

桑叶黄酮的提取工艺及药理功效研究进展

贺伟强

(嘉兴职业技术学院, 浙江 嘉兴 314036)

摘要:黄酮是桑叶中的主要活性成分之一。阐述了桑叶黄酮的提取方法,包括超声波法、微波萃取法、超声-微波协同提取法和浸提法;对桑叶黄酮降血糖、降血脂和抗氧化等药理作用的最新研究进展进行了简要总结,并展望了今后的研究方向。

关键词:桑叶黄酮;提取工艺;药理功效

中图分类号:Q 946 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)21-0181-03

桑叶为桑树(*Morus alba* L.)的叶片,又名铁扇子,桑树在全国各地均有栽培,其中尤以江苏、浙江一带较多。桑叶性寒,味甘苦,具有疏风散热、清肺润燥、清肝明目之功效;古代中医药书籍中记载桑叶治疗消渴病的功效,《本草纲目》中记载,桑叶“煎汁代茗,能止消渴”,“炙熟煎饮,代茶止渴”,自古就是常用中药之一^[1]。现代药物分析发现,桑叶中所含药效成分有生物碱、黄酮类、醌类、多糖类和多酚类等活性成分,其中黄酮类化合物(Flavonoids)是桑叶中的主要活性成分。桑叶黄酮类成分主要包括芦丁、槲皮素、异槲皮素和二氢山茱萸等。含量约占桑叶干重的1.0%~3.0%^[2-4]。Kim^[5]、杨燕等^[6]从桑叶中分离得到9种黄酮类成分,Kayo^[7]从桑叶的丁醇提取物中分离得到了9种化合物,其中芸香苷的含量最高。张雁冰等^[8]对马桑叶中黄酮类化合物进行了系统研究,从马桑叶的乙醇提取物中分离得到了山奈酚、槲皮素等9个黄酮类化合物并鉴定了结构。黄酮类物质是桑叶发挥药理功效的主要活性成分之一,现代药理学研究证明,桑叶黄酮类成分具有抗氧化、降血糖、降血脂和抑制动脉粥样硬化等多种药理作用^[9]。

1 桑叶黄酮提取方法

1.1 超声辅助提取法

超声波主要通过空化效应击破植物的细胞膜结构,从而增大了溶剂向细胞内部的扩散和有效成分的溶出,具有提取时间短、效率高,而且对提取物质不产生破坏作用的优点,是一种从植物中提取有效成分的重要方法^[10-11]。马金秋等^[12]对桑叶烘干、粉碎过40目筛得到桑叶样品,精密称量1g样品,用乙醚脱脂后置于锥形瓶

中,用酒精溶液作为提取溶剂,在超声波提取器中进行提取。利用正交实验确定了最佳的提取工艺条件为:液料比为20:1,用80%的酒精溶液作溶剂,80℃超声提取40min,结果桑叶总黄酮的提取率达到2.52%,用AB-8型大孔吸附树脂纯化后的桑叶总黄酮纯度达到63.2%。

1.2 微波辅助提取法

微波提取(Microwave-Assisted Extraction, MAE)是Ganzler于1986年首先提出的利用微波进行萃取的方法。微波提取主要是利用微波强烈的热效应,被加热物质中的极性分子在微波场中快速转向及定向排列、撕裂和相互摩擦,从而产生强烈的热效应。微波辅助提取技术具有提取时间短、效率高、溶剂消耗少且不对提取物质产生破坏作用等优点^[13],已经被广泛用于对中草药生物碱、黄酮和多糖等成分的提取^[14]。陈菁菁等^[15]取桑叶粉末50g置于微波提取罐中,微波强度为450W,按照正交设计对桑叶黄酮成分的提取条件进行考察。确定微波提取桑叶黄酮的最佳工艺条件为:70%酒精,液料比12:1,在60℃条件下微波提取20min,提取5次后桑叶黄酮的平均含量为2.87%。微波提取效果与所使用的微波提取设备有关,文献中常用的微波提取设备是微波炉、MAS-II微波反应罐和MEI-03L微波萃取仪。使用不同的消解反应设备会对桑叶黄酮类成分的提取效果产生影响。

1.3 超声-微波协同提取法

超声-微波协同提取法是近年来发展起来的一种新方法,该法使样品介质内各个部分受到的作用一致,降低目标物与样品基体的结合力,加速目标成分从固相进入溶剂的过程。可以使反应速度比单一微波或超声波提取方法提高很多,同时提高反应选择性和得率。李莉等^[16]对桑叶90℃烘干、粉碎过60目筛制得样品,采用超声-微波协同萃取法在单因素试验的基础上,通过正交实验的方法对影响桑叶总黄酮的提取效果进行了研究。

作者简介:贺伟强(1979-),男,河南新郑人,硕士,讲师,现主要从事蚕桑副产品的开发利用等研究工作。E-mail:hwq2005003@163.com.

