



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114533779 A

(43) 申请公布日 2022.05.27

(21) 申请号 202210254352.4

A61P 1/00 (2006.01)

(22) 申请日 2013.06.10

A61P 29/00 (2006.01)

(30) 优先权数据

12171273.1 2012.06.08 EP

(62) 分案原申请数据

201380030286.1 2013.06.10

(71) 申请人 芬策尔贝格有限两合公司

地址 德国安德纳赫

(72) 发明人 B·沃尔布尔 I·皮谢尔

B·费斯特尔

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限

公司 31266

专利代理师 贾军华 徐迅

(51) Int. Cl.

A61K 36/53 (2006.01)

权利要求书1页 说明书14页

(54) 发明名称

铺地百里香提取物及其用途

(57) 摘要

铺地百里香(Thymus serpyllum L.)提取物,用于治疗肠炎性疾病。

1. 一种提取物制剂,其由如下方法制得:

- a. 提供来自铺地百里香地上植株部分的植物药;
- b. 干燥所述的植物药;
- c. 碾碎所述的植物药;
- d. 去除茎秆取叶并将茎秆量降至小于2%重量份,
- e. 任选蒸制所述的植物药,并且以干燥的植物药计,将精油减至小于0.5ml/kg;
- f. 用提取剂提取所述植物药,其中,所述提取剂选自下组:水、醇和其混合物;
- g. 至少部分地除去提取剂以获取浓提取物;
- h. 任选用液体溶剂进行脱脂;
- i. 进行热灭菌操作;
- j. 添加干燥助剂;
- k. 干燥以获得提取物;

其中进行e或h中的至少一步;

所述提取物的迷迭香酸含量是至少0.5wt%,以干燥提取物计,

所述的提取物还包含益生菌,优选水溶性碳水化合物类物质,

其用于治疗肠道炎性疾病选自下组:肠应激综合症(IBS)、炎性肠病(IBD)、淋巴细胞性结肠炎、溃疡性结肠炎、憩室炎、十二指肠炎、和克罗恩病。

2. 如权利要求1提取物制剂,其特征在于,以干燥提取物计,所述提取物的精油含量是至多0.5wt%,优选至多0.1wt%,更优选至多0.01wt%。

3. 如权利要求1或2所述的提取物制剂,其特征在于,所述的干燥助剂选自益生性水溶性碳水化合物类,更优选低聚果糖类。

4. 如权利要求3所述的提取物制剂,其特征在于,所述的干燥助剂选自下组:**ACTILIGHT®、FIBERSOL®、NUTRIOSE®或RAFTILOSE®**。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的提取物制剂,其特征在于,提取物中百里醛加香芹酚的含量为<0.01wt%,以天然干燥提取物计。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的提取物制剂,其特征在于,所述的提取在20-100℃,优选50-90℃,更优选60-80℃下进行操作。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的提取物制剂,其特征在于,所用的植物药对应于欧洲药典中“铺地百里香(Serpylli herba)”专著部分。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的提取物制剂,其特征在于,所述的干燥是喷雾干燥或真空干燥。

铺地百里香提取物及其用途

[0001] 本申请是申请日为2013年6月10日,申请号为201380030286.1,发明名称为“铺地百里香提取物及其用途”的发明申请的分案申请。

[0002] 本发明涉及铺地百里香(*Thymus serpyllum*)提取物及其制法和应用。

[0003] 现有技术中已有有关百里香属(*Thymus* spp.)用途的描述,尤其将其应用于烹饪目的,亦有医学上对呼吸道疾病使用百里香。

[0004] 百里香是一种来自百里香属(*Thymus*)的烹饪用植物和医用香草。百里香以其强烈的味道著称,因其含百里酚(thymol),人们对其进行培植,在温热且光照好的生长条件下,以高透气性的土对其进行栽培最佳。百里香于春季进行栽种,多年生,并可经种子、扦插、分根等方式繁殖。常作为野生香草得以采摘。

[0005] 百里香在世界范围均有分布,在欧洲、中东、亚洲、印度、非洲和美洲等地用于烹调。百里香尤其作为单独调味佐料或是同其他香草或香料混合使用,用于对肉、汤和炖菜进行调味。百里香作为中东香料Za'atar中一味重要的配料在地中海东部沿岸用于对食物的烹调,也其法式烹饪中的香料包(bouquet garni)和普罗旺斯菜系中调味香草的组分。

[0006] 百里香以新鲜以及干制的形式进行售卖。鲜制品产自温室,几乎全年有售,且极为芳香,但采摘后,鲜百里香的保存不超过一周。百里香鲜枝成束售卖,百里香束由具有叶及花簇的木质枝条组成。依据食谱,一般用整根的百里香枝条或是除去枝条的百里香叶。干制的百里香相对于其他多种香草更好地保存了其风味。

[0007] 除用于烹调,赋予百里香风味的百里香精油具多种疗效。因此,银斑百里香(*Thymus vulgaris*)的百里香油含有20-54%百里酚,其作为抗菌剂,是如各种漱口水(例如李施德林牌)的主要活性成分。过去,百里香油亦用于被包扎伤口的愈合,并局部施用以抗各种真菌,也可用作抗菌活性消毒剂。相反,野生百里香(*Thymus serpyllum*)的精油含香芹酚量极高。香芹酚是一种萜烯酚,是百里酚的立体异构体且具有类似的活性范围。

[0008] 百里香草的水浸液用于治疗咳嗽和支气管炎。其他药用方面包括呼吸道感染,其中,除了香草茶外,百里香以酞剂、软膏、糖浆或蒸汽吸入剂等形式施用。由于百里香具有抗菌作用,水浸液或水煎液冷却后用于漱口,一日多次,可非常好地用于抵抗喉咙痛。所吸收的百里酚连同百里香草的其它挥发性组分通过肺(呼出)排出体外,由于其具有亲脂性,因而致使支气管粘液的粘度降低,从而使可更容易咳出。此外,它们对呼吸道具有抗菌的效果。其他感染和伤口也可用百里香水煎液进行治疗。

[0009] 各地使用的百里香种类可以描述为具有几乎所有上述特性和用途。这些植物药的种类主要包括:中东百里香(*Thymus capitatus*)、柠檬百里香(*Thymus citriodorus*)、乳香色百里香(*Thymus mastichina*)、(*Thymus pulegioides*)、铺地百里香(*Thymus serpyllum*)、银斑百里香(*Thymus vulgaris*)和洋百里香(*Thymus zygis*)。传统上将洋百里香(*T. zygis*)视作与银斑百里香相当,但其经济效用更小。在该组中,主要是银斑百里香(*T. vulgaris*)和铺地百里香(*Thymus serpyllum*)可以通过培植或野生采摘获得经济显著量。在欧洲药典中,铺地百里香(*Thymus serpyllum* L.)描述有药用百里香的不良掺杂(银斑百里香+洋百里香)(专著865),反之亦然。这是由于植物物种间长期已知的药理学差异。

