

桑叶不同化学成分的降血糖作用

徐健飞¹, 义祥辉¹, 陈全斌²

(1. 桂林师范高等专科学校, 广西 桂林 541002; 2. 广西师范大学 环境与资源学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 桑叶是一种重要的降血糖药用植物资源。以秋桑叶中提取的六种活性化学成分为材料, 研究了六种提取物对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠的降血糖效果。结果显示, 各提取物均有一定的降血糖作用, 其中以桑叶总多糖的功效最为显著, 桑叶生物碱及桑叶黄酮苷类效果次之。

关键词: 桑叶; 化学成分; 降血糖; HPLC

中图分类号: Q946.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2010)02-0284-03

Effect of different chemical compositions from mulberry leaf on decreasing glucose in blood

XU Jian-Fei¹, YI Xiang-Hui¹, CHEN Quan-Bin²

(1. *Guilin Teachers College, Guilin 541002, China*; 2. *Department of Natural Resources and Environment, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China*)

Abstract: Mulberry leaf is one kind of important medicinal plant resources for decreasing glucose in blood. Based on the six medical chemical compositions of mulberry leaf, the thesis studied their effect on lowering glucose in blood by testing on the Alloxan induction diabetes mice. The study showed that all these medical chemical compositions had the function of reducing glucose in blood, among which, mulberry leaf total polysaccharide was listed top 1 and the following was the mulberry leaf alkaloid and mulberry leaf flavanone glucoside class.

Key words: mulberry leaf; chemical composition; decreasing glucose in blood; HPLC

桑叶异名铁扇子, 为桑科桑属 (*Morus*) 植物桑 (*Morus alba*) 的叶子。本属植物在我国广泛分布, 以江浙养蚕地区为主。随其商用的快速发展与价值的体现, 促使东桑西移, 目前西部各省已有大规模种植。自古以来中医就以桑叶作为治疗消渴症的中药应用于临床, 近代也常用桑叶配伍于中药复方应用于临床, 均有获效 (江苏新医学院, 1997)。国家卫生部也将其列为药食两用品种 (中国医学科学院药物研究所, 1990)。现代药理研究证明桑叶可抑制血糖升高 (李向荣等, 2003; 吴志平等, 2005), 具有预防和治疗糖尿病的作用。本文运用 HPLC 法对桑叶的药用化学成分进行深度分离提取, 并与盐酸二甲双胍进行降血糖作用对比, 以探究桑叶活性生理物质

中的降血糖药用部位, 为桑叶药用提取及药理作用的深入研究提供依据。

1 实验材料与仪器

1.1 材料

2007年10月采集桂林甲山桑园多株桑树的叶片 (均采各部位新鲜成叶), 将桑叶置于烘箱中, 60℃ 恒温脱水 24 h, 冷却待用。实验动物: NIH 种小鼠, 体重 25~27 g, 雌雄兼用, 由广西中医药研究所动物室提供。

1.2 仪器

CP255D 型电子天平 (德国赛多利斯公司),

收稿日期: 2008-06-10 修回日期: 2009-07-25

基金项目: 广西教育厅科研基金 (2004-20) [Supported by Scientific Research Foundation of Education Department of Guangxi (2004-20)]

作者简介: 徐健飞 (1963-), 男, 广东广州市人, 副教授, 主要从事植物提取与分析的教学与科研工作

P200 II 型高效液相色谱仪(大连依利特), 722 型光栅分光光度计(上海分析仪器三厂)。主要药物和试剂: 盐酸二甲双胍(北京中惠药业有限公司产, 批号: 20040410); 四氧嘧啶(英国 BDH 公司产); 血清葡萄糖测定试剂盒(四川省迈克科技有限责任公司产, 批号: 040322)。

2 桑叶各化学成分的提取

2.1 总生物碱的提取

取桑叶 380 g, 以蒸馏水煮沸提取 3 次(李向荣等, 2003), 合并提取液, 进行离子交换, 用 0.5 mol/L 氨水溶液洗脱(在洗脱液 pH>9 时开始收集), 洗脱液减压浓缩, 用正丁醇 800 mL 萃取洗脱液, 萃取 3 次。合并萃取液, 减压浓缩, 挥干溶剂。得黑色粉末 A 2.30 g。用重量法(肖崇厚, 2006)测其含量, 桑叶总生物碱平均含量为 27.1%。

2.2 总多糖的提取

取桑叶 50 g 用沸水 1 000 mL 提取 3 次, 经过 D-101 大孔吸附树脂, 柱流液减压浓缩, 用 95% 的乙醇静置沉淀, 得粗总多糖(欧阳臻等, 2003)。用 Sevag 法脱蛋白: 将粗总多糖溶于 100 mL 水中, 用活性炭脱色, 过滤, 收集滤液置于分液漏斗, 加入氯仿: 正丁醇(4:1)400 mL, 分离弃去有机层及交界处的凝胶变性物质。重复直到水相部分与茚三酮反应为阴性。将水相部分浓缩, 用 95% 乙醇静置沉淀, 沉淀先乙醇后丙酮, 反复淋洗至淋洗液无色, 减压干燥(60℃), 得精制桑叶总多糖 B 1.52 g(白色无定形粉末)。用硫酸-蒽酮比色法测定, 桑叶精制多糖 B 的含量为 61.8%。

