

2018, 44(6);
ISSN 0257-4799; CN 32-1115/S
DOI: 10.13441/j.cnki.cykx.2018.06.xxx

湖南省主栽桑品种桑叶生物碱含量的测定分析

张俊 颜新培 李一平 黄仁志 邵元元 蒋诗梦 蒋勇兵 邹湘月

(湖南省蚕桑科学研究所,长沙 410127)

摘要 以湖南省具有代表性的15个主栽桑树品种为材料,分别采用雷氏盐比色法及反相高效液相色谱法对不同品种不同叶位桑叶总生物碱和1-脱氧野尻霉素(DNJ)含量进行测定分析。结果表明,不同桑品种不同叶位间总生物碱和DNJ含量存在极显著差异($P<0.01$)。总生物碱和DNJ平均含量最高的是杂交桑沙2×伦109,是含量最低的三倍体桑品种湘桑6号的3倍;各品种从上位叶到下位叶总生物碱和DNJ含量几乎趋向于依次降低,平均质量比变幅分别为1.375~4.273 mg/g和0.705~2.149 mg/g。在供试品种上位叶和中位叶间,杂交桑沙2×伦109桑叶总生物碱和DNJ含量最高,质量比分别达到5.137 mg/g和4.581 mg/g,2.612 mg/g和2.284 mg/g;育2号和嘉陵20号下位叶的总生物碱和DNJ含量最高,质量比分别达3.599 mg/g和1.823 mg/g。综合评价认为,在湖南省栽培的桑叶生物碱含量较高的桑品种中,沙2×伦109、嘉陵20号、育2号适合作为桑叶生物碱开发专用桑树优势品种。

关键词 桑品种;桑叶;总生物碱;1-脱氧野尻霉素(DNJ);叶位

中图分类号 S888.2;0629.3 文章编号 0257-4799(2018)06- -07

Determination and Analysis on Alkaloids Contents in Leaves of Main Mulberry Varieties Cultivated in Hunan Province

Zhang Jun Yan Xinpei* Li Yiping Huang Renzhi Shao Yuanyuan Jiang Yongbing

Jiang Shimeng Zou Xiangyue

(Sericultural Research Institute of Hunan Province, Changsha 410127, China)

Abstract The contents of total alkaloids and 1-deoxynojimycin (DNJ) in leaves of 15 representative mulberry varieties cultivated in Hunan Province were determined and analyzed by Reinecke salt colorimetric method and reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). The result indicated that the contents of total alkaloids and DNJ in leaves of different mulberry varieties and of different leaf positions had extremely significant difference ($P<0.01$). Total alkaloids and DNJ contents in leaves of hybrid mulberry Sha 2×Lun 109 was the highest, which was 3 times as much as that of the triploid mulberry Xiangsang 6. The contents of total alkaloids and DNJ tend to decrease from upper leaves to lower leaves in turn. The average mass ratio of total alkaloids and DNJ content in mulberry leaves of different leaf positions was 1.375 to 4.273 mg/g and 0.705 to 2.149 mg/g respectively. In upper leaves and middle leaves, the maximum contents of total alkaloids and DNJ were found in hybrid mulberry Sha 2×Lun 109, with the mass ratio as high as 5.137 mg/g and 4.581 mg/g, 2.612 mg/g and 2.284 mg/g, respectively. In lower leaves, maximum contents of total alkaloids and DNJ were found in Yu 2 and Jialing 20, with the mass ratio as high as 3.599 mg/g and 1.823 mg/g respectively. Comprehensive evaluation analysis showed that Sha 2×Lun 109, Jialing 20 and Yu 2 had higher practical value of total alkaloids and DNJ, being appropriate special mulberry varieties for development of alkaloids from mulberry leaf.

收稿日期:2018-07-05 接受日期:2018-08-01

资助项目:国家科技支撑计划项目(No.2012BAD36B07),湖南省科技支撑计划项目(No.2015NK3054),现代农业产业技术体系建设专项(No.CARS-18)。

第一作者信息:张俊(1986—),男,助理研究员。

E-mail:zhangjuniswho@163.com

通信作者信息:颜新培,研究员。

E-mail:776256205i@sina.com

* Corresponding author. E-mail:776256205i@sina.com

Keywords Mulberry variety; Mulberry leaf; Total alkaloids; 1-Deoxynojirimycin (DNJ); Leaf position

桑树为多年生木本植物,在中国有 15 个桑种和 4 个变种,栽培范围广,用药历史悠久,在历代《本草》中均被称为神木,是一种重要的药用植物资源^[1]。桑叶为桑科植物桑树的叶片,药用始载于《神农本草经》,被称为神仙叶^[2],味甘苦、性寒,具有清肝明目、清肺润燥、疏散风热等功效^[3]。现代医药学和营养学研究证实桑叶中含有丰富的功能活性物质,在抗肿瘤、抗动脉粥样硬化、抗病原微生物等方面均有显著效果^[4-10],国家卫生部已经批准桑叶为药食两用珍贵资源,正式收入国家药典^[11]。

