

桑枝的研究概况

任贻军, 高逢喜 (华中科技大学同济医学院附属荆州医院药剂科, 湖北荆州 434020)

摘要 通过对近年来有关桑枝的炮制、鉴别、化学成分提取、药理及活性成分含量测定等相关文献进行整理, 对桑枝的研究概况进行了综述。桑枝的历史悠久, 作用广泛, 其研究对合理开发利用有效中医药资源意义重大。

关键词 桑枝; 炮制; 鉴别; 化学成分; 药理作用; 含量测定

中图分类号 S888 文献标识码 A 文章编号 0517 - 6611(2008) 28 - 12315 - 02

桑枝为桑科植物桑(*Morus alba* L.) 的嫩枝, 其药用历史悠久。桑枝所含化学成分种类较多, 主要有多糖、黄酮类化合物、香豆精类化合物、生物碱, 此外还含有挥发油、氨基酸、有机酸及各种维生素等。《中国药典》记载为祛风湿, 利关节的常用药, 用于治疗肩臂、关节酸痛麻木^[1]。临床多应用于关节肿痛、手足麻木、风湿痹痛、瘫痪等多种疾病。该文对近年来有关桑枝的炮制、鉴别、化学成分提取, 药理及活性成分含量测定等相关文献进行了整理, 以期为合理开发桑枝提供理论依据。

1 加工炮制

桑枝: 拣去杂质, 洗净, 用水浸泡, 润透后, 切厚片, 晒干。
炒桑枝: 取净桑枝片, 置锅内用文火加热, 炒至微黄色, 偶有焦斑时, 取出, 放凉。
酒桑枝: 取桑枝段用酒喷匀, 置锅内炒至微黄色, 放凉。

2 鉴别

2.1 性状鉴别 外观呈灰白色或灰黄色, 有多数浅棕色点状小皮孔及细纵纹, 有灰白色略呈半月形叶痕和棕黄色小芽, 有修枝痕, 饮片直径约1.0~2.5 cm, 横切面呈黄色, 外圈为较薄的皮层, 皮层与木质剥脱面均为黄白色或略深。髓部外边是棕色褐色木质部, 色度由深至浅^[2]。

2.2 茎横切面鉴别 桑枝周皮为数层木栓细胞。皮层为多层薄壁细胞, 内含淀粉粒及草酸钙方晶和棱晶。乳汁管随处散在, 壁微厚, 并呈波状弯曲, 内含微细粒分泌物。石细胞多成群, 部分胞腔内含方晶。韧皮部外侧有石细胞群断续排列成的环带。韧皮部可见韧皮纤维和乳管, 形成层明显, 木质部发达, 射线辐射状穿过木质部及韧皮部直达皮层。髓明显, 由大型的薄壁细胞组成, 排列疏松^[3]。

2.3 粉末鉴别 桑枝导管为缘纹孔, 纹孔椭圆至六角形, 排列紧密, 直径23~75 μm, 导管旁木薄壁细胞长方形, 直径15~23 μm, 孔沟明显。木栓细胞表面观呈多角形, 垂周壁厚者较平直, 薄者微弯曲。纤维多见, 甚长, 成束或单个散在, 多缠结, 直径8~33 μm; 壁厚, 非木化, 胞腔甚细, 孔沟不明显。木纤维成束, 常与木射线细胞连结, 呈长梭形, 末端尾尖, 直径12~20 μm。木射线细胞类长方形, 壁连珠状加厚, 纹孔较密。石细胞多成群, 淡黄色或黄色, 呈类圆形、椭圆形或类方形, 直径19~39 μm, 少数至74 μm, 壁厚6~20 μm, 孔沟明显, 胞腔细小。草酸钙方晶存在于厚壁细胞中或散在, 直径5~20 μm。含晶厚壁细胞与石细胞相似, 壁多厚薄不均, 腔内含草酸钙方晶1~2个。

