



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107213175 B

(45) 授权公告日 2020.12.04

(21) 申请号 201710421186.1 *A61P 11/00* (2006.01)

(22) 申请日 2017.06.07 *A61P 1/02* (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号 *A61P 7/04* (2006.01)
 申请公布号 CN 107213175 A *A61P 19/02* (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(43) 申请公布日 2017.09.29 *A61P 3/10* (2006.01)

(73) 专利权人 郴州五盖山天时生态农业科技开
 发有限公司 *A61P 15/14* (2006.01)
A61P 11/10 (2006.01)
 地址 423000 湖南省郴州市五盖山镇(郴州
 五盖山狩猎场职工宿舍1楼) *A61P 11/14* (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)

(72) 发明人 李顺祥 李娟 李日新 任杰
 李兆星 李奇 *A23F 3/34* (2006.01)
A61K 127/00 (2006.01)

(74) 专利代理机构 长沙正奇专利事务所有限责
 任公司 43113 *A61K 133/00* (2006.01)

(51) Int.Cl. *A61K 36/185* (2006.01)
A61P 11/04 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 104286363 A, 2015.01.21

审查员 方敏

权利要求书1页 说明书11页

(54) 发明名称

一种野茉莉提取物及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种野茉莉提取物及其制备方法和应用,野茉莉提取物的制备方法是用80-100℃的水对野茉莉植物干品进行浸泡和/或煎煮,得到提取液,将提取液浓缩、干燥得到野茉莉提取物;所述野茉莉植物干品是指干燥的野茉莉植物的叶和/或芽,或者野茉莉植物的叶和/或芽制成的野茉莉茶。本发明制备的野茉莉提取物具有清热解毒、止咳润肺之功效,用于治疗急慢性咽喉炎、口腔溃疡、痰热咳嗽、慢性气管炎等,拓展了野茉莉药材的适应症,提高了传统野茉莉药材的药用价值。

1. 一种野茉莉提取物在制备治疗抗氧化、抗炎、抑菌、止咳的药物中的应用,其特征在在于,所述野茉莉提取物由以下方法制备而成:用80-100℃的水对野茉莉植物干品进行浸泡和/或煎煮,得到提取液,将提取液浓缩、干燥得到野茉莉提取物;所述野茉莉植物干品是指野茉莉植物的芽制成的野茉莉茶;

其中,在常压下对所述野茉莉植物干品进行浸泡和/或煎煮;野茉莉茶以野茉莉植物的叶芽和/或花芽为原料;将原料摊放、杀青、揉捻、炒制、烘干后得到;杀青的次数为3-5次,杀青的温度为160-200℃,每次杀青的时间为1-3分钟;炒制的温度为80-100℃,每次炒制的时间为1.5-5分钟;烘干的温度为75-90℃,烘干的时间为4-6小时。

2. 如权利要求1所述的应用,其特征在在于,先用80-100℃的水对野茉莉植物干品进行浸泡,得到浸泡液和浸泡药渣,再用80-100℃的水对浸泡药渣进行煎煮,得到煎煮液,将浸泡液和煎煮液合并得到提取液。

3. 如权利要求2所述的应用,其特征在在于,对浸泡药渣进行煎煮时,煎煮的次数为1-3次,煎煮的时间为20-120分钟。

4. 如权利要求2所述的应用,其特征在在于,煎煮时,每次用水量为浸泡药渣重量的10-30倍。

5. 如权利要求1所述的应用,其特征在在于,所述浸泡的时间为3-120分钟,浸泡的次数为1-2次。

6. 如权利要求1所述的应用,其特征在在于,浸泡时,每次用水量为野茉莉植物干品重量的20-50倍。

一种野茉莉提取物及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种野茉莉提取物及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 野茉莉(*Styrax japonicus* Sieb.et Zucc.)为安息香科安息香属植物,又名野花梣、茉莉苞、木香柴、野白果树、脆果子树、木橘子和耳完桃。生于海拔400-1800m的林中,主要分布于我国北自秦岭和黄河以南,东起山东、福建,西至云南东北部和四川东部,南达台湾、广东和广西北部。《中华本草》、《全国中草药汇编》等典籍记载,野茉莉的药用部位为其叶或果实,具有祛风除湿,舒筋通络之功效,主治风湿痹痛,瘫痪。

[0003] 近几年,野茉莉的研究报道主要集中在野茉莉叶和果实的化学成分和单体化合物体外生物活性的研究,现已分离鉴定44个化合物,木脂素和五环三萜类化合物为其主要成分,部分单体化合物具有抗肿瘤、抗氧化、抗菌、抗病毒和抗炎等作用。野茉莉的实际应用,其藤茎用作器具、雕刻、伞柄、拐杖、玩具等细木工用材,种子油用于肥皂或机器润滑油,油粕可作肥料,花作庭园观赏植物,以及植物用于水土保持。但是,野茉莉的临床药用和食用价值方面,研究少、报道少,中国专利CN1830976公开了安息香属植物的果实中总苯并呋喃含量较多,其提取物可以用于治疗雌性激素缺乏所引起的疾病。目前,基本没有针对野茉莉叶相关的食品或药品的开发和应用。