近年来,随着对桑树提取物综合药用机制研究的深入,桑叶的药用范围也在不断扩大。现代药理研究表明,桑叶活性提取物具有抑制血糖升高,预防、治疗糖尿病的作用,其降血糖活性物质为一类以 1-脱氧野尻霉素(1-deoxynojirimycin, DNJ)为主要成分的多羟基哌啶类生物碱,该类生物碱与吡喃糖的结构类似,细胞毒性较低^[11-12],能够与糖类竞争性结合 α -葡萄糖苷酶的活性中心,进一步影响糖类化合物的代谢,起到降血糖功能^[14],尤其是 DNJ,是降血糖的主要活性成分之一^[15],在日本、韩国等国家已有 DNJ 相关产品问世^[16]。桑树是生物碱含量较高的物种之一^[17],不同种质资源桑树中各类生物碱含量有所差异,这也导致了其药用价值的差异^[18]。目前我国对桑树生物碱的开发研究仍处于起步阶段,在高含量资源及品种的选育以及生物碱提取和纯化生产工艺研究等方面还需要进一步深入。本研究通过考察湖南省 15 个具有代表性的桑树品种桑叶中总生物碱及 DNJ 含量的差异,以期筛选出可用于药食用的优质桑树资源,为湖南省药食用桑树品种的选育提供科学依据,为不同桑树种质资源多样化应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试桑品种

供试的 15 个桑品种分别是早生桑 1 号、改良鼠返、澧 24×苗 33、剑枝桑、育 2 号、嘉陵 20 号、荷叶白、农桑 14 号、湖桑 197、伦敦 40 号、湘桑 6 号、育 711 号、沙 2×伦 109、大墨斗、塘 10,均栽植于湖南省蚕桑科学研究所桑树种质资源圃,树龄 9 a 以上。于 2014 年秋季上午采摘供试桑品种的桑叶,分别采

摘上位叶(第 1~5 位叶)、中位叶(第 6~15 位叶)、下位叶(第 15 位叶以下)3 个部位的叶片。每个品种按上述要求随机采摘 3 份桑叶样品,室温阴干,粉碎后过 60 目筛,密封备用。

1.2 主要试剂和仪器

DNJ 标准品(1-DNJ-HCl)购自美国 Sigma 公司,9-芴基氯甲酸甲酯(FMOC-Cl)购自 Fluka 公司,4-羟基哌啶醇(4-hydroxypiperidine)购自 AlfaAesar 公司。色谱纯甲醇、色谱纯乙腈、分析纯丙酮、分析纯雷氏铵盐、分析纯乙醚、分析纯浓盐酸、分析纯氢氧化钠、分析纯乙醇等购自上海生工生物工程技术有限公司。

KQ-600 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),1200 Series 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司,配备有 G1321A FLD 荧光检测器),UV-2102PC 紫外可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司),KS-300E 11 型超声波清洗机(宁波海曙科生超声设备有限公司),EYELA N-1001 旋转蒸发器(日本东京理化器械株式会社),TDL-5 型低速离心机(上海飞鸽磨料磨具有限公司),RE-5LC 旋转蒸发器(巩义市予华仪器设备有限公司)。

1.3 桑叶总生物碱的提取及含量测定

称取供试样品桑叶粉 2.000 g,按 1:20 的质量比加入 25%乙醇-0.05 mol/L 盐酸混合提取液,常温浸提 2 h,重复提取 2 次,过滤,合并提取液,浓缩,HPD-100 大孔树脂过柱,水洗脱,洗脱液减压浓缩,定容至 10 mL,即得待测样品溶液。

采用雷氏盐比色法^[18-19],以 4-羟基哌啶醇为标准物,取 2 mL 待测样品液,加入 2%雷氏盐溶液 3 mL,混匀后置冰浴中放置 1.5 h,3 500 r/min 离心 10 min,弃上清,用蒸馏水洗涤沉淀至洗涤液无色,沉淀用 70%丙酮溶液溶解,3 500 r/min 离心 5 min,取上清液测定 $D(523 \text{ nm})$ 值。

1.4 桑叶 1-脱氧野尻霉素的提取及含量测定

精确称取供试样品桑叶粉 1.000 g,按 1:280 的质量比加入 0.05 mol/L 盐酸溶液,于 72.9 °C 恒温水浴浸提 3 h,12 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,重复提取 2 次,合并上清液,加蒸馏水定容 DNJ 提取液至 50 mL,备用。

