

## UPLC 法同时测定不同种类桑枝中 5 种黄酮类成分含量

张椿翊<sup>1,2</sup>, 邓乔晟<sup>1</sup>, 郭子晗<sup>1</sup>,  
乔中华<sup>1</sup>, 黄小兰<sup>2</sup>, 王森<sup>3</sup>, 周游<sup>1\*</sup>, 周浓<sup>1\*</sup><sup>1</sup>重庆三峡学院生物与食品工程学院;<sup>2</sup>重庆市万州食品药品检验所, 万州 404100; <sup>3</sup>遵义医科大学药学院, 遵义 563000

**摘要:**黄酮类成分具有较好的降血压降血脂作用, 为了解桑枝中芦丁、桑色素、山柰酚、异槲皮苷、桑辛素等黄酮类成分的含量情况, 采用超高效液相色谱法 (ultra performance liquid chromatography, UPLC) 对重庆 9 个产地、3 个种类 (桑、鸡桑、华桑) 的 18 批桑枝进行黄酮成分的测定。实验结果显示, 芦丁、桑色素、山柰酚、异槲皮苷、桑辛素在各自质量浓度范围内, 峰面积和浓度呈现出良好的线性关系, 相关系数  $R$  为 0.999 5 ~ 0.999 8。18 批桑枝中均检测出 5 种黄酮类物质, 但其在含量上存在较大差异, 五种黄酮类成分的平均含量由高到低为桑辛素 > 桑色素 > 芦丁 > 异槲皮苷 > 山柰酚, 含量最高的桑辛素平均含量为 135.154  $\mu\text{g/g}$ , 含量最低的山柰酚平均含量为 6.929  $\mu\text{g/g}$ 。不同种类桑枝中 5 种黄酮类物质含量差异较大, 华桑中黄酮总含量最高。本研究能为深入研究桑枝的药用价值提供理论依据以及数据资料参考, 为临床上降血压降血脂的治疗提供药物来源参考。

**关键词:** 桑枝; 黄酮; 超高效液相色谱; 含量测定

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)3-0372-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.3.002

Simultaneous determination of five flavonoids in  
different mulberry branches by UPLCZHANG Chun-yi<sup>1,2</sup>, DENG Qiao-sheng<sup>1</sup>, GUO Zi-han<sup>1</sup>,  
QIAO Zhong-hua<sup>1</sup>, HUANG Xiao-lan<sup>2</sup>, WANG Sen<sup>3</sup>, ZHOU You<sup>1\*</sup>, ZHOU Nong<sup>1\*</sup><sup>1</sup>College of Biology and Food Engineering, Chongqing Three Gorges University;<sup>2</sup>Chongqing Wanzhou FDA Inspection Institute, Chongqing 404100, China;<sup>3</sup>School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

**Abstract:** Flavonoids have a good effect of lowering blood pressure and blood lipids. In order to explore the contents of rutin, morin, kaempferol, isoquercitrin, and morusin in mulberry branches, ultra performance liquid chromatography (UPLC) was used to determine the flavonoids in 18 batches of mulberry branches of three species (*Morus alba* L., *M. australis* Poir., *M. cathayana* Hemsl.) from nine places of origin in Chongqing. The result showed that there was a good linear relationship between peak area and concentration of rutin, morin, kaempferol, isoquercitrin and morusin within their respective mass concentration range, and the correlation coefficient  $R$  was 0.999 5-0.999 8. The five flavonoids were detected in all 18 batches of samples, while there were great differences in their contents. The average content of the five flavonoids from high to low was morusin > morin > rutin > isoquercitrin > kaempferol. The highest was the average content of morusin, which was 135.154  $\mu\text{g/g}$ , and the lowest was the average content of kaempferol which was 6.929  $\mu\text{g/g}$ . There were great differences in the contents of flavonoids between species, and the total flavonoids content in the *M. cathayana* was the highest. This study can provide theoretical basis and data reference for the in-depth research of the medicinal value of mulberry branches, and provide drug source reference for the clinical treatment of reducing blood pressure and blood lipids.

