

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

計畫編號：CNAL9503

計畫名稱：桑枝成分之 HPLC 分析及抗氧化研究

執行期間：95 年 1 月 1 日至 95 年 12 月 31 日

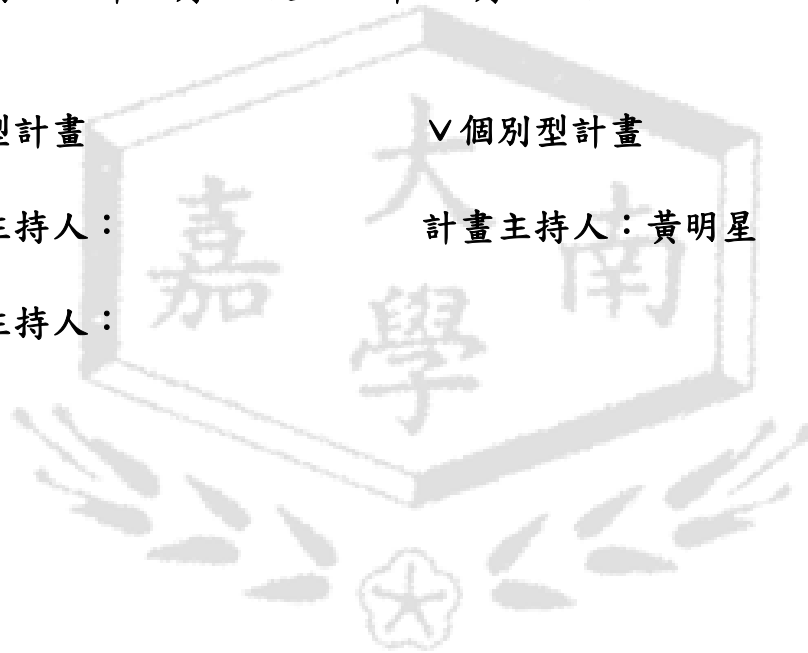
整合型計畫

個別型計畫

計畫總主持人：

計畫主持人：黃明星

子計畫主持人：



中華民國 96 年 02 月 26 日

桑枝成分之 HPLC 分析及抗氧化研究

嘉南藥理科技大學 化妝品科技研究所

摘要

桑枝是桑科植物 (*Morus alba* L.) 之乾燥嫩枝。桑枝成分有 maclurin、rutin、isoquercitrin、scopoletin、umbelliferone、resveratrol、morin 與 quercetin。本研究以這八種為指標成分，進行市售品的定量與抗氧化研究，並比較其區段沖提物的體外抗氧化活性。結果顯示：maclurin、rutin、morin、isoquercitrin、scopoletin、umbelliferone、resveratrol，含量約 65.6~326.5 μ g/g。濃度為 1.5 ppm 時 maclurin、isoquercitrin 均達 DPPH 自由基清除效應 50%。在樣品濃度為 50 ppm 時，自由基清除效應試驗中，區段 J、K、L 之清除率皆大於 90%；在 Trolox 當量抗氧化能力(TEAC)方面樣品濃度為 7.5 ppm 時，區段 I、J、K、L 高達 90%；在赤血鹽 (potassium ferricyanide) 的還原力測定樣品濃度為 100 ppm，區段 J、K、L 相當於維他命 C 20 ppm 之效用。在體外抗氧化活性測定中，桑枝區段 J、K、L 之抗氧化能力效果佳。

壹、前言

桑枝(學名為 *Morus alba L.*)，桑科植物桑樹之乾燥嫩枝，可祛風濕、利關節、行水氣，治四肢拘攣、腳氣浮腫等。在中國，桑的葉片、嫩枝甚至根皮，自古就拿來作為中醫藥材。在亞洲的許多國家裡，如：韓國、日本…等，不論在中醫藥膳、食補亦均有廣泛的運用。桑本身是連根、枝、葉、甚至是果實整株被使用的植物。由於桑在亞洲國家的使用廣泛，針對它的研究也陸續發表出來；除了常用的桑葉、桑椹外，桑枝及桑白皮的研究亦不少。有些文獻亦指出部分桑品種的春秋桑枝中總黃酮含量較穩定且含量較高，而黃酮類有抗氧化能力已被證實。本研究將確認桑枝的成分含量，且桑枝黃酮類成分在抗氧化能力上亦有相當程度的表現。本篇將利用管柱層析、薄層分析的與高效能液相層析方式，將桑枝酒精萃出物確認其成分含量及抗氧化能力。未來可根據所分析的結果應用於化妝品上。

