

僵蚕化学成分和药理活性的研究进展^Δ

徐冲*, 商思阳, 刘梅, 杨敏[#](重庆市中医院/重庆市中医研究院/古验方与中药制剂研究所, 重庆400021)

中图分类号 R931.7;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)39-3732-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.39.29

摘要 目的:为进一步开发僵蚕的药用价值提供参考。方法:以僵蚕、*Bombyx Batryticatus*、*Bombycis corpus* 和 *stiff silkworm* 为关键词,查阅1990—2014年中国知网和PubMed数据库,对其化学成分和药理作用的相关文献进行检索、分类和整理。结果:在已知僵蚕成分的基础上还发现了多种活性成分及相应的药理作用,药效机制也更为明确。结论:本研究可为拓宽僵蚕的药用范围,完善其后量标准打开思路。

关键词 僵蚕;化学成分;药理活性

僵蚕为蚕蛾科昆虫僵蚕 *Bombyx mori* Linnaeus 4~5龄的幼虫感染(或人工接种)白僵菌 *beauveria bassiana* (bals.) Vuillant 而致死的干燥体,始载于《神农本草经》,应用历史悠久,具有息风止痉、祛风止痛、化痰散结等功效。据统计,9.6%的成人用药含僵蚕,而儿童用药中含僵蚕的比例则高达45.3%,体现其药用价值高且应用广泛^[1]。但是,《中国药典》仍未明确记载僵蚕的药效成分,其质量标准亟待完善。本文就僵蚕的化学成分和药理活性的现状作一综述,为进一步开发其药用价值和完善其质量控制提供参考。

1 化学成分

当前,国内外研究人员已经从僵蚕中发现了多种化学成分,主要有蛋白质、多肽、氨基酸、核苷、挥发油、有机酸和衍生物、甾体、香豆素、黄酮、多糖、微量元素等。

1.1 蛋白质、多肽、氨基酸

僵蚕中蛋白质类含量高,成分复杂。李冬生等^[2]测定白僵蚕中的蛋白质含量为64.73%;赵建国等^[3]以薄层色谱法对僵蚕中所含蛋白质和氨基酸进行分离鉴别,发现有15种氨基酸和多种蛋白质成分。

僵蚕感染的白僵菌素在生长过程中能分泌毒素,具有阳离子络合特性,是僵蚕具有代表性的有效成分之一。白僵菌素为环状三羧酸肽,由Hamil首次从球孢白僵菌的菌丝体中获得^[4]。李晓华^[5]也在僵蚕本体中分离得到此物。Kong Y等^[6]以凝胶过滤、阴离子交换和反相高效液相色谱(RP-HPLC)法从僵蚕中纯化得到一个新的多肽类化合物BB octapeptide,抗血小板聚集效力与阿司匹林相似,有望开发成为新型的抗凝血药物。黄海英^[7]通过凝胶色谱法和离子交换色谱法,从僵蚕水煎粗提液中分离纯化得到一个分子质量为1.2 kD的小分子多肽,测定其一级结构显示,其含甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、丙苯氨酸和酪氨酸等,分子远小于已有的抗凝血药物水蛭素(约7 kD),对进一步合成、开发小分子多肽有很大帮助。彭延古等^[8]应用凝胶过滤和离子交换层析等生化技术分离纯化得单一成分ACIBB, HPLC法测定分析一活性峰,聚丙烯酰胺凝胶电泳为单一区带,鉴定分析为肽类物质。

此外,僵蚕中还含有各种氨基酸。卫功庆等^[9]通过氨基酸自动分析仪发现僵蚕含有17种氨基酸,如甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、酪氨酸等,其中甘氨酸含量最高。程锁明等^[10]也首次在僵蚕中分离得到高精氨酸。彭延古等^[11]对僵蚕水煎液抗凝活性部位的研究发现,多肽、氨基酸和草酸铵是其成分,含量占80%以上。

1.2 核苷

李伟等^[12]以HPLC法测定僵蚕中含有4种核苷,分别为尿嘧啶、尿苷、次黄嘌呤和黄嘌呤,其中尿嘧啶含量最高。Kwon HC等^[13]和殷志琦等^[14]也先后发现并鉴定了僵蚕中含有胞嘧啶核苷、腺嘌呤和尿嘧啶。

1.3 挥发油

李冬生等^[2]用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对白僵蚕、蚕幼虫和桑叶的挥发油成分进行分析,发现白僵蚕挥发油中含有170种化学物质,其中5, 6-dihydro-2, 4, 6-trimethyl-4H-1, 3, 5-dithiazine的含量最高。

