

桑枝中桑皮苷 A 的提取工艺优化及其含量测定

江大海¹,刘妍如^{1*},唐志书¹,王梅²,孔馨逸¹,吕杨¹,宋忠兴¹,赵鹏³

¹陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心 陕西省创新药物研究中心,咸阳 712083;

²陕西中医药大学附属医院,咸阳 712000;³陕西兴盛德陕西兴盛德药业有限责任公司,铜川 727031

摘要: 本文采用响应面法优化桑枝中桑皮苷 A 的超声提取工艺。在单因素试验的基础上,以桑枝中桑皮苷 A 为响应值,考察了甲醇比例、溶剂体积、超声时间及超声温度对桑皮苷 A 含量测定的影响。研究表明,桑枝中桑皮苷 A 的最佳提取工艺条件为:60% 甲醇水溶液,溶剂体积 55 mL,超声时间 40 min,超声温度 35 ℃。在该条件下,桑枝中桑皮苷 A 质量分数为 7.63 mg/g,与预测值 7.64 mg/g 接近。桑皮苷 A 在 0.012 8~0.064 mg/mL 范围呈良好的线性关系($r=0.9993$),9 批桑枝药材中桑皮苷 A 含量范围为 4.97~13.14 mg/g。结果表明根据 Box-Behnken 模型、采用响应面分析法得到的桑枝中桑皮苷 A 提取优化工艺准确可靠,可用于检测桑枝中桑皮苷 A 的含量。

关键词: 桑枝;桑皮苷 A;响应面分析;超声提取;超高液相色谱法;含量测定

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.11.020

Optimization on Extraction Technology and Determination of Mulberroside A in *Morus alba* (L.) by UPLC

JIANG Da-hai¹, LIU Yan-ru^{1*}, TANG Zhi-shu¹, WANG Mei², KONG Xin-yi¹,
LYU Yang¹, SONG Zhong-xing¹, ZHAO Peng³

¹Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Shaanxi Province Drug Discovery Center of Innovation, Xianyang 712083, China;

²The Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China;

³Shaanxi Sciendan Pharmaceutical Co., Ltd, Tongchuan 727031, China

Abstract: Response Surface Methodology (RSM) was applied to optimize of ultrasonic extracting technique for mulberroside A in *Morus alba* (L.). On the basis of a single factor test, the effects of the proportion of methanol concentration, the volume of solvent, the extraction time and the extraction temperature on the determination of the content of the mulberroside A in the *Morus alba* (L.) were investigated. On the basis of single-factor experiments, the optimum extraction process of mulberroside A in *Morus alba* (L.) is methanol concentration (60%), solvent volume (55 mL), the extraction time (40 min) and the extraction temperature (35 ℃). Under the optimal extraction condition, the mulberroside A productivity was 7.63 mg/g, which was in consistent with the predicted value of 7.64 mg/g. The calibration curve was in good linearity within the range from 0.0128 to 0.064 mg/mL ($r=0.9993$). The content of mulberroside A in *Morus alba* (L.) in different areas was 4.97~13.14 mg/g. The preferred process of optimizing the extraction process of mulberroside A in *Morus alba* (L.) with response surface analysis is stable and feasible, and can be used for the determination of mulberroside A in *Morus alba* (L.).

Key words: *Morus alba* (L.); Mulberroside A; response surface methodology; ultrasonic extraction; UPLC; determination

桑枝,为桑树的枝叶、桑条、嫩桑枝的总称。

2015 年版药典记载其为桑科植物桑 (*Morus alba* L.) 的干燥嫩枝^[1]。桑枝功效有祛风湿,利关节等。主治风湿痹病,肩臂、关节酸痛麻木。桑枝所含化学成分种类较多,主要有黄酮类,生物碱,多糖,香豆精类化合物等。现代医学对桑枝的药理活性研究表明,桑枝具有明显的抗菌抗病毒、抗肿瘤、降血糖、降