**Key words:** mulberry branches; flavonoids; UPLC; content determination

桑枝,又称桑条,为桑科植物桑 *Morus alba* L.、鸡桑 *M. australis* Poir. 和华桑 *M. cathayana* Hemsl. 的干燥嫩枝。桑枝性平,味微苦,归经肝,是一种传统的中药材,具有祛风湿,利关节作用,主要用于治疗风湿麻痹以及手臂肩膀等处关节麻木酸痛等症<sup>[1]</sup>,历代古籍记载桑枝可“疗口干、养津液、滋肾水”,具有燥湿、活血通经的治疗功效<sup>[2]</sup>,在我国中医临床上已有十分悠久的历史。桑枝中具有多种有效活性成分,如黄酮类成分<sup>[3]</sup>、生物碱类成分<sup>[4]</sup>、氨基酸<sup>[5]</sup>等,据现代药理研究表明,桑枝具有抗炎、抗氧化、降血糖、降血脂、降血压、抗菌抗病毒以及抗肿瘤等多种作用<sup>[6]</sup>。桑枝黄酮类成分具有良好的降血脂降血糖以及抗菌抗氧化等作用<sup>[7]</sup>。

本研究以采自重庆不同区县的 9 个产地、3 个种类、共计 18 批次的桑枝作为实验样品,通过超声波提取,采用超高效液相色谱法 (ultra performance

liquid chromatography, UPLC) 对这 18 批不同种类桑枝中芦丁、桑色素、山柰酚、异槲皮苷、桑辛素等五种黄酮类成分含量进行测定与分析,以此来对 9 个产地、3 个种类的 18 批桑枝进行质量分析,比较出 18 批桑枝中黄酮含量的差异性,为后续的桑枝研究开发提供数据支撑及参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验用桑枝样品来自重庆市不同区县的 9 个采样点,3 个种类,共计 18 批次,均采集于 2018 年 10 月,经鉴定为桑科桑属植物桑 (*Morus alba* L.)、鸡桑 (*M. australis* Poir.) 和华桑 (*M. cathayana* Hemsl.) 的嫩枝,具体信息详见表 1。将采摘的新鲜桑枝用蒸馏水洗净后切段,置于 45 °C 恒温鼓风干燥箱中,烘干至恒重,粉碎后过三号筛,备用。

表 1 桑枝采样地点及种类信息  
Table 1 Information of sampling sites and origin

No.	种类 Type	采集地点 Collection location	No.	种类 Type	采集地点 Collection location
S1	华桑 <i>M. cathayana</i>	开州区临江镇	S10	华桑 <i>M. cathayana</i>	云阳县双河镇
S2	鸡桑 <i>M. australis</i>	开州区临江镇	S11	鸡桑 <i>M. australis</i>	云阳县双河镇
S3	鸡桑 <i>M. australis</i>	开州区大进镇	S12	桑 <i>M. alba</i>	云阳县双河镇
S4	鸡桑 <i>M. australis</i>	巴南区安澜镇	S13	鸡桑 <i>M. australis</i>	北碚区天生桥街道
S5	华桑 <i>M. cathayana</i>	巴南区安澜镇	S14	鸡桑 <i>M. australis</i>	奉节县新民镇
S6	鸡桑 <i>M. australis</i>	万州区分水镇	S15	华桑 <i>M. cathayana</i>	奉节县新民镇
S7	桑 <i>M. alba</i>	万州区分水镇	S16	桑 <i>M. alba</i>	奉节县新民镇
S8	鸡桑 <i>M. australis</i>	南岸区黄桷埡镇	S17	鸡桑 <i>M. australis</i>	万州区百安坝街道
S9	华桑 <i>M. cathayana</i>	南岸区黄桷埡镇	S18	桑 <i>M. alba</i>	万州区百安坝街道

### 1.2 实验试剂

5 种黄酮标准品购自成都得思特生物技术有限公司,具体信息如下:芦丁 (DST181221-156)、桑色素 (DST210314-067)、山柰酚 (PU1024-0025MG)、异槲皮苷 (PS0400-0025MG)、桑辛素 (PS1008-0025MG),纯度均 $\geq 98\%$ 。

磷酸 (优级纯) 购自成都科龙化工试剂厂;乙腈、甲醇 (均为色谱纯) 购自德国默克公司;实验用

水为去离子超纯水。

### 1.3 仪器与设备

超高效液相色谱仪 (Waters UPLC ACQUITY CLASS UPLC, 美国 Waters); 紫外分光光度计 (TU-1901, 北京普析通用仪器有限责任公司)。

### 1.4 实验方法

#### 1.4.1 样品溶液的制备

精密称取桑枝样品粉末 0.5 g (精确至 0.000

1g)于离心管中,加入20 mL 甲醇,在25 °C 温度下超声提取30 min,6 000 r/min 离心5 min 后取出,取上清液于鸡心瓶中,继续向离心管中加入20 mL 甲醇,重复超声30 min,离心,合并上清液,于旋转蒸发仪上蒸发至近干,加入2 mL 乙腈复溶,经0.22 μm 微孔有机滤膜过滤,待上机测定。同法做空白溶液。

