

桑枝活性成分提取及药理作用研究进展[△]

邢冬杰^{*}, 项东宇, 张彩坤

(山东中医药高等专科学校, 山东 烟台 264199)

[摘要] 现代研究表明桑枝具有抗氧化、抗炎、降脂、降糖、抗癌、降压等作用。笔者就当前桑枝化学成分、成分提取、药理作用作一综述, 为桑树资源进一步的研究和开发提供依据。

[关键词] 桑枝; 药理作用; 研究进展

A Review of the Ramulus mori on Its Chemical and Pharmacological Studies

XING Dongjie^{*}, XIANG Dongyu, ZHANG Caikun

(Shandong college of Traditional Chinese medicine, Yantai 264199, China)

[Abstract] Studies on pharmacological effects of *Ramulus mori* concluded that the herbals or the extracts of *R. mori* have effects on antioxidant and anti-inflammatory, lipid-lowering, hypoglycemic, anti-cancer and anti-hypertensive. In this paper, we review the chemical composition, and pharmacological of *Morus alba*. And it will be meaningful for the further study of *Morus alba*.

[Key words] *Ramulus mori*; Pharmacological effects; Research progress

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2014.11.019

桑枝是桑科植物桑 *Morus alba* L. 的干燥嫩枝, 性平, 味微苦。归肝经。桑枝的药理作用在我国很早就有医书记载, 如《本草撮要》记载: “桑枝, 功专去风湿拘挛”, 《本草图经》记载: “桑枝疗遍体风痒干燥, 兼疗口干”。目前桑枝在临床多应用于关节肿痛、手足麻木等疾病。现代研究表明桑枝具有抗氧化、抗炎、降脂、降糖等作用^[1-2]。笔者就桑枝化学成分、成分提取、药理作用作一综述, 为桑树资源进一步的研究和开发提供参考。

1 桑枝的化学成分

桑枝所含化学成分种类较多, 主要有黄酮类化合物、多糖类化合物、生物碱和氨基酸, 此外还有一些挥发油、鞣质、琥珀酸、腺嘌呤、多种维生素等^[3]。黄酮类化合物主要包括桑素、桑色烯、环桑素、环桑色烯等; 多糖类化合物主要包括鼠李糖、阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖^[4]; 生物碱和氨基酸类

包括1-脱氧野尻霉素(1-deoxynojirimycin, DNJ)、*N*-methyl-1-deoxynojirimycin、fago-mine、4-*O*- β -*D*-glucopyranosylfagomine、 γ -氨基丁酸和 *L*-天门冬氨酸^[5]。

2 桑枝中主要活性成分的提取

2.1 黄酮类化合物

陈建明等^[6]以分光光度法测定桑枝总黄酮, 正交试验法对桑枝总黄酮超声提取工艺进行研究, 确定最佳工艺条件为乙醇浓度80%, 料液比1:8, 超声提取3次, 每次提取时间20 min, 桑枝总黄酮平均含量为0.719%。而在对桑枝皮的黄酮提取研究中, 确定桑枝皮总黄酮提取的最佳工艺条件: 提取温度为80℃, 原料质量浓度为33 g·L⁻¹, 乙醇体积分数为70%, 提取时间为120 min, 在此条件下, 桑枝皮总黄酮的提取率可达1.01%^[7]。

2.2 桑枝多糖

王佩香等^[4]研究了桑枝多糖的提取, 将桑枝烘

[△][基金项目] 山东省中医药科技发展计划项目(2009-271)

^{*}[通信作者] 邢冬杰, 讲师, 研究方向: 糖尿病及其并发症的治疗; Tel: (0535)2765121, E-mail: sddjdyx@163.com

干, 粉碎成末, 加10倍的蒸馏水, 90℃提取3次, 合并提取液, 减压浓缩后, 加入4倍体积的95%乙醇, 静置过夜, 离心、过滤, 即得桑枝粗多糖。三氯乙酸法脱蛋白、透析、冷冻干燥, 经DEAE-52纤维素柱层析, 依次用水、0.02~0.5 mol·L⁻¹的氯化钠(NaCl)溶液洗脱, 分别收集洗脱液, 以改良的苯酚-硫酸法跟踪检测, 根据洗脱曲线收集尖峰部分, 分别取0.06 mol·L⁻¹和0.2 mol·L⁻¹的NaCl溶液洗脱部分, 蒸馏水透析2 d, 冷冻干燥, 再经Sephadex G-100柱层析, 0.1 mol·L⁻¹的NaCl洗脱, 以改良的苯酚-硫酸法跟踪检测, 根据洗脱曲线收集尖峰部分, 透析, 冷冻干燥, 得到精制桑枝多糖。