作者简介 任贻军(1972-), 男, 湖北荆州人, 硕士, 主管药师, 执业药师, 从事药物分析及医院药学工作。

收稿日期 2008-07-14

2.4 薄层色谱鉴别 取样品粉末5 g, 加乙醇回流30 min, 滤过, 滤液浓缩至每ml含生药1 g, 供点样用。吸附剂: 硅胶H 10 ml/L CMCNa。展开剂: 氯仿-丙酮-水(7:3:1)。显色剂: 10 ml/L AlCl₃ 乙醇溶液。展开后, 取出, 晾干, 置365 nm的荧光灯下观察, 桑枝在R_f值0.22、0.50、0.82处均有蓝色斑点^[4]。

3 活性成分提取

3.1 桑枝多糖 取干燥桑枝饮片8 kg用60、40、40 L蒸馏水回流浸提3次, 每次2 h, 趁热过滤, 合并提取液, 浓缩至一定浓度后, 离心, 收集上清液, 除蛋白, 重复3~5次, 然后加入3倍量的95%乙醇, 低温静置6~10 h, 再减压抽滤, 收集沉淀, 分别用75%酒精、丙酮、乙醚洗涤2~3次, 干燥后即得粗多糖。粗多糖用蒸馏水溶解, 加入0.5%~1.0%的活性炭进行脱色, 60℃保持0.5 h, 待冷至室温后滤去活性炭和沉淀, 滤液装入透析袋中于流水透析3 d, 过滤去除沉淀, 上清液用乙醇沉淀、抽滤、洗涤、干燥, 得到灰白色粉末即精制多糖^[5]。

3.2 黄酮 将桑枝切碎, 用95%乙醇回流提取, 减压浓缩, 所得浸膏加水稀释, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 各部分萃取液过滤, 减压浓缩, 干燥后得3部分: 石油醚提取物(23.7 g)、乙酸乙酯提取物(37.5 g)、正丁醇提取物(19.3 g)。经薄层层析分析, 确定乙酸乙酯提取物和正丁醇提取物大部分组分为黄酮类物质^[6]。

3.3 生物碱和氨基酸 桑枝5 kg每次用10 L去离子水回流提取3次, 提取液合并后浓缩至5 L, 加入等体积乙醇, 离心除去沉淀, 上清液通过732(H⁺型)离子交换树脂, 0.5 ml/L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 250(NH₄⁺型)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(OH⁻型)离子交换树脂, Dowex 50W×8(H⁺型)离子交换树脂及CM Sphadex G 25(NH₄⁺型)柱层析分离纯化分得6个化合物, 分得4个多羟基生物碱及2个氨基酸, 它们分别被鉴定为: l-deoxyngjirinycin、N-methyl-l-deoxyngjirinycin、fagonine、4-O-D-glucopyranosyl-fagonine、G-氨基丁酸和L-天门冬氨酸^[7]。

4 药理作用

4.1 抗炎作用 桑枝95%乙醇提取物的乳剂能显著抑制二甲苯性小鼠耳肿胀、醋酸致小鼠腹腔血管内染料的渗出, 显著拮抗鸡蛋清致小鼠足跖肿胀和滤纸片所诱导的肉芽组织增生, 但试验结果表明并非其抗炎作用随剂量的增大而加强^[8]。桑枝对巴豆油致小鼠耳肿胀、角叉菜胶致足浮肿均有较强抑制作用, 并可抑制醋酸引起的小鼠腹腔液渗出, 表现出较强的抗炎活性^[9]。

4.2 降糖作用 在高糖环境中, 桑枝可使培养液中HepG2

细胞的葡萄糖消耗量增加,同时桑枝、桑白皮对胰岛素刺激的HepC2葡萄糖消耗有协同增强作用。促进外周组织特别是肝脏的葡萄糖代谢、提高肝细胞对胰岛素的敏感性可能是桑枝防治糖尿病作用的机理之一^[10]。叶菲等给四氧高血糖大鼠连续口服桑枝水提物15 d,发现其食物和水摄入量、空腹和非禁食血糖、血果糖氨及尿糖等高血糖综合症指标均明显降低,血脂得到调节,糖尿病肾病得到改善,说明桑枝可能对糖尿病及其并发症有一定的治疗作用^[11]。