专著记录的植物药中精油的最小含量是：铺地百里香至少为3ml/kg，银斑百里香至少为12ml/kg。

[0010] 在这个等级下，欧洲药典中专著1374下所列的有药用价值的精油完全回收自银斑百里香 (*T. vulgaris*) 和洋百里香 (*T. zygis*)。

[0011] 因此，铺地百里香 (*Thymus serpyllum*) 和银斑百里香 (*T. vulgaris*) 在专业的文献中，大多分别地对待，并且它们的活性主要来自其精油含量。除了上面提到的烹饪用途，亦有提到化妆品香水的应用，尤其可用于治疗呼吸道疾病和咳嗽，亦有不具临床证据的通俗用法，例如外用于皮肤类疾病和病变，例如伤口、脓和烫伤、以及内服用于治疗尿道和消化道等的炎性疾病 (HagerROM 2010)。

[0012] 除了百里香制品就肠胃道不适有着这些临床学上并不确凿的应用，Anastasios Emmanouilidis的欧洲专利申请EP1080727 (A1) “银斑百里香 (*T. vulgaris*) 提取物用于制备治疗溃疡性结肠炎和克罗恩病的药物的用途 (Use of the extract of *Thymus vulgaris* for the preparation of a medicament for the treatment of Ulcerative Colitis and Crohn's disease)”，要求保护银斑百里香 (*T. vulgaris*) 及其组分 (尤其是其精油) 同标准药物联用治疗这些疾病，该项发明基于临床案例研究。

[0013] Suekrettin Guelduetuna的专利申请DE4213167 (A1)，“针对胃炎、胃及十二指肠溃疡和消化不良的药物 (Medicament against gastritis, stomach and duodenal ulcers, and dyspepsia)”，描述了百里香油的成功应用。关于其作用方式，提及了精油成分百里酚/香芹酚/伞花烃和桉树脑，及其抗幽门螺旋杆菌 (*Helicobacter pylori*) 的活性。

[0014] 在Itzhak Neeman的专利说明书EP0577481 (B1) 中，“一种新的百里香提取物的治疗用途以及体外已知幽门螺旋杆菌生长和尿素酶活性的方式 (New therapeutic application of a Thyme extract and in-vitro methods for inhibiting the growth and urease activity of *Helicobacter pylori*)”，银斑百里香 (*T. vulgaris*)、柠檬百里香 (*Thymus citriodorus*) 和中东百里香 (*Coridothymus capitatus*) 的水性提取物的抗菌活性已被揭示。

[0015] 本发明的目的是提供有效百里香的制剂，并进一步提示其可能的用途。

[0016] 该目的通过这些新颖的提取物和这些提取物的新颖用途得以实现。

[0017] 在系统性研究活动范围内，出乎意料地发现了所选百里香种类的新用途。因此，依据本发明，特别如本发明的方法中所描述，可制得有效的百里香制品，将其用于炎症 (例如，消化道的慢性炎性疾病以及肠易激综合症)。

[0018] 因此，本发明涉及铺地百里香 (*Thymus serpyllum* L.) 提取物治疗炎性疾病，尤其是用于消化道的用途。

[0019] 所述的消化道包括：口腔、咽、喉、以及肠胃道。

[0020] 在本发明的一个实施方式中，所述的炎性疾病是肠易激综合症 (IBS) 或炎性肠病 (IBD)。

[0021] 在另一个实施方式中，所述的炎性疾病选自下组：牙龈炎、牙周炎、咽炎、食管炎、胃炎、淋巴细胞性结肠炎、溃疡性结肠炎、憩室炎、十二指肠炎、和克罗恩病。

[0022] 本发明还涉及一种可制得特别有效的提取物的提取方法，包括以下步骤：

[0023] a. 提供来自铺地百里香 (*Thymus serpyllum* L.) 地上植株部分的植物药；

- [0024] b. 任选干燥所述的植物药；
- [0025] c. 任选碾碎所述的植物药；
- [0026] d. 任选去除茎秆取叶并将茎秆量降至小于2%重量份，
- [0027] e. 任选蒸制所述的植物药，并且以干燥的植物药计，将精油减至小于0.5ml/kg；
- [0028] f. 用提取剂萃取所述植物药；
- [0029] g. 至少部分地除去提取剂以获取浓提取物；
- [0030] h. 任选用液体溶剂进行脱脂；
- [0031] i. 任选进行热灭菌操作；
- [0032] j. 任选添加干燥助剂；
- [0033] k. 干燥以获得提取物。
- [0034] 优选地，进行步骤e、h或i中的至少一步。
- [0035] 出乎意料地发现，本发明制得的提取物可有效地用于对抗炎性疾病，即便精油的组分在制备提取物时基本被除去。优选在提取前对植物药进行蒸制、或借助有机溶剂进行脱脂、或通过热灭菌来实现。
- [0036] 尤其地，合适的提取剂选自：水、醇、酮、酯、醚或超临界气体、或其混合物。
- [0037] 优选地，使用水或水-醇混合物作为提取剂。使用含水提取剂的情况下，醇的含量优选在0-70wt%，更优选0-40wt%，或5-40wt%。尤其是乙醇特别适用作为所述醇，但也可以是甲醇、正丙醇或异丙醇。亦优选将CO₂用作提取剂。
- [0038] 尤其适合在20-100℃下进行提取，优选50-90℃，更优选60-80℃，但依据所选的提取剂而异。
- [0039] 所使用的植物药优选对应于欧洲药典中“铺地百里香 (*Serpylli herba*)”专著部分。
- [0040] 干燥优选经喷雾干燥或真空干燥来实施。
- [0041] 本发明还涉及一种铺地百里香 (*Thymus serpyllum* L.) 地上植株部分的提取物，尤其是，通过上述方法所获得的提取物，或相应的提取物制剂。
- [0042] 本发明还涉及一种含有铺地百里香 (*Thymus serpyllum* L.) 提取物的药制剂、医药产品或食物制品。
- [0043] 优选地，以干燥提取物计，该提取物或提取物制剂所具精油含量至多为0.5wt%，优选至多为0.1wt%，更优选至多0.01wt%。提取物制剂的精油含量参照欧洲药典 (Ph. Eur. 2.8.12) 的方法，通过测定植物药中精油的方法相类似的方法通过进行测定。
- [0044] 按照现有已知的百里香制剂的高耐受性，本发明旨在提供一种新颖的广泛适用于各种炎性疾病的提取物。局部的抗炎效果可在整个消化道内，因情况而异地，有助于治疗或预防炎性疾病。牙龈炎、牙周炎、咽炎、食道炎和胃炎描述了上消化道的诸类炎性疾病。淋巴细胞性结肠炎、溃疡性结肠炎、憩室炎、十二指肠炎和克罗恩病是除IBD和IBS外已知最为代表性的肠部炎性疾病。肠部疾病是指属于肠道的疾病。
- [0045] 由于精油组分的高挥发性，也使用其他物质用于分析检查百里香制剂。应提及，这些物质中有丹宁迷迭香酸，其在唇形属中广泛存在，是最具代表性的。为尽可能简便分析比较提取物质量，上述制剂优选应有至少0.5wt%的迷迭香酸。当然，含量越高越易于检测，这就是以干燥天然提取物计，为什么1.5wt%的迷迭香酸最低极限浓度看来是可以实现的。

