

肉桂总多酚的提取工艺优选及降糖作用考察

姜琼¹, 邹盛勤^{1*}, 周伟华¹, 易增兴¹, 伍晓春¹, 龚慧芬²

(1. 宜春学院化学与生物工程学院, 江西 宜春 336000;
2. 香港津威国际集团发展有限公司, 香港 999077)

[摘要] **目的:** 优选肉桂总多酚的提取工艺条件并观察其降糖作用。**方法:** 以肉桂总多酚提取率为指标, 采用正交试验法考察乙醇体积分数、料液比、提取温度、提取时间对提取工艺的影响。以小鼠空腹血糖(FPG)为指标建立糖尿病小鼠模型, 造模成功小鼠分成 5 组, 即空白对照组、模型对照组、阳性对照组(盐酸二甲双胍)、肉桂总多酚低剂量组及肉桂总多酚高剂量组, 考察肉桂总多酚对链脲佐菌素(STZ)所致糖尿病小鼠血糖的影响。**结果:** 肉桂总多酚的最佳提取工艺参数为乙醇体积分数 30%, 料液比 1:10, 提取时间 90 min, 提取温度 80 ℃; 总多酚平均提取率 3.9%, 总多酚质量分数 39.1%。各组给药前的 FPG($\bar{x} \pm s, n = 10$) 分别为(6.33 ± 1.27), (18.06 ± 3.12), (18.71 ± 3.51), (18.06 ± 3.27), (18.41 ± 3.54) mmol·L⁻¹, 灌胃 3 周后则分别为(5.36 ± 1.06), (31.59 ± 2.94), (25.08 ± 3.35), (15.33 ± 4.02), (12.50 ± 3.85) mmol·L⁻¹。**结论:** 优选的提取工艺科学合理, 可作为肉桂总多酚中试生产的依据。肉桂总多酚具有明显降低糖尿病小鼠血糖的作用。

[关键词] 肉桂; 总多酚; 提取工艺; 小鼠; 糖尿病; 动物模型

[中图分类号] R283.6; R284.2; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)20-0021-03

[doi] 10.11653/syfyj2013200021

Optimization of Extraction Technology for Total Polyphenols
from Cinnamomi Cortex and Investigation of its Hypoglycemic Effect

JIANG Qiong¹, ZOU Sheng-qin^{1*}, ZHOU Wei-hua¹, YI Zeng-xing¹, WU Xiao-chun¹, GONG Hui-fen²

(1. College of Chemistry and Bioengineering, Yichun University, Yichun 336000, China;
2. Hongkong Jinwei International Group Development Co. Ltd, Hongkong 999077, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology of total polyphenols from Cinnamomi Cortex and observe its effect on streptozotocin (STZ) -induced diabetic mice. **Method:** With yield of total polyphenols as index, effects of the concentration of ethanol, solid-liquid ratio, extraction temperature and extraction time on extraction technology were investigated by orthogonal test. Diabetic mice model was established with fasting plasma glucose (FPG) as index, successful modeling mice were divided into five groups, such as the blank control group, model control group, positive control group (metformin hydrochloride), low-dose of total polyphenols from Cinnamomi Cortex group, high-dose group, effect of total polyphenols from Cinnamomi Cortex on blood glucose of streptozotocin (STZ) -induced diabetic mice was investigated. **Result:** Optimum extraction process was as following: extracted 60 min with 10 times the amount of 30% ethanol at 80 ℃; Average yield of total polyphenols from Cinnamomi Cortex was 3.9%, the mass fraction of it was 39.1%. Before administration, FPG of each group were (6.33 ± 1.27), (18.06 ± 3.12), (18.71 ± 3.51), (18.06 ± 3.27), (18.41 ± 3.54) mmol·L⁻¹, respectively; While after gavage 3 w, FPG were (5.36 ± 1.06), (31.59 ± 2.94), (25.08 ± 3.35), (15.33 ± 4.02), (12.50 ± 3.85) mmol·L⁻¹, respectively. **Conclusion:** Optimized technology was

[收稿日期] 20130318(016)
[基金项目] 宜春学院与香港津威国际集团发展有限公司横向合作课题(2012-01)
[第一作者] 姜琼, 硕士, 讲师, 从事天然产物开发与研究, Tel:0795-3201280, E-mail:qqj2000@163.com
[通讯作者] * 邹盛勤, 硕士, 教授, 从事天然产物成分提取与分析研究, Tel:13507058127, E-mail:zszyxy@163.com

scientific and reasonable , it could be used as basis for trial production of total polyphenols from Cinnamomi Cortex. Total polyphenols from Cinnamomi Cortex had significantly decrease fasting blood glucose levels in diabetic mice.

