

桑叶生物碱类成分研究概况

贺胜^{1,2}, 周杏子¹, 何海¹, 何美霞¹, 常化静¹, 吴新荣^{1*}

(1. 广州军区广州总医院 药学部, 广州 510010; 2. 广州中医药大学, 广州 510405)

[摘要] 桑叶是我国的传统中药之一。现已分离出的8种生物碱单体,其中已知1-脱氧野尻霉素(1-DNJ)具有高效的糖苷酶抑制作用, fagomine能够促进胰岛素分泌和降低胰岛素抵抗,同时,桑叶总生物碱还具有抑制糖原分解的活性。本文主要对其单体结构、生物活性、提取纯化工艺和检测方法的研究进行归纳讨论,对近几年的桑叶生物碱研究现状进行综述。通过研究桑叶生物碱的化学结构和性质,并且总结分析其含量检测的各种方法和原理及适用范围,从而为生物碱检测方法的进一步改进提供参考。另外,桑叶生物碱在结构上以吡咯烷型生物碱、去甲基莨菪烷型生物碱、亚氨基型生物碱为主,分子中均具有2~5个羟基的多羟基生物碱,某些羟基与葡萄糖、半乳糖形成 α, β 糖苷。但是,目前桑叶生物碱的含量测定方法主要集中在对其中1-脱氧野尻霉素的研究上,对于总生物碱含量的测定方法研究相对较少。因此,在1-DNJ含量测定的方法基础上,建立合适的桑叶总生物碱含量测定方法很有必要,也为充分开发桑叶药用价值提供了铺垫。

[关键词] 桑叶; 生物碱; 糖尿病; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)13-0222-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015130222

Research Progress of Alkaloids in Mori Folium HE Sheng^{1,2}, ZHOU Xing-zi¹, HE Hai¹, HE Xian-xia¹, CHANG Hua-jing¹, WU Xin-rong^{1*} (1. *General Hospital of Guangzhou Military Command of PLA, Guangzhou 510010, China*; 2. *Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China*)

[Abstract] Mori Folium is one of traditional Chinese medicines in China. Eight monomer alkaloids have been isolated from Mori Folium. Modern pharmacological studies have confirmed that these compounds have efficient activities of glucosidase inhibition, insulin secretion and inhibition of glycogenolysis. This article focused on the research progress of the monolithic structure, biological activity, extraction and purification technology and testing methods, by studying the chemical structure and properties of alkaloids, and analyzing its various content detection methods, to provide reference for the improvement of detection method of alkaloids. The current method for the determination of Mori Folium alkaloids focused on the study of its deoxynojirimycin (DNJ), relatively few studies on the total alkaloids content. On the basis of DNJ determination method, it is necessary to establish an appropriate method for the determination of total alkaloids Mori Folium, thus to provide a basis for the rational development and utilization of Mori Folium resources.

[Key words] Mori Folium; alkaloids; diabetes; determination

桑叶为桑科植物桑 *Morus alba* 的叶片,又名“神仙叶”、“铁扇子”等,为《中国药典》收录品种^[1]。首载于《神农本草经》,《本草纲目》记载:桑叶“汁煎代茗,能止消渴”。中国既是桑树的故乡,也是世界上主要的桑叶产地之一,以江苏、浙江和四川等地产量较大^[2]。全世界桑约有16种,在中国有10多个品系和变种^[3],并且已有4 000多年的栽培历史,资源极其丰富。现代药理研究证明桑叶具有降血糖、镇咳、利

尿、抗病原微生物、抗肿瘤和抗丝虫等多种作用^[4-5]。

桑叶主要活性成分为黄酮类、生物碱类、多糖类和植物甾醇类,目前对桑叶中的黄酮类和多糖类成分的测定方法研究报道较多,而有关生物碱类成分含量测定方法国内外研究报道较少。但是,近年来,人们对桑叶生物碱类化合物产生了极大的兴趣,因为现代药理学研究已经证明了这类化合物及其衍生物可以通过抑制糖苷酶活性,从而具有降低血糖的

[收稿日期] 20141027(012)

[基金项目] 广东省科技重大专项(2008A030201031)

[第一作者] 贺胜,在读硕士,从事天然药物有效部位开发研究, Tel:13725275915, E-mail: wywnxhw@163.com

[通讯作者] * 吴新荣, 硕士, 从事中药筛选及药理研究, Tel:020-36653476, E-mail: gzwrxong@yahoo.com

作用^[6]。同时,也有文献报道桑叶生物碱具有抗病毒性感染的作用^[7,8]。因生物碱具有这些重要的生物活性,故本文将对其单体结构、生物活性、提取纯化工艺和检测方法等方面进行综述,为桑叶药用价值的充分开发提供参考。