[0004] 近几年,野茉莉的研究报道主要集中在野茉莉叶和果实的化学成分和单体化合物体外生物活性的研究,现已分离鉴定44个化合物,木脂素和五环三萜类化合物为其主要成分,部分单体化合物具有抗肿瘤、抗氧化、抗菌、抗病毒和抗炎等作用。野茉莉的实际应用,其藤茎用作器具、雕刻、伞柄、拐杖、玩具等细木工用材,种子油用于肥皂或机器润滑油,油粕可作肥料,花作庭园观赏植物,以及植物用于水土保持。但是,野茉莉的临床药用和食用价值方面,研究少、报道少,中国专利CN1830976公开了安息香属植物的果实中总苯并呋喃含量较多,其提取物可以用于治疗雌性激素缺乏所引起的疾病。目前,基本没有针对野茉莉叶和芽相关的食品或药品的开发和应用。

发明内容

[0005] 本发明的目的是将野茉莉叶或茶叶进行提取,最大程度地得到的野茉莉的活性成分,发挥出野茉莉提取物的优势,可以将其制成多种类型的药用或其他用途的制剂,应用方便。

[0006] 本发明的技术方案是,提供一种野茉莉提取物的制备方法,用80-100℃的水对野茉莉植物干品进行浸泡和/或煎煮,得到提取液,将提取液浓缩、干燥得到野茉莉提取物;所述野茉莉植物干品是指干燥的野茉莉植物的叶和/或芽,或者野茉莉植物的叶和/或芽制成的野茉莉茶。

[0007] 优选地,先用80-100℃的水对野茉莉植物干品进行浸泡,得到浸泡液和浸泡药渣,再用80-100℃的水对浸泡药渣进行煎煮,得到煎煮液,将浸泡液和煎煮液合并得到提取液。

[0008] 优选地,对浸泡药渣进行煎煮时,煎煮的次数为1-3次,煎煮的时间为20-120分钟,优选60-120分钟,更优选80-100分钟。

[0009] 优选地,煎煮时,每次用水量为浸泡药渣重量的10-30倍。

[0010] 优选地,所述浸泡的时间为3-120分钟,浸泡的次数为1-2次;当针对野茉莉茶叶进行提取时(如茶饮),可以只浸泡几分钟,如3-8分钟即可;若需要提高野茉莉茶提取物的浓度,则需要较长时间的浸泡,如20-120分钟。

[0011] 优选地,浸泡时,每次用水量为野茉莉植物干品重量的20-50倍。

[0012] 优选地,在常压下对所述野茉莉植物干品进行浸泡和/或煎煮。

[0013] 优选地,野茉莉茶是以野茉莉植物的叶、叶芽和/或花芽为原料;将原料摊放、杀青、揉捻、炒制、烘干后得到。

[0014] 本发明提供一种野茉莉提取物,由上述制备方法获得。

[0015] 本发明进一步提供所述的野茉莉提取物在制备治疗咽喉炎、慢性气管炎、舌痛、牙痛、肺癆吐血、急性关节炎、糖尿病或乳痛的药物中的应用。

[0016] 优选地,将本申请的水提取物制成口服液,可以大大地节省浓缩所用的能耗;当然,本申请的提取物的清凉润喉效果特别好,特别适合制成含片。也可以根据不同的需求制成多种其他制剂。

[0017] 本发明经过研究发现,野茉莉叶的药用价值高,但是将野茉莉叶作为药材,通过煎煮后,制得其提取物,本发明还意外地发现将野茉莉叶简单地浸泡后,某些方面的疗效会更好。其原因可能是野茉莉叶中活性成分的热稳定性较差,或者高温时会与其他成分发生反应,长时间的高温煎煮会导致其活性成分的结构被破坏;同时也有可能由于此种植物的细胞组织结构不利于其中活性成分的溶出。

[0018] 本发明所说的煎煮一种常用的中药提取方法,其特点是长时间的保持高温,将中药的活性成分溶出。而浸泡与煎煮中长时间加热不同,它仅仅是使用热水浸没中药进行提取,提取期间不再需要加热,其特点是提取温度逐渐下降。

[0019] 对于野茉莉这种药材,浸泡后得到的活性成分与煎煮后得到的活性成分差别比较大,且将为使得药材的药用价值最大化地体现,可将两种提取工艺结合,先进行浸泡,而后对浸泡后的药渣进行煎煮。

[0020] 本发明进一步发现野茉莉叶或芽经过杀青、炒制等步骤后,其有效成分的溶出效果会提高,并且在短时间内的浸泡后即可达到很高的溶出率。基于此,本发明可通过制茶的工艺将新鲜的野茉莉叶制成野茉莉茶叶,由于饮茶时一般都是用热水或沸水浸泡,高温的持续时间较短,可以充分实现野茉莉叶的药用价值。

