

桑叶槲皮素提取物抗氧化活性研究

王海燕, 杨金龙, 谷山林, 王小燕, 王介平, 周 婵, 吕金凤, 曾 秀

(重庆市畜牧科学院, 重庆 402460)

摘要: 桑叶是药食两用植物资源, 桑叶槲皮素是其主要的黄酮类化合物, 具有广泛生理活性。为了更深入研究桑叶槲皮素活性作用, 文章对桑叶槲皮素抗氧化性展开研究, 采用大孔树脂法对桑叶槲皮素提取物进行纯化, 并对其抗氧化活性进行研究。结果表明: 在还原力、清除 DPPH 方面桑叶槲皮素纯化物较槲皮素粗提取物作用较好; 在清除超氧阴离子作用方面, 低浓度时粗提物优于纯化物, 高浓度时纯化物优于粗提物; 在清除羟基自由基作用时, 粗提物则表现比纯化物较强的清除作用。

关键词: 桑叶; 大孔树脂法; 槲皮素; 抗氧化性; 抗坏血酸

中图分类号: TS195.644

文献标志码: A

文章编号: 1001-7003(2018)03-0015-06

引用页码: 031103

Study on antioxidant activity of quercetin extract from mulberry leaves

WANG Haiyan, YANG Jinlong, GU Shanlin, WANG Xiaoyan, WANG Jieping,

ZHOU Chan, LÜ Jinfeng, ZENG Xiu

(Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 402460, China)

Abstract: The mulberry leaf is a kind of medicinal and edible plant leaves. Quercetin is the main flavonoids in mulberry leaves, with a wide range of physiological activity. In order to study the activity of quercetin in mulberry leaves, this paper studies the antioxidant activity of quercetin in mulberry leaves. The quercetin extract from mulberry leaves was purified by macroporous resin method, and its antioxidant activity was studied. The results showed that the crude extract of mulberry leaf quercetin was less than purified product in reducing power and eliminating the DPPH; and the crude extract was superior to the purified product in the removal of superoxide anion when the concentration is low, high concentration of the purification was better than the crude extract; in the removal of hydroxyl radicals, the crude extract was better than the purification of the role of purification.

Key words: mulberry leaves; macroporous resin method; quercetin; antioxidant activity; ascorbic acid

中国是栽桑大国, 拥有丰富的桑叶资源, 随着养蚕业的缩减, 大量桑园处于荒废状态, 造成桑叶的浪费, 多元化利用桑叶资源对稳定蚕桑产业具有重要作用。桑叶因其含有丰富的黄酮、生物碱、多糖等活性成分^[1-2], 在降血糖、降血脂、抗衰老、预防心脑血管疾病、提高免疫力等方面呈现较好作用^[3-10]。研究显示, 桑叶所具有的功能作用与黄酮

类活性物质的抗氧化性关系密切^[11-15]。槲皮素是桑叶中主要黄酮醇化合物, 抗氧化活性较强, 大量文献报道槲皮素抗肿瘤、抑制血小板凝集、抗粥样动脉硬化、抑制胃癌、结肠癌、肺癌、乳腺癌转移等方面效果显著^[16-19]。深入开发桑叶槲皮素活性成分资源, 对天然药物的开发和桑叶资源的高效利用具有重要意义。

目前关于桑叶槲皮素的研究主要集中在检测方法的研究^[20-21], 槲皮素的分离纯化及抗氧化活性测定方面报道较少。因此, 本研究采用大孔树脂法进一步对桑叶粗提物进行分离纯化, 以提高槲皮素的含量, 并比较其抗氧化活性, 为桑叶槲皮素的进一步开发利用提供可靠依据。

收稿日期: 2017-07-24; 修回日期: 2017-12-27

基金项目: 重庆市基础科研应用开发计划项目(16439); 重庆市农发基金项目(15403)

作者简介: 王海燕(1986-), 女, 副研究员, 主要从事天然活性成分、蚕桑资源综合利用及食品安全与质量控制的研究。通信作者: 杨金龙, 研究员, whydetian@163.com。