取上述提取液 10 μL ,加入 0.2 mol/L 硼酸

盐缓冲液(pH 8.5) 10 μL 混合,再加入浓度为 5 mmol/L 的 FMOc-Cl 的乙腈溶液 20 μL ,迅速混匀,30 $^{\circ}\text{C}$ 水浴反应 30 min,之后加入 0.1 mol/L 甘氨酸 10 μL ,中和剩余的衍生化试剂,终止反应。最后加入 0.1% 乙酸溶液 950 μL ,混匀后生成稳定的 DNJ-FMOc,用 0.22 μm 一次性灭菌过滤器过滤,滤液用高效液相色谱荧光检测法^[20-22]分析。色谱条件:Inertsil ODS-SP 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm,5 μm);流动相为乙腈-0.1%乙酸混合相(体积比 55:45),流速 1.0 mL/min;柱温 28 $^{\circ}\text{C}$;荧光检测器激发波长 254 nm,发射波长 322 nm。重复测定 3 次,取平均值。

1.5 数据处理

试验所得数据采用 SPSS 18.0 统计软件进行方差分析及 Tukey($P<0.05$,显著性水平; $P<0.01$ 极显著性水平)组间方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同桑品种桑叶总生物碱含量的比较分析

对湖南省 15 个桑树品种不同叶位桑叶总生物碱含量的测定结果见表 1。结果显示,15 个桑树品种间桑叶总生物碱含量存在极显著差异($P<0.01$),平均质量比变幅为 1.375~4.273 mg/g。在 15 个供

表 1 湖南省 15 个桑树品种不同叶位桑叶总生物碱的含量($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1 Total alkaloids contents in leaves from different leaf position of 15 mulberry varieties cultivated in Hunan Province($\bar{x}\pm s, n=3$)
[质量比 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}, m_d$) Mass ratio]

品种 Variety	上位叶 Upper leaf	中位叶 Middle leaf	下位叶 Lower leaf	平均值 Average value
早生桑 1 号 Zaoshengsang 1	4.003 \pm 0.608 ^{dDE}	3.561 \pm 0.342 ^{eC}	2.281 \pm 0.056 ^{eCD}	3.282 \pm 0.472 ^{eCD}
剑枝桑 Jianzhisang	4.582 \pm 0.056 ^{bBC}	2.256 \pm 0.922 ^{gF}	1.604 \pm 0.063 ^{gF}	2.814 \pm 0.826 ^{hEF}
塘 10 Tang 10	4.001 \pm 0.508 ^{dDE}	3.466 \pm 0.632 ^{cdCD}	3.092 \pm 0.038 ^{eB}	3.520 \pm 0.285 ^{dC}
育 711 号 Yu 711	4.221 \pm 0.205 ^{eCD}	3.225 \pm 0.562 ^{eCD}	2.541 \pm 0.032 ^{dC}	3.329 \pm 0.225 ^{deCD}
荷叶白 Heyebai	2.203 \pm 0.362 ^{iH}	2.014 \pm 0.450 ^{hF}	0.565 \pm 0.161 ^{iH}	1.594 \pm 0.480 ^{gC}
嘉陵 20 号 Jialing 20	4.967 \pm 0.256 ^{aAB}	4.004 \pm 0.662 ^{bB}	3.599 \pm 0.021 ^{aA}	4.190 \pm 0.514 ^{abAB}
湘 7920 Xiang 7920	4.364 \pm 0.065 ^{eCD}	4.024 \pm 0.332 ^{bB}	3.406 \pm 0.151 ^{bAB}	3.931 \pm 0.429 ^{eB}
育 2 号 Yu 2	4.574 \pm 0.273 ^{bBC}	4.084 \pm 0.462 ^{bB}	3.589 \pm 0.060 ^{abA}	4.082 \pm 0.463 ^{bcAB}
湘桑 6 号 Xiangsang 6	2.001 \pm 0.046 ^{mH}	1.505 \pm 0.108 ^{iG}	0.618 \pm 0.074 ^{iH}	1.375 \pm 0.504 ^{kG}
澧 24 \times 苗 33 Li 24 \times Miao 33	3.097 \pm 0.442 ^{gG}	4.011 \pm 0.538 ^{bB}	2.619 \pm 0.018 ^{dC}	3.242 \pm 0.537 ^{eCD}
改良鼠返 Gailiang Shufan	3.357 \pm 0.346 ^{fG}	3.327 \pm 0.294 ^{deCD}	1.838 \pm 0.016 ^{fEF}	2.841 \pm 0.341 ^{ghEF}
湖桑 197 Husang 197	3.516 \pm 0.055 ^{efF}	3.224 \pm 0.852 ^{eCDE}	1.019 \pm 0.168 ^{hG}	2.587 \pm 0.826 ^{iF}
大墨斗 Damodou	2.267 \pm 0.095 ^{hH}	1.491 \pm 0.248 ^{iG}	0.726 \pm 0.024 ^{iGH}	1.495 \pm 0.852 ^{jkG}
农桑 14 号 Nongsang 14	3.538 \pm 0.406 ^{eF}	2.842 \pm 0.319 ^{fE}	1.788 \pm 0.432 ^{fEF}	2.723 \pm 0.405 ^{hiEF}
沙 2 \times 伦 109 Sha 2 \times Lun 109	5.137 \pm 0.093 ^{aA}	4.581 \pm 0.502 ^{aA}	3.102 \pm 0.161 ^{eB}	4.273 \pm 0.259 ^{aA}
平均值 Average value	3.722 \pm 0.173 ^{eEF}	3.174 \pm 0.216 ^{eDE}	2.159 \pm 0.057 ^{eDE}	3.018 \pm 0.328 ^{fgDE}

Tukey($P=0.05$ 显著性水平)组间方差分析,不同小写字母表示组间具有显著差异($P<0.05$);Tukey($P=0.01$ 极显著性水平)组间方差分析,不同大写字母表示该组间具有极显著差异性($P<0.01$)。

Different small letters in table mean significant difference at $P<0.05$ level, while different uppercase letters mean significant difference at $P<0.01$ level.