[0046] 因此,提取物优选含有至少0.5wt%迷迭香酸,优选至少1wt%迷迭香酸,并且更优选1.5wt%迷迭香酸。

[0047] 在本发明的一个优选实施方式中,以干燥天然提取物计,百里酚加香芹醛的含量是<0.01wt%。所有数值涉及干燥天然提取物,即不添加助剂的提取物。

[0048] 在一个实施方式中,提供本发明的提取物并与益生菌 (prebiotic) 一同使用。

[0049] 用于消化道和肠易激综合症等慢性优选疾病中的其他活性组分,经常提及益生的物质 (prebiotic substances)。

[0050] 益生的物质是人可消化的食物组分,所述的组分通过促进细菌在消化系统的生长和活性来增进健康。

[0051] 这些物质是功能性食物,并由Marcel Roberfroid于1995所描述。典型地,益生菌是水溶性膳食纤维等级的碳水化合物(例如寡糖),主要归为低聚果糖(fructo-oligosaccharides,例如寡果糖(oligofructose)和菊糖)。

[0052] 益生菌是根据其链长来区分的,自具有2-8糖构建单位的短链至具有9-64个糖单元的长链(例如菊糖)。根据分子量,它们作为底物经不同细菌菌种在肠道的不同部分进行发酵,发酵速度或快或慢。

[0053] 普遍认为,益生菌通过增加双歧杆菌和乳酸杆菌的数量和活性,改善动物和人类等宿主生物体的肠道健康。宿主肠道的双歧杆菌和乳酸杆菌(lactobacilli)的积极效果主要包括:改善消化(包括营养素和矿物质吸收的改善),以及免疫系统的内在性加强和效用。双歧杆菌促进性产品被称为双歧因子。

[0054] 提供益生菌的典型食物源包括贮存碳水化合物的植物,例如大豆和许多谷物,以及例如,菊芋和菊苣根部是富含菊粉的食物来源。

[0055] 至于理想的益生菌日摄入量,有着不同的推荐量。典型地为在4-8g范围以便维持一般的消化系统健康。最高15g或更高推荐用于严重的消化障碍。

[0056] 由于其健康方面的优点,益生寡糖日益被人们添入食物中。这些包括有,尤其是低聚果糖(FOS)、低聚木糖(XOS)、聚葡萄糖和半乳糖(GOS)。甘露寡糖通常出于这样的益生目的被用于宠物食品。

[0057] 在Tzortzis等人的专利说明书W02010/023422 (A1) 中,“益生性半乳糖寡聚糖用于治疗肠道炎症的用途(Use of prebiotic Galacto-Oligo-saccharides in the treatment of intestinal inflammation)”,提供了涉及益生菌的DSS小鼠模型的体内数据。以及在Wils等的W02006/111624 (A1) 中,“肠道抗炎症和/或镇痛组合物,含有支链麦芽糊精(Anti-inflammatory and/or analgesic composition for the intestine comprising branched maltodextrine)”,成功检测出低聚果糖在小鼠模型中的抗炎效果。如今它们可以ACTILIGHT、FIBERSOL、NUTRIOSE或RAFTILOSE为名在市场上购得。

[0058] 这些益生菌中,许多是天然植物碳水化合物,一些经技术性修饰使其特性更适于膳食目的。因而比如谷类淀粉通过食品技术的加工(如加热、酸或酶处理)转化为或多或少耐消化的同源葡聚糖(homoglucans)或糊精,并且这些物质可以很好地作为益生性膳食纤维。近年来,也出现了用于生产菊粉的基因工程方法。

[0059] 临床和临床前研究表明了对矿物吸收,特别是钙,高血压(上升的血压值)、慢性炎症性肠病(克罗恩病和溃疡性结肠炎)、结肠癌风险的降低、消化的常规增进、以及肠道pH的肠

道调节的积极效应、以及免疫系统及其刺激作用的强劲疗效。

[0060] 这些对健康的多重效应可以解释为通过有益肠道细菌刺激,益生性低聚糖增加短链脂肪酸(SCFA)的产量。

[0061] 由于大量的益生菌随食物的摄取可暂时性地导致产气增加、胀气或肠道蠕动,摄入含益生菌食物应相应地缓慢增加,从而逐步建立健康的细菌群落。

[0062] 所用的益生菌优选来自膳食纤维类,尤其是碳水化合物,更优选水溶性碳水化合物。优选地,这些可用作干燥性助剂,继而提供干燥功能和疗效。尤其优选使用ACTILIGHT®、FIBERSOL®、NUTRIOSE®或RAFTILOSE®。

[0063] 在医学上,慢性炎症性肠病(IBD)被定义为一类大肠和小肠的炎性疾病。IBD的最重要的主要形式为克罗恩病和溃疡性结肠炎(UC)。

[0064] 更罕见的形式为胶原性结肠炎、淋巴细胞性结肠炎、缺血性结肠炎、改道性结肠炎、白塞氏病、和不可分类的结肠炎,这些也将纳入慢性炎症性肠病。

[0065] 克罗恩病和溃疡性结肠炎主要通过所述炎性病变的位置和性质来区分。克罗恩病可影响从口腔至肛门的任意胃肠道部分,但主要始于回肠末端。与此相反,溃疡性结肠炎仅限于大肠和直肠。

[0066] 在组织学术语中,溃疡性结肠炎仅限于粘膜(肠上皮),而克罗恩病则因跨壁损伤而影响整个肠壁。

[0067] 克罗恩病和溃疡性结肠炎通常与非肠道症状相关,如肝病、关节炎、皮肤问题及眼疾等。此外,初始时克罗恩病或溃疡性结肠炎的明确诊断很难作出,因而其被称作是不可归类的结肠炎。

[0068] 此外,这些疾病有如下所列相当迥异的症状:腹痛、呕吐、腹泻、直肠出血、严重内部痉挛和在骨盆区域的肌肉痉挛、体重损失和各种相关的不适症或上文所述的疾病,例如关节炎、坏疽性脓皮病、以及原发性硬化性胆管炎。最终的诊断通常通过结肠镜检由病理改变的肠道部位的活检作出。