收稿日期:2018-05-11 接受日期:2018-09-27

基金项目:国家中药标准化项目(ZYBZH-C-QIN-45);国家自然科学基金青年基金(81501229);陕西省科技厅“科技新星”培养计划(2017KJXX-71);陕西省科技统筹创新工程计划(2015KTZDSF02-05-02);国家自然科学基金(81503491)

* 通信作者 Tel:86-29-38182207; E-mail:yanzi_2203@aliyun.com

血脂、降血压等作用^[2]。桑皮苷 A (mulberroside A) 为二羟基芪类化合物, 又称氧化白藜醇苷, 主要存在于桑属植物中^[3]。《中国药典》2015 年版一部中对桑枝的标准只有性状和显微鉴别, 无薄层鉴别和含量测定项, 因此, 建立桑枝中的化学成分的测定方法对于桑枝资源具有重要意义。

目前, 文献报道中对桑枝提取工艺的优化多采用正交法, 而用响应面法优化桑枝中桑皮苷 A 的提取工艺则尚未见其报道。响应面分析法, 即响应曲面设计方法 (response surface methodology, RSM), 是利用合理的试验设计方法并通过实验得到一定数据, 采用多元二次回归方程来拟合因素与响应值之间的函数关系, 通过对回归方程的分析来寻求最优工艺参数, 解决多变量问题的一种统计方法^[4]。Box-Behnken Design (BBD) 中心组合设计模型是响应面分析法中的一种, 与正交试验设计法相比, 具有试验周期短, 求得回归方程精度高, 能研究几种因素相互间作用等优点^[5,6]。超高效液相色谱法 (Ultra-high performance liquid chromatography, UPLC) 是一种具有较强专属性、灵敏度及重现性和分析方法, 能够高效反映药材中活性成分的色谱特征, 使其在药材快速质量评价中具有一定优势^[7]。因此, 本实验在单因素试验的基础上, 以桑皮苷 A 含量为指标, 应用响应面分析法优化桑枝最佳提取工艺, 采用 UPLC 对桑枝中桑皮苷 A 进行含量测定^[8,9]。

1 仪器与材料

1.1 仪器

鑫博得高速万能粉碎机 FW-1000AD (天津鑫博

得仪器有限公司, 中国); Waters Acquity UPLC H-Class System, 配备 Acquity UPLC QSM、Acquity UPLC Sample Manager FTN、Acquity UPLC PDA Detector 以及 Empower 2 工作站 (Waters 公司, 美国); KQ-300DE 型数控超声波清洗器 (功率 250 W, 频率 40 kHz, 昆山市超声仪器有限公司, 中国); 十万分之一电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司, 德国)。

1.2 材料与试剂

桑皮苷 A (批号: MUST-17060301, 含量为 99.42%, 成都曼斯特生物科技有限公司); 色谱甲酸 (天津市科密欧化学试剂有限公司); 色谱甲醇、乙腈 (霍伟尼尔试剂有限公司); 哇哈哈纯净水 (杭州哇哈哈有限公司)。购买九批不同产地桑枝药材样品, 经陕西中医药大学陕西省中药资源产业化协同创新中心张琳教授鉴定为桑科植物桑 (*Morus alba* L.) 的干燥嫩枝。

2 方法与结果

2.1 影响因子的设计

根据溶剂中甲醇比例、溶剂体积、超声时间和超声温度对桑枝主要成分的影响, 用 UPLC 法测定桑枝中桑皮苷 A 的含量, 以各因素无相互作用且对设计结果干扰少作为设计前提, 采用 Design-Expert Version 8.0.7 统计软件, 以响应曲面法对提取工艺进行寻优, 以确定最优的提取方法。

分别改变溶剂中甲醇比例、溶剂体积、超声时间、超声温度进行单因素试验, 计算桑枝中桑皮苷 A 的含量, 单因素试验设计见表 1。

表 1 单因素试验设计

Table 1 Single-factor experimental design

因素 Factors	1	2	3	4	5
甲醇比例 Methanol concentraton (%)	50	60	70	80	100
溶剂体积 Solvent volume (mL)	10	30	50	80	100
超声时间 Extraction time (min)	15	25	40	50	60
超声温度 Extraction temperature (°C)	30	40	45	50	60