#### 1.4.2 标准溶液的制备

分别精密称取芦丁标准品5.09 mg, 桑色素标准品4.92 mg, 山柰酚标准品4.55 mg, 异槲皮苷标准品5.02 mg, 桑辛素标准品5.22 mg, 置于5 mL 容量瓶内,加入乙腈溶解并定容至刻度,混匀,即得芦丁、桑色素、山柰酚、异槲皮苷、桑辛素标准储备液,浓度分别为0.997 6、0.964 3、0.891 8、0.983 9、1.023 mg/mL。取各黄酮标准储备液1.00 mL 于10 mL 容量瓶中,用乙腈定容至刻度并混匀,得到含芦丁、桑色素、山柰酚、异槲皮苷、桑辛素的黄酮混合标准工作液,经0.22 μm 微孔有机滤膜过滤。分别吸取黄酮混合标准工作液适量于7 个5 mL 容量瓶中,用乙腈定容至刻度,混匀,得不同质量浓度的系列混合标准品溶液,待上机测定。

#### 1.4.3 仪器条件

色谱柱:ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 150 mm, 1.7 μm); 检测波长:360、270 nm; 柱温:35 °C; 进样量:1 μL; 流速:0.2 mL/min; 流动相:A 为0.2% 磷酸水溶液,B 为乙腈,梯度洗脱,流动相梯度洗脱比例详见表2。

#### 1.5 数据处理

采用WPS 表格软件对测得的数据进行处理,黄酮含量以平均值 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。

表2 梯度洗脱程序

Table 2 Gradient elution program

时间 Time (min)	流动相 A Mobile phase A (%)	流动相 B Mobile phase B (%)
0	85	15
3	85	15
8	80	20
18	35	65
25	20	80
30	20	80
30.1	85	15
35	85	15

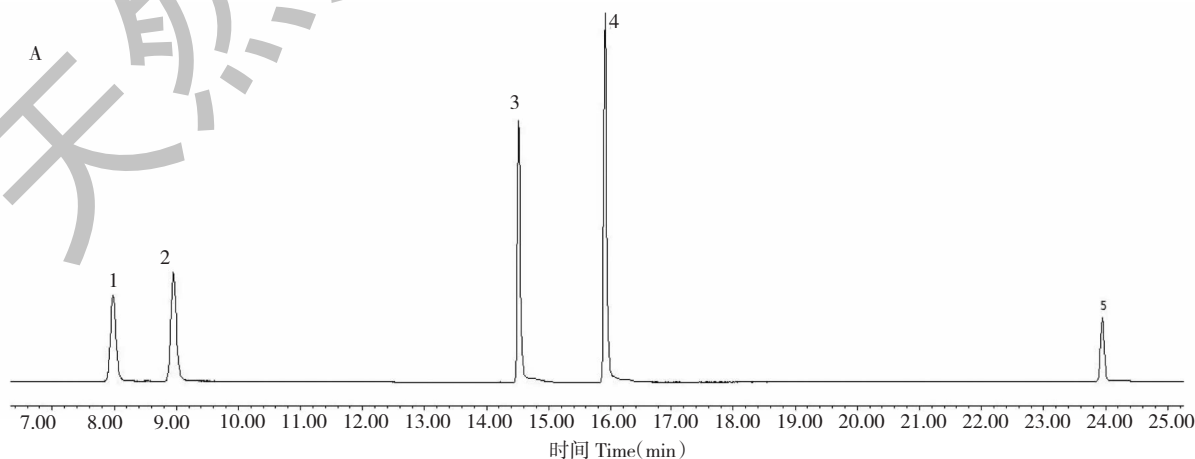
## 2 结果与分析

### 2.1 测定波长选择

用乙腈溶解各黄酮,采用紫外可见分光光度计对所测5种黄酮进行最大吸收波长的测定,结果显示,芦丁的最大吸收波长为353.40 nm,桑色素的最大吸收波长为366.10 nm,山柰酚的最大吸收波长为361.90 nm,异槲皮苷的最大吸收波长为351.40 nm,桑辛素的最大吸收波长为275.20 nm,所以根据各个黄酮的最大吸收波长,实验最终选择了360 nm 和270nm 两个波长作为最终的测定波长通道。

### 2.2 方法学考察

取“1.4.2”项下的黄酮混合标准工作液和“1.4.1”项下的桑枝样品溶液,按照“1.4.3”项下的仪器条件进行测定分析。结果显示,黄酮混合标准品和桑枝样品的色谱峰峰形尖锐,分离度良好,如图1所示。可用于桑枝样品中黄酮含量的测定。



续图1(Continued Fig.1)