[0069] 慢性炎症性肠病的最佳疗法通常有赖于现有的IBD的疾病类型。然而,例如,溃疡性结肠炎以及克罗恩病均施用美沙拉嗪(5-ASA)或其对应的前药柳氮。依所述IBD症状的严重程度,基本上使用免疫抑制剂(例如强的松、TNF抑制剂)、以及细胞抑制剂硫唑嘌呤、甲氨蝶呤或6-巯基嘌呤。在严重的病例中,可能需要手术治疗,例如局部肠切除、肠道狭窄整形术(strictureplasty)、或暂时性或永久性结肠造口术或回肠造口术。

[0070] 作为一种原则,开始治疗时施用具有强抗炎作用的药物(如强的松)。一旦消炎作用成功实现,对病人施以更温和的药物(如美沙拉嗪),从而实现疾病的消退。如果这无法成功实现,可给予上文所述的也显示出抗炎活性的免疫抑制剂与美沙拉嗪的组合。

[0071] 虽然由于疼痛、呕吐、腹泻和其他不宜社交的症状,IBD极大地限制了患者的生活质量,但该症本身很少带来致命的结果。并发症导致的死亡(如中毒性巨结肠、肠穿孔和手术并发症死亡)也属罕见。尽管IBD患者罹患结肠癌的风险增高,由于可对大肠进行日常筛检监测,此类癌症可经结肠镜检发现并能在普通人群中较早进行医治。

[0072] 在消退后进行治疗旨在施用更温和的具有更少潜在副作用的药物。在这些消退期之间(其可持续数月或数年),爆发(亦即原病症的急性复发)可随时发生并大多会持续数个星期。

[0073] 一度有新的治疗策略报道,这些策略在多种形式的慢性炎症性肠病中似乎有希望。

[0074] 早先报道提示施以肠道寄生虫(如猪鞭虫(*Trichuris suis*)或钩虫,美洲钩虫(*Necator americanus*))的“肠虫治疗”对IBD的症状有着正面效果。并且,经推测,除了免疫系统进行的刺激,该治愈效果也可能是由持久的“免疫”效应带来的。

[0075] 人们尤其希望使用益生菌,特别是益生菌的施用对IBD带来有效的治疗,并且在一些研究中,它们已被证实作为处方药同样地有效。

[0076] 大麻制剂也对IBD症状有着同样的正面效果。大麻植株含有超过50种所谓的植物特异性的大麻素,其中似乎以 Δ 9-四氢大麻酚(THC)和大麻二酚(CBD)最为出名且最有活性。大麻素具有强消炎作用,特别是经由CB2受体。这也能在啮齿动物的临床前期研究中检测到。此外,已观察到细胞介导免疫力在长期大麻使用者中受损。对内源性大麻素系统在免疫调节中的功能所进行的研究表明,它参与了几乎所有的免疫活动。大麻素将促炎性细胞因子和抗炎性细胞因子的平衡调向2型辅助性T细胞(Th2表型),并抑制细胞介导的免疫反应,同时体液免疫力得到增强。

[0077] 肠易激综合征(IBS)是整个消化道的病症,引起腹痛和腹胀以及便秘或腹泻,多种不同的物质和情感因素都能够触发IBS的症状。通常医生会在排除其他肠道问题后基于症状对IBS进行诊断,例如通过血液和粪便测试,并用乙状结肠镜对IBD(克罗恩病、溃疡性结肠炎)、癌症或其他慢性的肠道炎症等进行区分性诊断。

[0078] 症状包括与肠运动(排便)相关的腹痛,一般该类腹痛在排便后得到改善。大便频率(如便秘或腹泻)或稠度的改变、腹部胀大、粪便中带黏液、以及排便后的不完全排空感是一些进一步的问题。

[0079] 健康、规律的饮食对于应对肠易激综合征尤为重要,并且,附加的药物可用以减缓具体的症状。

[0080] IBS影响着工业化国家中总人口的约10%-20%(如在墨西哥高达50%),而患有肠易激综合征女性更需要医嘱。据信,仅在德国就有700万患者。因而,IBS是胃肠病专家最常诊断的疾病。IBS与胃应激(功能性消化不良)一起,同属功能性胃肠紊乱。

[0081] 肠易激综合征的原因尚不清楚。在许多患有IBS的人中,其消化道对多种刺激尤为敏感。此处推定,在腹腔神经丛和其与中枢神经系统的通信被干扰。此外,情绪因素(如紧张、抑郁和焦虑等),以及饮食、药物、荷尔蒙的波动或甚至轻微的刺激,对此有着重要的影响并引发或加重IBS的症状。

[0082] 由于多数患IBS的人身体表现较为健康,过去常会考虑造成IBS的心理原因。但近来,慕尼黑工业大学(TUM)研究发现存在“微小炎症”,并且认为肠神经相关的神经元通信紊乱是其原因。这些炎性病灶将IBS与IBD紧密相连,这也可能提供了类似于IBD的肠应激的抗炎治疗手段(1.Bercik P,Verdu EF,Collins SM.肠易激综合征的低级炎症性肠病?(Is irritable bowel syndrome a low-grade inflammatory bowel disease?)*Gastroenterol Clin North Am.*(2005)第34卷,Issue:2:235-45//2.Mearin F,Perelló A,Balboa A;肠易激综合征和炎症性肠病有联系吗?(Irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease:Is there a connection?)*Gastroenterologia y hepatologia*(2009)第32卷,Issue:5,第364-372页//3.Quigley EMM,Shanahan F;肠易激综合征和炎症性肠病有交叉吗?(Irritable Bowel Syndrome and Inflammatory Bowel Disease:Is There an

Overlap?) Practical Gastroenterology, 2010年11月, 31-37)。

[0083] 这样的治疗是个人特异性的,且起初时包括对病因(如果某些食物或压力类型引发了病症)避免或消除。如果还出现便秘,规律的健身通常有助于恢复正常的消化。基本上,可通过相应地改变饮食或是维持一种饮食方案来较好地积极影响IBS。

[0084] 如果持续便秘,则提供更多粗粮和纤维食物或其它消化促进剂,常常是有助益的,例如糠、印度车前子(Metamucil)、甲基纤维素、山梨糖醇、乳果糖(lactulose)、乳果糖(constulose)、聚乙二醇、甘油和比沙可啶(Dulcolax)或鲁比前列酮(Amitiza)等。此外,洋车前子(PSYLLIUM)经推测也具有对IBD和IBS的直接疗效(Baljit Singh:综述-洋车前子作为治疗和药物递送剂(Review-Psyllium as therapeutic and drug delivery agent); International Journal of Pharmaceutics 334(2007)1-14)。

[0085] 用于舒缓肠肌的松弛剂,例如双环胺(Bentyl)或丁基东莨菪碱(Buscopan),可以缓解腹痛和腹部痉挛。相反,如果腹泻持续,可以利用止泻药(例如阿片类似物洛哌丁胺(IMODIUM)或从乌扎拉藤(Xysmalobium undulatum)提取的植物性UZARA)可进行用药。对于腹泻相关的恶心,可以用5-HT₃受体的选择性抑制剂alosectron(美国商品名为Lotronex)。近来,发现姜具有相当的抗5羟色胺作用。