1 桑叶生物碱的种类

桑叶生物碱成分是野尻霉素(NJ)及其衍生物。野尻霉素最早是在 1965 年从玫瑰产色链霉菌 R-468 (*streptomyces roseochromogenes*R-468)的发酵液中分离得到,1966 年其结构被鉴定出来,NJ 首先被认为是由链霉菌属(*streptomyces species*)产生的抗生素,而且表现出对 α 、 β -葡萄糖苷酶的抑制作用。然而, NJ 相当不稳定,容易被氧化,所以,它通常被保存在酸性亚硫酸盐中或者采用铂作为催化剂,用 NaBH_4 还原为 DNJ。Yagi 等在 1976 年从桑根中分离得到 DNJ^[9]。

桑叶中含有丰富的生物碱,日本学者 ASano 等通过离子交换色谱从桑叶中分离出多种多羟基生物碱,包括 1-DNJ, *N*-甲基-1-DNJ, 2-氧- α -*D*-半乳糖苷-1-DNJ (GAL-DNJ), 芥麦碱(fagomine), 1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-*D*-阿拉伯糖醇(*D*-ABI), 1,4-二脱氧-1,4-亚氨基-(2-氧- β -1)-吡喃葡萄糖苷-*D*-阿拉伯糖醇(2-*O*- β -Glc-*D*-ABI)和 1 α ,2 β ,3 α ,4 β -四羟基-去甲莨菪(calystegine B2)^[10-11]。尚磊^[12]等利用 HPLC-MS-MS 方法从桑叶生物碱中得到了 3-表芥麦碱(3-epi-fagomine),但是没有发现 *N*-甲基-1-DNJ 和 2-氧- α -*D*-半乳糖苷-1-DNJ (GAL-DNJ)。桑叶中 DNJ 含量为 0.11%,桑根中 DNJ 含量为 0.14%,在总生物碱中含量最高^[13-16]。

2 桑叶生物碱的活性

Chan 等^[17]研究发现 DNJ 对各种 α -糖苷酶具有比较强的抑制性,但 Miyahara 等^[18]通过实验考察了桑叶乙醇提取物对正常大鼠餐后高血糖的抑制效果发现 DNJ 对 α -淀粉酶抑制效果比较弱,其中桑叶 DNJ 对蔗糖酶和麦芽糖酶的 IC_{50} 分别为 0.015,0.21 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,抑制效果与伏格列波糖相当。Junge 等^[19]研究结果表明, DNJ 虽然在体外具有较强的抑制 α -糖苷酶活性,但是在体内的作用却比较温和。Kim^[20]采用 GC-TOF-MS 比较了桑叶水提取物中 DNJ 与纯化 DNJ 的吸收与排泄,然后发现小鼠血浆中来自桑叶提取物组中的 DNJ 明显低于来自纯化组的 DNJ ($P < 0.05$),并且,最后桑叶水提取物中大多数的 DNJ 代谢方式是通过粪便排出的,在尿液中只有微量被检出,这些结果表明桑叶提取物中 DNJ 的生物利用度低于纯化组的 DNJ。Li Y G 等^[21]研究了桑叶 DNJ 与多糖组合对四氧嘧啶诱导糖尿病老鼠的保护作用,发现桑叶 DNJ 与多糖组合能调控肝糖原代谢和葡萄糖异生,主要是通过上下调控肝脏的葡糖激酶、磷酸烯醇式丙酮酸激酶和葡萄糖-6-磷酸酶基因的表达量来降低血糖。

Fagomine 虽然含量偏低,并且其对 α -糖苷酶抑制活性要比 DNJ 的弱,但是能降低餐后血糖,因为它能够促进胰岛素分泌,对葡萄糖苷酶和半乳糖苷酶均有抑制作用,尤其对 β -半乳糖苷酶显示强活性^[22]。Taniguchi 等^[23]用正常大鼠的胰腺灌流模型研究 fagomine 的作用机制,发现 3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

就可以显著增加 8.3 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖引起的胰岛素释放,其胰岛素水平是单独用相同剂量葡萄糖时的 4 倍。Fosgerau 等^[24]分析并发现亚氨基糖 1,4-dideoxy-1,4-imino-*D*-arabinitol (*D*-ABI)对磷酸化酶(GP)具有抑制作用。综上所述,可以发现,生物碱具有很强的降血糖活性,并且是多通道,多靶点起效;另外,生物碱之间也有协调作用。