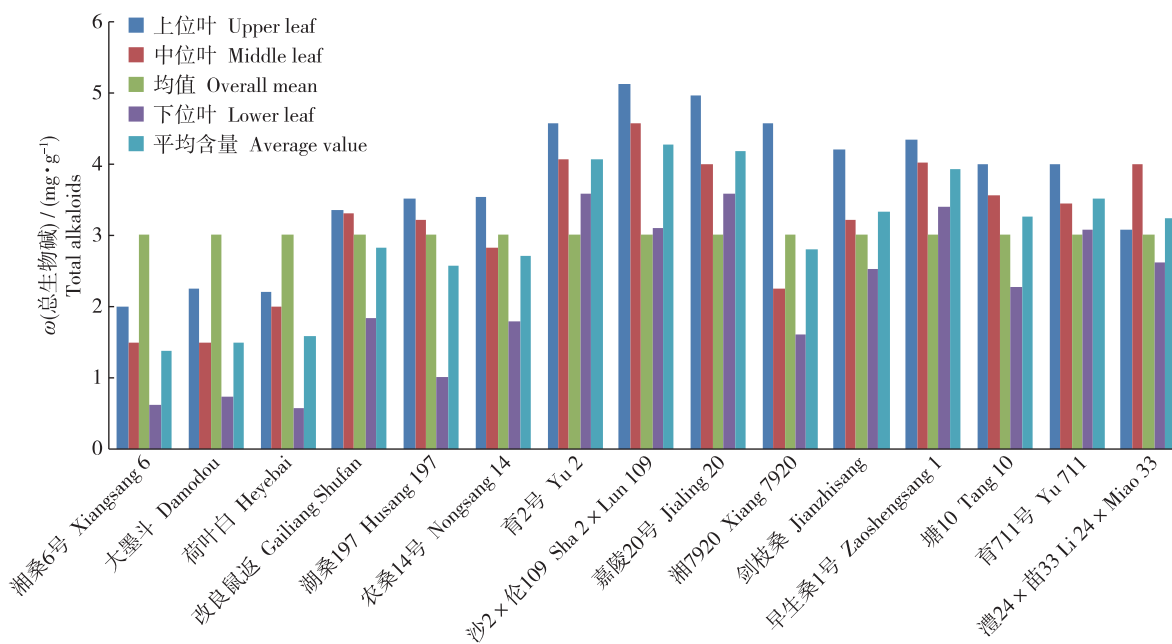
试桑树品种中,沙2×伦109、嘉陵20号、育2号3个品种的总生物碱平均含量在0.4%以上,桑叶总生物碱含量最高的是杂交桑沙2×伦109,叶位平均质量比达到4.273 mg/g;湘桑6号、荷叶白、大墨斗3个品种总生物碱含量在0.2%以下,含量最低的是三倍体桑品种湘桑6号,叶位平均质量比仅为1.375 mg/g,沙2×伦109总生物碱的含量几乎是湘桑6号的3倍。对不同成熟度桑叶中的总生物碱含量进行比较分析发现,同一品种不同叶位间活性物质含量差异显著($P < 0.01$),上位叶中总生物碱含量最高,随着桑叶的发育成熟,中位叶、下位叶中总生物碱含量依次降低,荷叶白中上位叶与下位叶中总生物碱含量差异最大($P < 0.01$),前者是后者的3.9倍。不同桑品种间相同叶位桑叶内总生物碱含量差异较大,上位叶总生物碱质量比变幅为2.001~5.137 mg/g,中位叶总生物碱质量比变幅为1.491~4.581 mg/g,下位叶总生物碱质量比变幅为0.565~3.599 mg/g。在15个桑树栽培品种的上位叶和中位叶中,沙2×伦109的总生物碱含量最高,质量比分别达到5.137 mg/g和4.581 mg/g,下位叶中育2

号和嘉陵20号的总生物碱含量最高,质量比分别达到3.589 mg/g和3.599 mg/g。

15个桑树品种桑叶总生物碱平均质量比为3.018 mg/g,从图1可以看出,8个桑树品种桑叶总生物碱平均质量比高于平均值,占所测定总样本数量的53.3%。15个桑树品种中12个品种上位叶总生物碱平均质量比高于平均值,占所测定总样本数量的80%;10个品种中位叶总生物碱平均质量比高于平均值,占所测定总样本数量的66.7%;5个品种下位叶总生物碱平均质量比高于平均值,占所测定总样本数量的33.3%。