1 材料与设备

1.1 材料与试剂

桑叶(重庆市畜牧科学院蚕业研究所), 槲皮素标准品(中国食品药品检定研究院), DPPH(东京化成工业株式会社), AB-8大孔树脂(南开大学), 色谱纯甲醇(天津四友试剂有限公司); 分析纯无水乙醇、磷酸氢二钠、氯化钠、三氯乙酸、三羟基甲基氨基甲烷等(成都市科龙化工试剂厂)。

1.2 仪器与设备

FA2004 B电子天平(上海越平科学仪器有限公司), XMTD-4000电热数显恒温水槽(上海比朗仪器有限公司), THC-10B数控超声波提取机(济宁天华超声电子仪器有限公司), SHZ-DⅢ循环水式真空泵、RE-2000B旋转蒸发器(巩义市予华仪器有限责任公司), TU-1901双光束紫外可见分光光度计(普析通用仪器有限责任公司), Agilent1260高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司)。

2 试验方法

2.1 桑叶槲皮素粗提物制备方法

称取5g桑叶(60目)置于250mL提取瓶内,加入50%乙醇12.5mL,放入超声波提取器,在70℃下,超声功率200W、提取0.5h。超声波提取2次,抽滤,合并滤液,真空减压浓缩,回收乙醇,定容至50mL,获得桑叶槲皮素粗提物样品,备用^[22]。

2.2 桑叶槲皮素检测方法

色谱条件: 高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)。检测条件: 色谱柱为Alltima C18(4.6mm×250mm, 5μm); 流动相为甲醇和0.2%磷酸(体积比65:35); 检测器紫外波长360nm; 进样量10μL; 流速1.0mL/min; 柱温25℃。

2.3 桑叶槲皮素纯化方法

以95%乙醇浸AB-8大孔树脂24h,再用95%乙醇淋洗,大量去离子水洗去乙醇;将AB-8大孔树脂装入层析柱(3cm×30cm),5% HCl溶液浸泡4h,用去离子水洗至中性;5% NaOH溶液进行碱处理,去离子水洗至中性,备用。将桑叶槲皮素粗提物稀释成质量浓度为1.28mg/mL,加入至预处理好的AB-8大孔树脂层析柱中,上样体积100mL,过滤,收集流出液;再加入100mL60%乙醇洗脱液

洗脱,洗脱流速为1mL/min,收集流出液,浓缩至干,备用^[23]。

2.4 抗氧化性测定

2.4.1 还原力的测定

将桑叶槲皮素粗提物、纯化物、抗坏血酸、槲皮素标准品配成质量浓度分别为0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mg/mL的溶液。取2.5mL样液加入到2.5mL、pH6.6的磷酸盐缓冲液中,再加入1%的铁氰化钾溶液2.5mL,混合,在50℃水浴锅中恒温20min,再加入2.5mL、10%的三氯乙酸溶液,然后以3000r/min离心10min,取上清液5.0mL,并加去离子水5.0mL和0.1% FeCl₃溶液1.0mL,在700nm处测定吸光度。平行试验重复3次,同时进行空白试验。

2.4.2 抑制超氧阴离子(O₂⁻)活性试验

将桑叶槲皮素粗提物、纯化物、抗坏血酸、槲皮素标准品配成质量浓度分别为2、4、6、8、10mg/mL的溶液。将4.5mL、0.05mol/L的Tris-HCl缓冲液于25℃水浴预热20min,分别加入1.0mL不同质量浓度的样液和0.4mL、25mmol/L邻苯三酚溶液,混匀,25℃水浴反应4min,立即加入0.5mL、8mol/L的HCl终止反应,320nm处测定吸光值,平行试验重复3次。空白对照组以相同体积的去离子水代替。清除率计算公式为:

$$O_2^- \cdot \text{清除率}/\% = \frac{[A_0 - (A_2 - A_1)]}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: A₀为空白液的吸光度值; A₁为样液未加邻苯三酚的吸光度值; A₂为样液加邻苯三酚的吸光度值。

