

用^[8], 研究发现, 一些植物的多糖也有清除 ROS 的作用^[9]。推测石斛清除 ROS 的作用也可能与其中的多糖成分有关。具体机制有待进一步研究。

References

- [1] Zhang J L, He J L. Development of researches on the pharmacological action of *Dendrobium* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11(5): 469-470.
- [2] Yang W M. About the generation and poisonous action of reactive oxygen species [J]. *Bull Biol* (生物学通报), 1994, 29(5): 14-15.
- [3] Ni L J, Jiang X P, Chen D H. The optimum preparation procedure for the extracting polyhexose contained in *Herba Dendrobii* [J]. *Straits Pharm J* (海峡药学), 2000, 12(4): 41-42.
- [4] Bauer V, Nakajima T, Pucovsky V, et al. Effects of superoxide generating systems on muscle tone, cholinergic and NANC responses in cat airway [J]. *J Auton Nerv Syst*, 2000, 79: 34-44.
- [5] Zhao B L, Li X J, He R G, et al. Scavenging effect of extracts of green tea and natural antioxidants on active oxygen radicals [J]. *Cell Biochem*, 1989, 14: 175.
- [6] Hu T X, Chen F, Chen K M, et al. *Fluorescence Analysis and Medicine* (荧光分析与医学) [M]. Shanghai East China Normal University Press, 1990.
- [7] Xu H, Liu J, Wang Z T, et al. The scavenging of reactive oxygen species by crude drugs and cultured tissues of five species of *Dendrobium* Sw. [J]. *J Plant Res Environ* (植物资源与环境学报), 2001, 10(2): 35-37.
- [8] Cao J H, Li H. Research advances of polysaccharides immunomodulation [J]. *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志), 1999, 20(2): 104-106.
- [9] Zhang L R, Zou G L, Yang T M. Studies on extraction of water-soluble polysaccharides and the function of cleaning oxygen free-radical function of *Ephedra* [J]. *Amino Acids Biol Resour* (氨基酸和生物资源), 2000, 22(3): 24-26.

桑叶黄酮的提取及其降糖作用的研究

原爱红¹, 黄哲², 马骏¹, 蒋晓峰¹, 孔宪涛², 李素^{1*}

(1. 同济大学附属同济医院 肾内科, 上海 200065; 2. 第二军医大学长征医院 临床免疫中心, 上海 200003)

桑叶始载于《神农本草经》, 为桑科植物 *Morus alba* L. 的干燥叶, 味苦、甘, 性寒, 归肺、肝经; 功能疏散风热、清肺润燥、清肝明目; 主治风热感冒、头昏头痛、目赤昏花等症。后代中医药书籍中有桑叶治疗消渴病的记载, 如《本草纲目》记载: 桑叶“煎汁代茗, 能止消渴”; “炙熟煎饮, 代茶止渴”。近代医家也常将桑叶用于治疗糖尿病且得到了满意的疗效。现代药理研究证实桑叶可抑制血糖的升高, 可预防和治疗糖尿病^[1]。桑叶中有很多成分如黄酮、生物碱、多糖、氨基酸、维生素和微量元素等^[2], 其中黄酮、多糖、生物碱是主要活性成分。本实验对桑叶总黄酮的提取、含量测定及其降糖作用进行了研究。

1 材料与仪器

桑叶购于上海童涵春药店, 由第二军医大学药学院生药教研室鉴定; AB-8 树脂购于南开大学化工厂; 芦丁(纯度 95%)、槲皮素(纯度 98%)和链脲霉素(STZ)购于 Sigma 公司; 拜唐苹购于拜耳医药保健有限公司, 其他试剂均为国产分析纯试剂; ICR 小鼠购于上海西尔普-必凯实验动物有限公司; 日本岛津 UV-2000 紫外-分光光度仪, 强生公司 Onethchi