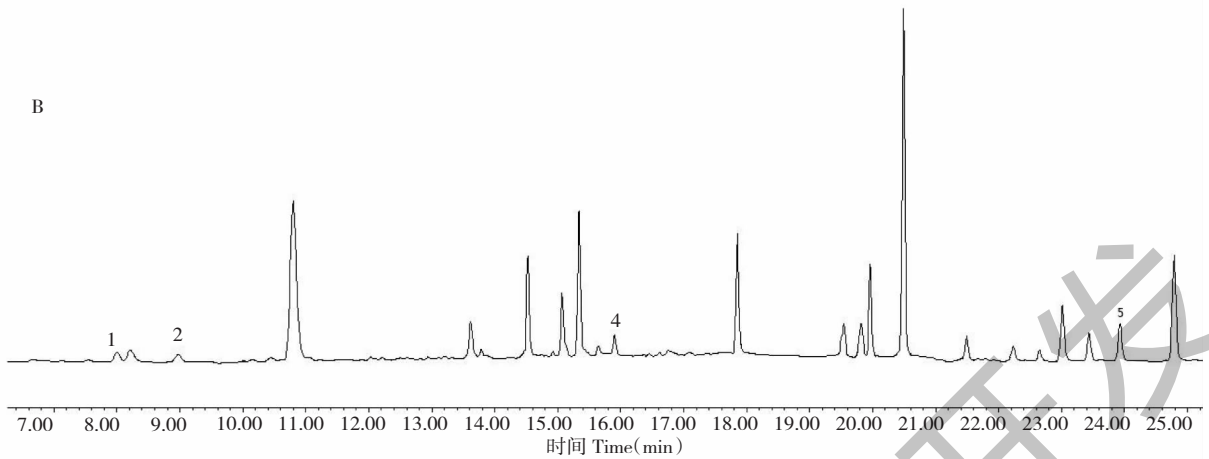


图 1 黄酮标准品和华桑 (S1) UPLC 图谱

Fig. 1 UPLC chromatograms of flavonoid standard and *M. cathayana* (S1)

注:A:黄酮标准品;B:华桑(S1)。1. 芦丁;2. 异槲皮苷;3. 桑色素;4. 山奈酚;5. 桑辛素。Note:A:Flavonoids standard;B:*M. cathayana* (S1). 1. Rutin;2. Isoquercitrin;3. Morin;4. Kaempferol;5. Morusin.

### 2.3 线性关系考察

取“1.4.2”项下不同质量浓度的系列混合标准品溶液按照“1.4.3”项下的仪器条件进行黄酮含量测定分析,记录色谱峰的峰面积,以各黄酮标准品的峰面积( $Y$ )为纵坐标,所对应的质量浓度( $X$ )为横坐标绘制标准曲线,得到线性回归方程,如表 3 所

示,5 种黄酮的相关系数均大于 0.999 5,表明 5 种黄酮在线性范围内线性关系良好。

### 2.4 精密度试验

取 1.4.2 节中同一质量浓度的黄酮混合标准品工作液,按照“1.4.3”项下的仪器条件连续进样 6 次,测定 5 种黄酮进样的精密度,记录 5 种黄酮的峰

表 3 5 种黄酮的标准曲线、线性范围、相关系数、仪器精密度和方法重复性

Table 3 Calibration curves, linear ranges, correlation coefficients, instrument precision and method repeatability for five flavonoids detected by UPLC

黄酮 Flavonoid	标准曲线方程 Standard curve equation	线性范围 Linear range ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	相关系数 $R$ Correlation coefficient $R$	仪器精密度 Instrument precision (%)	方法重复性 Method repeatability (%)
芦丁 Rutin	$Y = 8.47 \times 10^3 X - 5.68 \times 10^2$	0.488 8 ~ 39.104	0.999 8	0.46	1.31
异槲皮苷 Isoquercitrin	$Y = 1.06 \times 10^4 X - 6.14 \times 10^2$	0.492 0 ~ 39.356	0.999 8	0.33	2.54
桑色素 Morin	$Y = 1.53 \times 10^4 X - 7.15 \times 10^3$	0.482 2 ~ 38.572	0.999 5	0.54	1.80
山奈酚 Kaempferol	$Y = 2.17 \times 10^4 X - 3.20 \times 10^3$	0.445 9 ~ 35.672	0.999 8	0.57	2.96
桑辛素 Morusin	$Y = 4.00 \times 10^3 X + 4.82 \times 10^2$	0.511 5 ~ 40.920	0.999 8	1.53	2.84

面积并计算相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD), 详见表 3。结果显示 5 种黄酮峰面积的 RSD 在 0.33% ~ 1.53% 之间, RSD 均小于 2.00%, 说明仪器的精密度良好, 可以用于本次实验的测定分析。