2.3 生物碱和氨基酸

周炎等^[8]研究了桑枝中脱氧野尻霉素(DNJ)的提取, 将桑枝粉碎, 80%乙醇作为提取剂, 60℃提取2 h, 提取液通过阳离子交换树脂, 以0.25 mol·L⁻¹的氨水洗脱, 流速控制在1~2 mL·min⁻¹, 洗脱液经正丁醇萃取, 浓缩、干燥后得到成品。此为桑枝中DNJ的最佳提取条件, 提取率达0.176%。

陈震等^[5]研究了桑枝水提取物化学成分, 将桑枝切片, 用去离子水回流提取3次, 提取液合并后浓缩, 加入等体积乙醇, 离心除去沉淀, 上清液通过732离子交换树脂、0.5 mol·L⁻¹氨水洗脱, 收集Dragendorff试验阳性部分, 浓缩干燥得浸膏。浸膏经Amberlite CG-50离子交换树脂柱分离, 水洗脱部分分为4部分, 每部分分别选用Dowex 1×2离子交换树脂、Dowex 50W-×8离子交换树脂及CM Sephadex C-25柱层析分离纯化, 得4种多羟基生物碱及2个氨基酸。

3 桑枝药理作用

3.1 抗氧化作用

章丹丹等^[9]通过对桑枝总黄酮的直接抗氧化能力测定以及其对2种细胞炎症模型抗氧化活性的研究, 明确桑枝总黄酮于体外直接测定或干预细胞后均显示出抗氧化活性, 其作用机制侧重于自由基的清除。廖森泰等^[10]研究表明桑枝总黄酮含量越高, 抗氧化能力越强。张作法等^[11]通过液相色谱-电喷雾质谱联用法鉴定桑枝的主要抗氧化活性物质是氧化芪三酚, 定量分析显示桑枝中氧化芪三酚含量丰富。此外, 桑枝多糖可显著升高糖尿病模型小鼠的血清超氧化物歧化酶活性, 降低丙二醛含量, 具有清除自由基和抗脂质过氧化的能力^[12]。由此可见,

桑枝具有较强的抗氧化作用, 如桑枝的水提醇沉液对糖尿病小鼠脑缺血再灌注损伤具有保护作用, 即为其抗氧化作用的结果^[13]。

3.2 抗炎、镇痛作用

章丹丹等^[14-15]采用有机溶剂萃取和大孔吸附树脂富集的方法, 制备桑枝乙醇提取物不同萃取部位I~IV, 将各提取部位及不同部位组合分别作用于细胞后, 通过测定细胞亚硝酸盐的量、细胞活力、细胞抗氧化能力、炎症介质基因的表达、炎症介质蛋白的表达等指标, 对桑枝的抗炎有效部位及其组合的抗炎作用进行评价。确定桑枝提取部位I(总黄酮)和II(总皂苷)是其抗炎的活性部位, 通过下调致炎系统中诱生型一氧化氮合酶、环氧合酶-2、炎症介质白介素-1 β 和白介素-6的表达上调抗炎系统中血红素加氧酶和过氧化物酶增殖体受体的表达, 使细胞内环境趋向致炎和抗炎体系的平衡。部位I和II等配比组合对炎症中多个靶点均有较好的协同调控作用, 进而发挥更佳抗炎效果。

Guo等^[16]研究表明, 应用桑枝多糖对小鼠进行灌胃治疗后, 肾组织中白介素-6、干扰素- γ 和肿瘤坏死因子- α 水平下降, 病理切片显示小鼠肾损伤有效减轻, 白介素-1的蛋白质水平和白介素-1受体表达在肾组织中出现了明显下降, NF- κ B被抑制, 认为桑枝多糖的肾脏保护功能与阻断IL-1/NF- κ B通路从而减轻肾内炎症反应有关。

此外, 研究人员从桑枝中分离出一种桑皮苷A, 证明了该化合物能抑制细胞炎症模型中一氧化氮的产生和诱生型一氧化氮合酶的表达, 同时对角叉菜胶所致小鼠足浮肿具有显著的抗炎活性, 还能有效地缓解由福尔马林所引起的小鼠疼痛反应, 说明桑枝具有很好的抗炎、止痛作用^[17]。

3.3 降血脂作用

刘先明等^[18]用桑枝皮水醇提取物灌胃治疗急性高血脂症模型小鼠, 18 h后小鼠血清中的三酰甘油(Triglycerides, TG)含量水平得到显著抑制, 其中高剂量组(600 mg·kg⁻¹)小鼠血清中的TG含量下降36.6%, 胆固醇(Total Cholesterol, TC)、低密度脂蛋白(Low density lipoprotein, LDL-C)含量分别下降8.3%、18.3%, 高密度脂蛋白(High density lipoprotein cholesterol, HDL-C)含量升高9.3%, 同时小鼠血清的动脉粥样硬化指数的值、LDL-C与HDL-C的比值也明显下降。何雪梅等^[19]用桑枝60%