1.4 有机酸和衍生物

草酸铵是僵蚕的主要药效成分之一,含量高,并具有抗凝和抗惊厥的作用^[15-16]。殷志琦等^[14]对白僵蚕的系统化学成分进行研究,首次分离得到棕榈酸和赤藓酸。Kwon HC等^[17]2003年从僵蚕中分离鉴定了4个鞘脂类化合物和3个磷脂类化合物,分别为:(4E, 2S, 3R)-2-N-octadecanoyl-4-tetradecaspinginenine、(4E, 6E, 2S, 3R)-2-N-eicosanoyl-4, 6-tetradecaspingadienine、(4E, 2S, 3R)-2-N-eicosanoyl-4-tetradecaspinginenine、(4E, 6E, 2S, 3R)-2-N-docosanoyl-4, 6-tetradecaspingadienine和1-O-(9Z-octadecenoyl)-2-O-(8Z, 11Z-octadecadienoyl)-sn-glycero-3-phosphorylcholine、1, 2-di-O-hexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine、1, 2-di-O-9Z-octadecenoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine。

1.5 甾体

近年来,研究人员在僵蚕中发现并鉴定出许多甾体类化合物。殷志琦等^[14]从僵蚕的乙醇提取物中分离得到了3个甾体化合物,利用光谱学方法鉴定其结构为:麦角甾-6, 22-二烯-3 β , 5 α , 8 α -三醇- β -谷甾醇和胡萝卜苷。程锁明等报道^[18],通过现代分离分析技术和化合物理化性质及光谱数据,2013年首次从白僵蚕中分离鉴定了6个甾体:3 β , 5 α -二羟基-(22E, 24R)-麦角甾-7, 22-二烯-6-酮、(22E, 24S)-5 α , 8 α -环二氧-24-甲基-胆甾-6, 9(11), 22-三烯-3 β -醇、5 β , 6 β -环氧-(22E, 24R)-麦角甾-8(14), 22-二烯-3 β , 7 α -二醇、7 α -甲氧基-(22E, 24R)-5

^Δ 基金项目:重庆市集成示范计划项目(No.cstc2013jcsf10012)

* 主管中药师,博士。研究方向:中药药效物质基础与活性评价。电话:023-67776180。E-mail:loran587@aliyun.com

[#] 通信作者:主任中药师。研究方向:中药炮制与制剂。E-mail:cqyangmin@126.com

$\alpha, 6\alpha$ -环氧麦角甾-8(14), 22-二烯-3 β -醇、(22E, 24R)-麦角甾-5, 7, 22-三烯-3 β -醇和豆甾醇-7, 22-二烯-3 β , 5 α , 6 α -三醇。李晓华等^[5]首次确定氯仿和乙酸乙酯部位为僵蚕抗惊厥的有效部位, 从氯仿部位中分离纯化得到6, 9-氧桥-麦角甾-7, 22-二烯-3-醇, 麦角甾-6, 22-二烯-3 β , 5, 8-三醇(首次在僵蚕中发现)和 β -谷甾醇、 β -胡萝卜素。

1.6 香豆素

殷志琦等^[19]以95%乙醇提取僵蚕干燥粉末, 反复柱层析辅以重结晶得到6-甲氧基-7-*O*- β -*D*-(4'-甲氧基)吡喃葡萄糖基香豆素, 为首次发现的新化合物。

1.7 黄酮

赵清等^[20]考察了不同炮制方法对僵蚕中槲皮素和山奈酚含量的影响, 发现变化不大, 与生品较接近。王锦军等^[21]以反相HPLC法测得僵蚕中槲皮素和山奈酚的含量分别为0.22 mg/g、0.64 mg/g。李冬生等、赵建国等^[22-31], 运用AD-8大孔树脂和聚酰胺制备白僵蚕黄酮类化合物, 建立了分光光度法测定其含量的方法。

1.8 多糖

据报道, 对白僵蚕进行脱脂, 乙醇回流除去小分子糖类、苷类和生物碱等, 经超声波水提、醇沉、Sevag法除蛋白后得到精制的白僵蚕多糖, 再经阴离子交换层析柱得到1个水相中性多糖组分BBPW和3个盐相酸性多糖组分BBPS-1、BBPS-2、BBPS-3; BBPW过聚丙烯酰胺葡聚糖凝胶层析柱得到2个均一多糖BBPW-1和BBPW-2, 分别为高度聚合的大分子多糖和寡聚糖, 寡聚糖结构以 β -*D*-1, 2, 6-葡萄糖和-*D*-1, 2, 6-甘露糖为主链、 α -*D*-1, 2-半乳糖和 α -*D*-1, 3-甘露糖为支链、 α -*D*-甘露糖和 α -*D*-葡萄糖为端基组成^[22-23]。