### 2.5 重复性试验

称取同一桑枝样品粉末 (S15) 0.5 g, 平行称取 6 份, 按照“1.4.3”项下的仪器条件进行测定分析, 记录 5 种黄酮的峰面积并计算 RSD, 详见表 3。结果显示 5 种黄酮峰面积所对应的 RSD 在 1.31% ~

2.96% 之间, 表明该方法的重复性良好, 可以用于桑枝样品中黄酮的含量测定。

### 2.6 稳定性试验

取“1.4.2”项下同一质量浓度的黄酮混合标准品工作液, 按照“1.4.3”项下的仪器条件每隔 3h 进样测定一次, 结果显示 5 种黄酮成分较稳定, 在 40 h 内的 RSD 在之间 0.54% ~ 3.17%, 超过 40 h 后 RSD 均超过 4.00%, 所以建议桑枝样品的这 5 种黄酮类成分在提取后的 40 h 内测定完毕, 以此来保证实验结果的准确可靠性。

## 2.7 加标回收试验

称取已知黄酮含量的桑枝样品粉末(S15)0.25 g共6份,置于离心管中,分别加入各标准储备液适量,按照“1.4.1”项下的样品溶液制备方法制备6份桑枝样品溶液,按“1.4.3”项下的仪器条件测定

峰面积,计算回收率和RSD,以平均回收率表示,结果详见表4。结果表明5种黄酮平均回收率为93.82%~101.81%,RSD为0.34%~2.14%,可以满足桑枝中5种黄酮含量测定的要求。

表4 5种黄酮加标回收结果( $n=6$ )  
Table 4 Recovery results of five flavonoids ( $n=6$ )

黄酮 Flavonoids	样品含量 Sample content ( $\mu\text{g}$ )	加标量 Scalar quantity ( $\mu\text{g}$ )	测定值 Measured value( $\mu\text{g}$ )	回收率 Rate of recovery(%)	平均回收率 Average recovery rate(%)	RSD (%)
芦丁 Rutin	2.882	2.801	5.570	95.97	98.36	1.61
	2.854	2.801	5.673	100.64		
	2.852	2.801	5.595	97.93		
	2.831	2.801	5.606	99.07		
	2.844	2.801	5.616	98.96		
	2.864	2.801	5.598	97.61		
异槲皮苷 Isoquercitrin	2.010	2.008	3.862	92.23	93.82	2.14
	2.038	2.008	3.886	92.03		
	2.020	2.008	3.951	96.17		
	2.014	2.008	3.922	95.02		
	2.080	2.008	3.923	91.78		
	2.006	2.008	3.927	95.67		
桑色素 Morin	13.872	13.776	27.732	100.61	100.81	0.58
	13.771	13.776	27.613	100.48		
	13.772	13.776	27.548	100.00		
	13.728	13.776	27.616	100.81		
	13.682	13.776	27.653	101.42		
	13.673	13.776	27.662	101.55		
山柰酚 Kaempferol	2.451	2.457	4.953	101.83	101.81	1.50
	2.441	2.457	4.948	102.04		
	2.385	2.457	4.908	102.69		
	2.396	2.457	4.896	101.75		
	2.417	2.457	4.961	103.54		
	2.441	2.457	4.874	99.02		
桑辛素 Morusin	22.883	22.968	45.251	97.39	97.82	0.34
	22.877	22.968	45.350	97.84		
	22.785	22.968	45.296	98.01		
	22.830	22.968	45.299	97.83		
	22.772	22.968	45.351	98.31		
	22.950	22.968	45.350	97.53		

## 2.8 桑枝样品中黄酮含量的测定

取18批桑枝样品按照“1.4.1”项下的方法制备桑枝样品溶液,每批桑枝样品平行3份,按“1.4.3”项下的仪器条件在UPLC上测定桑枝中黄酮的含量,结果见表5。

### 2.8.1 桑枝中黄酮成分的含量情况

桑枝中5种黄酮的含量如表5所示,5种黄酮类成分的平均含量由高到低为桑辛素>桑色素>芦丁>异槲皮苷>山柰酚,桑辛素的平均含量为135.154 $\mu\text{g}/\text{g}$ ,其中含量最高的为南岸区黄桷垭镇

表 5 不同种类桑枝中的黄酮含量 ( $n=3$ )Table 5 Flavonoids content in mulberry branches of different varieties ( $n=3$ )