乙醇提取物对脂肪乳制备的高脂血症大鼠干预治疗4周,高、中、低剂量组均能显著降低高脂血症大鼠的TC、TG含量,其中高剂量组TC含量与正常对照组差异不显著,高、中、低剂量组桑枝提取物均能显著升高HDL-C含量,桑枝提取物高剂量组和中剂量组能显著降低血清中LDL-C含量。

3.4 降血糖作用

吴志平等^[1,20]用链脲佐菌素复制糖尿病小鼠模型,分别用桑叶、桑枝、桑白皮和桑皮的乙醇提取液灌胃治疗15d,发现桑枝的降血糖作用最为显著,并且进行了桑枝总黄酮类化合物的降血糖药理学试验研究,认为桑枝总黄酮是桑枝降血糖作用的有效部位。

还有研究显示^[12,21],桑枝多糖能显著降低链脲佐菌素+高脂高糖喂养制备的糖尿病模型小鼠的血糖浓度,与给药前相比,给药4周后桑枝多糖400 mg·kg⁻¹和600 mg·kg⁻¹组血糖浓度分别下降33.3%和29.9%;与模型组相比,桑枝多糖400 mg·kg⁻¹和600 mg·kg⁻¹组血糖浓度分别下降了40.4%和38.8%。其作用机制可能与其增强机体清除自由基和抗脂质过氧化能力、调节脂类物质代谢、增加肝糖原存储量、改善机体的胰岛素分泌及对胰岛素的增敏性等有关。

此外,桑枝中含有的DNJ可作为 α -葡萄糖苷酶抑制剂治疗糖尿病,桑枝皮层是桑树中DNJ含量最高部位之一^[22]。DNJ在小肠内能与 α -葡萄糖苷酶结合,且亲和性明显比麦芽糖、蔗糖等双糖高,因而可抑制双糖的分解,使糖分在肠道内的吸收量明显降低,可抑制餐后血糖升高,达到预防和治疗糖尿病的目的,其降糖机制是减缓小肠对多糖的消化及对葡萄糖的吸收^[23-24]。

3.5 抗病毒、抗肿瘤作用

在培养丙型肝炎病毒(Hepatitis c virus, HCV)感染细胞的培养基中加入DNJ后,HCV被迅速杀灭,表明DNJ及其衍生物是潜在的用于治疗病毒性丙型肝炎的药物^[25]。此外,Wang等^[26]以小鼠B-16肺黑色细胞肿瘤为模型,研究DNJ及其衍生物的抗肿瘤转移活性,结果表明DNJ能显著抑制肿瘤细胞的入侵、迁移和黏附,其机理可能与抑制基质金属蛋白酶-2和基质金属蛋白酶-9的活性以及增强金属蛋白酶组织抑制剂-2的核糖核酸表达有关。

3.6 免疫调节作用

通过二硝基氟苯诱导的迟发性超敏反应研究桑

枝多糖对小鼠细胞免疫功能的影响,同时通过溶血素生成试验研究桑枝多糖对小鼠体液免疫功能的影响。实验结果显示,桑枝多糖能显著抑制迟发性超敏反应小鼠的耳肿胀程度^[27]。另有实验通过给小鼠灌胃治疗7d,观察桑枝多糖对小鼠免疫器官重量、腹腔巨噬细胞吞噬功能、淋巴细胞转化率、血清溶血素含量、溶血空斑的影响,结果显示桑枝多糖可显著提高小鼠胸腺指数、脾脏指数、腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率与吞噬指数,显著促进淋巴细胞的转化以及血清溶血素和溶血空斑的形成^[28]。由此说明桑枝多糖具有增强细胞免疫功能、体液免疫功能和非特异性免疫功能的作用。

3.7 降血压作用

桑枝或桑根的皮煎剂口服有较好的降压效果,其降压成分可能为乙酰胆碱样物质。有研究认为^[3],这种降压成分为kuwanon G、H, sanggenon C、D和桑呋喃 C、F、G。

4 小结

桑枝药用历史悠久,近年来对其成分、提取工艺、药理作用等方面的研究正逐步深入,但天然活性成分中的部分组成和结构还不是十分明确。我国桑枝年产量巨大,但大都被作为废弃物烧掉,若能将其作为药材资源进行广泛研究、开发,对其合理利用具有深远意义。