2.4.3 清除羟自由基(·OH)活性试验

将槲皮素粗提物、纯化物、抗坏血酸、槲皮素标准品配成质量浓度分别为2、4、6、8、10mg/mL的溶液。取6.0mmol/L的FeSO₄溶液、6.0mmol/L的水杨酸-乙醇溶液各2.0mL于试管中,加入样液2.0mL,再加入6.0mmol/L的H₂O₂溶液2.0mL,混匀,放置10min后于510nm处测定吸光值。平行试验重复3次,同时以去离子水做空白试验。清除率计算公式为:

$$\cdot OH \text{清除率}/\% = \frac{[A_0 - (A_2 - A_1)]}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: A₀为空白液的吸光度值; A₁为样液未加H₂O₂的吸光度值; A₂为样液加H₂O₂的吸光度值。

2.4.4 清除二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)作用

将槲皮素粗提物、纯化物、抗坏血酸、槲皮素标准品配成质量浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL 的溶液。分别取 3.0 mL 不同质量浓度的样液于试管中,加入 3.0 mL、20 μg/L 的 DPPH· 溶液,摇匀,放置 30 min 后于 517 nm 处测定其吸光度 A_2 。同时测定 3.0 mL 样液与 3.0 mL 溶剂混合后的吸光度 A_1 ,3.0 mL 溶剂与 3.0 mL、20 μg/L 的 DPPH· 溶液混合后的吸光度 A_0 。平行试验重复 3 次。清除率计算公式为:

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率}/\% = \frac{[A_0 - (A_2 - A_1)]}{A_0} \times 100 \quad (3)$$

式中: A_0 为溶剂与 DPPH· 溶液混合后的吸光度值, A_1 为待测液与溶剂混合后的吸光度值, A_2 为待测液与 DPPH· 溶液混合后的吸光度值。

3 结果与分析

3.1 桑叶槲皮素含量测定

桑叶槲皮素粗提物和纯化物的样品利用高效液相色谱测定,主要成分是槲皮素、绿原酸、芦丁、槲皮苷、山奈酚。桑叶槲皮素标准品和桑叶槲皮素纯化物高效液相色谱图见图 1、图 2。槲皮素标准曲线方程式: $y = 608.5x - 626.3, R^2 = 0.999$ 。

在关于桑叶槲皮素研究报道中,戴开金等^[20]对测定桑叶槲皮素最高含量为 0.731 mg/g。徐艳阳等^[24]通过荧光法测定桑叶槲皮素含量为(41.92 ± 0.11) mg/g。蒋立娣等^[25]对经酸处理后桑叶提取物中槲皮素的含量为 6%。本研究通过对桑叶槲皮素粗提物进行大孔树脂纯化、浓缩,槲皮素含量显著提高,由粗提物中(12.03 ± 0.95) mg/g 提高到(548.92 ± 10.23) mg/g。