样品 Sample	含量 Content ( $\mu\text{g/g}$ )					
	芦丁 Rutin	异槲皮苷 Isoquercitrin	桑色素 Morin	山柰酚 Kaempferol	桑辛素 Morusin	总量 Total
S1	6.742 ± 0.070 <sup>hi</sup>	5.912 ± 0.127 <sup>g</sup>	42.548 ± 0.194 <sup>h</sup>	11.668 ± 0.054 <sup>a</sup>	119.400 ± 0.848 <sup>g</sup>	186.270
S2	7.684 ± 0.019 <sup>g</sup>	13.742 ± 0.082 <sup>c</sup>	35.952 ± 0.389 <sup>k</sup>	10.750 ± 0.146 <sup>b</sup>	130.535 ± 0.082 <sup>e</sup>	198.663
S3	10.619 ± 0.070 <sup>f</sup>	3.776 ± 0.373 <sup>kl</sup>	27.610 ± 0.315 <sup>o</sup>	9.175 ± 0.022 <sup>c</sup>	248.362 ± 0.553 <sup>b</sup>	299.542
S4	17.235 ± 0.063 <sup>c</sup>	9.772 ± 0.112 <sup>e</sup>	34.004 ± 0.418 <sup>l</sup>	6.166 ± 0.262 <sup>ef</sup>	68.548 ± 0.291 <sup>p</sup>	135.725
S5	12.766 ± 0.056 <sup>d</sup>	9.685 ± 0.297 <sup>e</sup>	82.340 ± 0.442 <sup>b</sup>	11.272 ± 0.629 <sup>ab</sup>	107.300 ± 0.276 <sup>l</sup>	223.363
S6	2.775 ± 0.302 <sup>m</sup>	4.190 ± 0.292 <sup>jk</sup>	32.780 ± 0.275 <sup>m</sup>	8.816 ± 0.597 <sup>c</sup>	88.661 ± 0.405 <sup>n</sup>	137.222
S7	20.842 ± 0.074 <sup>b</sup>	5.241 ± 0.063 <sup>hi</sup>	38.507 ± 0.268 <sup>j</sup>	7.151 ± 0.060 <sup>d</sup>	59.497 ± 0.174 <sup>q</sup>	131.238
S8	12.745 ± 0.016 <sup>d</sup>	5.825 ± 0.476 <sup>sh</sup>	16.812 ± 0.235 <sup>p</sup>	2.185 ± 0.082 <sup>j</sup>	81.222 ± 0.403 <sup>o</sup>	118.789
S9	5.266 ± 0.040 <sup>j</sup>	2.756 ± 0.196 <sup>mm</sup>	29.351 ± 0.031 <sup>n</sup>	2.635 ± 0.528 <sup>i</sup>	449.362 ± 0.127 <sup>a</sup>	489.370
S10	6.653 ± 0.057 <sup>i</sup>	6.817 ± 0.145 <sup>f</sup>	49.384 ± 0.333 <sup>g</sup>	6.574 ± 0.167 <sup>def</sup>	112.473 ± 0.226 <sup>k</sup>	181.901
S11	4.405 ± 0.046 <sup>k</sup>	3.363 ± 0.035 <sup>lm</sup>	41.708 ± 0.588 <sup>i</sup>	4.617 ± 0.170 <sup>hi</sup>	193.582 ± 0.390 <sup>c</sup>	247.675
S12	3.333 ± 0.073 <sup>l</sup>	2.256 ± 0.257 <sup>n</sup>	35.510 ± 0.452 <sup>k</sup>	5.863 ± 0.349 <sup>fg</sup>	112.427 ± 0.108 <sup>j</sup>	159.389
S13	4.829 ± 0.539 <sup>jk</sup>	17.220 ± 0.006 <sup>a</sup>	97.360 ± 0.305 <sup>a</sup>	6.808 ± 0.440 <sup>de</sup>	154.143 ± 0.165 <sup>d</sup>	280.360
S14	25.202 ± 0.516 <sup>a</sup>	11.014 ± 0.071 <sup>d</sup>	49.222 ± 0.499 <sup>g</sup>	3.856 ± 0.608 <sup>i</sup>	59.752 ± 0.152 <sup>q</sup>	149.046
S15	10.521 ± 0.545 <sup>f</sup>	4.448 ± 0.826 <sup>j</sup>	56.561 ± 0.198 <sup>d</sup>	5.185 ± 0.373 <sup>gh</sup>	92.376 ± 0.298 <sup>m</sup>	169.091
S16	7.222 ± 0.364 <sup>sh</sup>	9.813 ± 0.115 <sup>e</sup>	57.518 ± 0.212 <sup>c</sup>	5.988 ± 0.618 <sup>e fg</sup>	114.665 ± 0.238 <sup>i</sup>	195.206
S17	7.740 ± 0.496 <sup>g</sup>	5.132 ± 0.243 <sup>i</sup>	52.416 ± 0.749 <sup>f</sup>	7.363 ± 0.613 <sup>d</sup>	115.733 ± 0.192 <sup>h</sup>	188.384
S18	12.103 ± 0.085 <sup>e</sup>	14.677 ± 0.626 <sup>b</sup>	55.520 ± 0.231 <sup>c</sup>	8.656 ± 0.270 <sup>c</sup>	124.729 ± 0.155 <sup>f</sup>	215.685
平均值 Average	9.927	7.536	46.395	6.929	135.154	205.940

注: 相同列不同小写字母表示不同来源桑枝该黄酮成分含量具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

Note: Different lower case letters in the same column indicate that there is a significant difference in the content of flavonoids in mulberry branches from different sources ( $P < 0.05$ ).

