IL-1 β 分泌的剂量特异性抑制结果。用于检测 IL-1 β 分泌抑制的方法与实施例 1 中用于所检测成分的方法相同。在实施例 2 中的受试成分中，迷迭香提取物、越桔提取物、接骨木提取物、酸果蔓提取物在相对低的剂量 (20-70 μ g/毫升) 下具有 IL-1 调节作用。

[0092] 通过比较任选的主要成分抑制 IL-1 分泌的作用 (例如表 III 中所示的那些) 与表 IV 中列举的所述主要成分与其它成分组合抑制 IL-1 分泌的作用, 检测其它成分干扰所列出的任选主要成分的 IL-1 调节作用。例如, 如没有特征性抑制活性所说明的, 黑莓的存在未改变蔷薇果的 IL-1 调节作用。其它成分中没有表现出干扰任选的主要成分, 但是一些表现出协同作用 (越桔提取物与蔷薇果和荨麻根表现出协同作用, 接骨木提取物与朝鲜蓟提取物和荨麻根表现出协同作用)。在表 IV 中, 分别如所示的那样, “-”表示无干扰或协同作用, “+”表示有干扰或协同作用。

[0093] 通过测量在用或未用不同剂量的其它成分进行预处理的肝细胞接触 IL-1 β 和 IL-6 时 CRP 的分泌, 评价肝细胞中 IL-1 的应答作用。选择 CRP 分泌是因为, 如上所述, CRP 为人的重要的急性期蛋白; 在严重的创伤和 / 或炎症过程中, 其血浆浓度增加超过 1000 倍; 在炎性状况下, CRP 响应 IL-1 和 IL-6 在肝细胞中表达, 如合成或分泌。CRP 担当白介素细胞因子的生物标志物, 并且测量这一生物标志物比测量细胞因子本身更有效, 因为血液中细胞因子水平经常地不能正确地反映机体内细胞因子的实际量。因此, 通过测量由肝细胞所致的 CRP 分泌, 能够测定细胞应答 IL-1 和 / 或 IL-6 的程度。

[0094] 为进行本实施例的评价, 将得自 Maryland, Baltimore 的 In Vitro Technology 的初级分离的人肝细胞在 In Vitro Technology 推荐的条件下在具有 5% 二氧化碳的湿润的 37 $^{\circ}$ C 培养箱中恢复。为了检测不同化合物的 CRP 应答潜力, 将多组肝细胞铺板在 96 孔板中。具体地, 在补充有 10% 胎牛血清的肝细胞培养基中铺板 1×10^4 个细胞, 然后使其接触不同剂量的受试成分, 所述剂量具体为 100 μ g/毫升、10 μ g/毫升、1 μ g/毫升和 0 μ g/毫升。例如: 在一个板的细胞中给药每毫升 100 微克的黑莓提取物, 在另一个板的细胞中给药每毫升 10 微克的量, 在另一个板的细胞中给药每毫升 1 微克的量, 在另一个板的细胞中不给药荨麻根。在将铺板的细胞用各成分处理之后, 将已经过剂量给药成分的肝细胞送回到培养箱中并在相同的条件下培养 4 小时。

[0095] 其后, 向各个 96 孔板中加入已知的 CRP 诱导物如 IL-1 和 IL-6 到最终浓度为 1 毫微克 / 毫升。将用 LPS 处理的培养物送回到培养箱并再培养额外的 16 小时。在培养之后, 将上清液标记并组构用于 CRP 检测。

[0096] 为了检测进行不同剂量给药的上清液中分泌的 CRP 并由此评价各成分在各剂量下的 CRP 分泌抑制潜力, 根据试验供应商 Pennsylvania, West Chester 的 Life Diagnostics, Inc. 提供的常规 CRP 试验流程检测各个上清液中 CRP 的存在。具体的流程在得自 LifeDiagnostics, Inc. 的文献 High Sensitivity C-Reactive Protein Enzyme Immunoassay Test Kit, (2003) 中提供, 其被并入本文作为参考。