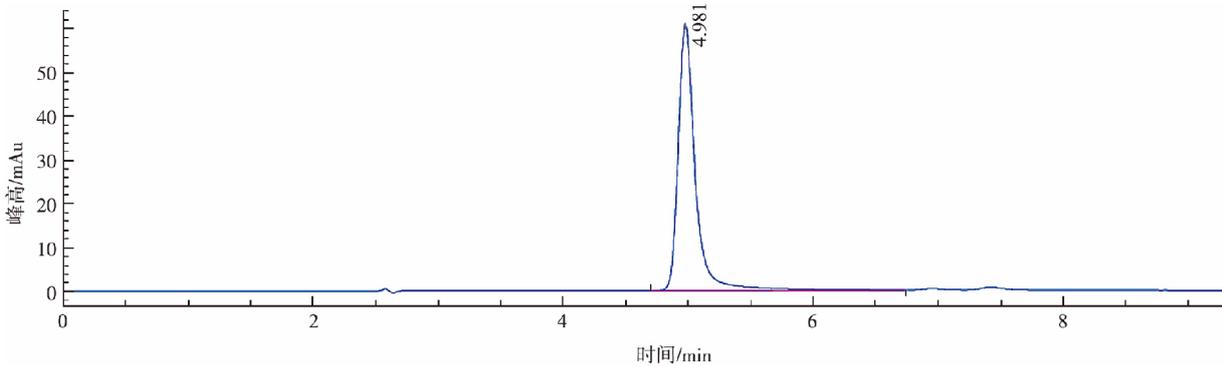


图 1 桑叶槲皮素标准品

Fig. 1 Standard sample of quercetin from mulberry leaves

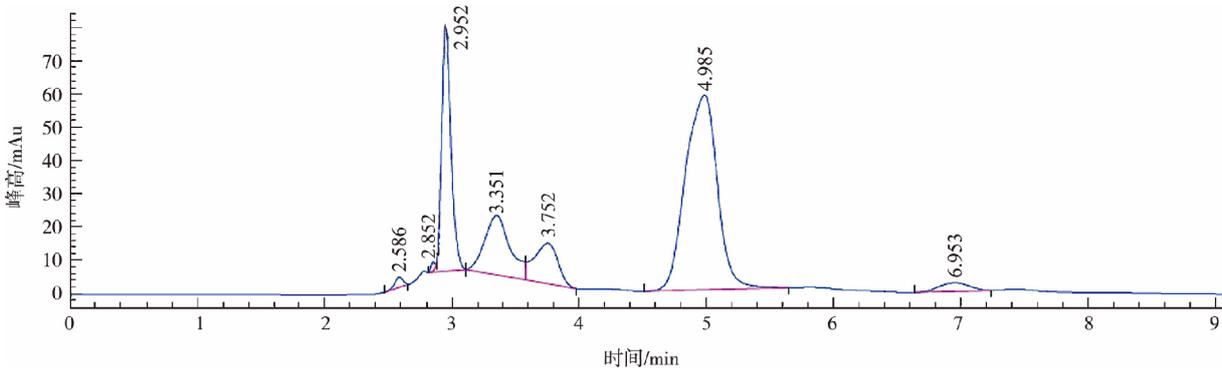


图 2 桑叶槲皮素纯化物

Fig. 2 Purification of quercetin from mulberry leaves

3.2 还原力的测定

抗氧化剂清除自由基的机制主要因其具有较强的给电子能力,使不稳定的自由基的未成对电子成对,从而失去反应力。一般来说抗氧化剂的还原力越大,抗氧化的能力也就越强。还原能力越强,在波长为 700 nm 下吸光值就越高。由图 3 可知,桑叶槲

皮素粗提物、纯化物、抗坏血酸、槲皮素标准品均具有还原能力,还原力由大到小顺序:抗坏血酸 > 槲皮素标准品 > 桑叶槲皮素纯化物 > 桑叶槲皮素粗提物。在 0.2 ~ 1 mg/mL 内,随着提取液质量浓度的增加,粗提物、纯化物、抗坏血酸的还原力逐渐增大,呈现明显的量效关系。在 0.2 ~ 0.4 mg/mL 内,槲皮素

纯化物的还原力增加迅速,随后增加缓慢。在试验浓度范围内抗坏血酸还原力增长趋于平稳。槲皮素标准品随着质量浓度的增加,呈现先增加(在 0.8 mg/mL 时达到最大),随后有所降低。

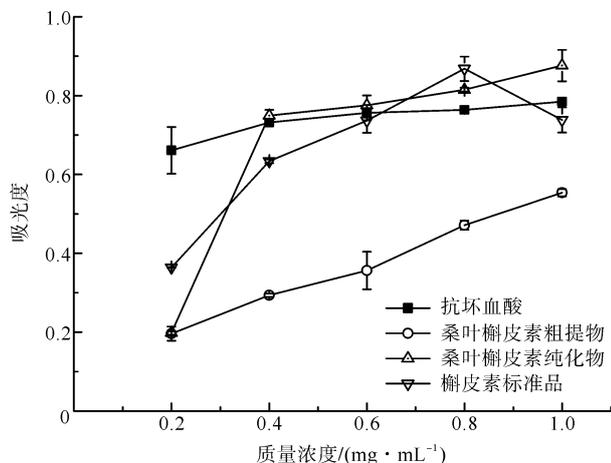


图 3 样品还原力的测定

Fig. 3 Determination of the reducing force of samples

3.3 抑制超氧阴离子(O₂⁻·)活性试验

由图 4 可知,桑叶槲皮素粗提物、纯化物、抗坏血酸、槲皮素标准品均对超氧阴离子具有较强的清除作用。对超氧阴离子清除作用由大到小顺序为:在 2~6 mg/mL 时,桑叶槲皮素粗提物 > 桑叶槲皮素纯化物 > 槲皮素标准品 > 抗坏血酸;在 6~10 mg/mL 时,桑叶槲皮素纯化物 > 槲皮素标准品 > 桑叶槲皮素粗提物 > 抗坏血酸。当质量浓度为 2~6 mg/mL 时,各样品间的清除作用大小为:桑叶槲皮素粗提物 > 桑叶槲皮素纯化物 > 槲皮素标准品 > 抗坏血酸;在质量浓度为 6~8 mg/mL 时,桑叶槲皮素纯化物和