4.3 降血脂 用水和95%乙醇为溶剂的桑枝提取产物给小鼠灌胃治疗后,小鼠体重的降低率分别为8.9%和15.0%;血清中的总胆固醇和甘油三酯水平均有差异,其中以95%乙醇作溶剂的桑枝提取产物使小鼠血清总胆固醇水平和甘油三酯水平与阳性组比较差异极显著^[12]。

4.4 提高机体免疫功能 应用2种免疫功能测试模型对桑枝增强小鼠自身的免疫功能进行试验观察,试验发现桑枝能显著加快小鼠网状内皮细胞对体内碳粒的吞噬速度,增强机体非特异性免疫功能,对2,4-二硝基氟苯所致的小鼠迟发型变态反应有明显的增强作用。表明桑枝对机体免疫功能有较强的增强作用^[5]。

5 含量测定

5.1 总黄酮 配制浓度为0.1075 ng/ml的芦丁储备液,准确吸取该溶液0.1.0.2.0.3.0.4.0.5.0 ml各置于10 ml容量瓶中,分别加入5%亚硝酸钠溶液0.3 ml,摇匀,放置6 min,再加入10%硝酸铝溶液0.3 ml,摇匀,放置6 min,加1 ml/L氢氧化铝溶液4 ml,然后分别用30%乙醇溶液稀释至刻度,摇匀,放置15 min,在510 nm处测定吸收度,以溶液浓度为横坐标,吸收度为纵坐标得回归方程: $C = 1.023A - 0.0024$, $r = 0.9997$ 。分别准确吸取各样品液1.0 ml,于10 ml容量瓶中,按上法操作测定各样品液的浓度,计算老、嫩、幼桑枝中总黄酮的含量,回收率为96.5%^[13]。

5.2 1-脱氧野尻霉素 采用9-苄基氯甲酸甲酯标记、配有荧光检测器的反相高效液相色谱法,色谱柱为DIAMONIC C18柱(4.60 mm×250 mm,5 μm),流动相为乙腈-0.1%醋酸(1:1),流速为1.0 ml/min,柱温为室温,检测波长为激发光254 nm与发射光322 nm,正交法考察反应温度、缓冲液pH值、反应时间3个因素对1-脱氧野尻霉素衍生化的影响。结果1-脱氧野尻霉素在3.6~36.0 ng/L内具有良好的线性关系($r = 0.9999$, $n = 5$),检测限为0.08 ng/L($S/N = 3$),平均回收率为99.2%,RSD为3.5%($n = 5$)^[14]。

5.3 多糖 准确称取过40目筛的干燥桑枝粉末约0.5 g,置于10 ml容量瓶中,加水适量,在95℃水温中超声提取30 min,过滤,洗涤滤渣多次,用水稀释至刻度。精密吸取样品溶液5.0 ml,置10 ml容量瓶中加水稀释至刻度。将稀释后的溶液精密吸取2.0 ml置25 ml具塞试管中,加入蒽酮-浓硫酸试剂4 ml,沸水浴中加热8 min,迅速冷却至室温,于620 nm处测定吸光度值,以外标法求多糖浓度,测得平均回收率为98.6%,RSD为1.4%^[15]。

5.4 槲皮素和山萘酚 先将桑枝中的黄酮类成分用甲醇-25%盐酸(4:1)混合液水解,采用高效液相色谱法测定桑枝中

的槲皮素和山萘酚,色谱柱为Shim-ODS(150 mm×4.6 mm,5 μm),流动相为甲醇-0.4%磷酸溶液(70:30),流速1 ml/min,检测波长368。槲皮素和山萘酚的线性范围分别为0.025~0.150 μg($r = 0.9999$),0.05~0.30 μg($r = 0.9998$),平均回收率分别为96.2%及95.3%^[16]。

5.5 白藜芦醇 以80%乙醇-丙酮为1:1的溶剂提取桑枝韧皮部和木质部的白藜芦醇,用高效液相色谱法测定其含量。结果显示干燥桑枝韧皮部中白藜芦醇的质量比为0.144 ng/g,在桑枝木质部没有检测到白藜芦醇^[17]。