[0021] 研究发现,野茉莉叶具有较高的药用价值,但是野茉莉叶直接食用或药用,味苦涩,有较强的草腥味,口感差。本发明意外地发现野茉莉叶经过杀青、炒制等步骤后,用开水浸泡,苦味基本消失,饮时口腔和喉咙有似薄荷样的清凉感,口感非常好,按常规的饮茶标准添加野茉莉茶,发现饮后清凉感明显且持续的时间很长,饮用20mL的茶水,在1小时内,口腔及喉咙处可以保持明显的清凉感。与未经杀青、炒制的野茉莉叶相比具有明显的优势。本发明进一步发现应用制茶工艺中的杀青、炒制等步骤可以使野茉莉叶的有效成分在短时间浸泡后即可达到较高的溶出率。而且此种生产工艺简单,成本低廉,节能环保,利用率高。经过研究发现,揉捻能够破坏细胞组织,茶饮服用时能增加有效成分例如总萜类、茶多酚及主

要活性成分的溶出率。并且杀青能够破坏野茉莉植株中氧化酶的活性,从而避免对植物中含量较高的多酚类物质的氧化,保证野茉莉茶叶外观色泽的同时,最大限度的保持其有效成分不受破坏。另外,炒制、烘干可以降低含水率,提高茶的香味,并便于存储。

[0022] 对于茶叶的杀青,方式有很多种,比如手工炒制杀青,工业机械杀青,微波杀青,蒸汽杀青。本发明主要采用工业机械杀青,具体的工艺条件为:采用滚筒杀青机杀青,筒腔内空气温度设置在200-300℃之间,每次杀青时间为1-3min,当进口温度达150℃-160℃时,出口温度达120℃时,开始投叶,投叶量10-13kg/h。以使筒内温度平稳,要求杀透杀匀,清香显露,手握柔软,有1/3左右叶缘略卷,手握有触手感,失重在30%左右为宜。

[0023] 揉捻的具体方式有:手工揉捻,机器揉捻。

[0024] 手工揉捻:在摊凉过程中趁温度下降时用手将杀青后的新鲜嫩芽或/和花芽沿一个方向揉搓成团,揉至有明显汁液渗出后均匀摊开、抖散;再揉搓成团,揉至有明显汁液渗出后再均匀摊开、抖散;如此循环往复,揉捻至使新鲜嫩芽或/和花芽的成条率至少达到60%以上后,以1-3厘米的厚度均匀摊放于竹筛内;

[0025] 机器揉捻:在摊凉过程中趁温度下降时将杀青后的新鲜嫩芽或/和花芽置于揉捻机里,揉捻至使新鲜嫩芽或/和花芽的成条率达到60-80%后,以1-3厘米的厚度均匀摊放于竹筛内。

[0026] 其中野茉莉茶的制备工艺优选以下方法:以野茉莉植物的叶、叶芽和/或花芽为原料;将原料摊放、杀青、揉捻、炒制、烘干后得到。优选杀青的次数为3-5次,杀青的温度为160-200℃,每次杀青的时间为1-3分钟;每次杀青完成后降至室温再进行下一次杀青。

[0027] 优选地,杀青的温度为170-190℃,每次杀青的时间为1.5-2分钟。

[0028] 优选地,杀青步骤完成后进行揉捻,然后进行炒制,炒制完成后继续揉捻,依此循环2-4次。

[0029] 优选地,炒制的温度为80-100℃,每次炒制的时间为1.5-5分钟。

[0030] 优选地,揉捻和炒制的具体步骤为:杀青步骤完成后进行第一次揉捻直至成条率达到60%以上,再进行第一次炒制;第一次炒制至减重率达到15-25%时,进行第二次揉捻,直至成条率达到90%以上,再进行第二次炒制至减重率达到70-80%,再进行烘干。

[0031] 优选地,烘干的温度为75-90℃,烘干的时间为4-6小时,烘干时通入空气。

[0032] 本发明的野茉莉茶叶水提物经小鼠口灌胃未见明显异常毒性作用;经体外抑菌试验表明,野茉莉茶叶对大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯氏菌、沙门氏菌和金黄色葡萄球菌有显著的抑菌作用。动物实验证明,野茉莉茶叶水提物可显著抑制角叉菜胶致大鼠足趾的肿胀,并可有效改善二甲苯涂布引起的小鼠耳廓肿胀,表明野茉莉茶叶具有抗炎作用;野茉莉茶叶水提物可有效延长氨水引起小鼠咳嗽的潜伏期,并显著减少咳嗽次数,表明其具有止咳作用。另外,使申请人意外的是,口腔溃疡患者饮用本发明的茶饮品后,治疗效果非常好,几分钟内即可使大部分患者的疼痛感觉消失,一半左右的患者可在数小时内痊愈。

[0033] 本发明的野茉莉叶或茶叶制成野茉莉提取物,尤其是采用浸泡的方式进行提取野茉莉叶,具有明显的创新性,来自纯天然的原料,长期使用强身健体。

[0034] 本发明的有益效果是,本发明制备的野茉莉茶叶具有清热解毒、顺气化痰、止咳润肺的功能,提高了传统野茉莉药材的药用价值。将野茉莉叶或茶叶进行提取,最大程度地得到的野茉莉的活性成分,发挥出野茉莉提取物的优势,可以将其制成多种类型的药用或其