[0086] 抗抑郁药以及行为矫正技术(如认知行为学疗法)、心理治疗以及催眠,也用于治疗IBS的症状,其往往呈现出较好的疗效。即使是对抗抑郁药的长期使用也是相对安全的,而抗抑郁药不仅可以减轻疼痛及其他症状,还能缓解失眠、抑郁或焦虑。

[0087] 除了用化学药物的这些疗法,植物治疗性制剂日益被采用,特别是芳族油(例如胡椒薄荷油),其对IBS的症状如腹胀和腹部绞痛等非常有效。

[0088] 此外,益生菌和益生素现已成为IBS以及IBD的治疗手段的重要部分(Damaskos和Kolios:炎性肠病中的益生菌和益生素:范围上的微生物群落(Probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease: microflora 'on the scope') 2008 Br J Clin Pharmacol/65:4/453-467)。此外,许多植物提取物含有所谓的“可溶性纤维”,例如取自梨果仙人掌(Opuntia ficus indica L.)的富含纤维的仙人掌提取物,也属于益生素。这些水溶性碳水化合物可舒缓胃肠道,例如通过乳化脂质从而延迟其释放,还因这些碳水化合物本身仅能被肠道菌群中一些有用的细菌菌种进行代谢,因此促进各菌种比例丰度的改变。

[0089] 本发明通过以下非限制性的实施例进行进一步阐释。

实施例

[0090] 方法

[0091] 迷迭香酸的测定

[0092] 定量测定迷迭香酸借助RP18相的梯度HPLC来实现(优选LiChrospher100, RP18, 5 μ m, 250 \times 4mm),在320nm下进行检测。二元洗脱液由A(15%体积份乙腈+0.425%磷酸+84.575%水)和B(80%体积份乙腈+0.425%磷酸+19.575%水)组成,并在40分钟内以1ml/min、100%A至30%A+70%B的斜率(ramp profile)走柱。注射体积是10微升。

[0093] 作为参照,精确称量25mg迷迭香酸并溶解于100ml甲醇;取10ml溶液稀释至100ml。

[0094] 对于测试溶液,取400mg百里香提取物,超声浴下溶于盛有25ml水和25ml甲醇的

100ml容量瓶。在室温下热平衡后,对容量瓶用50%甲醇添至标记线,并混合均匀。取10ml溶液,用50%甲醇稀释至100ml。

[0095] 百里酚和香芹酚的测定

[0096] 精油物质百里酚和香芹酚的定量测定通过气相色谱方式进行。因此,使用熔融石英毛细管柱(如购自Zberon ZB-FFAP,货号7JM-G009-17),其长50m,内径0.32mm。使用流速2.5ml/min的氢5.0作为气体载体。检测适用FID检测仪(250℃)。GC工作环境为:140℃(1min等温),以5℃/min从140℃加热至190℃,而后是190℃(5min等温),之后以20℃/min自190℃加热至220℃,而后220℃(9min等温)。

[0097] 作为对照物质,取纯百里酚(Merck 108167)和香芹酚(Fluka 22051)各50.0mg,连同内部标准物质(50.0mg 4-异丙基酚)加至50ml容量瓶,添加正己烷至标记线。

[0098] 250ml容量瓶中,将250.0mg作为内部标准物质的4-异丙基酚溶于正己烷并用正己烷添满。

[0099] 称量约1g百里香提取物并将其溶解于40ml的30%v/v甲醇中。移至250ml分液漏斗中,加入5ml的内部标准溶液。整个溶液用40ml乙醚分液3次。合并的乙醚相经硫酸钠干燥,过滤干净,在40℃部分真空下用旋转蒸发仪蒸发浓缩。所述的残留物溶解于5.0ml的96%乙醇中。对于该溶液,注射1 μ l(注射器温度:230℃)。

[0100] 铺地百里香提取物的GC色谱中,香芹酚呈主峰(约12.7min,RT),同时百里酚具有小约三分之一的峰面积(约12.1min,RT)。内部标准4-异丙基酚接近该峰组,约12.9min,RT。

[0101] 实施例1:百里香水性提取物(现有技术)

[0102] 14.3kg去除茎杆并干燥的Herba Thymi Ph.Eur.银斑百里香(Thymus vulgaris)植物药以过热蒸汽在134℃下、Holstein-Kappert过滤器中蒸制1.5小时,直至废气中已察觉不到精油组分的气味(<0.5ml/kg药)。随后在渗滤器中,用286升渗透水(osmosis water)于60℃下进行提取操作。洗脱液于药上漏下,并通过250 μ m孔径的筛袋自药滤渣释放。洗脱液通过板式蒸发器浓缩至粘稠提取物,具约53%比例的干物质。制得的黏性提取物中,相当于70%干提取物的当量与30%麦芽糊精Ph.Eur.混合,在121℃下高压灭菌15分钟,50℃下于真空干燥柜中干燥。制得的提取物具有以下特征:DEV_{天然}4:1(DEV=药/提取物比率),精油含量<0.1%,其中百里酚/香芹酚<0.01%,且迷迭香酸为2.5%。

[0103] 实施例2:铺地百里香水性提取物

[0104] 17.8kg去除茎杆并干燥的Herba Serpylli Ph.Eur.铺地百里香(Thymus serpyllum)植物药以过热蒸汽于134℃下、Holstein-Kappert渗滤器中蒸制1.5小时,直至废气中已察觉不到精油组分的气味。随后在渗滤器中,用356升渗透水于60℃下进行提取操作。洗脱液于药上漏下,并通过250 μ m孔径的筛袋自药滤渣释放。洗脱液通过板式蒸发器浓缩至粘稠提取物,具约50%比例的干物质。

[0105] 实施例3:铺地百里香水性提取物1

[0106] 实施例2制得的黏性提取物以天然状态在50℃下于真空干燥柜中干燥。制得的提取物具有以下特征:DEV_{天然}6:1,精油含量<0.1%,其中百里酚/香芹酚<0.01%,且迷迭香酸为2.6%。

[0107] 实施例4:铺地百里香水性提取物2

[0108] 实施例2制得的黏性提取物,70%干提取物当量与30% Nutriose FB 06混合,在

121℃下高压灭菌15分钟,50℃下于真空干燥柜中干燥。制得的提取物具有以下特征:DEV_{天然} 6:1,精油含量<0.1%,其中百里酚/香芹酚<0.01%,且迷迭香酸为1.8%。