5.6 桑色素 利用桑色素在经预阳极化处理的铂电极上的催化氧化和不可逆电对的双安培检测原理,建立流动注射双安培法直接检测桑色素的电化学新方法。使用经过恒电位预阳极化处理的铂电极,在外加电位差为0 V时,通过偶合桑色素在一支电极上的氧化和氧化铂在另一支电极上的还原2个不可逆电极过程,构成流动注射双安培检测体系。结果在缓冲液0.1 mol/L的NH₃·H₂O-NH₄Cl(pH=11.0)中,测得桑色素的氧化电流与其浓度在 $4.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-3}$ mol/L范围内呈线性关系($r = 0.9991$, $n = 14$)。检出限为 1.0×10^{-6} mol/L^[18]。

6 结语

桑枝药用历史悠久,药源广泛。近年来对其加工炮制、成分、药理作用、提取工艺等方面的研究逐渐深入,对合理开发利用中医药资源意义重大,但桑枝中天然活性成分中的部分组成和结构还不是十分明确,尚需进一步研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部)[Z]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 210.
- [2] 尤春华. 桑枝与其伪品——柳枝的鉴别[J]. 基层中药杂志, 1999, 13(3): 34.
- [3] 许国银, 宗鹏, 周建理. 桑枝与伪品枫杨、泡桐茎的鉴别[J]. 安徽中医学院学报, 2001, 20(4): 50-52.
- [4] 徐国钧. 中药材粉末显微鉴定[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 684-685.
- [5] 郭灏, 卢笑丛, 王有为. 桑枝多糖分离纯化及其免疫作用的初步研究[J]. 武汉植物学研究, 2005, 23(1): 81-84.
- [6] 王蓉, 卢笑丛, 王有为. 桑枝提取物及抗炎作用研究[J]. 武汉植物学研究, 2002, 20(6): 467-469.
- [7] 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): 502-503.
- [8] 刘明月, 牟英, 李善福, 等. 桑枝95%乙醇提取物抗炎作用的试验研究[J]. 山西中医学院学报, 2003, 4(2): 13-14.
- [9] 陈福君, 林一星, 许春泉, 等. 桑的药理研究-桑叶桑枝桑白皮抗炎药理作用的初步比较研究[J]. 沈阳药科大学学报, 1995, 64(3): 222-223.
- [10] 汪宁, 朱荃, 周义维. 桑枝、桑白皮体外降糖作用研究[J]. 中药药理与临床, 2005, 21(6): 35-36.
- [11] 叶菲, 申竹芳, 乔凤霞, 等. 中药桑枝提取物对大鼠糖尿病并发症的实验治疗作用[J]. 药学学报, 2002, 37(2): 108-112.
- [12] 吴娱明, 邹宇晓, 廖森泰, 等. 桑枝提取物对实验高血脂症小鼠的降血脂作用初步研究[J]. 蚕业科学, 2005, 31(3): 348-350.
- [13] 赵桂华, 马连珍, 刘和善, 等. 对桑枝的老嫩程度与黄酮含量关系的实验研究[J]. 基层中药杂志, 2001, 15(2): 22-23.
- [14] 张作法, 金洁, 时连根. 反相高效液相色谱法测定桑枝中1-脱氧野尻霉素的含量[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(7): 535-538.
- [15] 孙莲, 杨文菊, 王岩. 桑枝多糖的提取与含量测定[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(5): 1172-1173.
- [16] 孙莲, 严雷, 石晓呢, 等. RP-HPLC测定桑叶、桑枝和桑花中槲皮素和山萘酚的含量[J]. 药物分析杂志, 2005, 25(10): 1230-1233.
- [17] 朱祥瑞, 费建明, 杨逸文, 等. 桑椹和桑枝中白藜芦醇的提取及含量测定[J]. 蚕业科学, 2007, 33(1): 110-112.
- [18] 张君才. 桑枝中桑色素的双安培法在线测定[J]. 分析测试学报, 2006, 25(1): 112-114.