血糖测定仪。

2 方法和结果

2.1 桑叶黄酮的提取: 称取桑叶 1 kg, 以 10 倍量水煎煮 2 h, 共 2 次, 合并煎液, 浓缩至一定体积, 离心去除沉淀, 上清液上大孔树脂柱。色谱柱用 AB-8 大孔树脂湿法填充, 用蒸馏水洗脱至无色后, 以 30%、50%、70%、90% 乙醇分别洗脱至无色并收集, 再将洗脱液低温浓缩, 真空干燥, 分别得样品 I ~ IV。

2.2 桑叶总黄酮的测定

2.2.1 对照品溶液的制备: 精密称取干燥至恒重的芦丁和槲皮素对照品各 4.1 mg 置 25 mL 量瓶中, 加入 60% 乙醇使之溶解, 并稀释至刻度, 摇匀。取 15 mL 溶液置 25 mL 量瓶中, 加入 60% 乙醇再稀释至刻度, 摇匀备用(最终质量浓度为 0.098 mg/mL)。

2.2.2 标准曲线的制备: 精密吸取芦丁、槲皮素对照品溶液 0.01、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 加入 5% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL, 摇匀后放置 6 min; 加入 10% 亚硝酸钠溶液 0.3 mL, 摇匀后放置 6 min; 加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液 4 mL 并加入 60% 乙醇稀释至 10 mL, 摇匀, 放置 15

* 收稿日期: 2004-02-28

基金项目: 上海市卫生局中医药科研基金(2002Q003)

作者简介: 原爱红(1971—), 女, 山西太原人, 副主任医师, 副教授, 博士, 1999—2001 年在第二军医大学附属长征医院肾内科解放军肾脏病中心作博士后, 主要从事糖尿病及其原发性、继发性肾脏病的中西医结合防治研究。

Tel: (021) 56051080 Fax: (021) 56050502 E-mail: aihongyuan@hotmail.com

min, 于 510 nm 测定吸光度。以质量浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标, 得回归芦丁标准曲线为 $Y = 1.0254X - 0.0103$, $R^2 = 0.9999$ 。槲皮素标准曲线为 $Y = 0.657X + 0.0035$, $R^2 = 0.9986$ 。

2.2.3 测定: 分别准确吸取样品 I ~ IV 溶液 1.0 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 按上述方法测定吸光度值, 代入标准方程计算芦丁和槲皮素含量。结果见表 1。样品 I 和 II 中的槲皮素质量分数占总量的 40% ~ 50%, 而样品 III 和 IV 中黄酮量只占总量的 20% ~ 30%。

表 1 桑叶黄酮的测定结果

Table 1 Determination of total flavone in <i>M. alba</i>			
样 品	得率/%	芦丁/%	槲皮素/%
I	1.170	31.70	50.39
II	0.550	24.89	42.61
III	0.098	14.27	17.12
IV	0.030	12.72	14.22

2.3 桑叶总黄酮对正常小鼠及糖尿病小鼠糖耐量的影响

2.3.1 正常小鼠糖耐量试验: ICR 小鼠适应性饲养 2~3 d, 空腹 20 h。小鼠分为空腹组、对照组、拜唐苹组、样品组。空白对照组 ig 0.5 mL 生理盐水, 对照组 ig 2.5 g/kg 淀粉的同时 ig 0.5 mL 生理盐水; 拜唐苹组 ig 2.5 g/kg 淀粉的同时 ig 0.5 mL 预先配制的 10 mg/kg 拜唐苹溶液。样品组 ig 2.5 g/kg 淀粉的同时 ig 0.5 mL 预先配制的 100 mg/kg 的样品溶液。30 min 后, 眼眶静脉取血, 用血糖仪测血糖值, 结果见表 2。

表 2 桑叶提取物对 ICR 小鼠糖耐量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Influence of mulberry leaf extract on glucose tolerance in ICR mice