[0109] 实施例5:铺地百里香20%乙醇提取物

[0110] 500g去茎杆并干燥的铺地百里香Herba Serpylli Ph.Eur. (Thymus serpyllum) 植物药于50℃在过滤器中用20% (v/v) 乙醇提取两次,每次5升。洗脱液于药上漏下,并通过星褶过滤器 (32-WE) 自药滤渣释放。在旋转蒸发器中,<50毫巴的低真空条件下,洗脱液浓缩至粘稠提取物,其具约50%比例的干物质。由此制得的粘稠提取物同30% Nutriose FB 06混合,在121℃下高压灭菌15分钟,并在真空干燥柜中50℃下进行干燥。制得的提取物有以下特征:DEV_{天然}为6:1;精油含量为<0.1%。

[0111] 实施例6:铺地百里香40%乙醇提取物

[0112] 500g去除茎杆并干燥的铺地百里香Herba Serpylli Ph.Eur. (Thymus serpyllum) 植物药于50℃在渗滤器中用40% (v/v) 乙醇过滤两次,每次5升。洗脱液于药上漏下,并通过星褶过滤器 (32-WE) 自药滤渣释放。在旋转蒸发器中,<50毫巴的低真空条件下,洗脱液浓缩至粘稠提取物,其具约50%比例的干物质。由此制得的粘稠提取物同30% Nutriose FB 06混合,在121℃下高压灭菌15分钟,并在真空干燥柜中50℃下进行干燥。制得的提取物有以下特征:DEV_{天然}为6:1;精油含量为<0.1%。

[0113] 实施例7:铺地百里香70%乙醇提取物

[0114] 500g去除茎杆并干燥的铺地百里香Herba Serpylli Ph.Eur. (Thymus serpyllum) 植物药50℃在渗滤器中用70% (v/v) 乙醇过滤两次,每次5升。洗脱液于药上漏下,并通过星褶过滤器 (32-WE) 自药滤渣释放。在旋转蒸发器中,<50毫巴的低真空条件下,洗脱液浓缩至粘稠提取物,其具约50%比例的干物质。由此制得的粘稠提取物同30% Nutriose FB 06混合,在121℃下高压灭菌15分钟,并在真空干燥柜中50℃下进行干燥。制得的提取物有以下特征:DEV_{天然}为6:1;精油含量为<0.1%。

[0115] 实施例8:铺地百里香CO₂提取物

[0116] 500g去除茎杆的铺地百里香Herba Serpylli Ph.Eur. (Thymus serpyllum) 植物药以过热蒸汽蒸制并基本上分离出精油。植物药经干燥,并粉碎成粉末形式,转移到加压的气体系统中,在200巴、60℃下用95%的超临界二氧化碳和5%乙醇(作为改性剂)提取60min。释放到产品排放容器后,最终提取物的平均DEV_{天然}为18:1,类黄酮含量约2.3%。以天然提取物计,精油含量仅为0.45%。由此制得的提取物用30% Fibersol进行处理,得到均匀的提取物,并用Starmix研磨。

[0117] 实施例9:体外试验模型

[0118] 脂多糖 (LPS) 诱导外周人单核细胞中的肿瘤坏死因子 (TNF α) 释放。

[0119] 人原代单核细胞以标准化的步骤回收自健康人献血者的暗黄覆盖层。这些细胞种于24孔板,用于ELISA试验。

[0120] 37℃及5%CO₂下,单核细胞用10ng/ml LPS在24孔细胞培养板上刺激24小时。提取物在LPS加入前30min加入,以此测试它们是否可以避免LPS诱导的效果。24小时后,回收细胞上清液,离心并依据生产商(德国Biotrend;德国Immunotools)的使用说明在ELISA中检测TNF α 浓度。

[0121] 表1:

[0122]		TNF α 释放于50 μ g/ml
	银斑 (Thymus vulgaris水性) (实施例1)	85%
	铺地百里香 (Thymus serpylli水性) (实施例4)	58%
	铺地百里香 (Thymus serpylli) 20%EtOH(实施例5)	90%
	铺地百里香 (Thymus serpylli) 40%EtOH(实施例6)	62%
	铺地百里香 (Thymus serpylli) 70%EtOH(实施例7)	53%

[0123] 经研究发现,来自铺地百里香的水性提取物明显优于来自银斑百里香的水性提取物,并且,除了纯粹的水提取物,40%至70%的更高乙醇提取物也显示出同等良好的抑制作用。

[0124] 肿瘤坏死因子- α 同要求保护的疾病相关为文献所支持(Reinecker等:溃疡性结肠炎和克罗恩病患者的分离的固有层单个核细胞的肿瘤坏死因子- α 、IL-6和IL-1fi的分泌增加(Enhanced secretion of tumour necrosis factor-alpha,IL-6,and IL-1fi by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease);Clin Exp Immunol1993;94:174-181)。

[0125] 实施例10:体内DSS测试模型

[0126] 本研究按照欧盟实验和其他科学目的的动物保护指导(86/609/EEC)进行。

[0127] 使用DSS(=右旋硫酸钠)在小鼠中诱导结肠炎的测试系统被广泛使用和并为科研所接受。

[0128] 在本系列试验中,使用平均体重为20g的7-9周龄雌性小鼠(品系C57/BL6J);将其安置于配有空调的动物宿舍中,照以12小时光照-黑暗交替周期,置于Makrolon笼中,整个实验中饲以标准啮齿类饲料以及随需量的水。

[0129] 将小鼠随机分配到七组(n=8)。除了健康对照组,所有动物自第(-4)日至第(0)日从饮用水获得浓度为3%的DSS,以诱导结肠炎。随后,将饮用水恢复正常,且可以开启本系列测试的治疗性手段。两个测试组(健康的和患病对照)仅经口给予介质,试验组获得以下的任一种:100mg/kg BW或250mg/kg BW的实施例1的百里香提取制品、或是100mg/kg BW或250mg/kg BW的实施例4的铺地百里香提取制品、或是50mg/kg BW的化学品对照品柳氮磺胺吡啶(SAZ)。这些物质作为溶液/悬液经胃管分别施加,为期7天。在d(7)天,将动物用过氧氟烷处死,移除小肠以评价肠损伤。与炎性胃肠疾病密切相关的替代参数是IL-17(1.Takanori Kanai等:稳态(IL-7)和效应物(IL-7)细胞因子作为炎性肠病的最佳治疗策略的不同但互补靶标(Homeostatic(IL-7)and effector(IL-17)cytokines as distinct but complementary target for an optimal therapeutic strategy in inflammatory bowel disease),Current Opinion in Gastroenterology 2009,25:306-313//2.Atsuhiro Ogawa等:中和白介素-17加重小鼠中葡聚糖硫酸钠诱导的结肠炎(Neutralization of interleukin-17aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice),Clinical Immunology 110(2004),55-62),这经RT-PCR证实,并基于 β -肌动蛋白表达作为内标。