2.3 总黄酮苷的提取

取桑叶 1.5 kg, 沸水 15 L 煮 3 次, 每次 1 h, 合并提取液过滤, 滤液用 D-101 大孔吸附树脂吸附(80 mm×800 mm, 流速 10 mL/min), 至树脂吸附饱和; 先用蒸馏水洗涤至无色, 再用 80% 乙醇洗脱。洗脱液减压浓缩, 干燥得桑叶粗黄酮(唐孟成等, 1996)。粗黄酮用无水乙醇回流提取 3 次, 第一次 1 h, 第二、三次各 0.5 h, 合并提取液, 过滤, 滤液减压干燥得精制黄酮 C 43 g。经 HPLC 外标法定量, 计算标样中总黄酮含量为 27.3%。桑叶精制黄酮 C 含量分析(陈全斌等, 2006a)(图 1)。色谱条件: 填料: Hypersil C18; 流量: 1.00 mL/min; 流动相: 40% MeOH; 压力: 10.0 Mpa; 柱长: 250 mm; 检测波长:

220 nm; 柱径: 4.6 mm; 进样量: 10 μL。用 HPLC 法进行分离提取(陈全斌等, 2006b), 得 C1(槲皮素-3-O-β-葡萄糖苷)、C2(山奈酚-3-O-β-葡萄糖苷)、C3(其他)三个样品。

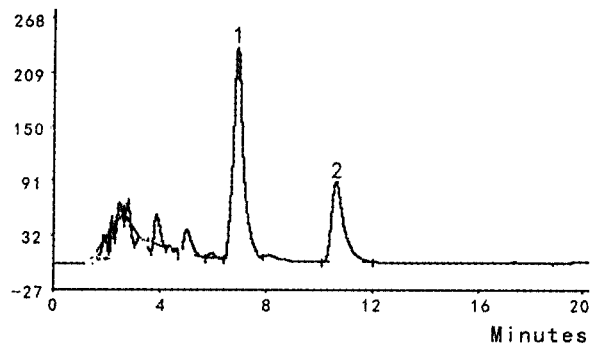


图 1 黄酮 C HPLC 图

Fig. 1 Flavanone C Chart HPLC

1: 槲皮素 Quercetin; 2: 山奈酚 Kaempferol

3 各化学成分降血糖药性研究

取“桑叶提取物 A(总生物碱)、B(总多糖)、C(总黄酮)、C1(槲皮素-3-O-β-葡萄糖苷)、C2(山奈酚-3-O-β-葡萄糖苷)、C3(其它)”等 6 个样品, 分别进行四氧嘧啶所致糖尿病小鼠降血糖作用的筛选实验, 以确定其有效部位。

3.1 样品处理

桑叶提取物 A、B、C、C1、C2、C3 样品, 称重分别为 2.0, 0.5, 6.0, 0.3, 0.6, 1.3 g。除了 C1 称取 200 mg 用 1% CMC 研磨配成 40 mL(100 mg/kg)混悬液外, 其余 A、B、C、C2、C3 样品均分别称取 400 mg 用 1% CMC 研磨配成 40 mL(200 mg/kg)混悬液供实验用。

3.2 各化学成分对四氧嘧啶糖尿病小鼠的影响

取体重 25~27 g NIH 种健康小鼠 90 只, 雌雄各半。除正常对照组 10 只小鼠外, 其余 80 只小鼠均从尾静脉注射糖尿病造剂四氧嘧啶(72 mg/kg), 72 h 后眼眶静脉丛取血, 按试剂盒方法预测血清葡萄糖水平, 选用血糖值在 16 mmol/L 以上者作研究(孙峰等, 2006; 方晓等, 1999)。小鼠分为正常对照组、模型对照组、阳性对照药盐酸二甲双胍(150 mg/kg)组、桑叶提取物 A、B、C、C1、C2、C3 组, 共 9 组。各组小鼠灌胃给药, 正常对照组和模型对照组给予等体积蒸馏水, 每天一次, 连续 7 d。于末次给

药后 1 h,从小鼠眼眶静脉丛取血,离心取血清,用临床试剂盒测定各组小鼠的血糖水平,所得数据作

组间 T 检验统计学处理(吴志平等,2005),根据其显著差异性评价药物的降血糖效果(表 1)。

表 1 桑叶提取物对四氧嘧啶高血糖小鼠降血糖效果的比较

Table 1 Comparison among the effect of different chemical compositions from mulberry leaf on lowering glucose in blood in alloxan mice ($X \pm s, n=10$)