他用途的制剂,应用方便。

具体实施方式

[0035] 下面结合实施例对本发明作进一步说明。

[0036] 野茉莉植物干品既可以包括野茉莉茶,也可以包括那些按照类似制茶工艺获得的野茉莉植物干品。经过初步试验,未经制茶或类似制茶工艺(如无杀青、揉捻步骤)获得的野茉莉植物干品同样也可以体现出一些功能和药效,但是与野茉莉茶相比,口感、药效均有较明显的下降。所以以下实施例主要系统地野茉莉茶的提取物进行研究。

[0037] 实施例1:野茉莉茶叶的制备

[0038] 本实施例提供一种野茉莉茶叶制备方法,包括以下步骤:

[0039] A、原料准备:挑选野茉莉成熟植株新鲜嫩芽或/和花芽作为原料,以顶芽带两对新鲜嫩芽或/和花芽为采集对象,采集长度0.3-8厘米,并经流水快速冲掉所述原料表面的异物;

[0040] B、原料摊放:将经流水快速清洗后的新鲜或/和花芽均匀摊放在竹筛内,置通风且阴凉处摊放;摊放在竹筛内的厚度为0.5-5厘米,晾干,时间为0.5-3小时;

[0041] C、杀青:利用滚筒机杀青:筒腔内温度设置在280℃,杀青时间为1.5-2min,即茶叶从进口到出口之间的时间。投放茶叶后,滚筒会降温,形成连续投放后,筒腔内温度在180℃左右,投叶量10-13kg/h,温度力求平稳,要求杀透杀匀,清香显露,手握柔软,有1/3左右叶缘略卷,手握有触手感,失重在30%左右为宜。

[0042] D、摊凉:将经过杀青处理后的新鲜嫩芽或/和花芽趁热摊放于竹筛内冷却;

[0043] E、一次揉捻:在摊凉过程中趁温度下降时将杀青后的新鲜嫩芽或/和花芽沿一个方向揉搓成团,揉至有明显汁液渗出后均匀摊开、抖散;再揉搓成团,揉至有明显汁液渗出后再均匀摊开、抖散;如此循环往复,直至新鲜嫩芽或/和花芽成条率至少达到60%以上后,均匀摊放于竹筛内;

[0044] F、初炒:将一次揉捻后的新鲜嫩芽或/和花芽置于铁锅中进行炒制,炒至减重率为20%;初炒时铁锅内的温度为60-80度,炒制时间为30-60分钟;

[0045] G、二次揉捻:将初炒后的新鲜嫩芽或/和花芽按照步骤E中的方法再次揉捻,直至新鲜嫩芽或/和花芽成条率达到90-100%后,再均匀摊放于竹筛内;

[0046] H、复炒:将二次揉捻后的新鲜嫩芽或/和花芽置于铁锅中进行复炒,炒至减重率为70-80%;复炒时铁锅内的温度为50-70度,炒制时间为30-60分钟;

[0047] I、干燥冷却:将复炒后的新鲜嫩芽或/和花芽置于干燥箱内,干燥至恒重。其中干燥箱内的温度为60-80度,放置,干燥30-180分钟,干燥后凉至室温,即可得到野茉莉茶叶成品。

[0048] 实施例2:野茉莉茶叶的制备

[0049] 与实施例1的步骤类似,区别在于炒制的步骤中使用也使用滚筒,滚筒设置为180℃,形成稳定投料后,温度降低至80-90℃,每次炒制保持3-5分钟。揉捻和炒制的循环次数由实施例1的2次提升至4次。

[0050] 实施例3:野茉莉叶鲜品、普通干品和野茉莉茶叶的口感比较

[0051] (1) 实验样品

[0052] 野茉莉叶鲜品:成熟植株新鲜叶、嫩芽或/和花芽;

[0053] 野茉莉叶普通干品:将野茉莉叶鲜品晒干;

[0054] 野茉莉茶叶:实施例1制备得到野茉莉茶叶。

[0055] (2) 实验方法

[0056] 称取野茉莉叶鲜品5g,野茉莉茶叶0.5g,分别加入开水200ml,浸泡15分钟,通过口尝和贮存等检测指标,分析野茉莉叶处理前后的品质变化。

[0057] (3) 实验结果

[0058] 表1野茉莉叶鲜品和野茉莉茶叶的口感比较

	检测指标	野茉莉叶、叶芽和/或花芽	野茉莉茶
[0059]	口感	苦,涩,有草腥味	微苦,清凉感
	贮存	鲜品,易霉变,不易贮存	干品,性质稳定,易贮存

[0060] 野茉莉叶鲜品味苦,涩,有草腥味,使用量大,不易保存,使用不方便;野茉莉茶叶味微苦,有清凉感,饮后口腔和喉咙有似薄荷样的清凉感,浸泡量少,使用方便,易保存。野茉莉叶经加工后,口感、应用性均有明显提高。