结果显示随着甲醇比例的增加, 桑皮苷 A 含量呈现下降趋势, 但在 70% 的比例下又出现短暂的上升, 再逐渐下降; 当溶剂体积为 10 ~ 30 mL 时, 随着溶剂量的增大, 桑皮苷 A 含量增加, 但在 30 mL 以后, 桑皮苷 A 含量又呈现下降趋势, 随着溶剂量的

增加, 减小趋势逐渐减慢, 最后趋于平缓; 当超声时间逐渐增长时, 桑皮苷 A 的含量逐渐变大, 但在 40 min 时出现下降趋势, 50 min 又出现上升趋势, 但增长缓慢; 当超声温度为 30 ~ 40 °C 时, 桑皮苷 A 含量在逐步下降, 在 40 °C 又呈上升趋势, 超声 45 °C 后,

含量降低,然后这种趋势逐渐减慢。综上所述,选择溶剂中甲醇比例(60%、75%、90%)、溶剂体积(20、40、60 mL)、超声时间(30、45、60 min)、超声温度

(35、42、50 °C)作为响应面法优化提取工艺的各因素及水平,因子设计见表2。

表2 桑枝响应面试验因素水平

Table 2 The experimental factor selection for response surface design of *Morus alba* L.

水平 Levels	A 甲醇比例 Methanol concentraton (%)	B 超声时间 Extraction time (min)	C 溶剂体积 Solvent volume (mL)	D 超声温度 Extraction temperature (°C)
1	60	30	20	35
0	75	45	40	42
-1	90	60	60	50

2.2 桑皮苷 A 定量分析

将按不同实验方案制成桑枝样品算出各自桑皮苷 A 的含量,结果见表3。

将按不同实验方案制成桑枝样品算出各自桑皮

表3 响应面实验设计安排及结果

Table 3 Response surface experimental design and result

RUN	A 甲醇比例 Methanol concentraton (%)	B 超声时间 Extraction time (min)	C 溶剂体积 Solvent volume (mL)	D 超声温度 Extraction temperature (°C)	桑皮苷 A Mulberroside A (mg/g)
1	75.00	45.00	60.00	35.00	6.79
2	60.00	60.00	40.00	42.00	6.597
3	90.00	30.00	40.00	42.00	4.675
4	60.00	45.00	60.00	42.00	7.245
5	90.00	60.00	40.00	42.00	4.979
6	75.00	45.00	60.00	50.00	6.155
7	75.00	60.00	60.00	42.00	5.589
8	75.00	60.00	40.00	35.00	5.214
9	75.00	45.00	40.00	42.00	5.804
10	60.00	45.00	20.00	42.00	3.868
11	75.00	45.00	40.00	42.00	5.386
12	75.00	30.00	20.00	42.00	5.471
13	90.00	45.00	60.00	42.00	4.441
14	75.00	30.00	40.00	50.00	5.03
15	75.00	30.00	40.00	35.00	5.144
16	90.00	45.00	20.00	42.00	4.545
17	90.00	45.00	40.00	35.00	4.425
18	90.00	45.00	40.00	50.00	5.096
19	60.00	30.00	40.00	42.00	6.575
20	75.00	45.00	40.00	42.00	5.856
21	60.00	45.00	40.00	35.00	6.363
22	75.00	60.00	40.00	50.00	5.201
23	60.00	45.00	40.00	50.00	5.445
24	75.00	45.00	20.00	50.00	4.978
25	75.00	45.00	20.00	35.00	4.763
26	75.00	45.00	40.00	42.00	4.887
27	75.00	45.00	40.00	42.00	5.332
28	75.00	30.00	60.00	42.00	5.121
29	75.00	60.00	20.00	42.00	4.858

2.2.1 色谱条件

色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (50 mm × 2.1 mm, 1.7 μm); 流动相 A 相为 0.1% 甲酸水溶液, B 相为乙腈, 梯度洗脱条件为: 0 ~ 10 min, 2% ~ 100% B; 10 ~ 13 min, 100% ~ 2% B; 13 ~ 20 min, 2% B; 流速 0.2 mL/min; 进样量为 2 μL; 柱温 25 °C; 检测波长 325 nm。