3 桑叶中生物碱的提取及纯化

由于桑叶生物碱主要属于多羟基哌啶类,易溶于极性溶剂,但是,其结构中无发色基团,含量又比较低等原因,国内外对于其提取纯化工艺相关的研究报道相对较少。提取溶剂主要为去离子水,乙醇水溶液和稀酸水溶液。提取方法包括了浸渍法、超声辅助提取法、微波辅助提取法和细胞破壁提取法。

Vichasilp 等^[25]研究人员发现利用响应面分析法对干燥桑叶进行提取工艺优化的结果表明,桑叶中大约 95%的 DNJ 能够在去离子水为溶剂,温度为 98 $^{\circ}\text{C}$,浸渍时间为 400 s 的条件下浸渍出来。李宇亮等^[26]研究者同时以去离子水、0.25%稀硫酸和 65%乙醇 3 种溶剂进行桑叶生物碱提取工艺考察,并且以热回流为提取方法,结果表明以稀硫酸溶剂提取效率最高。胡瑞君等^[27]研究人员建立了一种以微波辅助提取法提取桑叶生物碱的方法:以无菌过滤水为提取溶剂,在 400 W 微波功率下控制固液比 1:40 处理 15 min,提取两次后, DNJ 提取率可 0.24%。曾里^[28]通过实验研究发现乙醇溶剂提取法是目前桑叶总生物碱提取的主要方法,但其工艺比较复杂,而超声波处理利用超声空化作用和微扰效应,能够有效的使植物细胞壁破裂,使细胞更容易释放内容物,并促进溶剂进入提取物细胞,加速成分进入溶剂,可大大缩短萃取时间和提高萃取率。

李宇亮等^[26]利用阳离子交换树脂联合正丁醇萃取法成功精制出 DNJ,他们实验所得的 DNJ 利用分光光度法进行含量测定,其得到的桑叶生物碱含量能高达 90%。Asano 等^[10]研究者利用离子交换多次柱色谱方法建立了一种分离纯化桑叶、桑树根和蚕体生物碱的方法,并且成功分离出 18 种生物碱单体,桑叶中有 8 种,并对其结构进行了详细的分析和鉴定。

4 桑叶中生物碱的检测方法

桑叶生物碱是一种天然含氮类化合物,化学结构中没有生色基团,并且桑叶中的总生物碱含量较低,常规的高效液相色谱紫外检测器检测不出 DNJ 等成分,只有含量相对低的,与糖类结合成苷的生物碱才能够被紫外检测器检测。因此,近年来,其检测方法一直是研究者们乐于探讨的方向之一,目前的检测方法主要有以下几种。

4.1 生物碱沉淀试剂检测法

4.1.1 雷氏盐比色检测法 雷氏盐是一种常用的生物碱沉淀反应试剂,主要用于水溶性较大的生物碱碱类。常用于季胺型生物碱分离纯化。桑叶生物碱属于哌啶类生物碱,是仲胺型,但是由于相对分子质量比较小,亲水性基团羟基比较多,所以水溶性较大,对此也可以适用。李凡等^[29]研究者将

哌啶溶液作为对照品,乙醇-盐酸作为提取溶剂浸提桑叶生物碱,利用雷氏盐比色法检测桑叶生物碱的含量。同时通过稳定性、重复性和加样回收率实验进行方法学考察,结果表明此方法用于测定桑叶总生物碱含量可靠。刘凡等^[30]以乙醇-盐酸为提取溶剂,4-羟基哌啶为对照品,通过 HPD-100 大孔树脂纯化,采用雷氏盐比色法测定桑叶中总生物碱的含量,表明此方法稳定可靠。

桑叶总生物碱中主要的生物碱都具有哌啶环,另外,相对分子质量大小对雷氏盐吸光度无影响,因此可以选用哌啶来做对照品。

4.1.2 硅钨酸沉淀质量法 硅钨酸是生物碱沉淀试剂之一,桑叶生物碱与硅钨酸反应生成白色沉淀。邓伟杰等^[31]在利用正交试验设计研究桑叶总生物碱的最佳提取工艺过程中,采用了硅钨酸沉淀质量法来检测总生物碱含量,用桑叶总生物碱中的特征性生物碱 DNJ 的相对分子质量 163 来计算,计算公式为:桑叶总生物碱(mg) = 沉淀质量(mg) × 0.1856 (理论化学换算因数 = $4R/SiO_3 \cdot 12WO_3 \cdot 4R \cdot 2H_2O = 0.1856$)。