的华桑(S9), 含量为 449.362  $\mu\text{g/g}$ , 其含量是其他来源桑枝的 1.8 ~ 7.6 倍; 含量最低的为万州区分水镇的桑(S7), 含量为 59.497  $\mu\text{g/g}$ 。桑色素的平均含量为 46.395  $\mu\text{g/g}$ , 其中含量最高的为北碚区天生桥街道的鸡桑(S13), 含量为 97.360  $\mu\text{g/g}$ , 最低的为南岸区黄桷垭镇的鸡桑(S8), 含量为 16.812  $\mu\text{g/g}$ 。芦丁含量最高的为奉节县新民镇的鸡桑(S14), 含量为 25.202  $\mu\text{g/g}$ , 最低的为万州区分水镇的鸡桑(S6), 含量为 2.775  $\mu\text{g/g}$ 。异槲皮苷含量最高的为北碚区天生桥街道的鸡桑(S13), 含量为 17.220  $\mu\text{g/g}$ , 最低的为云阳县双河镇的桑(S12), 含量为 2.256  $\mu\text{g/g}$ 。五种黄酮中最低的山柰酚平均含量为 6.929  $\mu\text{g/g}$ , 含量最高的为开州区临江镇的华桑(S1), 含量为 11.668  $\mu\text{g/g}$ , 最低的为南岸区黄桷垭镇的鸡桑(S8), 含量为 2.185  $\mu\text{g/g}$ 。

### 2.8.2 种类间的含量差异

18 批桑枝中桑有 4 批, 华桑有 5 批, 鸡桑有 9 批, 不同种类间芦丁、异槲皮苷、桑色素、山柰酚、桑

辛素的含量情况如表 6 所示, 由表可知华桑的黄酮总量最高, 为 249.999  $\mu\text{g/g}$ , 其中华桑中的桑辛素、桑色素、山柰酚含量最高, 分别为 176.182、52.037、7.467  $\mu\text{g/g}$ , 但华桑中的芦丁和异槲皮苷最低, 含量为 8.390  $\mu\text{g/g}$  和 5.924  $\mu\text{g/g}$ , 桑中的芦丁含量最高, 为 10.875  $\mu\text{g/g}$ , 鸡桑中的异槲皮苷含量最高, 为 8.226  $\mu\text{g/g}$ 。

## 3 讨论与结论

### 3.1 提取条件的选择

本研究考察了甲醇加热回流提取法、甲醇超声波提取法、乙醇加热回流提取法、乙醇超声波提取法, 发现以甲醇为提取溶剂的效果较佳, 加热回流提取法和超声波提取法提取效果相差不大, 考虑到超声波提取法操作简单, 故本研究选用了甲醇超声波提取法。本研究同时考虑了提取温度、提取时间、提取次数对提取效果的影响, 最后试验结果表明当提取温度为 25  $^{\circ}\text{C}$ 、提取时间为 30 min、提取次数为 2 次时, 整体的提取效果最佳, 所以本实验最后的提取

条件确定为用甲醇溶液以超声波的提取方式,提取温度为 25 ℃、提取时间为 30 min、提取次数为 2 次。

表 6 不同种类桑枝黄酮含量

Table 6 Flavonoids content among mulberry branches of different varieties(μg/g)

种类 Type	芦丁 Rutin	异槲皮苷 Isoquercitrin	桑色素 Morin	山柰酚 Kaempferol	桑辛素 Morusin	总量 Total
桑 <i>M. alba</i>	10.875 ± 7.551	7.997 ± 5.431	46.764 ± 11.360	6.915 ± 1.298	102.830 ± 29.380	175.380
鸡桑 <i>M. australis</i>	10.359 ± 7.167	8.226 ± 4.957	43.096 ± 23.026	6.637 ± 2.750	126.727 ± 62.791	195.045
华桑 <i>M. cathayana</i>	8.390 ± 3.130	5.924 ± 2.606	52.037 ± 19.688	7.467 ± 3.920	176.182 ± 153.034	249.999