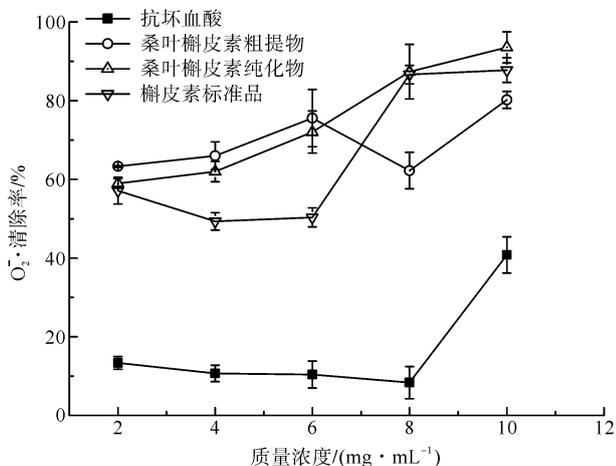


图 4 样品清除超氧阴离子(O₂⁻·)活性效果

Fig. 4 The activity effect of samples removing superoxide anion (O₂⁻·)

槲皮素标准品急剧增加,但是桑叶槲皮素粗提物呈下降趋势;在质量浓度为 8~10 mg/mL 时,抗坏血酸的清除率仍呈现急剧增加,桑叶槲皮素纯化物和槲皮素标准品增加呈缓慢趋势,但是桑叶槲皮素粗提物由降转为增加趋势。

3.4 清除羟自由基(·OH)活性试验

在当前所知的活性氧中,羟自由基对生物体毒性最强和危害最大。它可通过电子转移、加成和脱氢等方式和生物体内的多种分子反应作用,造成大分子物质的氧化性损伤,细胞坏死或者突变。由图 5 可知,各样品对羟基自由基都有一定的清除作用。在质量浓度为 2~10 mg/mL 时,桑叶槲皮素粗提物、桑叶槲皮素纯化物、抗坏血酸、槲皮素标准品清除羟自由基的作用均呈现缓慢增加,各样品清除羟自由基作用由大到小的顺序为:抗坏血酸 > 槲皮素标准品 > 桑叶槲皮素粗提物 > 桑叶槲皮素纯化物。与牛天羽^[26]研究表明的桑叶黄酮提取物抗氧化活性低于抗坏血酸一致。

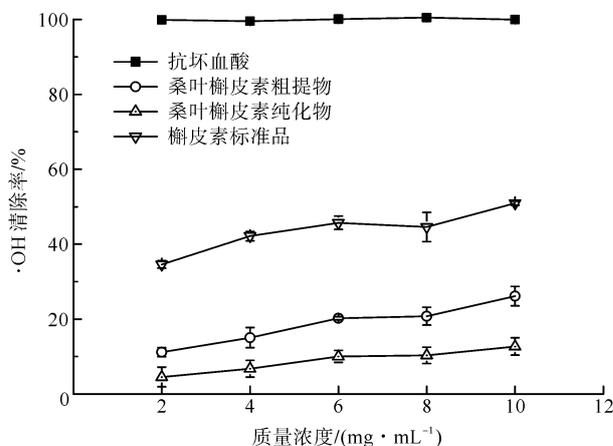


图 5 样品清除羟自由基(·OH)活性效果

Fig. 5 The activity effect of samples scavenging hydroxyl radical (·OH)