2.2 不同桑品种桑叶中1-脱氧野尻霉素含量的比较分析

对15个桑树品种资源不同叶位桑叶DNJ含量的测定结果见表2。结果显示,15个桑树品种桑叶DNJ的含量品种间差异显著($P < 0.05$),平均质量比变幅为0.705~2.149 mg/g。在15个供试品种中,沙2×伦109、嘉陵20号、育2号3个品种DNJ平均含量在0.2%以上,其中杂交桑沙2×伦109的DNJ含量最高,平均质量比达到2.149 mg/g;三倍体桑品种



均值指15个桑树品种的桑叶总生物碱平均含量(质量比 $3.018 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$),平均含量指各品种3个叶位的总生物碱平均含量。

Overall mean indicate the average value of total alkaloids contents in leaves of 15 mulberry varieties (mass ration $3.018 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Average value indicate the average value of total alkaloids contents in leaves from different leaf position of each mulberry variety.

图1 湖南省15个桑树品种不同叶位桑叶中总生物碱含量测定值与均值的比较

Fig. 1 Comparison between test values and their average values of total alkaloids contents in different position leaves from 15 mulberry varieties cultivated in Hunan Province

湘桑 6 号含量最低,叶位平均质量比仅为 0.705 mg/g,沙 2×伦 109 中 DNJ 的含量是湘桑 6 号的 3 倍。对不同成熟度桑叶中 DNJ 含量比较分析发现,同一品种不同叶位间 DNJ 含量差异显著($P<0.05$),趋向于上位叶中总生物碱含量最高,随着桑叶的发育成熟,中位叶、下位叶中 DNJ 含量依次降低,荷叶白和湖桑 197 中上位叶与下位叶中 DNJ 含量差异最为显著($P<0.05$),前者是后者的 3.79 倍和 3.82 倍。不同桑树品种间相同叶位桑叶内 DNJ 含量同样差异显著($P<0.05$),上位叶 DNJ 质量比变幅为 0.984~2.612 mg/g,中位叶 1-脱氧野尻霉素质量比变幅为 0.747~2.284 mg/g,下位叶 DNJ 质量比变幅为 0.292~1.823

mg/g。15 个桑树品种上位叶和中位叶中,沙 2×伦 109 的 DNJ 含量最高,质量比分别达到 2.612 mg/g 和 2.284 mg/g,下位叶中育 2 号和嘉陵 20 号的 DNJ 含量最高,质量比分别达到 1.823 mg/g 和 1.726 mg/g。

15 个桑树品种桑叶 DNJ 平均质量比为 1.517 mg/g,从图 2 可以看出,8 份桑树品种桑叶 DNJ 平均质量比大于平均值,占所测定总样本数量的 53.3%;12 个桑树品种上位叶 DNJ 平均质量比高于平均值,占所测定总样本数量的 80%,9 个桑树品种中位叶 DNJ 平均质量比高于平均值,占所测定总样本数量的 60%;5 个桑树品种下位叶 DNJ 平均质量比高于平均值,占所测定总样本数量的 33.3%。

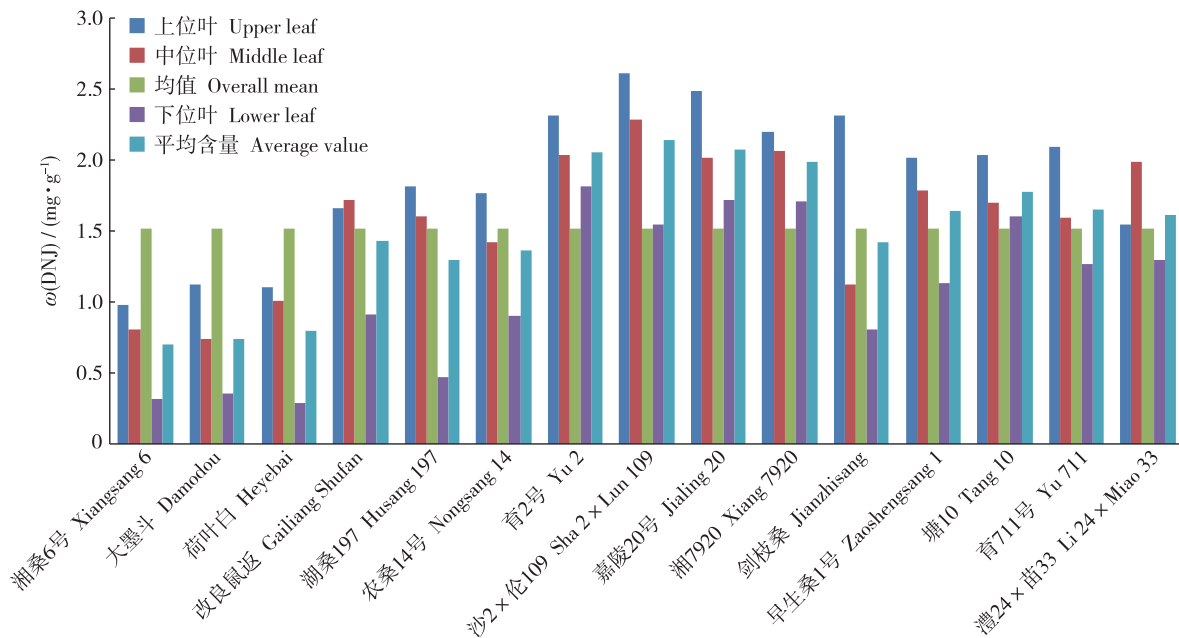
表 2 湖南省 15 个桑树品种不同叶位桑叶 1-脱氧野尻霉素的含量($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1 The 1-deoxyojirimycin content in mulberry leaf from different leaf position of 15 mulberry varieties cultivated in Hunan Province ($\bar{x}\pm s, n=3$)