基金项目:嘉兴市科技计划资助项目(2010AY1011)。

收稿日期:2012-06-31

发现在 400 W,液料比 10:1,用 65%的乙醇溶液提取 12 min,桑叶总黄酮的含量可达 3.07%。与传统的超声波提取法比较,提取时间由 45 min 缩短至 12 min,黄酮类化合物的提取率增加了 2.4 倍。廖森泰等^[17]在单因素试验的基础上,采用 Box-Behnken 响应面法优化了超声-微波协同萃取法的工艺条件:超声-微波功率为 280 W,提取时间为 137 s,质量浓度比为 1:28,提取次数为 2 次,桑叶黄酮的提取率为 2.2470%。

1.4 浸提法

桑叶黄酮类化合物的提取一般采用浸提法,浸提溶剂使用一定浓度的乙醇溶液。浸提法具有操作简便,便于规模化生产的优点。章华伟等^[18]将桑叶晾干后粉碎过 20 目筛作为样品,采用浸提法在单因素试验的基础上考察了乙醇体积分数、提取温度、液料比和提取时间对桑叶黄酮提取效果的影响,采用响应面法优化了提取桑叶黄酮的工艺条件,结果表明,乙醇体积分数 71.57%、液料比 23.2:1、提取温度为 67.1℃、提取时间 150 min、提取 2 次后桑叶黄酮得率为 2.37%。

2 桑叶黄酮的药理作用

2.1 降血糖作用

餐后高血糖是糖尿病患者的重要特征,能否控制餐后高血糖是衡量降糖药的重要指标之一。桑叶作为一种中药,自古就有治疗糖尿病的记载。现代药理研究证明,桑叶中存在多糖、黄酮和生物碱等降血糖活性成分^[19-20]。而桑叶黄酮类成分作为糖苷酶的一种抑制剂,它会阻碍麦芽糖和蔗糖等二糖与 α -糖苷酶的结合,结果就抑制了二糖水解成葡萄糖而直接被送入大肠,进入血液中的葡萄糖减少,因而降低了餐后的血糖值。薛长勇等^[21]使用 HP-20 吸附树脂从桑叶提取物中分离纯化得到桑叶总黄酮,通过体外试验证实了桑叶总黄酮具有抑制 α -糖苷酶活性的功效,HP-20 吸附黄酮对 α -糖苷酶活性的抑制效果强于市售糖苷酶抑制剂阿卡波糖。通过对小鼠的体内糖耐量试验证明桑叶总黄酮能够抑制给予淀粉和蔗糖 1 h 后血糖的升高。

陈玲玲等^[22]从桑叶中提取、纯化得到桑叶黄酮,通过对四氧嘧啶糖尿病小鼠模型灌胃试验来研究桑叶黄酮对糖尿病小鼠调节血糖的作用机制,试验证明,桑叶黄酮通过提高肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性、降低血清丙二醛(MDA)含量而提高糖尿病小鼠的抗氧化能力,同时还能够修复胰岛 β -细胞,促进胰岛素的分泌,加快葡萄糖糖氧化分解。苏言辉等^[23]研究了桑叶黄酮对Ⅱ型糖尿病胰岛素抵抗大鼠的氧化应激作用,发现桑叶黄酮具有清除体内活性氧(Reactive oxygen species,ROS)的作用,而 ROS 直接参与了Ⅱ型糖尿病并发症的产生。由此可见,桑叶黄酮可以通过清除体内自由基,增强机体抗氧化能力来减轻氧化应激对胰岛细胞和肝脏的损伤,抑制或减缓糖尿病并发症的产生^[24]。

2.2 降血脂作用

高血脂症是指血浆胆固醇、甘油三酯和总脂等血脂成分的浓度超过正常标准,高血脂症是导致动脉粥样硬化、冠心病等心血管疾病发生的重要危险因素^[25]。现代药理学研究发现,黄酮类物质通过清除体内自由基、螯合金属离子,影响相关酶活性等方式抑制低密度脂蛋白(LDL)氧化,从而预防动脉粥样硬化(AS)的发生。