[0061] 类似地,将野茉莉叶鲜品晒干,得到野茉莉叶普通干品。将野茉莉叶干品用开水浸泡,发现青草味虽然较鲜品弱,但是依然明显,苦味并未改善,清凉感也并不明显。

[0062] 实施例4:野茉莉茶叶不同加工品体外抗氧化作用的比较

[0063] (1) 样品制备

[0064] 实施例1制备得到野茉莉茶叶,随机称取100g,加沸水浸泡,制成1g生药量/mL浸泡液,记为a。

[0065] 实施例1制备得到野茉莉茶叶,随机称取100g,加沸水煎煮1.5小时,制成1g生药量/mL提取液,记为b。

[0066] 采收野茉莉成熟植株新鲜嫩芽或/和花芽,自然晾干,随机称取100g,加沸水煎煮1.5小时,制成1g生药量/mL提取液,记为c。

[0067] 采收野茉莉成熟植株新鲜嫩芽或/和花芽,80-90度加热至干,随机称取100g,加沸水煎煮1.5小时,制成1g生药量/mL提取液,记为d。

[0068] (2) 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除能力的测定

[0069] 取野茉莉叶提取液,置于10mL具塞试管中,加入 2×10^4 mol/L DPPH 50%乙醇溶液2mL,充分混匀,室温条件下,避光静置30min后,在517nm下测定吸光度为 A_i ,空白对照组以蒸馏水代替样品测定的吸光值为 A_0 。计算公式见: $E(\%) = (A_0 - A_i) / A_0 \times 100\%$ 。

[0070] (3) 实验结果

[0071] 表2不同野茉莉茶叶提取液的DPPH自由基清除能力(%)

样品	E ₁	E ₂	E ₃	平均值
a	74.8	73.2	77.6	75.2
b	64.7	61.8	60.7	62.4
c	48.5	51.6	50.2	50.1
d	53.8	53.9	59.7	55.8

[0073] 通过比较野茉莉叶的不同加工方法和提取方法制得样品对DPPH自由基清除能力

的影响,如表2所示,不同样品对DPPH自由基清除能力分别为a>b>d>c,其中野茉莉茶叶的浸泡液表现出较强的DPPH自由基清除活性,清除率达到75.2%。

[0074] 进一步地,实施例1制备得到野茉莉茶叶,加沸水浸泡后,得到浸泡液和药渣,对药渣用沸水再进行煎煮,得到煎煮液,煎煮液与浸泡液合并,浓缩制成1g生药量/mL,测试DPPH自由基清除能力达到80%。

[0075] 实施例5:野茉莉茶叶提取物体外抑菌作用

[0076] (1) 样品制备

[0077] 实施例1制备得到野茉莉茶叶,随机称取100g,加水浸泡1.5小时,制成1g生药量/mL提取液,即得。

[0078] (2) 实验方法

[0079] 无菌操作条件下,采用肉汤连续稀释法将灭菌处理过的野茉莉茶叶水提物与MH液体培养基(2×)二倍稀释,使培养基中受试物的终浓度分别为0.500、0.250、0.125、0.063g生药量/mL,分别接种大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯氏菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌于含上述浓度受试物的MH液体培养基中,各试验菌最终浓度约为 10^5 CFU/mL,同时接种于不含受试物的MH液体培养基中,作为阳性对照,另设不接种菌液的MH液体培养基作为阴性对照,36℃培养48h,观察各菌株生长情况及记录受试物的最小抑菌浓度(MIC)。

[0080] (3) 实验结果

[0081] 野茉莉茶叶对大肠埃希氏菌、肺炎克雷伯氏菌、沙门氏菌的MIC为0.250生药量/mL,对金黄色葡萄球菌的MIC为0.125生药量/mL,对白色念珠菌(0.063-0.500生药量/mL)无抑菌活性。

[0082] 表3野茉莉茶叶提取物对实验菌株生长的影响

	实验菌株	阴性对照	阳性对照	浓度(g生药量/mL) / 菌株生长情况			
				0.500	0.250	0.125	0.063
[0083]	大肠埃希氏菌	-	+	-	-	+	+
	肺炎克雷伯氏菌	-	+	-	-	+	+
	沙门氏菌	-	+	-	-	+	+
	金黄色葡萄球菌	-	+	-	-	-	+
	白色念珠菌	-	+	+	+	+	+

[0084] “+”:代表生长;“-”:代表未生长;

[0085] 实施例6:野茉莉茶叶提取物对足趾肿胀的影响

[0086] (1) 样品制备

[0087] 实施例1制备得到野茉莉茶叶,随机称取100g,加水煎煮1.5小时,制成1g生药量/mL提取液,即得。

[0088] (2) 实验方法

[0089] 野茉莉茶叶水提物的人体推荐食用量为5g/天,成人体重按60kg计,折合剂量约0.083g野茉莉茶叶/kg。该实验将野茉莉茶叶水提物的人体推荐食用量的5、10、30倍分别作为功效试验的低、中、高剂量,即野茉莉茶叶水提物低、中、高剂量分别为0.42、0.83、2.50g野茉莉茶叶/kg;阳性对照药阿司匹林的临床用量为150mg/日,按体表面积法换算成小鼠等效剂量约为19.5mg/kg,该实验采用其等效剂量的2倍进行试验,即阿司匹林的剂量为