品种名 Variety	[质量比 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}, m_d$) Mass ratio]			
	上位叶 Upper leaf	中位叶 Middle leaf	下位叶 Lower leaf	平均值 Average value
早生桑 1 号 Zaoshengsang 1	2.017±0.632 ^{dCDE}	1.785±0.086 ^{eBCD}	1.141±0.224 ^{eDE}	1.641±0.454 ^{dCD}
剑枝桑 Jianzhisang	2.318±0.730 ^{bB}	1.129±0.157 ^{fF}	0.814±0.072 ^{fF}	1.420±0.793 ^{edEF}
塘 10 Tang 10	2.036±0.737 ^{dCDE}	1.705±0.052 ^{edCD}	1.611±0.183 ^{bcAB}	1.784±0.223 ^{eBC}
育 711 号 Yu 711 号	2.097±0.237 ^{cdBCD}	1.598±0.351 ^{dDE}	1.273±0.168 ^{deCD}	1.656±0.415 ^{edCD}
荷叶白 Heyebai	1.107±0.249 ^{iH}	1.013±0.344 ^{fFG}	0.292±0.428 ^{hG}	0.804±0.446 ^{gHI}
嘉陵 20 号 Jialing 20	2.492±0.053 ^{aA}	2.021±0.165 ^{bB}	1.726±0.068 ^{aAB}	2.080±0.386 ^{abA}
湘 7920 Xiang 7920	2.201±0.080 ^{bcBC}	2.064±0.145 ^{bB}	1.712±0.143 ^{aAB}	1.992±0.252 ^{bAB}
育 2 号 Yu 2	2.314±0.245 ^{bBC}	2.037±0.214 ^{bB}	1.823±0.263 ^{aA}	2.058±0.246 ^{abAB}
湘桑 6 号 Xiangsang 6	0.984±0.147 ^{iH}	0.808±0.313 ^{gG}	0.324±0.258 ^{hG}	0.705±0.342 ^{gI}
澧 24×苗 33 Li 24×Miao 33	1.551±0.290 ^{hG}	1.989±0.212 ^{bBC}	1.304±0.137 ^{dCD}	1.615±0.347 ^{dCDE}
改良鼠返 Gailiang Shufan	1.665±0.451 ^{gFG}	1.721±0.226 ^{edCD}	0.912±0.084 ^{fEF}	1.433±0.452 ^{eDEF}
湖桑 197 Husang 197	1.814±0.452 ^{edDEFG}	1.609±0.145 ^{dDE}	0.475±0.163 ^{gG}	1.299±0.721 ^{eFG}
大墨斗 Damodou	1.128±0.154 ^{iH}	0.747±0.112 ^{gG}	0.358±0.318 ^{ghG}	0.744±0.385 ^{gI}
农桑 14 号 Nongsang 14	1.772±0.921 ^{fgEFG}	1.422±0.232 ^{eE}	0.907±0.231 ^{fEF}	1.367±0.435 ^{eEF}
沙 2×伦 109 Sha 2×Lun 109	2.612±0.051 ^{aA}	2.284±0.242 ^{aA}	1.551±0.123 ^{cABC}	2.149±0.543 ^{aA}
平均值 Average value	1.874±0.351 ^{eDEF}	1.595±0.109 ^{dDE}	1.517±0.267 ^{eBC}	1.082±0.294 ^{fGH}

Tukey ($P=0.05$ 显著性水平) 组间方差分析,不同小写字母表示组间具有显著差异 ($P<0.05$); Tukey ($P=0.01$ 极显著性水平) 组间方差分析,不同大写字母表示该组间具有极显著差异性 ($P<0.01$)。

Different lowercase letters in the table mean significant difference at $P<0.05$ level, while different uppercase letters mean significant difference at $P<0.01$ level.