3.5 清除二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)作用

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 是一种稳定的有机自由基,抗氧化剂的作用主要是使 DPPH 的单电子被配对而呈现颜色变浅现象,且其颜色变浅的程度和配对电子数成化学计量的关系。由图 6 可知,各样品的桑叶槲皮素对 DPPH 自由基都有一定的清除作用。在 0.2~1.0 mg/mL 均呈现随着质量浓度的增加对 DPPH 自由基的清除能力缓慢增加,清除作用由大到小为:抗坏血酸 > 槲皮素标准品 > 桑叶槲皮素纯化物 > 桑叶槲皮素粗提物。与陈柳萌^[27]研究发现的 DPPH 清除率与黄酮类成分含量成正相关结果一致。

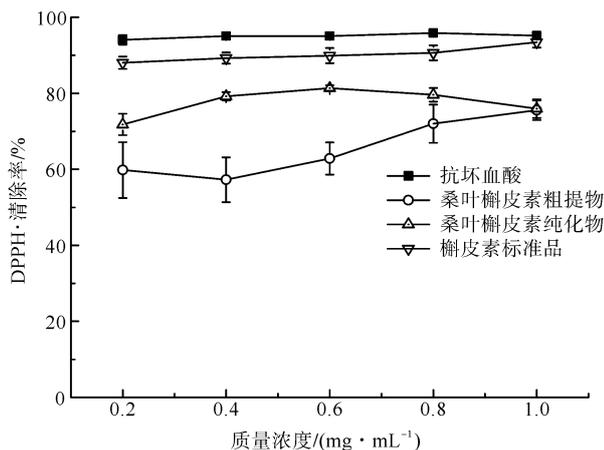


图6 样品清除二苯代苦味酰基自由基(DPPH·)作用
Fig.6 The removal effect of samples scavenging diphenyl oncloyl radicals (DPPH·)

4 结论

本研究通过对桑叶槲皮素粗提物进行大孔树脂纯化、浓缩,槲皮素含量显著提高。根据各样品抗氧化活性测定结果可知,桑叶粗提物和纯化物抗氧化活性的高低与槲皮素含量具有较大相关性。在还原力、清除DPPH方面桑叶槲皮素纯化物较粗提物效果较好。在清除超氧阴离子作用方面,在2~6 mg/mL浓度范围时,粗提物优于纯化物,在6~10 mg/mL浓度范围时,纯化物优于粗提物;在清除羟基自由基作用方面,桑叶槲皮素粗提物优于纯化物。与抗坏血酸、槲皮素标准品比较,桑叶槲皮素粗提物和纯化物在还原力、清除羟基自由基、清除DPPH方面作用均低于两种标准品。而在清除超氧阴离子作用时桑叶提取物却呈现较好的效果,分析认为是桑叶提取物中含有的其他活性物质协同作用清除了超氧阴离子自由基,有待后续进一步研究。

参考文献:

[1] 赖玲林,彭小芳,冷恩念. 中药桑叶药理作用的研究进展[J]. 安徽医药,2016,20(12):2210-2214.
LAI Linglin, PENG Xiaofang, LENG Ennian. Advances in study on pharmacological effects of mulberry leaves [J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2016, 20(12): 2210-2214.

[2] 苏方华. 桑叶的化学成分及临床应用研究进展[J]. 中国医药导报,2010,7(14):9-12.
SU Fanghua. The research progress of the chemical composition and clinical application of mulberry leaves [J]. China Medical Herald, 2010, 7(14): 9-12.

[3] 孟庆海,殷秋忆,郭静. 4种不同桑叶提取物降血糖作用的筛选[J]. 中成药,2014,36(6):1288-1291.
MENG Qinghai, YING Qiuyi, GUO Jing. Screening of hypoglycemic effects of four different mulberry leaf extracts [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2014, 36(6): 1288-1291.

[4] 吴雯,梁凯伦,陈波,等. 桑叶提取物对食源性肥胖大鼠的减肥作用及机制研究[J]. 中国中药杂志,2017,42(9):1757-1761.
WU Wen, LIANG Kailun, CHEN Bo, et al. Effects of mulberry leaf extract on diet-induced obesity mechanism in rats [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2017, 42(9): 1757-1761.