[0130] 胞间粘附分子ICAM-1也通过RT-PCR测定(1.R.C.Burns等;抗体阻断ICAM-1和VCAM-1缓解克罗恩病的SAMP-1/Yit过继转移模型小鼠中的炎症(Antibody blockade of ICAM-1and VCAM-1ameliorates inflammation in the SAMP-1/Yit adoptive transfer

model of Crohn's disease in mice);Gastroenterology Volume 121,Issue 6,第1428-1436页,2001年12月//2.E.Rijcken等;ICAM-1和VCAM-1反义寡核苷酸减弱大鼠炎性肠病中的体内白细胞粘附和炎症(ICAM-1and VCAM-1antisense oligonucleotides attenuate in vivo leukocyte adherence and inflammation in rat inflammatory bowel disease);Gut 2002;51:529-535)。

[0131] 表2:

	健康对照组	结肠炎对照组	铺地百里香 100 mg/kg BW	铺地百里香 250 mg/kg BW	银斑百里香 100 mg/kg BW	银斑百里香 250 mg/kg BW	柳氮磺胺吡啶 50 mg/kg BW
[0132] IL-17	0.34 ± 0.04	0.69 ± 0.04	0.56* ± 0.04	0.50* ± 0.03	0.61 ± 0.02	0.75 ± 0.03	0.59* ± 0.04
ICAM-1	0.27 ± 0.05	0.54 ± 0.04	0.41* ± 0.05	0.41* ± 0.03	0.57 ± 0.04	0.60 ± 0.05	0.37* ± 0.04

[0133] *p<0.05对比对照组

[0134] 但应看到,IBD相关细胞因子IL-17和整联蛋白ICAM-1的分泌均被本发明的铺地百里香提取物显著降低,同时,银斑百里香提取物经证实没有这种效果。

[0135] 实施例11:体内TNBS测试模型

[0136] 本研究按照欧盟实验和其他科学目的的动物保护指导(86/609/EEC)进行。

[0137] 将雌性Wistar大鼠(200-210g)置于Makrolon笼中并安置于配有空调的动物宿舍,照以12小时光照-黑暗交替周期,在整个实验期间饲以标准啮齿类饲料以及随需量的水。大鼠随机地分配至6组(n=10)。两组(健康和患病对照)经口给予1ml的给药介质,并且实验组获得以下任意一种:100mg/kg BW实施例4的铺地百里香提取制剂、或是70mg/kg BW实施例3的铺地百里香提取制剂、或是30mg/kg BW的益生菌Nutriose、或是100mg/kg BW柳氮磺胺吡啶(SAZ)用于对照组。所有这些测试物质一日一次地作为溶液或悬浮液通过胃管给药,给药期7日。对于测试物质的给予始于结肠炎诱导的同日。为此,将这些大鼠禁食过夜,然后对患病对照组以及治疗组用TNBS如下进行结肠炎的诱导:在氟烷麻醉时,将一种溶液(10mgTNBS溶于0.25ml的乙醇50%v/v)自特氟隆套管经肛门入8厘米深注射入肠道。对健康对照组的大鼠施用0.25ml的PBS溶液,而非TNBS溶液。测试期间,每日记录体重、水和食物摄入以及粪便稠度。结肠炎诱导开始后7天,用过量氟烷处死所有大鼠,移除小肠以评价肠损伤。对小肠部分清理去除脂肪和肠系膜,并转移至滤纸上。每个样品称重,其长度在恒定的负载(2g)下进行测定,由此测定重量-长度比率。不依赖于所使用的治疗方法,由2各观察者通过事先定义的评价标准按照0-10对肠道的可见损伤进行肉眼评分,该评价标准考虑了损害的延展度以及严重程度。接近远端病变部位的相邻组织切片立即用4%的甲醛固定,用石蜡包埋用于组织学研究。随后,该制备样本分为不同段进行生化测定。一块被冻结在-80℃下用于测定髓过氧化物酶(MPO),另一块浸没于5%三氯乙酸用于检测谷胱甘肽(GSH),且另一块立即处理用于测量IL-6的细胞因子水平以及iNOS表达量。最后,剩余片段用于提取RNA,随后通过qPCR方式分析不同分子标记物的表达量。

[0138] 表3:

	肉眼评分	肉眼评分	MPO [mU/g]	GSH [nmol/g]	IL-6 [ng/g]
健康对照	0 ± =	0 ± =	155.1 ± 74.8	1872.8 ± 149.3	180.5 ± 13.1
结肠炎对照	7.8 ± 0.2	28.1 ± 2.5	8969.6 ± 1402.0	877.4 ± 107.6	281.8 ± 26.8
实施例 3 的铺地百里香提取物 (70mg/kg)	7.3 ± 0.3	12, 1* ± 2.2	4629.3* ± 705.5	1066.1 ± 152.2	253.2 ± 10.7
Nutriose (30 mg/kg)	7.6 ± 0.4	23.6 ± 3.6	8468.4 ± 1461.5	977.6 ± 116.4	246.5 ± 19.9
实施例 4 的铺地百里香提取物 (100mg/kg) 提取物 +Nutriose	6.6* ± 0.4	9.6* ± 3.9	4099.7* ± 995.9	1490.8* ± 176.2	207.5* ± 18.1
柳氮磺胺吡啶 (100mg/kg)	6.9* ± 0.4	13.5* ± 3.2	5591.5 ± 537.0	1297.4* ± 184.3	222.0 ± 16.1

[0140] *= $p < 0.05$ 对比结肠炎对照

[0141] 从此表可以看出,Nutriose并不能对任何参数施加显著影响。与此相反,就肉眼评价的参数以及GSH含量和IL-6的分泌量而言,通过加入Nutriose不仅天然提取物的潜能增强(显微镜评价,MPO活性),仅仅通过同Nutriose组合,天然提取物本身的效应也变得显著有效。甚至化学参考制剂柳氮磺胺吡啶并不对所有参数显示出显著的改善。

[0142] 髓过氧化物酶同慢性炎症疾病特异性相关(Tomohisa Saiki:粪便中髓过氧化物酶浓度作为IBD的新参数(Myeloperoxidase concentration in the stool as a new parameter of IBD);Kurume medical journal,45,69-73,1998)。谷胱甘肽也在IBD相关文献中有所评价(Sido等:炎性肠病患者中肠谷胱甘肽合成的受损(Impairment of intestinal glutathione synthesis in patients with inflammatory bowel disease);Gut 1998 42:485-492)。

[0143] 并且,已有文献揭示白细胞介素6同克罗恩病和溃疡性结肠炎相关(Reinecker等:溃疡性结肠炎和克罗恩病患者的分离的固有层单个核细胞的肿瘤坏死因子- α 、IL-6和IL-1fi的分泌增加(Enhanced secretion of tumour necrosis factor- α ,IL-6,and IL-1fi by isolated lamina propria mononuclear cells from patients with ulcerative colitis and Crohn's disease);Clin Exp Immunol 1993;94:174-181)。