李向荣等^[26]从桑叶中分离得到纯度为 58.2%的桑叶总黄酮,对饲喂高脂饲料建立的高脂血症大鼠模型进行试验。桑叶总黄酮按照低、中、高(5、10 和 20 mg/kg)的剂量对高脂血症大鼠模型进行灌胃,每天 1 次,连续 28 d。结果表明,桑叶黄酮能剂量依赖性地抑制诱导小鼠血清中甘油三酯、总胆固醇和高密度脂蛋白的升高,同时升高血清中高密度脂蛋白和低密度脂蛋白的比值。江正菊纯化得到 50%的桑叶总黄酮,通过对高脂诱导大鼠灌胃试验来研究桑叶总黄酮对高血脂的早期防治作用,采用高脂饲料喂养的同时灌注桑叶总黄酮,灌胃 4 周后发现,桑叶总黄酮能使动脉粥样硬化指数(TC/HDL-C)显著降低,并能显著提高血清中超氧化物歧化酶(SOD)的活性,降低血清中丙二醛(MDA)的含量。表明桑叶总黄酮可以防治高脂血症所引起的心血管疾病^[26]。

2.3 抗氧化作用

黄酮类化合物具有多种生理活性,其中最重要的是其减少自由基和清除自由基的抗氧化作用。不仅能清除体内氧自由基,还能清除酶类所不能清除的羟自由基和脂类有机自由基。医学研究证明,这些自由基在人体内含量过多会引起细胞和组织损伤,可直接损伤各种生物大分子和生物膜,导致诸如心脑血管疾病、糖尿病、癌症等疾病的发生。桑叶黄酮类化合物作为天然的抗氧化剂,使其在食品工业中得以开发应用具有重要意义^[27-28]。

潘剑用等^[29]研究了桑叶黄酮体外清除自由基的试验,取夏季桑叶烘干后采用热水提取法提取桑叶黄酮。测定了桑叶黄酮对 3 种氧中心自由基:羟自由基($\text{OH}\cdot$)、超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)和单线态氧($^1\text{O}_2$)的清除活性,研究发现,夏桑叶提取液中的黄酮含量对 3 种氧中心自由基的清除能力呈现极显著的正相关。李向荣等^[30]对糖尿病大鼠灌胃桑叶总黄酮 8 g/kg 4 周后,大鼠血清过氧化脂质(LPO)含量明显降低,血浆超氧化物歧化酶(SOD)活性明显上升。

3 总结与展望

超声和微波辅助提取法相对于传统的浸提法具有快速、高效且无污染的特点,但是初提的黄酮类成分并不纯,真正实现桑叶黄酮的产业化还需要对其进行分离纯化。桑叶中黄酮类成分的提取溶剂一般使用乙醇溶液,桑叶的乙醇提取物中含有大量的色素和脂类物质,

这对黄酮的测定造成一定的干扰,造成测定值不稳定而且偏高^[32]。由于黄酮类化合物的极性一般较强,因此可以用水作为溶剂进行提取,与乙醇溶液提取相比较,水提取法具有成本低、无毒环保的优点。

桑叶作为一种具有药食两用的资源,在我国种植面积较广。但是近年来随着工业经济的发展,桑树种植面积不断减少,农民栽桑养蚕的经济效益逐渐下滑。因此,作为一种极有潜力的天然降血糖、降血脂和抗氧化剂资源,以桑叶为原料探寻新型、高附加值的应用领域,研制开发高效、低毒、价廉的保健食品或药品,对提升当地蚕桑业的综合经济效益和抗风险能力,创造蚕桑业新的经济增长点具有重要意义。