1.9 微量元素

中药中的微量元素与性味、归经、功效有一定相关性。卫功庆等^[9]以等离子体光谱仪自动分析仪测得僵蚕中含有18种微量元素, 其中6种为人体必需的微量元素: 铁(Fe)、锌(Zn)、铜(Cu)、锰(Mn)、铬(Cr)、镍(Ni)。阎汝南等^[24]以电感耦合等离子体原子发射光谱分析(ICP-AES)法测定了生僵蚕和制僵蚕中32种微量元素的含量, 以铝(Al)、钙(Ca)、镁(Mg)、磷(P)含量最高。

1.10 其他

僵蚕中还含有芳香胺和醇类, 如烟酰胺(nicotinamide)^[13]、甘露醇^[14]、赤藓醇^[19]以及碳酸氢铵(为僵蚕的又一抗惊厥成分)^[25]等无机盐类。

2 药理活性

2.1 抗凝、抗血栓、促进微循环

Wang JD等^[26]以37种动物药材和一种狗丝虫制备出112份提取物, 观察凝血和纤溶系统的作用, 筛选结果显示, 僵蚕水提物具有潜在的抗凝活性。彭延古等^[27]制作大鼠beyers静脉血栓模型, 静脉滴注僵蚕注射液后, 血栓症状明显减轻, 纤溶酶原含量、优球蛋白溶解时间明显减少, 同时还可以延长凝血活酶时间、凝血酶原时间和凝血酶时间。研究结果显示, 僵蚕对凝血酶-纤维蛋白原反应有直接的抑制作用, 通过抑制血液凝固、促纤溶活性而抑制血栓形成。大剂量僵蚕注射液可明显抑制凝血酶诱导的内皮细胞释放, 并能抗血栓形成^[28]。毛晓健等^[29]研究结果显示, 僵蚕水煎剂能增加毛细血管开放数量, 增大微血管直径, 延长凝血时间。

2.2 抗惊厥

汤化琴等^[30]研究结果显示, 僵蚕能对抗土的宁(二甲氧马钱子碱)引起的小鼠惊厥, 而且效果与氯化铵相似。郭晓恒等^[31]对僵蚕抗惊厥活性部位分离鉴定的麦角甾-6, 22-二烯-3 β , 5 α , 8 α -三醇、 β -谷甾醇和白僵菌素3个单体进行抗惊厥活性筛选。研究结果显示, 白僵菌素具有抗惊厥活性。

2.3 抗癌

Jiang X等^[22]在僵蚕中分离纯化得到寡聚糖BBPW-2。其体外抗肿瘤检测对肿瘤细胞株HeLa和HepG2具有直接的细胞毒性, 对MCF-7细胞株具有长期抗增殖效应; 细胞周期阻断在G₀/G₁和G₂/M期。而白僵蚕黄酮类化合物对癌细胞增殖的抑制作用明显且对正常细胞没有毒性, 并具有良好的抗癌效果^[23]。僵蚕醇提物对小鼠艾氏腹水癌(ECA)实体型抑制率为36%, 对小鼠S180也有抑制作用; 体外可抑制人体肝癌细胞的呼吸, 也可用于直肠癌瘤型息肉的治疗^[31-32]。

2.4 降糖

采用白僵蚕片治疗85例糖尿病患者, 有效率达71.4%, 三多症状缓解率85.6%, 尿糖控制有效率85.7%, 空腹血糖控制有效率80%^[33]。提示白僵蚕片治疗2型糖尿病具有一定的临床意义。家兔实验结果显示, 白僵蚕对四氧嘧啶实验型糖尿病有效, 并进一步提取其醇溶部分和僵蛹, 显示提取物脱皮激素对四氧嘧啶实验型糖尿病较白僵蚕片效果更好^[34]。

2.5 抗菌

项林平等^[34]以95%乙醇超声提取, 提取物对大肠杆菌的最小抑菌浓度(MIC)为0.625 mg/ml。提示僵蚕的抗炎作用与其抑菌活性相关。柴卫利等^[35]研究结果显示, 白僵蚕醇提物对苹果炭疽病菌、腐烂病菌、花椒落叶病菌均有一定的抑制作用, 其中对炭疽病菌的抑制作用最强。