2.2.2 对照品储备液的制备

取桑皮苷 A 对照品适量, 精密称定, 加入 1:1 的甲醇水制成浓度为 0.5 mg/mL 的对照品储备溶液, 于 4 °C 保存。

2.2.3 供试品溶液的制备

取桑枝药材粉末 0.5 g (过三号筛), 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入不同比例的甲醇水溶液,

不同体积的甲醇水溶液, 称重, 超声, 提取时间不同, 超声温度不同, 冷却后用原有不同比例的甲醇水溶液补足重量, 摇匀, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 取续滤液作为供试品溶液。

2.2.4 标准曲线的绘制

精密称取桑皮苷 A 对照品适量, 分别配制浓度为 0.012 8、0.025 6、0.032 0、0.038 4、0.044 8、0.064 mg/mL 的对照品溶液, 在“2.2.1”的色谱条件下, 分别精密吸取 2 μL 注入液相色谱仪, 记录峰面积, 以对照品峰面积 (Y) 为纵坐标, 质量浓度 (X) 为横坐标, 绘制标准曲线, 线性范围为 0.012 8 ~ 0.064 mg/mL, 表明桑皮苷 A 对照品在实验浓度范围内, 线性关系良好, 结果见表 4。

表 4 桑皮苷 A 的线性回归方程、相关系数和线性范围

Table 4 Linear equations, correlation coefficients and linear range of mulberroside A

对照品 Reference substance	回归方程 Calibration curve	线性范围 Linear range (mg/mL)	相关系数 <i>r</i>
桑皮苷 A Mulberroside A	$y = 3 \times 10^6 x + 985.79$	0.012 8 ~ 0.064	0.999 3

2.2.5 仪器精密度

取质量浓度为 0.64 mg/mL 的桑皮苷 A 对照品溶液, 重复进样 6 次, 测得峰面积相对标准偏差 (RSD) 为 0.19%, 保留时间相对标准偏差 (RSD) 为 0.13%, 表明仪器精密度良好。

2.2.6 方法精密度

2.2.6.1 日内精密度

取同批的供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件连续进样 6 次, 进样量为 2 μL, 测得峰面积的标准偏差 (RSD) 为 0.87%, 保留时间的相对标准偏差 (RSD) 为 0.80%。表明日内精密度良好。

2.2.6.2 日间精密度

取同批的供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件, 每天连续进样 6 次, 进样 3 天, 进样量为 2 μL, 测得峰面积的相对标准偏差 (RSD) 为 1.83%。保留时间的相对标准偏差 (RSD) 为 0.21%, 表明日间精密度良好。

2.2.7 稳定性

精密称取样品, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 室温下放置, 并按“2.2.1”项下色谱条件于 0、4、8、12、18、24 h 进样测定。测得峰面积的相对标准偏差 (RSD) 分别为 1.07%。保留时间的相

对标准偏差 (RSD) 为 0.64%。表明样品在 24 h 内稳定性良好。

2.2.8 重复性

精密称取样品 6 份, 按照“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 并按“2.2.1”项下色谱条件进样分析并记录峰面积。分别测定桑皮苷 A 含量, 测得峰面积的重复性相对标准偏差 (RSD) 为 0.87%。表明重复性良好。

2.2.9 加样回收率

精密称取桑皮苷 A 对照品, 配成浓度分别为 0.02 mg/mL 的对照品溶液。精密称取桑枝样品约 0.5 g, 按“2.2.3”项下方法制备成体积分别为 0.5 mL 的三份供试品溶液。根据样品中已知桑皮苷 A 含有量的 80%、100%、120%, 分别向上述供试品溶液加入上述对照品溶液 0.4、0.5、0.6 mL。按“2.2.1”项下色谱方法进样, 进样量为 2 μL, 记录桑皮苷 A 的信号强度, 测得桑皮苷 A 平均加样回收率为 100.37%, 结果见表 5。