目前桑叶中水溶性生物碱主要采用乙醇溶剂提取法、水或酸水提取法等。水或酸水提取法虽能够提取大部分的生物碱,但水溶性杂质过多,如果需要进一步分离纯化总生物碱,其水提液仍需加入乙醇,沉淀除去桑叶多糖类物质的干扰。所以,为了尽量消除干扰因素,邓海波^[32]在桑叶的沸水提取液用 001 × 7 型阳离子交换树脂纯化后用正丁醇萃取,然后再采用硅钨酸沉淀法。

4.2 柱前衍生化高效液相色谱法 欧阳臻等^[33]建立了桑叶药材中 1-脱氧野尻霉素(DNJ)的高效液相色谱-荧光检测法的含量测定方法。利用荧光试剂茚甲氧酰氯(FMOC-Cl)与桑叶中生物碱(DNJ)柱前衍生化,然后用高效液相色谱法进行分离,用荧光检测器测定含量。结果表明, DNJ 与其他组分分离效果较好,线性范围为 $0.567 \sim 34 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,相关系数为 0.999 8,加样回收率为 97.2%。

魏兆军等^[34]建立了一种以 FMOC-Cl 为衍生化试剂的柱前衍生化反相高效液相-紫外检测法来定量测定桑叶中 DNJ 的方法,以 Waters 2996 光二极管紫外检测器检测桑叶 DNJ 含量,稳定性和重复性较好,发现其中 DNJ-FMOC 的峰面积与 DNJ 浓度呈高度正相关关系,相关系数为 0.985 2。

比较这 2 种方法可知,柱前衍生化方法比较简便,衍生反应可于室温下进行,反应速度快,衍生产物稳定,但是荧光检测器价格偏高,难以普及;采用紫外检测器,在兼顾了准确度和精密度的前提下降低了实验设备的成本;只是,此种方法衍生化率难以控制,桑叶生物碱含量低,因此重复性较差。

4.3 高效液相-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD) 关山^[35]在高生物碱含量桑叶品种优选和总生物碱提取工艺研究中采用高效液相-蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)进行 DNJ 的含量测定,用 WELCH XB-NH₂ 分析柱,重复性结果($n = 5$)显示 RSD 2.1%,加样回收率为 98.17%,其 RSD 1.7%。线性范围是 $2.5 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这种方法比较简便,但是蒸发

光散射检测器的灵敏度比紫外检测器低,分析时对样品需求量较大,并且误差也较大,故制备标准曲线的最低浓度和最高浓度应该小于 10 倍,以此尽可能减少误差。

4.4 高效液相-二级质谱联机检测法(HPLC-MS/MS) Nuengchamnon 等^[36]建立了利用高效液相-二级质谱联机检测法来测定桑叶总生物碱中 DNJ 含量的方法,采用 TSK gel Amide-80 色谱柱,样品经电喷雾离子源正负离子化后,通过三重四级杆串联质谱仪,用多反应离子监测进行含量检测。根据信噪比得到检出界限是 75 pg,定量界限是 100 pg。

Nakagawa 等^[37]在检测桑叶和蚕体内的亚胺糖含量时采用了亲水作用色谱-串联质谱检测法。先是用 HILIC-MS-MS 得到 DNJ, GAL-DNJ 和 fagomine 的离子数据,然后用质谱多反应监测(MRM)方法可以对这 3 个生物碱独自分离,计算各自峰面积可以进行含量测定。

Zhang 等^[38]用超高效液相-二级质谱联机检测,一次分离并且检测出了桑叶中的 14 种核苷和核苷碱基,24 种氨基酸, DNJ 和莽麦碱的含量。

尚磊等^[12]采用 HPLC-MS/MS 法,对桑叶总生物碱中的各生物碱单体进行了定性分析和结构鉴定,并且采用柱前衍生化 HPLC-UV 测定了生物碱部位中总生物碱的含量。进样分析后得到桑叶生物碱部位衍生化后的衍生物 HPLC 图和 HPLC-MS 总离子流图,根据质谱提供的一级二级离子碎片数据并参照桑叶生物碱的质谱图数据对桑叶总生物碱中的各生物碱成分进行定性分析和结构鉴定。然后,由于进行定性分析后,确定了各个生物碱单体的相对保留时间,所以,可以用 1-脱氧野尻霉素(DNJ)为对照,根据各生物碱成分色谱峰的峰面积之和,按外标法计算样品中总生物碱的含量。