[5] 匡荣,刘璐,刘艳,等. 葫芦巴籽和桑叶提取混合物对胰岛素抵抗抗糖脂代谢紊乱大鼠模型的降血糖作用及其机制研究[J]. 中国现代应用药学,2016,33(5):551-556.
KUANG Rong, LIU Lu, LIU Yan, et al. Anti-hyperglycemic effect of fenugreek seed and mulberry leaf extract formula on the blood glucose levels of the insulin resistance and metabolism disorder rats models and the mechanism [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2016, 33(5): 551-556.

[6] 季涛. 桑叶防治糖尿病的效应成分群及其作用机制研究[D]. 南京:南京中医药大学,2016.
JI Tao. The Study on Active Components Related to Diabetes in Mulberry Leaves and Its Action Mechanism [D]. Nanjing: Nanjing Univeersty of Chinese Medicine, 2016.

[7] 唐明敏,刘洋,田思敏,等. 桑叶不同提取部位对 α -葡萄糖苷酶抑制活性体外研究[J]. 新疆医科大学学报,2015,38(6):711-714.
TANG Mingmin, LIU Yang, TIAN Simin, et al. α -glucosidase inhibition by different extracts of folium mori in vitro assay [J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2015, 38(6): 711-714.

[8] 邹莉芳,王玲,丁晓雯,等. 桑叶水提物预防小鼠高脂血症的作用研究[J]. 食品安全质量检测学报,2016,7(8):3039-3045.
ZOU Lifang, WANG Ling, DING Xiaowen, et al. Effect study of mulberry leaf water extract prophylaxis of hyperlipemia in high-fat diet mice [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2016, 7(8): 3039-3045.

[9] 张贵会,王贺,杨玲. 新疆药桑叶中黄酮类化合物的分离及其抗氧化活性评价[J]. 中国酿造,2016,35(2):101-105.
ZHANG Guihui, WANG He, YANG Ling. Isolation of flavonoids compounds in morus nigra leaves from Xinjiang and their antioxidant activity [J]. China Brewing, 2016, 35(2): 101-105.

[10] 侯瑞宏,廖森泰,刘凡,等. 桑叶多糖对小鼠免疫调节作用的影响[J]. 食品科学,2011,32(13):280-283.
HOU Ruihong, LIAO Sentai, LIU Fan, et al.