[0144] 实施例12-在动物模型中测量对肠易激综合症(IBS)的影响

[0145] 本研究按照欧盟实验和其他科学目的的动物保护指导(86/609/EEC)进行。雄性SD大鼠(240-320g;Supplier Janvier,St Berthevin Cedex)置于Makrolon笼(3-4只/笼)置于配有空调的环境中,给以12小时的明暗交替周期,整个实验期间饲以标准啮齿类饲料和任意量的水。将大鼠随机分配入四组($n=10$)。所有试验物质以溶液或悬浮液形式通过肠管每天给药一次。

[0146] 两组(健康和患病对照)经口给予1ml的给药介质,并且测试组得到以下的任何一种:100mg/kg BW实施例4的铺地百里香提取制剂、或是70mg/kg BW的加巴喷丁作为阳性对照。加巴喷丁在文献中已被揭示可就此目的用于小鼠(Stepanovic-Petrovic RM等,小鼠内

脏疼痛模型中抗惊厥药的止痛作用(The antinociceptive effects of anticonvulsants in a mouse visceral pain model.) *Anesth Analg.*2008;106:1897-903) 以及大鼠 (O' Mahony SM, Coelho AM, Fitzgerald P, Lee K, Winchester W, Dinan TG, Cryan JF. 加巴喷丁在共焦虑和内脏超敏的两动物模型中的作用(The effects of gabapentin in two animal models of co-morbid anxiety and visceral hypersensitivity.) *Eur J Pharmacol.*2011;667:169-74)。

[0147] 将大鼠用异氟烷麻醉,并且插管经肛门约6厘米深导入大肠。随后对其施用溶解在 Krebs 溶液 (pH7.4) 的 1ml 4mM 脱氧胆酸 (DCA),同时,将插管慢慢取出。所述动物将呈“头向下”姿势,以便防止 DCA 流出。对大鼠给药以每天一次的 DCA,连续3天。在第一次注射计为第1日。对照组小鼠得到 1ml 的 0.9% 盐水以替代 DCA。

[0148] 结肠扩张 (CRD) 的测定通过 La 等人的方法实现 (La JH, Sung TS, Kim HJ, Kim TW, Kang TM, Yang IS. 外周促肾上腺皮质激素释放激素介导大鼠中的后炎性内脏超敏 (Peripheral corticotropin releasing hormone mediates post-inflammatory visceral hypersensitivity in rats.) *World J Gastroenterol.*2008;14:731-6)。测试物质的给予在最后一次施用 DCA 的 24h 后起始,并经 1 周完成操作。随后对不同组检查对于结肠扩张的内脏超敏性。为此,将这些大鼠禁食过夜 (但不限进水量),从而利于植入气囊。实验当天,将大鼠用异氟烷短暂麻醉并用 5-6 厘米的附有柔性管的气囊通过肛门引入直肠和降结肠,前端距离外部括约肌近端约 1cm。然后将导管粘至尾巴的基部,从而防止错位。此步后,将大鼠置于一透明展台 (20cm × 8cm × 8cm) 上,使得其得到休息。当实验动物完全苏醒并适应环境后,通过对气囊充气来产生 CRD。每组实验包括 5 个确定的脉冲 (60mm 汞柱),持续 20s,各刺激间间隔为 3min。一般进行 4 组实验,以获得稳定的反应 (最后 2 组实验间变异值小于 20%)。

[0149] 在该实验中,腹壁撤回反射 (CRD) 的评价如下:

[0150] 0 = 对腹胀无行为性反应,

[0151] 1 = 因行动不便的简单头部运动,

[0152] 2 = 腹部肌肉收缩,无腹部抬起,

[0153] 3 = 抬起腹部,

[0154] 4 = 身体拱起、骨盆构造抬起。

[0155] 由这个评分,治疗一周后可以获得下述结果:

动物组 (n=10)	健康组 (无 IBS) (A)	患病组 (IBS 对照) (B)	实施例 4 的提取物 (铺地百里香) (C)	阳性对照 (加巴喷丁) (D)
[0156] 均值 (标准差)	0.25 (± 0.125)	2.875 (± 0.25)	0.375 (± 0.06)	0.06 (± 0.03)

[0157] 评估表明,用 DCA 处理的大鼠 (B = 患病对照组) 显示出与未经处理的动物 (A = 健康对照组) 的显著的统计学差异。因此,该模型原则上是合适的。阳性对照加巴喷丁 (D) 证实了文献中的相关内容,与 IBS 对照组 (B) 相比,具有显著的作用 ($P < 0.05$)。测试物质 (C), 实施例 4 的本发明提取物,也证实了其适合用于治疗 IBS。铺地百里香提取物显著低于 IBS 对照组 (B) ($P < 0.05$), 并与健康对照组 (A) 的实验动物呈同一水平。

[0158] 实施例 13: 速溶提取制品

[0159] 为在维持治疗范围内,将时间尽可能延至下一个复发期,需要一种导致高顺应性的剂型。这可通过,如快速冲调的速溶饮料制品,得以很好地保证。因此,50%干提取物当量的实施例3的粘性提取物与43%Nutriose FB06、5%的蔗糖和2%的香料混合,并在超临界二氧化碳中进行喷雾干燥,得到速溶粉末。这种制剂可以充填入小药囊中并易溶于冷水。口味可方便地调整以适应市场需求。

[0160] 实施例14:提取制品用作“太空食物”

[0161] 不幸的是,克罗恩病或溃疡性结肠炎患者往往健康状态不佳,只能够摄入少量的传统食物。对于那些患者,本发明提供了一种提取制品,通俗地称作“宇航员食品”,但它通常是一种高卡路里、营养学上平衡的膳食,呈200ml饮用制剂、或可折叠管中的凝胶形式。为制备这样的凝胶,将实施例4的提取制品同其它成分(维生素、矿物质、蛋白质和游离氨基酸等)一起溶解,均质,每份80ml填入一次性可折叠管中。

[0162] 由此,一枚可折叠管(1份)含有:

[0163] 1000mg铺地百里香提取物、6g蛋白质、30g碳水化合物(其中1g糖(蔗糖)、9g脂类(其中1g为饱和脂肪酸))、44g水、矿物质(96mg钠、91mg氯、236mg钾、174mg钙、174mg磷(Ca/P比率=1.0),33mg镁)、微量元素(3.8mg铁、2.9mg锌、430μg铜、32μg碘、16μg铬、200μg氟、800μg锰、24μg钼、14μg硒)、维生素(240μg维生素A、400μg维生素B1、400μg维生素B2、4.3μg烟酸,400μg维生素B6、64μg叶酸、1300μg泛酸,700μg维生素B12、9.6μg生物素、24μg维生素C、1.8μg维生素D、13μg维生素K)、88mg胆碱。