2.3 样品测定

取根据响应面法制备的 9 个不同批次桑枝供试品, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项下色谱条件进行含量测定, 记录色谱图 (图 1),

表 5 加样回收率试验结果 ($n=3$)Table 5 Result of recovery tests of mulberroside A ($n=3$)

化合物 Components	样品含量 Sample content ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	加入量 Amount of additon ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	实际测得量 Actual content ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	回收率 Recovery (%)	RSD (%)	平均回收率 Average recovery (%)
桑皮苷 A Mulberroside A	20.28	19.90	40.49	100.77	0.96	100.37
	20.28	20.15	42.61	105.39	1.42	
	20.28	20.45	38.68	94.97	0.45	

与文献中相比^[3],本次提取方法得到的桑皮苷 A 含量有明显的提升,由不同产地桑枝药材含量测定的结果可知,产地不同其含量差异较大,总体以广西产地含量较高而江苏产地含量较低;同一产地,不同质量的桑枝中桑皮苷 A 的含量也不同,质量越好,桑皮苷 A 含量越高。结果见表 6。

表 6 九批桑枝中桑皮苷 A 含量测定

Table 6 Determination of the content of mulberroside A in nine batches of *Morus alba* L.

样品批次 No.	样品来源 Source from	桑皮苷 A 质量分数 Mulberroside A percentages (mg/g)
1	陕西兴盛德药业有限责任公司	7.64
2	陕西步长制药有限公司	5.09
3	广西桑枝(差)	5.81
4	广西桑枝(中)	9.36
5	广西桑枝(良)	10.17
6	广西桑枝(优)	13.14
7	四川桑枝	6.15
8	江苏桑枝	4.97
9	河南桑枝	9.28

2.4 响应面分析与优化

响应面图是根据回归方程绘制的,是响应值在各实验因素交互作用下得到的结果构成的一个三维空间曲面,可以预测和检验变量的响应值以及确定变量的相互关系。从桑皮苷 A 及各成分项 ANOVA 分析结果(表 7)中可以看出,超声时间和超声温度对各项均无显著性差异;甲醇比例($P=0.0004 < 0.05$)和溶剂体积($P=0.0006 < 0.05$)对桑皮苷 A 的含量有显著性差异。

由方差分析响应曲面图 A~E 所示,从含量角度分析,随着甲醇比例的不断增大,桑皮苷 A 的含量随之减少;随着溶剂体积的增大,桑皮苷 A 的含量随之增大,但溶剂体积超过 50 mL 后,增大的趋势则变缓,最后趋于平稳;随着超声时间增长和超声温

度升高,桑皮苷 A 的含量都趋于平稳状态。从总体上来说,四因素交互作用对桑皮苷 A ($P=0.0004 < 0.05$)的含量有显著性差异(表 8)。

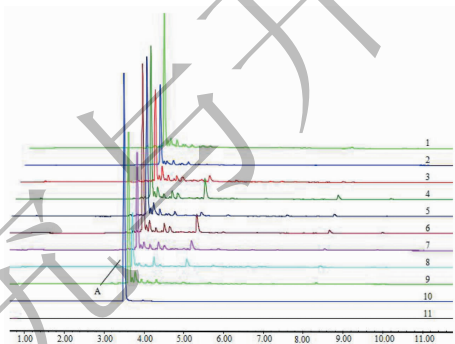


图 1 空白溶剂(11)、对照品(10)、桑皮苷 A(A)和 9 个不同批次的桑枝色谱图(1~9)

Fig. 1 UPLC chromatograms of blank solution (11), standards solution (10), mulberroside A (A) and 9 batches *Morus alba* L. chromatogram (1-9)

2.5 最佳提取工艺确定及验证试验

根据上述筛选结果,在设计水平内对含量做最大值运算,以 5 次重复性试验验证因子分析结果,得到桑枝最佳优化提取工艺为:溶剂浓度为 60.24% (甲醇-水),溶剂体积为 55.58 mL,超声时间为 39.65 min,超声温度为 35.23 $^{\circ}\text{C}$,此条件下桑皮苷 A 的提取预测值为 7.64 mg/g。