39mg/kg (表4)。

[0090] 表4试验分组和剂量设计

	组别	剂量	与临床拟用等效剂量的倍数关系 (按体
			表面积/体重计)
[0091]	模型组	--	--
	阿司匹林片	39mg/kg	2
	水提物低剂量组	0.42g 生药量/kg	5
[0092]	水提物中剂量组	0.83g 生药量/kg	10
	水提物高剂量组	2.50g 生药量/kg	30

[0093] 选取检疫合格的雄性SD大鼠 (SPF级), 体重范围194.5~210.4g, 实验动物按体重随机分为4组, 即溶媒对照组、野茉莉茶叶水提物低、中和高剂量组, 每组10只, 各给样组大鼠按10mL/kg灌胃给予相应受试物, 溶媒对照组灌胃给予等量蒸馏水, 每日一次, 连续给样30天。

[0094] 足趾肿胀率: 末次给予受试物1h后, 测量各组大鼠注入致炎剂 (1%角叉菜胶溶液, 0.1mL/只) 前和注入后1h、2h、4h及6h右后足趾容积, 同一部位测量3次, 取平均值, 以注入致炎剂后不同时间点与注入前足趾容积之差为肿胀值, 计算各时间点的足趾肿胀率, 肿胀率 (%) = 肿胀值/致炎前足趾容积 × 100%。

[0095] 统计学方法: 采用SPSS16.0进行统计分析, 统计学意义的水平设定为P<0.05。计量资料采用均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 足趾容积为重复测量资料, 满足球对称和齐性, 采用单样本重复测量资料方差分析或成组重复测量资料方差分析, 不符合球对称时, 要校正F界值。评价时考虑统计学差异和生物学意义。

[0096] (3) 实验结果

[0097] 表5野茉莉茶叶提取物对足趾肿胀率的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	肿胀率 (%)			
	注射后 1h	注射后 2h	注射后 4h	注射后 6h
模型组	25.9±9.0	41.8±14.5	53.0±12.3	52.8±11.3
[0098] 野茉莉茶叶水提物低剂量组	17.9±5.3**	27.4±7.8**	35.6±7.3**	34.3±5.0**
野茉莉茶叶水提物中剂量组	20.5±6.5	38.6±12.5	49.7±13.9	47.8±13.3
野茉莉茶叶水提物高剂量组	18.0±3.4**	30.5±8.0*	43.5±10.2	43.0±13.2

[0099] 注: 与模型对照组相比, *P<0.05, **P<0.01。

[0100] 与模型组相比, 野茉莉茶叶水提物各给样组动物足趾肿胀率整体呈降低趋势, 注射致炎剂后1h、2h野茉莉茶叶水提物低、高剂量组足趾肿胀率均明显或显著降低 (P<0.05或P<0.01), 其中野茉莉茶叶水提物低剂量组足趾肿胀率在注射致炎剂后4h、6h仍显著降低 (P<0.01) (表5)。上述结果表明, 该实验条件下, 野茉莉茶叶水提物对大鼠体重无明显影响, 对角叉菜胶致大鼠足趾肿胀具有明显抑制作用。

[0101] 实施例7:野茉莉茶叶提取物对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响

[0102] (1) 样品制备

[0103] 实施例1制备得到野茉莉茶叶,随机称取100g,加水煎煮1.5小时,制成1g生药量/mL提取液,即得。

[0104] (2) 实验方法

[0105] 选用检疫合格雄性ICR小鼠50只(SPF级),按体重随机分为5组,即模型对照组、阳性对照组(阿司匹林片,39mg/kg)、野茉莉茶叶水提取物低剂量组(0.42g生药量/kg)、中剂量组(0.83g生药量/kg)、高剂量组(2.50g生药量/kg),每组10只,各给样组小鼠按20mL/kg灌胃给予相应剂量的受试物,模型对照组、阳性对照组灌胃给予等量蒸馏水或阿司匹林药液,每日一次,连续7天。末次给予受试物后1h于每只小鼠右耳廓内外侧涂二甲苯致炎,左耳不涂作为对照,30min后处死,沿耳廓基线剪下双耳,用9mm直径打孔器打下左耳和右耳相同部位的圆片,并立即用分析天平准确称取左、右耳片重量,计算耳肿胀率。

[0106] (3) 实验结果

[0107] 表6野茉莉茶叶提取物对小鼠耳肿胀率的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量	耳肿胀率
模型组	--	99.4±44.1
阳性对照组(阿司匹林片)	39mg/kg	33.9±34.9**
野茉莉茶叶水提取物低剂量组	0.42g 生药量/kg	61.4±41.4*
野茉莉茶叶水提取物中剂量组	0.83g 生药量/kg	70.6±49.7
野茉莉茶叶水提取物高剂量组	2.50g 生药量/kg	38.3±38.7**