2.6 增强免疫

白僵蚕多糖可从多方面促进正常小鼠和免疫抑制小鼠的体液免疫和细胞免疫, 对正常小鼠免疫功能的提高和免疫抑制小鼠免疫功能的恢复有较强的促进作用^[23]。

2.7 镇静催眠

胡鹏飞等^[36]以光电法和开阔法观察僵蚕水提醇沉提取物对小鼠自主活动的影响, 发现提取物能明显减少小鼠自主活动, 作用强于酸枣仁, 与地西洋效果相当, 并具有明显的镇静作用; 而水提物则无明显作用。提示镇静作用可能与醇溶性的成分有关。小鼠灌胃0.5 g/20 g或皮下注射0.25 g/20 g白僵蚕醇提液, 催眠效果与皮下注射50 mg/kg苯巴比妥的效果相当^[37]。

2.8 对生育的影响

僵蚕水煎液灌胃能明显降低雌性小鼠卵巢、子宫质量和妊娠率, 对妊娠有明显影响, 其结果支持僵蚕属“胎前禁忌”的论点。也能明显增加雄性小鼠睾丸、贮精囊的质量, 与文献^[29]报道其具有雄性激素作用一致。

2.9 神经营养和保护

Kwon HC等^[13]分离纯化得到的磷脂与鞘脂类化合物可能通过刺激神经生长因子(NGF)合成来发挥神经营养性效应。Kim HJ等^[38]研究结果显示, 僵蚕提取物作用于人工培养的大鼠星形胶质细胞, 通过抑制脂质过氧化和保护抗氧化酶来对抗乙型淀粉样蛋白诱导的细胞毒性。Koo BS等^[39]研究结果显示, 僵蚕提取物能对抗兴奋性氨基酸诱导的神经毒性, 从而保护海马神经元、降低脑缺血及其他神经损害导致的神经损伤。提示僵蚕可能对人脑有保护作用。

3 结语

僵蚕在古代多用于肝风夹痰、惊痫抽搐、小儿急惊等,现代多用于抗惊厥、抗凝和催眠,临床应用一直十分广泛,且疗效确切。近年来,其抗肿瘤作用亦逐渐受到重视,药材的市场需求剧增。然而,其代表性有效成分和药效成分基础仍未明确,现代药理研究也不够深入且集中于原药材或粗提物上,使得质量标准滞后,药效极难保证,在一定程度上限制了僵蚕的开发利用。因此,利用现代科学技术进一步系统而深入地研究僵蚕活性成分和作用机制,对指导临床用药、拓宽药用范围、完善药材质量标准、保证疗效均有着积极的临床意义。