[0097] 大体上,根据流程,将 10 微升的各上清液样品与 100 μ l 的偶联于辣根过氧化酶的第二抗 CRP 抗体一起加入到涂有抗 CRP 抗体的涂层板的孔中,将其在室温下培养 45 分钟。同样地,将设计用于建立已知的 CRP 量的校准用标准品与偶联于 HRP 的第二抗 CRP 抗体一起加入到指定的涂有抗 CRP 抗体的涂层板的孔中,并在室温下培养 45 分钟。

[0098] 其后,取出各个孔中的液体并将涂层板在洗涤缓冲液中洗涤 3 次。在第三次洗涤之后,将 100 微升底物溶液 (TMB) 加入到各个孔中,以显示在有或没有所述成分的存在下由于加入 IL-1 和 IL-6 (CRP 诱导剂) 所致的 CRP 产生量。其后,加入 100 微升终止溶液如盐酸或硫酸,以终止反应。底物溶液 (TMB) 与偶联于抗 CRP 抗体的辣根过氧化酶的反应产生有色产物,其在 450nm 波长处具有特异性光谱吸光度。因此,通过测量由偶联有结合酶的抗 CRP 抗体的量产生的 450nm 处的吸光度测定 CRP 的存在量,所述吸光度随着 CRP 存在量的不同而不同。

[0099] 校准用标准样品经过与上清液样品一样的流程,以测定存在于那些校准试样中的 CRP。检测校准用标准样品的光密度以建立已知的不同水平 (如每毫升校准稀释液中 0、0.005、0.01、0.025、0.05 和 0.1 微克) 的 CRP 的吸光度。然后将标准校准样品的光密度绘图以确定标准化的 CRP 吸光度校准曲线。

[0100] 对于经过检测和光学测量的每个样品的上清液,将吸光度对照标准 CRP 吸光度校准曲线绘图,以确定存在于样品上清液中的 CRP 的量。

[0101] 根据存在于样品上清液中的 CRP 的量,如以下表 III 所示记录不同成分的 CRP 抑制潜力结果。如其中所示,结果报告为 EC₅₀ 值,其为通常被接受的有效剂量的量度。一般而言,EC₅₀ 为与对照样品相比引起 CRP 浓度发生 50% 改变 (如 CRP 减少或 CRP 合成的抑制) 所需的成分浓度。

[0102] 当以 CRP 分泌的形式评价肝细胞中的 IL-1 应答效果时,黑莓提取物、酸果蔓提取物和白藜芦醇具有有效活性,EC₅₀ 为 1-10 μ g/毫升。因此,这些成分特异性地通过减少生物标志物如 CRP 的合成有效地调节 IL-1/IL-6 应答。越桔粉、迷迭香提取物和接骨木粉在调节 IL-1/IL-6 应答中也有活性。另外,检测了所选成分在 IL-1 和 IL-6 (各自为 1ng/毫升) 活化时对 CRP 分泌的剂量特异性抑制。对于另外的受试成分,10% 的天然变胞藻黄素、非洲豆蔻提取物 (w/o 载体) 和 Reveravine (白藜芦醇) 表现出有效的 CRP 减少活性,EC₅₀ 分别为约 0.3、0.6 和 0.8 μ g/毫升。变胞藻黄素微珠 (beadlet) 表现出活性,EC₅₀ 略超过 1 μ g/毫升。

[0103] 表 IV: 实施例 2 的结果,包括其它成分在抑制 LPS 刺激的 IL-1 分泌、IL-1/IL-6 刺激的 CRP 分泌、和与任选的主要成分的协同作用或拮抗作用的 EC₅₀

[0104]

成分	IL-1EC ₅₀ , μ g/ml (体外 50%有效剂 量)	CRP EC ₅₀ , μ g/ml (体外 50%有效剂 量)	协同 作用	+/-	干状 作用	+/-
黑莓粉	N/A	1-10	蔷薇 果	-	蔷薇 果	-
			朝鲜 蓟	-	朝鲜 蓟	-
			荨麻 根	-	荨麻 根	-