[**Key words**] Cinnamomi Cortex ; total polyphenols ; extraction process ; mice ; diabetes ; animal models

肉桂为药食两用药材,性味辛、甘,大热,功能补火助阳、引火归元、散寒止痛、温通经脉^[1-3],主要化学成分包括酚类、有机酸、鞣质、挥发油等^[4-5]。现代药理试验表明,肉桂多酚类物质可增强胰岛素生物活性,具有降血糖及抗氧化等作用^[6-8]。本实验以总多酚得率为指标,采用正交试验法优选肉桂总多酚的提取工艺,并观察其对链脉佐菌素所致糖尿病小鼠空腹血糖的作用,为肉桂资源的研究开发提供科学依据。

1 材料

UV-2000 型紫外分光光度计(美国尤尼克公司),HH-6 型数显恒温水浴锅(江苏省金坛市环宇科学仪器厂),DHG-9023A 型电热恒温干燥箱(上海精密仪器仪表有限公司),BSA223S 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),TGL-16 型离心机(上海安亭科学仪器厂)。

肉桂(产地广西,经宜春学院陈武教授鉴定为樟科植物肉桂 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥树皮),没食子酸对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110831-200302),福林酚、链脉佐菌素(STZ)(美国 Sigma 公司),盐酸二甲双胍(上海华氏制药有限公司),葡萄糖试剂盒(南京建成生物工程研究所),水为超纯水,其余试剂均为分析纯。昆明种小鼠(雌雄兼用,SPF 级,体重 18~22 g,南昌大学实验动物科学部提供,动物合格证号 SCXK(赣)2010-002)。

2 方法和结果

2.1 供试品溶液的制备 精密称取肉桂干燥粉适量,加乙醇回流提取,过滤,合并滤液,回收乙醇,浓缩,得浸膏,烘干,备用。精密称取肉桂多酚提取物 10 mg,置于 50 mL 量瓶中,加水溶解并定容,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.2 对照品溶液的制备 精密称取没食子酸对照品 10 mg,置 100 mL 量瓶中,加水定容至刻度,即得。

2.3 线性关系的考察^[9] 精密量取对照品溶液 1, 2,3,4,5,6 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,用水定容,摇匀,得系列对照品溶液。分别精密量取 1 mL 至 10 mL 量瓶中,加 1 mol·L⁻¹福林酚显色剂 1 mL,加 1 mol·L⁻¹ Na₂CO₃ 溶液 3 mL,混匀,室温静置 15 min,反应液用水定容至 10 mL,于 725 nm 处测定

吸光度(A);用 1 mL 水代替对照品溶液,同法操作制备空白溶液,以 A 为纵坐标,质量浓度为横坐标,得回归方程 $Y = 7.045\ 7X - 0.043\ 3$ ($R^2 = 0.995\ 9$)。

2.4 正交试验设计 在单因素试验基础上,选取乙醇体积分数、提取温度、提取时间、料液比为考察因素,每个因素取 3 个水平,按 L₉(3⁴)正交表进行试验,测定肉桂总多酚得率,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 肉桂总多酚提取工艺正交试验因素水平

水平	A 乙醇体积 分数/%	B 提取温度 / ℃	C 提取时间 /min	D 料液比
1	20	60	60	1:5
2	30	80	90	1:7.5
3	40	100	120	1:10

表 2 肉桂总多酚提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	总多酚得率/%
1	1	1	1	1	2.68
2	1	2	2	2	2.92
3	1	3	3	3	3.09
4	2	1	2	3	3.47
5	2	2	3	1	3.19
6	2	3	1	2	3.21
7	3	1	3	2	2.94
8	3	2	1	3	3.21
9	3	3	2	1	2.90
K ₁	2.897	3.030	3.033	2.923	
K ₂	3.290	3.107	3.097	3.023	
K ₃	3.017	3.067	3.073	3.257	
R	0.393	0.077	0.064	0.334	

表 3 提取工艺方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	0.244	2	40.67	<0.05
B	0.009	2	1.50	>0.05
C(误差)	0.006	2	1.00	
D	0.176	2	29.33	<0.05

注:F_{0.05}(2,2)=19.00。

由直观分析可知,3 个因素对总多酚得率的影响顺序为 A>D>B>C。以极值最小的 C 因素为误差项进行方差分析,结果表明 A,D 因素对提取工艺

具有显著影响,因素 *C* 则影响不显著,确定最佳提取工艺为 $A_2B_2C_2D_3$,即加 10 倍量 30% 乙醇于 80 ℃ 回流提取 90 min。按该工艺进行 3 次验证试验,结果肉桂总多酚平均质量分数 39.1%,平均提取率 3.9% (RSD 1.32%),表明优选的工艺重复性良好。