参考文献

- [1] 张曙明,陈建民.僵蚕的临床应用近况[J].中医药信息,1993,11(4):38.
- [2] 李冬生,王金华,胡征,等.白僵蚕主要化学成分及其挥发油的分析[J].化学与生物工程,2003,20(6):22.
- [3] 赵建国,彭延古,彭新君,等.薄层色谱法分离僵蚕中蛋白质和氨基酸类成分的研究[J].湖南中医药大学学报,2005,27(2):26.
- [4] 王金华.白僵蚕及白僵蛹活性物质的研究与应用[J].时珍国医国药,2003,14(8):492.
- [5] 李晓华.僵蚕质量标准规范化研究[D].成都:成都中医药大学,2006.
- [6] Kong Y, Xu C, He ZL, *et al.* A novel peptide inhibitor of platelet aggregation from stiff silkworm, *Bombyx batryticatus*[J]. *Peptides*, 2014, 53:70.
- [7] 黄海英.僵蚕抗凝活性成分的提取与纯化[D].长沙:湖南中医学院,2004.
- [8] 彭延古,雷田香,付灿云,等.僵蚕抗凝成分 ACIBB 对实验性静脉血栓形成的影响[J].中药药理与临床,2007,23(1):27.
- [9] 卫功庆,鞠贵春,李慧萍,等.白僵蚕化学成分的分析[J].吉林农业大学学报,1995,17(3):46.
- [10] 程锁明,李国玉,王航宇,等.白僵蚕化学成分的基础研究[J].中国现代中药,2013,15(7):544.
- [11] 彭延古,许光明,赵建国,等.僵蚕抗凝活性部位中化学成分的初步研究[J].中国中医药信息杂志,2008,15(5):41.
- [12] 李伟,文红梅,张艾华,等.高效液相色谱法测定僵蚕中4种核苷、碱基的含量[J].药物分析杂志,1996,16(6):406.
- [13] Kwon HC, Jung IY, Cho SY, *et al.* Phospholipids from *Bombycis corpus* and their neurotrophic effects[J]. *Arch Pharm Res*, 2003, 26(6): 471.
- [14] 殷志琦,叶文才,赵守训.僵蚕的化学成分研究[J].中国中药杂志,2004,29(1):52.
- [15] 彭新君,赵建国,徐爱良,等.僵蚕抗凝活性及其成分的分析[J].湖南中医学院学报,2005,25(1):1.
- [16] 彭新君,许光明,李明娟,等.高效液相色谱法测定僵蚕中草酸铵的含量[J].中南药学,2006,4(4):255.
- [17] Kwon HC, Lee KC, Cho OR, *et al.* Sphingolipids from *Bombycis corpus* 101A and their neurotrophic effects [J]. *J Nat Prod*, 2003,66(4):466.
- [18] 程锁明,王航宇,李国玉,等.白僵蚕中甾体类化学成分的研究[J].石河子大学学报:自然科学版,2013,31(6):724.
- [19] 殷志琦,叶文才,赵守训.僵蚕中一个新的香豆素苷类化合物[J].中草药,2004,35(11):1205.
- [20] 赵清,郝丽静,马晓莉,等.六种僵蚕炮制品的薄层鉴别与含量测定研究[J].辽宁中医杂志,2010,37(12):2421.
- [21] 王锦军,张冕,张秀梅.RP-HPLC法同时分析僵蚕中槲皮素、山萘酚的含量[J].饲料工业,2009,30(12):48.
- [22] Jiang X, Zhang Z, Chen Y, *et al.* Structural elucidation and in vitro antitumor activity of a novel oligosaccharide from *Bombyx batryticatus*[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 103:434.
- [23] 蒋学.白僵蚕活性成分分离纯化及其药理作用的研究[D].杭州:浙江大学,2013.
- [24] 阎汝南,李飞,刘舒平,等.麸炒法对中药微量元素的影响[J].微量元素与健康研究,1996,13(3):26.
- [25] 黄晓雪.僵蚕的生药学及药理活性研究[D].长春:吉林农业大学,2008.
- [26] Wang JD, Narui T, Kurata H, *et al.* Hematological studies on naturally occurring substances. II. Effects of animal crude drugs on blood coagulation and fibrinolysis systems [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37(8):2236.
- [27] 彭延古,李露丹,邓奕辉.僵蚕抗实验性静脉血栓及作用机理的研究[J].血栓与止血学,2001,7(3):104.
- [28] 郝晓元,苏云,彭延古.僵蚕注射液对凝血酶诱导血管内皮细胞纤溶平衡的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2007,14(2):70.
- [29] 毛晓健,毛小平,肖庆慈,等.僵蚕抗生育的药理研究[J].云南中医学院学报,2002,25(3):26.
- [30] 汤化琴,徐东琴.僵蚕与氯化铵药理作用实验探讨[J].天津中医学院学报,1992,11(3):40.
- [31] 郭晓恒,严铸云,刘涛,等.僵蚕单体化合物抗惊厥活性[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(17):248.
- [32] 李军德.我国抗癌药概述[J].中成药,1992,14(2):40.
- [33] 江苏无锡市第一医院.白僵蚕治疗糖尿病35例临床观察及动物实验研究[J].中药药理与临床,1985,1(00):209.
- [34] 项林平,柴卫利,王珏,等.僵蚕抑菌活性成分的提取及其对大肠杆菌的抑制作用[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2010,38(3):150.
- [35] 柴卫利,项林平,王珏,等.僵蚕醇提物对林木病真菌的抑菌作用[J].林业实用技术,2009,12:33.
- [36] 胡鹏飞,王敬平,范荣培,等.僵蚕提取物对小鼠自主活动的影响[J].时珍国医国药,2005,16(11):1113.
- [37] 黄海英,彭新君,彭延古.僵蚕的现代研究进展[J].湖南中医学院学报,2003,23(4):62.
- [38] Kim HJ, Lee WH, Yoon CH, *et al.* *Bombycis corpus* extract prevents amyloid-beta-induced cytotoxicity and protects superoxide dismutase activity in cultured rat astrocytes[J]. *Pharmacol Res*, 2001, 43(1):11.
- [39] Koo BS, An HG, Moon SK, *et al.* *Bombycis corpus* extract (BCE) protects hippocampal neurons against excitatory amino acid-induced neurotoxicity [J]. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2003, 25(2):191.

(收稿日期:2014-05-16 修回日期:2014-08-13)