为了实际操作方便,将提取工艺中溶剂浓度定为 60% 的甲醇水溶液,溶剂体积定为 55 mL,超声时间定为 40 min,超声温度定为 35 $^{\circ}\text{C}$,依据所确定的最佳提取工艺进行实际验证($n=3$),实际测得桑枝药材中桑皮苷 A 平均含量为 7.63 mg/g,这与理论预测值(7.64 mg/g)相比无显著性差异($P>0.05$)。因此,采用 Box-Behnken 的中心组合试验设计优化得到的桑枝提取工艺条件准确可靠,具有实用价值。

3 结论

Box-Behnken 响应面法是近来兴起的一种新型

表 7 响应面二次模型及其回归系数的方差分析结果

Table 7 Analysis of variance for the response surface quadratic model and regression coefficients

方差来源 Variance sources	平方和 Sum of squares	自由度 Df	均方 Mean squares	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significant
Model	13.38	10	1.34	6.16	0.000 4	Significant
A-甲醇比例 Methanol concentration	4.93	1	4.93	22.73	0.000 2	
B-超声时间 Extraction time	0.016	1	0.016	0.073	0.790 6	
C-溶剂体积 Solvent volume	3.78	1	3.78	17.40	0.000 6	
D-超声温度 Extration temperature	0.051	1	0.051	0.24	0.632 6	
AB	0.020	1	0.020	0.092	0.765 7	
AC	3.03	1	3.03	13.95	0.001 5	
AD	0.65	1	0.65	2.99	0.101 1	
BC	0.29	1	0.29	1.35	0.261 2	
BD	2.891E-003	1	2.891E-003	0.013	0.909 4	
CD	0.16	1	0.16	0.71	0.409 1	
残差 Residual	3.91	18	0.22			
失拟项 Missing item	3.28	14	0.23	1.50	0.374 3	Not significant
纯误差 Pure error	0.63	4	0.16			
总差 Total difference	17.28	28				

表 8 桑皮苷 A 的 P 值及相关方程

Table 8 P value and correlation equation of mulberroside A

指标 Index	P 值 P value	方程 Equation
桑皮苷 A Mulberroside A	0.000 4	桑皮苷 A 含量 (mg/g) = $5.37 - 0.64 * A + 0.036 * B + 0.56 * C - 0.065 * D + 0.070 * A * B - 0.87 * A * C + 0.40 * A * D + 0.27 * B * C + 0.027 * B * D - 0.20 * C * D$