			橄榄提取物	-	橄榄提取物	-
越桔粉	30-40	10-20	蔷薇果	+	蔷薇果	-
			朝鲜蓟	-	朝鲜蓟	-
			荨麻根	+	荨麻根	-
			橄榄提取物	-	橄榄提取物	-
酸果蔓提取物	> 100	1-10	蔷薇果	-	蔷薇果	-
			朝鲜蓟	-	朝鲜蓟	-
			荨麻根	-	荨麻根	-
			橄榄提取物	-	橄榄提取物	-
迷迭香提取物	20-30	30-40	蔷薇果	-	蔷薇果	-
			朝鲜蓟	-	朝鲜蓟	-
			荨麻根	-	荨麻根	-
			橄榄提取物	-	橄榄提取物	-
丁香提取物	N/A	N/A	蔷薇果	-	蔷薇果	-
			朝鲜蓟	-	朝鲜蓟	-
			荨麻根	-	荨麻根	-
			橄榄提取物	-	橄榄提取物	-
白藜芦醇	N/A	1-10	蔷薇果	-	蔷薇果	-
			朝鲜蓟	-	朝鲜蓟	-
			荨麻根	-	荨麻根	-
			橄榄提取物	-	橄榄提取物	-
接骨木提取物	60-70	30-40	蔷薇果	-	蔷薇果	-
			朝鲜蓟	+	朝鲜蓟	-
			荨麻根	+	荨麻根	-
			橄榄提取物	-	橄榄提取物	-

[0105] 实施例 3

[0106] 通过在二十周时间内每日剂量给药本发明的组合物,在约 150-200 名人受试者中进行体内试验。更具体地,检测组合物,以评价 (a) 在方案 1 的个体中对 IL-1 合成的抑制,和 (b) 通过测量具有超过 3mgCRP/ 升血液的 CRP 水平的方案 2 的个体中 CRP 水平评价对 IL-1 应答的抑制。

[0107] 对于本实施例,方案 1 个体为已知具有“正常的”或“扩大的”IL-1 基因表达应答的 IL-1 基因型的人。扩大的 IL-1 基因表达基因型定义为在 IL-1 β 基因的 +3954 基因座上存在至少一个等位基因 2 的拷贝或在 IL-1 α 基因的 +4845 基因座上具有至少两个等位基因 2 的拷贝。在本实施例中,方案 2 个体为具有高的炎症生物标志物血液水平的人,如 CRP 水平为约 3 到约 10mg/L 或更高的人。在该范围内的 CRP,似乎更可能观察到显著的改善,即,CRP 水平的减少。换句话说,有可能在方案 2 受试者中检测到 CRP 的适度减少。

[0108] 以片剂形式对五十名受试受试者给药的本发明的一个组合物包括蔷薇果、黑莓和越桔,日剂量为:1200mg 的蔷薇果、165mg 的黑莓和 330mg 的越桔。

[0109] 对五十名受试受试者给药的本发明的另一个组合物包括蔷薇果、黑莓、越桔和非洲豆蔻,日剂量为:1200mg 的蔷薇果、165mg 的黑莓、330mg 的越桔和 300mg 的非洲豆蔻。这些成分为片剂形式。

[0110] 对 50 名受试受试者给药的本发明的另一个组合物包括蔷薇果、非洲豆蔻和白藜芦醇(如 Resveravine,购自 France, Bram 的 Bio Serae 的白藜芦醇产品),日剂量为 1200mg 的蔷薇果、150mg 的非洲豆蔻和 40mg 的白藜芦醇。这些成分为片剂形式。