参考文献

- [1] 原爱红,黄哲,马骏,等.桑叶黄酮的提取及其降糖作用的研究[J].中草药,2004,35(11):1242-1243.
- [2] 张军,檀华蓉,穆莉,等.采用高效毛细管电泳法建立不同桑品种桑叶黄酮类化合物指纹图谱的实验[J].蚕业科学,2008,34(1):119-123.
- [3] 欧阳臻,陈钧.桑叶的化学成分及其药理作用研究进展[J].江苏大学学报,2003,24(6):39-44.
- [4] 陈月红,王建平,蒋海强.正交实验设计优化桑叶总黄酮类提取工艺[J].食品与药品,2008,10(3):17-20.
- [5] Kim S Y. Antioxidative Flavonoids from the leaves of *Morus alba* L[J]. Chem Pharm Bull,2001,49(2):151-153.
- [6] 杨燕,王洪庆,陈若芸.桑叶中的黄酮类化合物[J].药学报,2010,45(1):77-81.
- [7] Kayo Doi. Studies on the constituent of the leaves of *Morus alba* L[J]. Chem Pharm Bull,2001,49(2):151-153.
- [8] 张雁冰,王克让,刘宏民,等.马桑叶中黄酮类化合物的分离提取及结构鉴定[J].中草药,2006,37(3):341-343.
- [9] Takuya K, Naoto I, Yasuhiro K, et al. Antioxidant flavonolglycoside-sinmul berry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LD Lantioxidant activity [J]. Food Chemistry,2006,97:25-31.
- [10] Vilku R, Mawson L, Simons D. Application and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-Areview[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies,2008(9):161-169.
- [11] Wang J, Sun B, Cao Y, et al. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran[J]. Food Chemistry,2008,106:804-810.
- [12] 马金秋,李丹,马向前,等.桑叶总黄酮的提取纯化工艺研究[J].中国药房,2010,21(23):2142-2144.
- [13] 金时,杨梅,孔羽,等.木豆叶中黄酮微波提取工艺研究[J].中草药,2011,42(11):2235-2239.
- [14] 傅荣杰,冯怡.微波萃取技术在天然产物提取中的应用[J].中国中药杂志,2003,28(9):804-807.
- [15] 陈菁菁,李向荣.微波萃取法提取桑叶和桑白皮的黄酮类成分[J].中药材,2006,29(10):1090-1092.
- [16] 李莉,颜杰,张承红.超声-微波协同萃取桑叶总黄酮的工艺研究[J].安徽农业科学,2010,38(17):9208-9210.
- [17] 廖森泰,肖更生.桑树活性物质研究[M].北京:中国农业科学技术出版社,2012:92.
- [18] 章华伟,陈星宇,凌春英.响应曲面优化醇法提取桑叶黄酮工艺研究[J].氨基酸和生物资源,2010,34(3):76-79.
- [19] 孙莲,孟磊,阎超,等.桑叶的降血糖活性成分和药理作用[J].中草药,2002,33(5):471-473.
- [20] 玄光善,潘士佳,南姬.桑叶有效成分降糖作用研究[J].食品科学,2011,32(7):323-326.
- [21] 薛长勇,刘英华,张荣欣,等.桑叶黄酮对 α -糖苷酶活性的影响[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,2(21):4191-4193.
- [22] 陈玲玲,刘炜,吕志强,等.桑叶黄酮对糖尿病小鼠调节血糖的作用机制研究[J].中国临床药理学杂志,2010,26(11):835-838.
- [23] 苏言辉,祝红梅,夏道曼,等.桑叶黄酮对胰岛素抵抗大鼠氧化应激影响[J].中国公共卫生,2011,27(10):1225-1226.
- [24] Downs J R, Clearfield M, Whitney E, et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels[J]. JAMA,1998,279(20):1659-1661.
- [25] 李向荣,陈菁菁,刘晓光.桑叶总黄酮对高脂血症动物的降血脂效应[J].中国药理学杂志,2009,44(21):1630-1633.
- [26] 江正菊,宁林玲,胡霞敏,等.桑叶总黄酮对高脂诱导大鼠高血脂及高血糖的影响[J].中药材,2011,34(1):108-111.
- [27] 王芳,励建荣,蒋跃明.桑叶黄酮的提取纯化及对油脂抗氧化活性的研究[J].中国粮油学报,2006,21(4):106-111.
- [28] 张雁冰,戴桂馥,侯立芬,等.马桑叶中黄酮类化合物的生物活性研究[J].郑州大学学报(理学版),2009,41(4):62-66.
- [29] 潘剑用,汪志平,党江波,等.夏桑叶的体外抗氧化活性及其主要功能成分研究[J].核农学报,2011,25(4):754-759.
- [30] 李向荣,方晓,俞灵莺,等.桑叶黄酮抗氧化及抑制蛋白糖基化作用[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2005,31(2):203-206.
- [31] 康旭珍.差示分光光度法测定桑叶总黄酮含量[J].光谱实验室,2005,22(3):505-508.

Research Advances on the Extraction Technology and Pharmacological Function of the Flavonoids from Mulberry Leaves

HE Wei-qiang

(Jiaxing Vocational Technical College, Jiaxing, Zhejiang 314036)

Abstract: Flavonoids are the main active ingredient in mulberry leaves. The recent extraction technology of flavonoids from mulberry leaves including the ultrasonic - assisted extraction, microwave - assisted extraction, ultrasonic - microwave synergistic extraction and ethanol extraction were reviewed. The recent pharmacological function such as bringing down blood sugar, lipid-regulation function and antioxidant activity were summarized, and the future research direction was also discussed.

Key words: flavonoids of mulberry leaves; extraction technology; pharmacological effect