均值指 15 个桑树品种的桑叶 DNJ 平均含量(质量比 $1.517 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$),平均含量指各品种 3 个叶位的 DNJ 平均含量。

Overall mean indicate the average value of DNJ contents in leaves of 15 mulberry varieties (mass ration $1.517 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Average value indicate the average value of DNJ contents in leaves from different leaf position of each mulberry variety.

图 2 15 个桑树品种各叶位中 1-脱氧野尻霉素 (DNJ) 含量测定值与均值的比较

Fig. 2 Comparison between test values and their average values of 1-deoxyojirimycin (DNJ) content in different position leaves from 15 mulberry varieties cultivated in Hunan Province

3 讨论

2002 年,国家卫生部公布桑叶可作为“药食两用”植物原料,具有较高的营养保健功效^[11],桑叶生物碱在体内外表现出较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性、改善胰岛素敏感性、上调葡萄糖转运体 4 的表达、抗病毒性感染及肿瘤转移等作用,可显著降低双糖或多糖负荷后血糖峰值及曲线下面积,控制餐后血糖的迅速上升^[23-27]。其中 DNJ 在桑叶总生物碱中含量最高,细胞毒性低、糖苷酶抑制作用高效且桑树生物量大、生长迅速,自然界中 DNJ 的主要来源是桑树^[28-29]。因此,探明桑树体内总生物碱和 DNJ 含量的变化规律有利于合理选择品种、采收成熟度等,这对开发桑树药食资源具有重要指导意义。

本试验比较分析了湖南省具有种植优势的 15 个桑品种桑叶样品中总生物碱和 DNJ 的含量。结果显示,不同桑品种间、不同桑品种相同叶位间以及相同桑树品种不同叶位间桑叶中总生物碱和 DNJ 的含量差异极显著($P < 0.01$)。在供试 15 个桑树品

种中,桑叶总生物碱和 DNJ 平均质量比分别为 3.018 mg/g 和 1.517 mg/g ,其中沙 2×伦 109、嘉陵 20 号、育 2 号 3 个品种总生物碱和 DNJ 含量较高,平均含量分别在 0.4% 和 0.2% 以上,检索现有文献资料发现,桑叶中 DNJ 占桑叶干质量的 0.1% ~ 0.4% 左右^[17]。相比之下,本试验测定桑叶中的 DNJ 含量并不突出。本研究中育 711 号不同叶位 DNJ 和总生物碱含量均极显著低于金超等^[8]的研究报道中的含量,进一步证实相同桑树品种桑叶在不同产地,即不同环境因素(温度、湿度、光照、降雨量和土壤类型)的影响下,植物会产生种内次生长代谢产物的多型性,对桑树桑叶中独特的功能因子的积累影响显著。桑叶总生物碱和 DNJ 平均含量最高的杂交桑沙 2×伦 109,质量比达到 4.273 mg/g ,是含量最低的三倍体桑品种湘桑 6 号(质量比 1.375 mg/g)的 3 倍。随着桑叶生长发育成熟,同一品种不同叶位桑叶中总生物碱和 DNJ 的总含量存在明显梯度,即上位叶中的含量 > 中位叶中的含量 > 下位叶中的含量,其中 12 个桑品种上位叶、9

个桑品种中位叶、5个桑品种下位叶DNJ平均含量高于平均值,与金超等^[8]的研究报道一致。荷叶白和湖桑197上位叶与下位叶中总生物碱和DNJ含量差异最为显著。研究表明,在湖南省主栽的桑品种桑叶生物碱及DNJ含量高的桑品种中,沙2×伦109、嘉陵20号、育2号3个桑树品种可以为湖南省桑叶药食用保健产品开发提供优质桑叶原料,适合直接作为桑叶生物碱开发专用桑树优势品种。进一步综合考虑桑品种的单位面积桑园桑叶产量以及在治理生态环境方面独有的优势等经济性状,对于选择适合开发桑叶药用及保健产品的桑树品种具有实用指导意义,在实现生态效益的同时也为湖南省当地百姓赢得可观的经济收入。

参考文献 (References)