[0111] 每天对五十名受试者给药片剂形式的不含组合物各成分的安慰剂。

[0112] 对上式各受试者给药上述组合物和安慰剂的第一个十二周为试验的双盲阶段。在该阶段过程中,上述剂量为负荷剂量。在第十二周之后,开始试验的单盲阶段。在该阶段过程中,可以将上述剂量改变为从负荷剂量阶段数据外推得到的维持剂量。

[0113] 在本实施例的体内试验中,从受试者取得血样以测量 IL-1 和 CRP。然而,应该控制这种血样采集以量化个体间的差异性并使其最小化。例如,在多个、禁食血样中测量炎症生物标志物如 CRP,和基因表达结果如 IL-1 的转录和随后的合成;并且得自妇女的样品在所

述受试者月经周期的同一周取得。这样做的理由是已经发现高脂肪进食和月经周期剧烈地增加炎症生物标志物。另外,这种 CRP 监控流程需要在不同的、邻近的几天进行多次采血。

[0114] 在给药之后,通过离体 IL-1 产生抑制(参见上述方法)、体内 IL-1 基因表达和炎症生物标志物(如 IL-6、TNF、IL-10、IL-12、血清淀粉样物质 A、纤维蛋白原、ICAM-1、C 反应蛋白等等)的血液水平评价安慰剂、第一和第二组合物的有效性。通过经 rtPCR 测量受试者白细胞中 IL-1mRNA 的量评价体内 IL-1 基因表达。有效干涉炎症过程的调节的证据包括离体 IL-1 产生的抑制、体内 IL-1 基因表达的抑制和一种或多种上述炎症生物标志物水平的减少。

[0115] 本实施例的体内试验结果预期说明组合物具有通过抑制白介素细胞因子的合成和抑制受试者中由白介素细胞因子所致的级联应答而调节白介素细胞因子的作用。现在参考图 1-3,参见患有由炎症加剧的动脉粥样硬化斑块发展的受试者,描述这种益处的具体例子。

[0116] 图 1 说明炎症和白介素细胞因子如何有助于动脉粥样硬化斑块发展。具体地,单核白细胞 10 进入动脉壁组织 100,吞没被氧化的脂质,通过炎症细胞因子如 IL-1 募集另外的白细胞 14,通过生长因子刺激斑块生长 30,导致狭窄。白细胞在斑块内释放的细胞因子 20 导致斑块的不稳定性,并可能最终引起破裂和血栓形成。

[0117] 在图 2 中,表示 IL-1200 的合成和 IL-1 应答 300。具体地,白细胞 10 合成细胞因子 20,其随后刺激肝脏 50 产生急性期蛋白如 CRP。

[0118] 参考图 3,本发明的组合物通过白细胞 10 抑制细胞因子 200 的产生。可以特定成分 500 如蔷薇果、越桔和接骨木为目标执行这一功能。本发明的组合物也可通过减少或消除 CRP 的合成从而抑制细胞 300 和 / 或肝脏 50 对细胞因子的应答。可以特定成分 600 如黑莓、白藜芦醇、非洲豆蔻和 / 或变胞藻黄素为目标执行这一功能。

[0119] V. 用法

[0120] 基于上述实施例 1-3 中的可包括在本发明组合物中的各成分的试验结果,显然可以对受试者给药包括这些成分的组合物,以调节白介素细胞因子,具体地,抑制白介素细胞因子合成、减少 C 反应蛋白合成和 / 或抑制受试者机体内对白介素细胞因子的应答。

[0121] 已知细胞因子如 IL-1 和 IL-6 为机体内炎症应答的关键介体,本发明的组合物可用于调节与疾病和 / 或异常状况有关的炎症应答。例如,该组合物可用于治疗关节炎、心血管状况、骨质疏松症、阿尔茨海默氏病、对创伤性损伤的炎症应答、或与炎症或免疫调节应答有关的任何其它的异常状况或疾病如与炎症有关的疼痛和僵硬。

[0122] 更具体地,已知骨质疏松症与异常高的 IL-1 释放水平有关。因此,本发明还考虑了通过给药治疗有效量的本发明的组合物调节 IL-1 从而治疗骨质疏松症的方法。