### 3.2 流动相的选择

本研究考察了四种流动相组成(0.2% 甲酸水溶液 + 甲醇、0.2% 甲酸水溶液 + 乙腈、0.2% 磷酸水溶液 + 甲醇、0.2% 磷酸水溶液 + 乙腈)对出峰效果的影响差异,实验结果显示,当流动相为 0.2% 甲酸水溶液 + 甲醇和 0.2% 磷酸水溶液 + 甲醇时,出峰时间较晚,分析时间较长,特别是桑辛素,在流动相为甲醇时出峰时间靠后,影响整体的分析时间,当流动相为 0.2% 磷酸水溶液 + 乙腈时分析时间较短,峰形以及分离效果较好,所以本研究选用 0.2% 磷酸水溶液 + 乙腈作为流动相。同时还考察了不同的柱温(30、35、40 ℃)对试验效果的影响,试验结果发现当柱温为 35 ℃ 时分离效果最佳。

### 3.3 桑枝黄酮成分含量情况

研究结果显示,18 批桑枝样品中均检出芦丁、异槲皮苷、桑色素、山柰酚、桑辛素,但在含量上存在较大差异,含量最高的桑辛素平均含量为 135.154 μg/g,含量最低的山柰酚平均含量为 6.929 μg/g,提示桑枝(特别是南岸区黄桷埡镇的华桑)可作为桑辛素来源材料进行提取,进一步开发利用。桑枝中的这 5 种黄酮含量受较多因素的影响,如桑枝的采收时间、桑树的种类、桑枝的部分(前段、中段、后段)、桑枝的产地等等。桑辛素具有抗艾滋病病毒和抗肿瘤的作用<sup>[8]</sup>。桑色素和异槲皮苷都具有抗氧化活性,能清除 DPPH 自由基活性<sup>[9]</sup>。芦丁能使毛细血管的弹性增强的效果,能够保护多种组织器官,在细胞凋亡的过程中起到诱导作用<sup>[10]</sup>。山柰酚对癌症细胞有较好抑制作用,和芦丁一样,在细胞凋亡过程中通过诱导作用使其凋亡,具有防癌抗癌的作用<sup>[11]</sup>。综上所述,桑辛素、桑色素、异槲皮苷、芦丁、山柰酚均具有很好的药用价值,对临床医疗具有十分重要的意义。桑树资源在三峡库区种植面积广泛,获取方便,原料获取成本较低,以桑枝为原料来提炼桑辛素、桑色素、异槲皮苷、芦丁、山柰酚等黄酮成分,将会是桑枝进一步开发利用的新趋势。

### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典)[M]. Beijing:China Medical Science Press,2020:311.
- 2 Wu ZP, Jiang NZ, Tan JZ, et al. Determination on total flavonoids content in ramulus mori of different varieties by spectrophotometry[J]. Acta Sericol Sin(蚕业科学),2006:138-141.
- 3 Wang XZ, Shi GR. Research Progress on pharmacological action and application of flavonoids from Ramulus Mori[J]. Chin Community Doct(中国社区医师),2012,14:25.
- 4 Han WL, Liu L, Zhang XQ. Studies on the chemical constituents of mulberry leaves[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志),2007,32:695-698.
- 5 Zhang CY, Huang XL, Huang WP, et al. Determination of 17 amino acids in different varieties of mulberry branches by UPLC with precolumn derivatization[J]. Food Ferment Ind(食品与发酵工业),2022,48:277-283.
- 6 Li RZ, Liu YL. Pharmacological action of flavonoids from Ramulus Mori and construction of its application research ideas[J]. Med Inf(医学信息),2015,28:240-241.
- 7 Liu HY, Wang J, Ma J, et al. Interference effect of oral administration of mulberry branch bark powder on the incidence of type II diabetes in mice induced by streptozotocin[J]. Food Nutr Res,2016,60:31606.
- 8 Wu ZP, Tan JZ, Gu ZL. Study on chemical constituents and pharmacological activities of Cortex Mori[J]. Chin Wild Plant Resour(中国野生植物资源),2004,23:10-12.
- 9 Chen JW, Hu B, Zhao S, et al. Structure-activity relationship of the natural flavonoids in scavenging DPPH · [J]. Chin J Lumin(发光学报),2005,5:112-116.
- 10 Liu YY, Jia JL, Chi XJ, et al. Research survey on mulberry flavonoids[J]. Jiangsu Seric(江苏蚕业),2008,119:5-9.
- 11 Wang T, Liang YN, Hou BL, et al. Study on chemical components from *Hedyotis diffusa* Willd and their anti-tumour activity[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2022,34:1281-1288.