- Immunomodulatory effect of polysaccharides from mulberry leaves (pml) in mice [J]. *Food Science*, 2011, 32(13): 280-283.
- [11] 王娅, 李嘉盈. 桑叶抗糖尿病活性成分研究 [J]. *安徽医药*, 2016, 20(3): 425-428.
WANG Ya, LI Jiaying. Anti-diabetic constituents of mulberry leaf [J]. *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal*, 2016, 20(3): 425-428.
- [12] MAHMOOD T, ANWAR F, ABBAS M, et al. Effect of maturity on phenolics (phenolic acids and flavonoids) profile of strawberry cultivars and mulberry species from Pakistan [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 13(4): 4591-4607.
- [13] AOKI F, HONDA S, KISHIDA H, et al. Suppression by licorice flavonoids of abdominal fat accumulation and body weight gain in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice [J]. *Bioscience Bio-technology & Biochemistry*, 2007, 71(1): 206-214.
- [14] SUN X F, YAMASAKI M, KATSUBE T, et al. Effects of quercetin derivatives from mulberry leaves: improved gene expression related hepatic lipid and glucose metabolism in short-term high-fat fed mice [J]. *Nutrition Research & Practice*, 2015, 9(2): 137-143.
- [15] ZHENG S, LIAO S, ZOU Y, et al. Mulberry leaf polyphenols delay aging and regulate fat metabolism via the germline signaling pathway in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Journal of the American Aging Association*, 2014, 36(6): 1-13.
- [16] 顾远晖, 李一平, 李安强, 等. 槲皮素对人肝癌 SMMC-7721 细胞生长的抑制及细胞凋亡的诱导作用 [J]. *兰州大学学报(医学版)*, 2010, 36(3): 9.
GU Yuanhui, LI Yiping, LI Anqiang, et al. Mechanisms of growth inhibition and apoptosis induction of quercetin on human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells [J]. *Journal of Lanzhou University (Medical Sciences)*, 2010, 36(3): 9.
- [17] 张丹丹, 陈娟娟, 张亚伟, 等. 连翘及其主要有效成分槲皮素体外抗人巨细胞病毒的实验研究 [J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(8): 1055.
ZHANG Dandan, CHEN Juanjuan, ZHANG Yawei, et al. An invitro study of anti-human cytomegalovirus effect of forsythia suspense and its main active ingredient quercetin [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2010, 35(8): 1055.
- [18] 尹军强, 谢显彪, 贾强, 等. 槲皮素对人骨肉瘤细胞 U-2OS/MTX300 增殖和凋亡的影响及其机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(5): 611.
YIN Junqiang, XIE Xianbiao, JIA Qiang, et al. Effect and mechanism of quercetin on proliferation and apoptosis of human osteosarcoma cell U-2OS / MTX300 [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2012, 37(5): 611.
- [19] DESGROSELLIER J S, CHERESH D A. Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities [J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(1): 9.
- [20] 戴开金, 罗奇志, 侯连兵. HPLC 法测定桑叶中芦丁、绿原酸和槲皮素 [J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29(3): 579-580.
DAI Kaijin, LUO Qizhi, HOU Lianbing. Determination of rutin, chlorogenic acid and quercetin in mulberry leaves by HPLC [J]. *Journal of Southern Medical University*, 2009, 29(3): 579-580.
- [21] 于小蓉, 孙莲, 孟磊. HPLC 测定新疆药桑叶中绿原酸、芦丁、异槲皮苷和槲皮素 [J]. *中国现代应用药学*, 2011, 28(11): 1051-1054.
YU Xiaorong, SUN Lian, MENG Lei. Determination of chlorogenic acid, rutin, isoquercitrin and quercetin in drug mulberry leaves of Xinjiang by HPLC [J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2011, 28(11): 1051-1054.
- [22] 王海燕, 李睿, 曾秀, 等. 响应面优化超声波提取桑叶槲皮素工艺 [J]. *食品科学*, 2014, 35(22): 56-62.
WANG Haiyan, LI Rui, ZENG Xiu, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of quercetin from mulberry leaves by response surface methodology [J]. *Food Science*, 2014, 35(22): 56-62.
- [23] 王俊, 赵辉, 吴福安. 树脂吸附法分离纯化桑叶总黄酮 (I) H103 树脂对桑叶水提液中总黄酮的吸附性能 [J]. *离子交换与吸附*, 2008, 24(2): 139-147.
WANG Jun, ZHAO Hui, WU Fuan. Separation and purification of total flavones from mulberry leaves (I) the characters of adsorbability of H103 resin to total flavones [J]. *Ion Exchange and Adsorption*, 2008, 24(2): 139-147.
- [24] 徐艳阳, 李科静, 贾洪雷. 荧光法测定桑叶中槲皮素含量的优化 [J]. *现代食品科技*, 2013, 29(11): 2706-2711.
XU Yanyang, LI Kejing, JIA Honglei. Method optimization of determining quercetin content in mulberry leaf by fluorescence spectrophotometry [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(11): 2706-2711.
- [25] 蒋立娣, 宣贵达, 吴好好. 桑叶提取物中槲皮素和山萘酚的含量测定 [J]. *浙江大学学报(理学版)*, 2009, 36(6): 706-707.
JIANG Lidi, XUAN Guida, WU Haohao, et al. Determination of quercetin and kaempferol in folium mori extract after hydrolysis by hydrochloric acid [J]. *Journal of Zhejiang University (Science Edition)*, 2009, 36(6): 705-707.
- [26] 牛天羽. 4 种桑的桑葚与桑叶有效成分和生物活性研究 [D]. 吉林: 吉林大学, 2015: 48-49.
NIU Tianyu. Research on Constituents and Bioactivities of Four Kinds Mulberry Fruits and Mulberry Leaves [D]. Jilin: Jilin University, 2015: 48-49.
- [27] 陈柳萌. 半枝莲、白花蛇舌草药对提取浸膏中抗氧化活性成分研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2010: 32.
CHEN Liumeng. Study on Antioxidant Components of Extracts from *Scutellaria Barbata* D. Don and *Hedyotis Diffusa* Willd [D]. Nanchang: Nanchang University, 2010: 32.