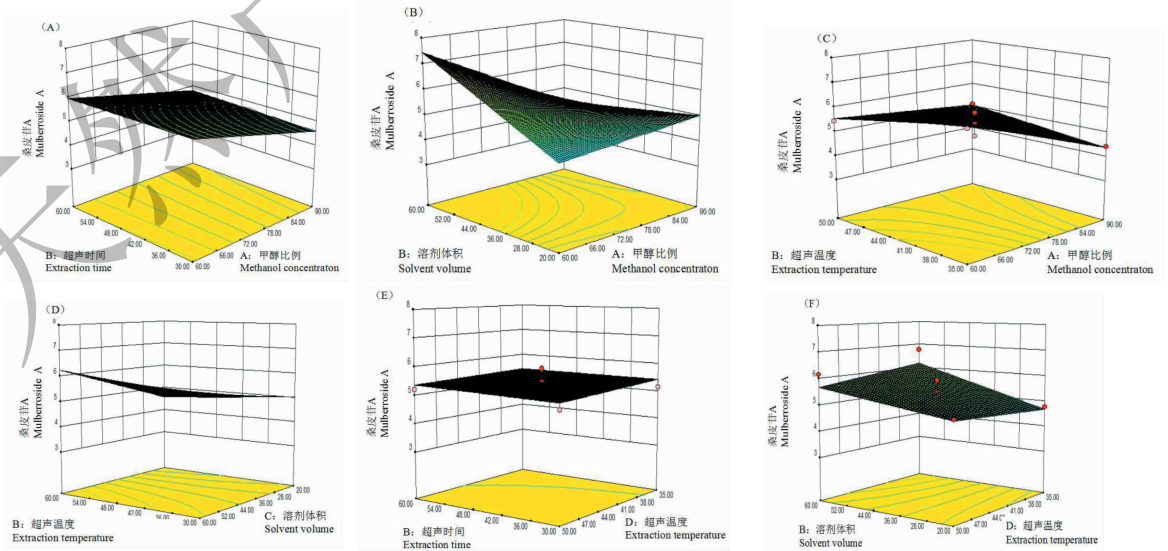


图 2 各响应因素试验响应曲面分析图

Fig. 2 Response surface plots for the mulberroside A response factors

试验设计方法,弥补了正交设计和均匀设计等线性模型精密度低的不足,能更好的揭示自变量和非自变量之间的关系^[10,11]。本实验用响应面分析法优化了桑枝中桑皮苷 A 的提取,相比于传统的回流醇提法,工艺稳定,操作简单,方法可行,结果可靠。查阅相关文献,桑皮苷 A 的含量大都采用 HPLC 法测定,与伍春等^[12]采用 HPLC 法测定桑枝中桑皮苷 A 的提取工艺相比,本实验利用 UPLC 法测得桑枝中桑皮苷 A 的含量,出峰时间短,大大缩短了实验时间,且与传统的 HPLC 法相比,UPLC 还能提高分析的灵敏度和分离度,而且本实验溶剂的选择是甲醇,这就很好的克服了用自来水提取易变质,难回收等缺点。因此,本研究为桑枝提取工艺的优化提供了新思路,为桑枝药材的质量标准的建立提供一定的研究依据。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015; 11.
- 2 Guo FT(郭福团), Xu XW(许雄伟), Pan JF(潘建峰), et al. Protective effects of NDP on LPS induced neuron injuries in rat mixed cultures [J]. *Chin Pharm Bull* (中国药理学通报), 2016, 32: 1148-1152.
- 3 Fang J(方婧), Gao J(高霏), Wu HW(吴宏伟), et al. Determination of mulberroside A in ramulus mori by HPLC [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2013, 19(5): 80-82.
- 4 Ferreira SL, Bruns RE, Ferreira HS, et al. Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 597: 179.
- 5 Zhang D(张丹), Liao F(廖芳), Zhou J(周洁), et al. Optimization of preparation technology for total glucosides from *Paonia lactiflora* liposome by BBD-RSM and its in vitro release [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2015, 46: 359-364.
- 6 Li CY(李存玉), Ma Y(马赟), Gong RJ(龚柔佳), et al. Optimization of nanofiltration concentration process of *sophora flavescens* extract by coupling technology of response surface methodology and regulating Donnan effect [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2016, 47: 3395-3400.
- 7 Zhou HL(周海玲), Ma L(马麟), Xu SJ(许舜军), et al. Comparison on characteristic chromatograms of water extract of *fructus xanthii* with UPLC and HPLC [J]. *J Guangdong Pharm Univ* (广东药科大学学报), 2016, 32: 454-457.
- 8 Michael E. Swartz. UPLC™: an introduction and review [J]. *J Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2005, 28: 1253-1263.
- 9 Li PP(李平平), Liao ST(廖森泰), Liu JP(刘吉平), et al. Advances in studies on 1-deoxynojirimycin and its derivatives separated from mulberry [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2010, 41: 1921-1924.
- 10 Luan QX(栾庆祥), Zhao Y(赵杨), Zhou X(周欣), et al. Optimization on extraction technology for *eucommia ulmoides* by single-factor experiment combined with response surface methodology [J]. *J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2013, 5: 859-865.
- 11 Shan LF(单丽芳), Cao L(曹蕾), Yang HM(杨红梅), et al. Optimization of water extraction process of saponins from *shenqi fufang granular* by response surface methodology [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2016, 28: 568-574.
- 12 Wu C(伍春). Study on the extraction and purification processes of mulberroside A from mulberry branch and its activities [D]. Chongqing: Southwest University (西南大学), 2012.