这种方法相比与柱前衍生化的检测方法相比简便,因为这个得到样品后不用进行反应合成,并且 HPLC-MS-MS 方法实验精密度高,重复性好;然而,实验控制因素复杂,特别是串联质谱的设备价格高昂,难以普及。

5 总结与展望

DNJ 对各种 α -糖苷酶具有比较强的抑制性活性,但是对 α -淀粉酶作用效果较弱,并且在体内对 α -糖苷酶的抑制活性也没有在体外强。Fagomine 虽然对 α -糖苷酶抑制活性要比 DNJ 的弱,但是能通过促进胰岛素分泌来降低餐后血糖。D-ABI 通过抑制糖原磷酸化酶(GP)从而降低高血糖,但是在人体中效果不明显。在单体生物碱作用机制研究深入之后,生物碱与黄酮和多糖之间的协调作用机制研究将是重点。

因为 DNJ 在总生物碱中含量最高,标准品容易获得,所以桑叶生物碱的含量测定目前主要集中在 DNJ 上,对于总生物碱含量的测定方法研究较少,目前总生物碱含量测定的方法有以 DNJ 为标准品来计算的 HPLC-MS-MS 法、雷氏盐比色法和硅钨酸沉淀质量法,但是采用生物碱沉淀试剂进行含量测定时影响因素比较多。本课题组的研究重点将是建立一个准确度高,精密度和重复性好的测定桑叶总生物碱含量的方法,为充分开发桑叶的药用价值提供铺垫。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 279-280.
- [2] 钱崇澍, 陈焕镛. 中国植物志[M]. 北京: 科技出版社, 1995: 7-10.
- [3] 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.
- [4] Yang S, Wang B L, Li Y. Advances in the pharmacological study of *Morus alba* L[J]. Acta Pharm Sin, 2014, 49(6): 824-831.
- [5] Asano N. Glycosidase inhibitors: update and perspectives on practical use [J]. Glycobiology, 2003, 13(10): 93R-104R.
- [6] Asano N, Nash R J, Molyneux R J, et al. Sugar-mimic glycosidase inhibitors: natural occurrence, biological activity and prospects for therapeutic application [J]. Tetrahedron: Asymmetry, 2000, 11(8): 1645-1680.
- [7] Watson A A, Fleet G W, Asano N, et al. Polyhydroxylated alkaloids-natural occurrence and therapeutic applications [J]. Phytochemistry, 2001, 56(3): 265-295.
- [8] Xiao B X, Wang Q, Fan L Q, et al. Pharmacokinetic mechanism of enhancement by Radix Pueraria flavonoids on the hyperglycemic effects of Cortex Mori extract in rats [J]. J Ethnopharmacol, 2014, 151(2): 846-851.
- [9] 张军, 宛晓春, 陆翠珍, 等. 桑叶生物碱类化合物研究进展 [J]. 安徽农业大学学报, 2012, 39(6): 146-150.
- [10] Asano N, Oseki K, Tomioka E, et al. N-containing sugars from *Morus alba* and their glycosidase inhibitory activities [J]. Carbohydr Res, 1994, 259(2): 243-255.
- [11] Asano N, Yamashita T, Yasuda K, et al. Polyhydroxylated alkaloids isolated from mulberry trees (*Morus alba* L.) and silkworms (*Bombyx mori* L.) [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49(9): 4208-4213.
- [12] 尚磊, 欧阳臻, 赵明, 等. HPLC-MS-MS 分析桑叶总生物碱组成及含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 47-51.
- [13] Dugo P, Donato P, Cacciola F, et al. Characterization of the polyphenolic fraction of *Morus alba* leaves extracts by HPLC coupled to a hybrid IT-TOF MS system [J]. J Sep Sci, 2009, 32(21): 3627-3634.
- [14] 何羨霞, 苏楠, 吴新荣. 桑叶降糖有效部位及其降糖活性研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(7): 245-248.
- [15] Chen F, Nakashima N, Kimura I, et al. Potentiating effects on pilocarpine-induced saliva secretion, by extracts and N-containing sugars derived from mulberry leaves, in streptozocin-diabetic mice [J]. Biol Pharm Bull, 1995, 18(12): 1676-1680.
- [16] Tsuduki T, Kikuchi I, Kimura T, et al. Intake of mulberry 1-deoxynojirimycin prevents diet-induced obesity through increases in adiponectin in mice [J]. Food Chem, 2013, 139(1/4): 16-23.
- [17] Chan K C, Lin M C, Huang C N, et al. Mulberry 1-deoxynojirimycin pleiotropically inhibits glucose-stimulated vascular smooth muscle cell migration by activation of AMPK/RhoB and down-regulation of FAK [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(41): 9867-9875.
- [18] Miyahara C, Miyazawa M, Satoh S, et al. Inhibitory effects of mulberry leaf extract on postprandial hyperglycemia in normal rats [J]. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2004, 50(3): 161-164.
- [19] Junge B, Matzke M, Stoltefuss J. Chemistry and structure-activity relationships of glucosidase inhibitors [M]. Oral Antidiabetics: Springer Berlin Heidelberg, 1996: 411-482.
- [20] Kim J Y, Kwon H J, Jung J Y, et al. Comparison of absorption of 1-deoxynojirimycin from mulberry water extract in rats [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(11): 6666-6671.
- [21] 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-I 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.
- [22] Asano N, Oseki K, Kizu H, et al. Nitrogen-in-the-ring pyranoses and furanoses: structural basis of inhibition of mammalian glycosidases [J]. J Med Chem, 1994, 37(22): 3701-3706.
- [23] Taniguchi S, Asano N, Tomino F, et al. Potentiation of glucose-induced insulin secretion by fagomine, a pseudo-sugar isolated from mulberry leaves [J]. Horm Metab Res, 1998, 30(11): 679-683.
- [24] Fosgerau K, Westergaard N, Quistorff B, et al. Kinetic and functional characterization of 1, 4-dideoxy-1, 4-imino-darabinitol: a potent inhibitor of glycogen phosphorylase with antihyperglycemic effect in ob/ob mice [J]. Arch Biochem Biophys, 2000, 380(2): 274-284.
- [25] Vichasilp C, Nakaqawa K, Sookwong P, et al. A novel gelatin crosslinking method retards release of mulberry 1-deoxynojirimycin providing a prolonged hypoglycaemic