参考文献

- [1] 吴志平,周巧霞,顾振纶,等. 桑树不同药用部位的降血糖效果比较[J]. 蚕业科学,2005,31(2):215-217.
- [2] Zhang Z F, Jin J, Shi L G. Antioxidant activity of the derivatives of polysaccharide extracted from a Chinese medical herb (Ramulus mori) [J]. Food Sci Technol Res, 2008,14(2):160-168.
- [3] 姜乃珍,薄铭,吴志平,等. 中药桑枝化学成分及药理活性研究进展[J]. 江苏蚕业,2006,27(2):4-7.
- [4] 王佩香,欧阳臻,张磊,等. 桑枝多糖的分离纯化及结构初步分析[J]. 中成药,2010,32(8):1382-1385.
- [5] 陈震,汪仁芸,朱丽莲,等. 桑枝水提取物化学成分的研究[J]. 中草药,2000,31(7):502-505.
- [6] 陈建明,陈彬,陈建真. 桑枝总黄酮的超声提取工艺研究[J]. 医学研究杂志,2010,39(5):105-106.
- [7] 周林,徐立,伍春,等. 桑枝皮总黄酮提取工艺条件的优化试验[J]. 蚕业科学,2010,36(3):491-495.
- [8] 周炎,刘朝良,朱保建,等. 桑枝中脱氧野尻霉素的提取及其降血糖效果的研究[J]. 激光生物学报,2009,17

- (5):625-629.
- [9] 章丹丹,高月红, Jessica Tao Li,等. 桑枝总黄酮的抗氧化活性研究[J]. 中成药,2011,33(6):943-946.
- [10] 廖森泰,何雪梅,邹宇晓,等. 广东桑枝条黄酮含量测定及抗氧化活性研究[J]. 北方蚕业,2005,26(3):37-41.
- [11] 张作法,时连根. 在线液相色谱法和液相色谱-电喷雾质谱联用法检测桑枝中抗氧化活性成分[J]. 中国中药杂志,2012,37(6):800-802.
- [12] 洪德志,时连根. 桑枝多糖对糖尿病模型小鼠的降血糖作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2012,26(6):806-809.
- [13] 韩蕾,黄卫,于滢,等. 桑枝对小鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中华中医药学刊,2012,30(9):1945-1947.
- [14] 章丹丹,凌霜,张洪平,等. 桑枝总黄酮体外抗炎活性及机制研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(11):2787-2790.
- [15] 章丹丹,唐宁,华晓东,等. 桑枝提取部位及其组合对巨噬细胞炎症介质的影响[J]. 中草药,2013,44(2):186-192.
- [16] Guo C, Liang T, He Q, et al. Renoprotective effect of ramulus mori polysaccharides on renal injury in STZ-diabetic mice [J]. Int J Biol Macromol, 2013, 62(11):720-725.
- [17] Zhang Z, Shi L. Anti-inflammatory and analgesic properties of cis-mulberroside A from Ramulus mori [J]. Fitoterapia, 2010,81(3):214-218.
- [18] 刘先明,李琳,王元净,等. 桑枝皮提取物对急性高脂血症小鼠血脂水平的影响[J]. 蚕业科学,2011,37(4):771-774.
- [19] 何雪梅,廖森泰,邹宇晓,等. 桑枝提取物对高脂血症大鼠的降血脂及抗氧化作用研究[J]. 天然产物研究与开发,2007,19(2):462-464.
- [20] 吴志平,顾振纶,谈建中,等. 桑枝总黄酮的降血糖作用[J]. 中草药,2005,(增刊):239-241.
- [21] Guo C, Li R, Zheng N, et al. Anti-diabetic effect of ramulus mori polysaccharides, isolated from Morus alba L, on STZ-diabetic mice through blocking inflammatory response and attenuating oxidative stress [J]. Int Immunopharmacol, 2013,16(1):93-99.
- [22] 刘卫旗,朱祥瑞. 桑树不同部位 DNJ 的含量分析[J]. 蚕桑通报,2006,37(4):31-34.
- [23] Li Y G, Ji D F, Zhong S, et al. 1-deoxyojirimycin inhibits glucose absorption and accelerates glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. Sci Rep, 2013, 20(3):1377.
- [24] 王晓梅,郑涛,魏莉方. 桑枝提取物对 α -葡萄糖苷酶的作用[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2012,14(2):1464-1467.
- [25] Timokhova A V, Bakinovskii L V, Zinin A I, et al. Affect of deoxyojirimycin derivatives on hepatitis C virus morphogenesis [J]. Mol Biol (Mosk), 2012, 46(4):644-653.
- [26] Wang R J, Yang C H, Hu M L. 1-Deoxyojirimycin inhibits metastasis of B16F10 melanoma cells by attenuating the activity and expression of matrix metalloproteinases-2 and-9 and altering cell surface glycosylation [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(16):8988-8993.
- [27] 游元元,万德光,杨文字,等. 四种桑类药材对小鼠免疫功能的影响[J]. 中药药理与临床,2008,24(3):83-84.
- [28] 洪德志,陈亚洁,蒋学,等. 桑枝水提取物对正常小鼠免疫功能的影响[J]. 蚕桑通报,2012,43(3):22-25.

(收稿日期 2014-02-19)