2.5 肉桂总多酚对糖尿病小鼠血糖的影响 小鼠适应性饲养 3 d,称重,禁食不禁水 12 h,随机取 10 只作为空白对照组,其余小鼠按 $150\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量腹腔注射 STZ(STZ 溶于 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,pH 4.2 的柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液中,现配现用,冰浴保存^[10]) 1 次,空白对照组小鼠腹腔注射等量上述缓冲液。恢复饮食 72 h 后称重,禁食不禁水 12 h 断尾采血,

血液于 $7\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,分离血清,用葡萄糖试剂盒测定小鼠空腹血糖 (FPG),凡 $\text{FPG}\geq 11.1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 视为糖尿病小鼠模型^[11]。成模小鼠按血糖值均衡原则将造模成功小鼠分成 4 组,每组 10 只,即模型组、阳性对照组 (盐酸二甲双胍)、肉桂总多酚低剂量组及肉桂总多酚高剂量组。第 2 d 开始每天灌胃相应药物,空白对照组和模型对照组均予以等体积蒸馏水,阳性对照组按 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌盐酸二甲双胍,肉桂总多酚低剂量组按 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌肉桂总多酚,肉桂总多酚高剂量组按 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌肉桂多酚,连续给药 3 周,每周测 1 次空腹血糖值,结果见表 4。

表 4 肉桂多酚对糖尿病小鼠空腹血糖的影响($\bar{x}\pm s,n=10$) mmol·L⁻¹

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	给药前 FPG	给药后 FPG		
			第 1 周	第 2 周	第 3 周
空白对照	—	6.33 ± 1.27	7.91 ± 1.14	5.87 ± 1.11	5.36 ± 1.06
模型对照	—	18.06 ± 3.12	21.18 ± 2.86	28.02 ± 3.34	31.59 ± 2.94
盐酸二甲双胍	200	18.71 ± 3.51	21.20 ± 3.09	23.69 ± 2.97	25.08 ± 3.35
肉桂总多酚	10	18.06 ± 3.27	16.93 ± 3.16	16.72 ± 3.79	15.33 ± 4.02 ¹⁾
	50	18.41 ± 3.54	15.27 ± 3.35	14.01 ± 4.02	12.50 ± 3.85 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P<0.05$,²⁾ $P<0.01$ 。

由表 4 可知,空白对照组小鼠的血糖一直维持在正常范围内,而模型对照组小鼠的血糖值不断升高,表明造模成功。灌胃 3 周后,阳性对照组小鼠血糖也有所升高,肉桂总多酚低剂量组和高剂量组小鼠血糖均有下降,但高剂量组下降较为显著 ($P<0.05$),与模型对照组小鼠相比,具有极显著差异 ($P<0.01$),表明按 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 给予肉桂总多酚可显著降低糖尿病小鼠的血糖值,效果明显优于二甲双胍。

3 讨论

单因素试验表明肉桂采用醇-水混合溶剂提取时,肉桂多酚得率明显高于水提取,且乙醇体积分数、料液比、提取温度、提取时间是影响肉桂多酚提取工艺的主要因素。优选的提取工艺操作简便、稳定可靠,提取的肉桂总多酚具有显著降低糖尿病小鼠血糖的作用,为肉桂总多酚的中试试验及开发应用提供实验依据。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 化学工业出版社,2005:91.
[2] 王瑞江,唐源江. 我国肉桂类植物资源及命名[J]. 亚热带植物科学,2006,35(3):45.
[3] 黄宏妙,郭占京,蒋凌风,等. 肉桂水提液对全脑缺血

再灌注损伤大鼠 MAO 和 CAT 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(23):159.
[4] 刘林亚. 中药桂枝、肉桂化学成份的对比研究[J]. 四川中医,2001,19(1):17.
[5] 王桂英. 肉桂的化学成分分析[J]. 中国中药杂志,1993,18(4):208.
[6] Khan A, Bryden N A, Polansky M M, et al. Insulin potentiating factor and chromium content of selected spices[J]. Biol Trace Elem Res,1990,24(3):183.
[7] Anderson R A, Broadhurst C L, Polansky M M, et al. Isolation and characterization of polyphenol type-A polymers from cinnamon with insulin-like biological activity[J]. J Agric Food Chem,2004,52(1):65.
[8] 汪健红,陆付耳,董慧. 肉桂治疗糖尿病的研究进展[J]. 中西医结合研究,2011,3(1):25.
[9] Emmons C L, Peterson D M. Antioxidant activity anphenolic content of oat groats and hulls[J]. Cereal Chem,1999,76(6):902.
[10] 宋立江,刘长青,蒋东升,等. 链脲佐菌素稳定性对小鼠糖尿病模型的影响[J]. 实用预防医学,2008,15(3):896.
[11] 黄松. 糖尿病动物模型研究现状及进展[J]. 广西医学,2002,24(1):46.

[责任编辑 仝燕]