组 别	血糖/(mmol · L ⁻¹)	
	正常小鼠	STZ 小鼠
空腹组	3.50 ± 0.21	11.50 ± 0.34
模型组	10.50 ± 0.55	25.60 ± 1.34
拜唐苹组	5.30 ± 0.12	14.30 ± 1.23**
样品 I	7.84 ± 0.17**	18.60 ± 1.33**
样品 II	6.78 ± 0.56**	15.20 ± 2.12**

与模型组相比 ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs model group

2.3.2 STZ 诱导的小鼠糖耐量试验: ICR 小鼠适应性饲养 2~3 d, 空腹 20 h。腹腔注射 STZ 200 mg/kg (pH 值 4.5 的柠檬酸缓冲液配置), 3 d 后, 取血测定血糖大于 11 mmol/L 者入选实验。注射 STZ 一周后可进行实验, 分组与实验方法同 2.3.1。30 min 后, 取血, 测血糖值。实验数据统计采用配对 t 检验, 结果见表 2。实验结果表明样品 I 和 II 有明显的降血糖作用。桑叶提取样品 I 和 II 给药后血糖值

均低于模型组, 影响差异显著 ($P < 0.01$), 说明样品 I 和 II 可延缓淀粉吸收的速度, 降低正常或糖尿病小鼠餐后血糖的升高。

3 讨论

很多研究证实桑叶降血糖作用与其黄酮、生物碱、多糖成分密切相关。俞灵莺等^[3]报道桑叶总黄酮抑制大鼠小肠双糖酶活性, 有显著的降血糖作用; 桑叶中生物碱是以 1-脱氧野尻霉素 (1-deoxy- nojirimycin) 为主的多种多羟基生物碱, 具有很强的 α -糖苷酶抑制剂活性, 体内研究表明其具有显著的降血糖效果^[4,5]; 桑叶多糖是另一个受关注的活性成分, 陈福君等^[6]报道桑叶总多糖明显降低四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠的血糖水平, 可提高正常大鼠胰岛素水平。为了进一步明确桑叶的降糖作用, 本研究以大孔树脂柱色谱法对桑叶水提物按不同极性溶剂进行分离, 以芦丁和槲皮素为对照检测了黄酮含量, 并通过动物实验探讨了各分离组份的降糖效果以及与黄酮含量之间的关系。结果表明 30% 乙醇和 50% 乙醇洗脱组份中黄酮含量较高, 而且 30% 乙醇和 50% 乙醇洗脱组份中黄酮降糖效果与空腹组、模型组比较差异有显著性, 而 50% 乙醇洗脱组份与 30% 乙醇洗脱组份降糖效果比较, 两组无统计学差异。说明桑叶中黄酮属极性大, 结构与槲皮素和芦丁类似, 桑叶降糖效果与这类黄酮有关。究竟哪一类黄酮通过什么途径降低血糖升高, 有待于进一步深入探讨。

References

- [1] Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College. *Recond of Chinese Materia Medica* (中药志) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1960.
- [2] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1997.
- [3] Yu L Y, Li X R, Fang X. Inhibitory effect of total flavonoids from mulberry tree leaf on small intestine disaccharidases in diabetic rats [J]. *Chin J Endocrinol Metab* (中华内分泌代谢志), 2002, 18(4): 313-315.
- [4] Kimura M, Chen F J, Nakashima N, et al. Antihyperglycemic effect of N-containing sugars derived from mulberry leaves in streptozocin-induced diabetic mice [J]. *J Tradit Chin Med* (中医杂志), 1995, 12: 214-219.
- [5] Nojima H, Kimura I, Chen F J, et al. Antihyperglycemic effect of N-containing sugars from *Xanthocercis zambesiaca*, *Morus bombycis*, *Aglanion treubii*, and *Castanopsis australe* in streptozotocin-diabetic mice [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(3): 397-400.
- [6] Chen F J, Lu J, Zhang Y Y. Pharmacological studies on *Morus* (I): Effect of total polysaccharide of morus on carbohydrate metabolism in diabetic mice [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 1996, 13(1): 24-27.