- [1] SAEDEDEH A D, ASNA U. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves [J]. *Food Chem*, 2007, 102(4): 1233-1240
- [2] LI Y G, JI D F, ZHONG S, et al. Hybrid of 1-deoxynojirimycin and polysaccharide from mulberry leaves treat diabetes mellitus by activating PDX-1 insulin-1 signaling pathway and regulating the expression of glucokinase, phosphoenolpyruvate carboxykinase and glucose-6-phosphatase in alloxan-induced diabetic mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 134(3): 961-970
- [3] SUN Y K, GAO J J, LEE W C, et al. Antioxidative flavonoids from the leaves of *Morus alba* [J]. *Arch Pharm Res*, 1999, 22(1): 81-85
- [4] HIBANO M, TSUKAMOTO D, TANAKA Y, et al. Determination of 1-deoxynojirimycin and 2, 5-dihydroxymethyl 3, 4-dihydroxypyrrolidine contents of *Commelina communis* var. *hortensis* and the antihyperglycemic activity [J]. *Nat Med*, 2001, 55(5): 251-254
- [5] ENKHAMAA B, SHIWAKU K, KATSUBE T. Mulberry (*Morus alba* L.) leaves and their major flavonol quercetin 3-(6-malonylglucoside) attenuate atherosclerotic lesion development in LDL receptor-deficient mice [J]. *J Nutr*, 2005, 135(4): 729-734
- [6] DEEPA M, SURESHKUMAR T, SATHEESHKUMAR P K, et al. Purified mulberry leaf lectin (MLL) induces apoptosis and cell cycle arrest in human breast cancer and colon cancer cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2012, 200(1): 38-44
- [7] GENG C A, MA Y B, ZHANG X M, et al. Mulberrofuran G and isomulberrofuran G from *Morus alba* L.: anti-hepatitis B virus activity and mass spectrometric fragmentation [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(33): 8197-8202
- [8] 金超, 陈成, 李少辉, 等. 华东蚕区5个栽培桑品种叶片中的主要活性物质含量测定 [J]. *蚕业科学*, 2017, 43(2): 288-295
- [9] 周晋, 李顺祥, 曹亮, 等. 白藜芦醇等芪类合成酶研究进展 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2012, 32(2): 76-78
- [10] ASANO N. Naturally occurring iminosugars and related compounds: structure distribution and biological activity [J]. *Curr Top Med Chem*, 2003, 3(5): 471-475
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 279-280
- [12] WANYO P, SIRIAMORN PUN S, MEESO N. Improvement of quality and antioxidant properties of dried mulberry leaves with combined far-infrared radiation and air convection in Thai tea process [J]. *Food Bioprod Process*, 2011, 89(1): 22-30
- [13] CHANG L W, JUANG L J, WANG B S, et al. Antioxidant and anti-tyrosinase activity of mulberry (*Morus alba* L.) twigs and root bark [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(4): 785-790
- [14] KATSUBE T, IMAWAKA N, KAWANO Y, et al. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (*Morus alba* L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity [J]. *Food Chem*, 2006, 97(1): 25-31
- [15] 彭忠田, 申瑞, 谭德明, 等. 脱氧野尻霉素衍生物抗乙型肝炎病毒的体外试验研究 [J]. *中国药房*, 2007, 18(1): 22-24
- [16] TSURUOKA T, FUKUYASU H, ISHII M, et al. Inhibition of mouse tumor metastasis with nojirimycin-related compounds [J]. *J Antibiot*, 1996, 49(2): 155-161
- [17] 陈松, 刘宏程, 储一宁, 等. 12个桑树品种桑叶中的1-脱氧野尻霉素含量测定与分析 [J]. *蚕业科学*, 2007, 33(4): 637-641
- [18] 李凡, 裴雅渔, 钱文春, 等. 桑叶中总生物碱和1-脱氧野尻霉素的含量考察 [J]. *中国药学杂志*, 2008, 43(3): 176-179
- [19] 刘凡, 李平平, 廖森泰, 等. 98份不同桑树品种资源的桑叶总生物及1-脱氧野尻霉素含量测定 [J]. *蚕业科学*, 2012, 38(2): 185-191
- [20] 施新琴, 陈传杰, 李峰, 等. 山东省部分桑树栽培品种桑叶中的1-脱氧野尻霉素含量测定 [J]. *蚕业学*, 2013, 39(1): 177-182
- [21] LOU D S, ZOU F M, YAN H, et al. Factors influencing the biosynthesis of 1-deoxynojirimycin in *Morus alba* L. [J]. *Afr J Agric Res*, 2011, 6(13): 2998-3006
- [22] 欧阳臻, 陈钧. 不同季节桑叶中1-脱氧野尻霉素(DNJ)含量的测定 [J]. *食品科学*, 2004, 25(10): 211-214
- [23] 杨小蓉, 邢军, 江岩. 桑叶DNJ的分离纯化及其生物活性研究进展 [J]. *食品工业*, 2015(9): 233-236
- [24] NIWA T, INOUE S, TSURUOKA T, et al. "Nojirimycin" as a potent inhibitor of glucosidase [J]. *Agric Biol Chem*, 1970, 34(6): 966-968
- [25] ASANO N, H KIZU. N-alkylated nitrogen in the ring sugars: conformational basis of inhibition of glycosidases and HIV-1 replication [J]. *J Med Chem*, 1995, 38(13): 2349-2356
- [26] KONG H W, OH S H, et al. Antiobesity effects and improvement of insulin sensitivity by 1-deoxynojirimycin in animal models [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 2613-2619
- [27] 徐冰, 刘泉, 刘率南. 桑叶总生物碱的抗糖尿病活性研究 [J]. *食品科学*, 2015, 38(5): 1024-1026
- [28] 孙长波. 桑叶中有效部位分离工艺研究 [D]. 沈阳: 辽宁农业大学, 2012
- [28] 蒲俊松. 桑叶生物碱的检测提取及含量分析 [D]. 重庆: 西南大学, 2016