[0109] 注:与模型对照组相比,*P<0.05,**P<0.01。

[0110] 与模型组相比,野茉莉茶叶水提取物低、高剂量组耳廓肿胀率均明显或显著降低(P<0.05或P<0.01),阳性对照药组(阿司匹林片)耳肿胀率亦显著降低(P<0.01)(表6)。上述结果表明,该实验条件下,野茉莉茶叶水提取物可有效改善二甲苯涂布引起的小鼠耳廓肿胀,提示其具有抗炎作用。

[0111] 实施例8:野茉莉茶叶提取物的止咳作用(对氨水引起小鼠咳嗽的影响)

[0112] (1) 样品制备

[0113] 实施例1制备得到野茉莉茶叶,随机称取100g,加水煎煮1.5小时,制成1g生药量/mL提取液,即得。

[0114] (2) 实验方法

[0115] 选取检疫合格的ICR小鼠50只(SPF级),雌雄各半,按性别体重随机分为5组,即模型对照组、阳性对照组(枸橼酸喷托维林片,9.75mg/kg)、野茉莉茶叶水提取物低剂量组(0.42g生药量/kg)、中剂量组(0.83g生药量/kg)、高剂量组(2.50g生药量/kg),每组10只,各给样组小鼠按20mL/kg灌胃给予相应剂量的受试物,模型对照组、阳性对照组灌胃给予等量蒸馏水或枸橼酸喷托维林片药液,每日一次,连续7天。末次给予受试物1h后将小鼠放入

诱咳引喘仪内,喷入14%浓氨水5s刺激致咳,检测小鼠首次咳嗽潜伏期及5min内的咳嗽次数。

[0116] 数据处理全部数据均采用SPSS 16.0统计处理软件进行方差分析,试验数据用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。

[0117] (3) 实验结果

[0118] 与模型组相比,野茉莉茶叶水提物中、高剂量组咳嗽潜伏期均显著延长($P < 0.01$);野茉莉茶叶水提物各给样组咳嗽次数均显著减少($P < 0.01$),阳性对照药组(枸橼酸喷托维林片)咳嗽次数亦显著减少($P < 0.01$) (表7)。上述结果表明,该实验条件下,野茉莉茶叶水提物可有效延长氨水引起的咳嗽潜伏期,低、中、高剂量组均显著减少咳嗽次数,提示其具有止咳作用。

[0119] 表7野茉莉茶叶提取物对小鼠咳嗽潜伏期和咳嗽次数的影响($\bar{x} \pm s$)

	组别	咳嗽潜伏期 (s)	咳嗽次数
	模型组	31.4±11.6	79.4±14.9
[0120]	阳性对照组 (枸橼酸喷托维林片)	43.9±9.9	33.4±4.5**
	野茉莉茶叶水提物低剂量组	38.0±4.2	50.5±9.8**
	野茉莉茶叶水提物中剂量组	50.0±3.9**	50.1±7.7**
	野茉莉茶叶水提物高剂量组	53.5±20.3**	43.1±7.7**

[0121] 注:与模型对照组相比,** $P < 0.01$ 。

[0122] 实施例9:野茉莉茶叶提取物急性经口毒性试验

[0123] (1) 样品制备

[0124] 实施例1制备得到野茉莉茶叶,随机称取100g,加水煎煮1.5小时,制成1g生药量/mL提取液,即得。

[0125] (2) 实验方法

[0126] 选取检疫合格的SPF级ICR小鼠70只,雌雄各半,平均体重:19.9g,体重18.2~21.8g,按性别体重随机分为7组,分别为溶媒对照组(蒸馏水)、野茉莉茶叶水提物剂量组1(32.2g野茉莉茶叶/kg)、剂量组2(38.6g野茉莉茶叶/kg)、剂量组3(46.3g野茉莉茶叶/kg)、剂量组4(55.6g野茉莉茶叶/kg)、剂量组5(66.7g野茉莉茶叶/kg)和剂量组6(80.0g野茉莉茶叶/kg),每组10只。实验前禁食不禁水15h后,按40mL/kg经口灌胃给予相应剂量的野茉莉茶叶水提物或蒸馏水,实验当天给样一次,给样后0~4h内仔细观察并记录各组动物是否出现毒性反应以及毒性反应症状、出现时间以及死亡情况等,此后连续观察14天,记录动物死亡情况及体重变化。

[0127] 表8试验分组及剂量设计

组 别	剂 量 (g 野茉莉茶叶/kg)	给样量 (mL/kg)	相当于人体推荐食 用量的倍数
溶媒对照组	--	40	--
野茉莉茶叶水提物剂量组 1	32.2	40	386
[0128] 野茉莉茶叶水提物剂量组 2	38.6	40	463
野茉莉茶叶水提物剂量组 3	46.3	40	556
野茉莉茶叶水提物剂量组 4	55.6	40	667
野茉莉茶叶水提物剂量组 5	66.7	40	800
野茉莉茶叶水提物剂量组 6	80.0	40	960

[0129] (3) 检测指标

[0130] A、一般临床观察：给样后0~4h内仔细观察并记录各组动物是否出现毒性反应以及毒性反应症状、出现时间以及死亡情况等，如动物死亡，则进行大体解剖观察，存活动物此后连续观察14天；