实验分组 Experimental group	剂量 Dosage (g/kg)	血糖 Glucose in blood (mmol/L)		
		给药前 Before taking medicine	给药后 After taking medicine	血糖下降率(%) Glucose in blood descending rate
正常对照组 Uncontrolled group		5.62±0.89	5.98±0.96	79.49
模型对照组 Controlled group		32.97±3.42	29.17±4.28 ^{##}	—
二甲双胍对照组 Controlled group with two armor biguanide	0.15	32.97±7.17	21.13±5.78 ^{**}	27.56
A	0.20	30.10±7.86	25.97±2.83	10.97
B	0.20	31.71±4.56	22.01±9.67 [*]	24.54
C	0.20	29.91±6.22	26.71±3.07	8.43
C1	0.10	31.59±6.82	28.46±4.14	2.43
C2	0.20	31.82±5.41	26.61±3.43	8.77
C3	0.20	32.84±5.21	25.98±5.17	10.94

与正常组比较;^{###} $P < 0.001$;与模型组比较;^{*} $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。

比较桑叶六种提取物给药前后使小鼠的血糖值下降百分率,以桑叶总多糖(B)降血糖效果最理想,能明显抑制四氧嘧啶所致糖尿病小鼠的血糖升高,血糖下降率为 24.54%,与盐酸二甲双胍组的血糖下降率 27.56%相当,与模型对照组作 T 检验,具有显著差异性(^{*} $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$);提取物 A、C3 有一定程度的降血糖作用($P > 0.05$),C、C1、C2 作用不够明显。

4 结论

四氧嘧啶是一种胰岛 B 细胞毒剂,能引起动物实验性高血糖,使动物表现出与人相近的糖尿病症状,为糖尿病治疗药物的疗效研究的常用动物模型。本结果表明,桑叶总多糖(B)能明显拮抗四氧嘧啶所致的高血糖,与阳性药盐酸二甲双胍作用相当,对糖尿病高血糖症状有明显的抑制作用,因此,桑叶提取物 B(总多糖)值得采用其他实验模型做进一步的降糖作用研究;桑叶总生物碱 A 及精制黄酮 C3 还有待进一步分离以确定其降糖有效成分。

参考文献:

- 江苏新医学院. 1997. 中药大词典(下册)[M]. 上海:上海人民出版社:182
中国医学科学院药物研究所. 1990. 中药[M]. 北京:人民卫生出版社:362

- 肖崇厚. 2006. 中药化学[M]. 上海:上海科学技术出版社:246-247
Chen QB(陈全斌), Yang JX(杨建香), Yi XH(义祥辉), et al. 2006. Separation, purification and determination of flavone aglycones from *Momordica grosvenori* leaf(罗汉果叶中黄酮甙元的研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 26(2):217-220
Chen QB(陈全斌), Yang JX(杨建香), Cheng ZQ(程忠泉), et al. 2006. Separation, purification and identification of flavonol glycoside from *Momordica grosvenori* leaves(罗汉果叶黄酮甙的分离与结构鉴定)[J]. *Guangxi Sci*(广西科学), 13(1):35-36
Fang X(方晓), Li XR(李向荣), Chen WP(陈伟平), et al. 1999. 桑叶浸出液对糖尿病模型大鼠降血糖作用初步观察[J]. *Zhejiang Med J*(浙江医学), 21(4):218
Li XR(李向荣), Long YH(龙宇红), Fang X(方晓), et al. 2003. 桑叶提取液对实验性糖尿病大鼠血糖、LPO 含量及 SOD 水平的影响[J]. *Chin J Gerontol*(中国老年学杂志), 23:100-102
Ou YZ(欧阳臻), Li YH(李永辉), Su SL(宿树兰), et al. 2003. Determination of polysaccharide in leaves of *Morus alba*(桑叶多糖的含量测定)[J]. *Food Sci*(食物科学), 24(11):118-120
Sun F(孙峰), Zhang KC(张宽朝). 2006. Anti diabetic activity of *Aremisia argyi* polysaccharide on *Alloxan diabetic* mice(艾多糖对四氧嘧啶糖尿病小鼠的降血糖作用)[J]. *Chin Med Magazine China*(中国中医药杂志), 10(4):315-317
Tang MC(唐孟成), Jia ZS(贾之慎), Zhu XR(朱祥瑞), et al. 1996. Study on flavonoid content in mulberry leaves(春秋桑叶中黄酮类化合物总量及提取方法比较)[J]. *J Zhejiang Agric Univ*(浙江农业大学学报), 22(4):394-398
Wu ZP(吴志平), Zhou QX(周巧霞), Gu ZL(顾振纶), et al. 2005. Comparison of the effects of lowering blood glucose with different parts of *Morus*(桑树不同药用部位的降血糖作用比较研究)[J]. *Sci Sericulture*(蚕业科学), 31(2):215-217