[0123] 已知炎症与心血管疾病如动脉粥样硬化和血栓形成有关,本发明还考虑了通过给药治疗有效量的组合物治疗这种心血管疾病,所述组合物包括上述剂量的至少一种成分。另外,据信本发明的 IL-1 调节组合物可用于限制或控制由手术、创伤和涉及皮肤、肺、眼、耳、鼻、喉、消化道、神经系统等的过敏性反应所致的炎症应答。

[0124] 此外,已经观察到,在炎症条件下应激时,神经系统细胞和组织分泌大量的 IL-1,因此,该组合物可用于治疗精神问题、头痛和耳痛、以及使人变衰弱的神经学疾病如阿尔茨海默氏病。

[0125] 以上说明了本发明的优选实施方案。可进行不同的改变和变化而不脱离权利要求中所定义的本发明的精神实质和广泛的方面,其根据专利法法规可解释为包括等价宗旨。对权利要求要素的任何单数形式的引述例如表述“一”、“该”、或“所述”都不应看作是限制该要素。

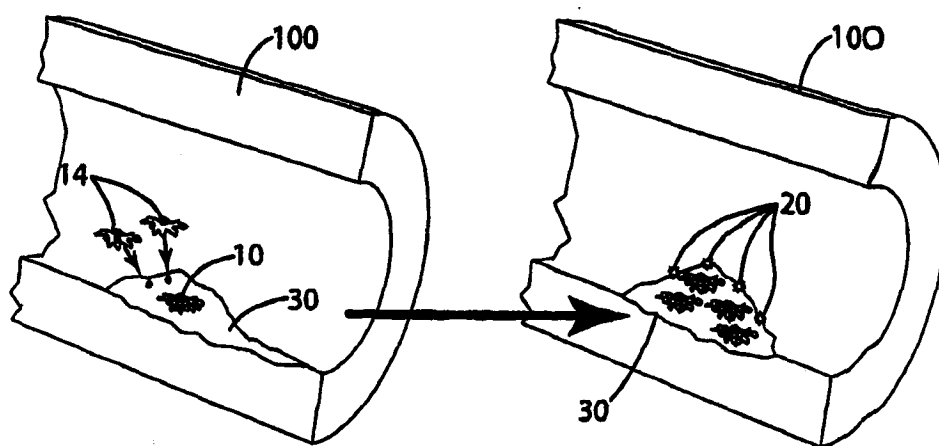


图 1

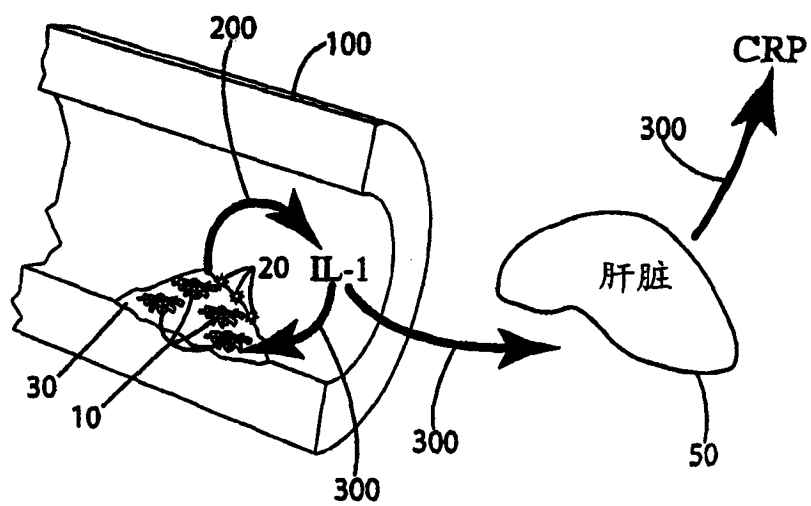


图 2