[0131] B、体重：给样当天及给样后第4天、第7天、第10天、第14天进行动物称重；

[0132] C、大体解剖观察：观察结束时，麻醉后处死所有动物，进行大体解剖观察；

[0133] D、半数致死量(LD₅₀)：根据实验结果，计算LD₅₀。

[0134] 统计学分析选用SPSS16.0, 计量资料均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较方差齐时采用单因素方差分析进行数据统计, 两两比较, 采用LSD-t或SNK-q检验, $P \leq 0.05$ 表示有统计学意义。LD₅₀采用Probit Analysis进行统计分析。评价时考虑统计学差异和生物学意义。

[0135] (4) 实验结果

[0136] A、一般临床观察

[0137] 给药当天0~4h内：溶媒对照组和野茉莉茶叶水提物剂量组1(32.2g野茉莉茶叶/kg)小鼠给样后未见明显异常, 野茉莉茶叶水提物剂量组2(38.6g野茉莉茶叶/kg)、剂量组3(46.3g野茉莉茶叶/kg)、剂量组4(55.6g野茉莉茶叶/kg)、剂量组5(66.7g野茉莉茶叶/kg)小鼠给样后均出现不同程度的毒性反应, 主要表现为俯卧不动、行动迟缓、呼吸急促、腹部凹陷、四肢剧烈抽搐, 部分动物死亡, 野茉莉茶叶水提物剂量组6(80.0g野茉莉茶叶/kg)小鼠在给药后6h内全部死亡。给样当日野茉莉茶叶水提物剂量组1、2、3、4、5、6小鼠死亡率分别为0%、20%、30%、80%、90%、100%, 毒性反应呈现一定的量效关系。

[0138] B、体重

[0139] 如表9所示：给样前及给样后存活小鼠第4天、第7天、第10天和第14天称重, 小鼠体重增长均在正常范围内, 无明显异常。

[0140] 表9野茉莉茶叶经口急性毒性实验小鼠体重统计结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

性别	组别	体重(g)				
		给样前	第7天	第14天	第10天	第14天
雌性	溶媒对照组	20.1±0.9	22.5±1.4	24.3±1.5	26.7±1.7	28.4±2.2
	野茉莉茶叶水提物剂量组 1	20.3±0.8	22.6±0.8	24.3±1.4	26.5±1.4	28.3±1.3
	野茉莉茶叶水提物剂量组 2	20.4±1.0	22.6±1.2	24.9±1.1	27±1.1	28.8±1.3
	野茉莉茶叶水提物剂量组 3	20.4±1.0	22.5±0.3	24.8±0.7	26.7±1.3	28.6±1.1
	野茉莉茶叶水提物剂量组 4	20.3±1.1	22.2±0.2	24.3±0.1	25.9±0.0	27.4±0.1
	野茉莉茶叶水提物剂量组 5	20.2±1.2	/	/	/	/
	野茉莉茶叶水提物剂量组 6	20.3±0.9	/	/	/	/
雄性	溶媒对照组	19.7±1.1	24.7±1.8	30.2±2.3	35.2±2.9	38.1±2.7
	野茉莉茶叶水提物剂量组 1	19.4±0.9	24±0.6	28.7±0.9	33.6±1.6	36.6±2.2
	野茉莉茶叶水提物剂量组 2	19.4±0.8	25±1.2	30.1±2.8	35.6±3.1	38.5±3.6
	野茉莉茶叶水提物剂量组 3	19.6±0.9	25.4±0.2	30.8±0.6	36.2±1.3	39.3±0.1
	野茉莉茶叶水提物剂量组 4	19.7±0.8	/	/	/	/
	野茉莉茶叶水提物剂量组 5	19.6±0.8	23.2	26.9	29.2	32.5
	野茉莉茶叶水提物剂量组 6	19.8±1.0	/	/	/	/

[0143] 注：“/”表示无动物存活。

[0144] C、大体解剖观察

[0145] 对给样后死亡动物进行大体解剖，肉眼观察各分泌器官未见明显异常，脏器的位置、大小、色泽、表面和切面的质地等均未见异常改变。最后一次观察结束后采用麻醉处死所有存活小鼠并进行大体解剖检查，肉眼观察脏器的位置、大小、色泽、粘连、表面和切面的质地等，均未见积液及肿瘤等异常改变。

[0146] D、半数致死量(LD₅₀)

[0147] 小鼠经口灌胃给予野茉莉茶叶水提物的LD₅₀为48.9g野茉莉茶叶/kg(置信区间为44.3~53.9g野茉莉茶叶/kg)，按人体推荐食用量5g/天(体重60kg)计，该剂量相当于人体推荐食用量的587倍。

[0148] (5) 实验结论

[0149] 本实验条件下，小鼠经口灌胃给予野茉莉茶叶水提物未见明显异常毒性反应的剂量≥32.2g野茉莉茶叶/kg，按人体推荐食用量5g/天(体重60kg)计，该剂量相当于人体推荐食用量的386倍。