- effect[J]. Food Chem, 2012, 134(4):1823-1830.
- [26] 李宇亮,李剑敏,吴雅睿. 1-脱氧野尻霉素提取分离方法研究[J]. 应用化学, 2006, 35(9):659-662.
- [27] 胡瑞君,车振明,徐丹,等. 微波辅助提取桑叶生物碱DNJ的工艺研究[J]. 食品科技, 2007, 32(8):139-141.
- [28] 曾里. 超声波和微波对中药提取的促进和影响[J]. 化学研究与应用, 2002, 14(3):245-249.
- [29] 李凡,裘雅渔,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(2):176-178.
- [30] 刘凡,李平平,廖森泰,等. 98份不同桑叶品种资源的桑叶总生物碱及1-脱氧野尻霉素含量测定[J]. 蚕业科学, 2012, 38(2):0185-0191.
- [31] 邓伟杰,孙智平,罗新根,等. 正交试验设计优化桑叶总生物碱提取工艺[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(3):608-609.
- [32] 邓海波. 桑叶降血糖有效成分及黄酮类化合物的研究[D]. 南宁:广西师范大学, 2005.
- [33] 欧阳臻,李永辉,徐卫东,等. 高效液相色谱-荧光检测法测定桑叶中1-脱氧野尻霉素(DNJ)含量[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(9):682-685.
- [34] 魏兆军,蒋磊,周乐春,等. 反向高效液相色谱法检测不同品种和叶位桑叶中1-脱氧野尻霉素[J]. 食品科学, 2009, 30(16):258-261.
- [35] 关山. 高生物碱含量桑叶品种优选和总生物碱提取工艺研究[D]. 长沙:湖南中医药大学, 2014.
- [36] Nuenghamnong N, Ingkaninan K, Kaewruang W, et al. Quantitative determination of 1-DNJ in mulberry leaves using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 44(4):853-858.
- [37] Nakagawa K, Ogawa K, Higuchi O, et al. Determination of iminosugars in mulberry leaves and silkworms using hydrophilic interaction chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Anal Biochem, 2010, 404(2):217-222.
- [38] Zhang L L, Bai L Y, Shu S L, et al. Simultaneous quantitation of nucleosides, nucleobases, amino acids, and alkaloids in mulberry leaf by ultra high performance liquid chromatography with triple quadrupole tandem mass spectrometry [J]. J Sep Sci, 2014, 37(11):1265-1275.

[责任编辑 邹晓翠]