貳、材料與方法

2-1 實驗材料

桑枝中藥來自台南縣中藥店。

2-2 實驗藥品

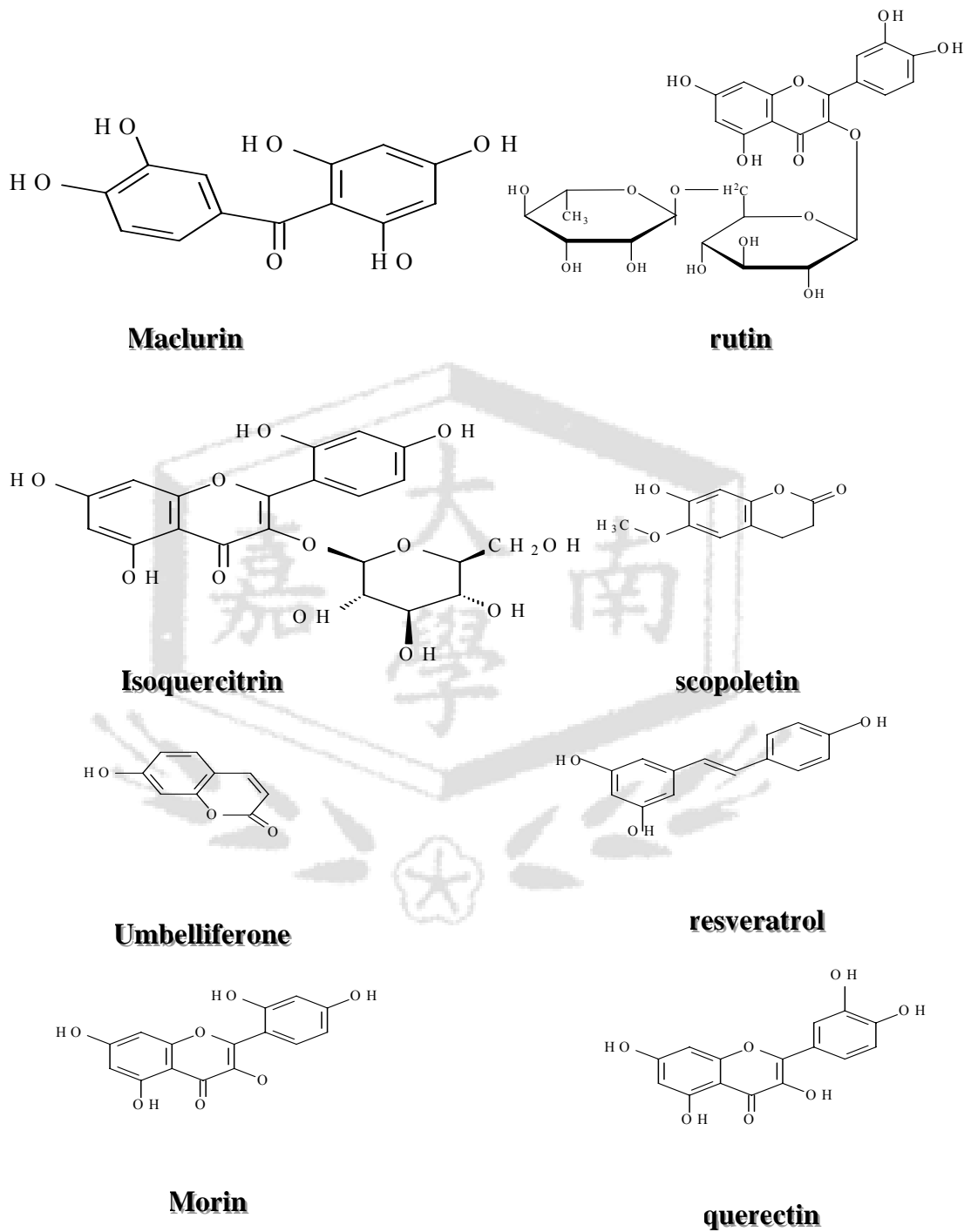
1. α,α -diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH)
2. 2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid)

Ammonium Salt.) (ABTS) ($C_{18}H_{24}N_6O_6S_4=548.68$) :

TCI , 東京化成工業株式會社 (日本)

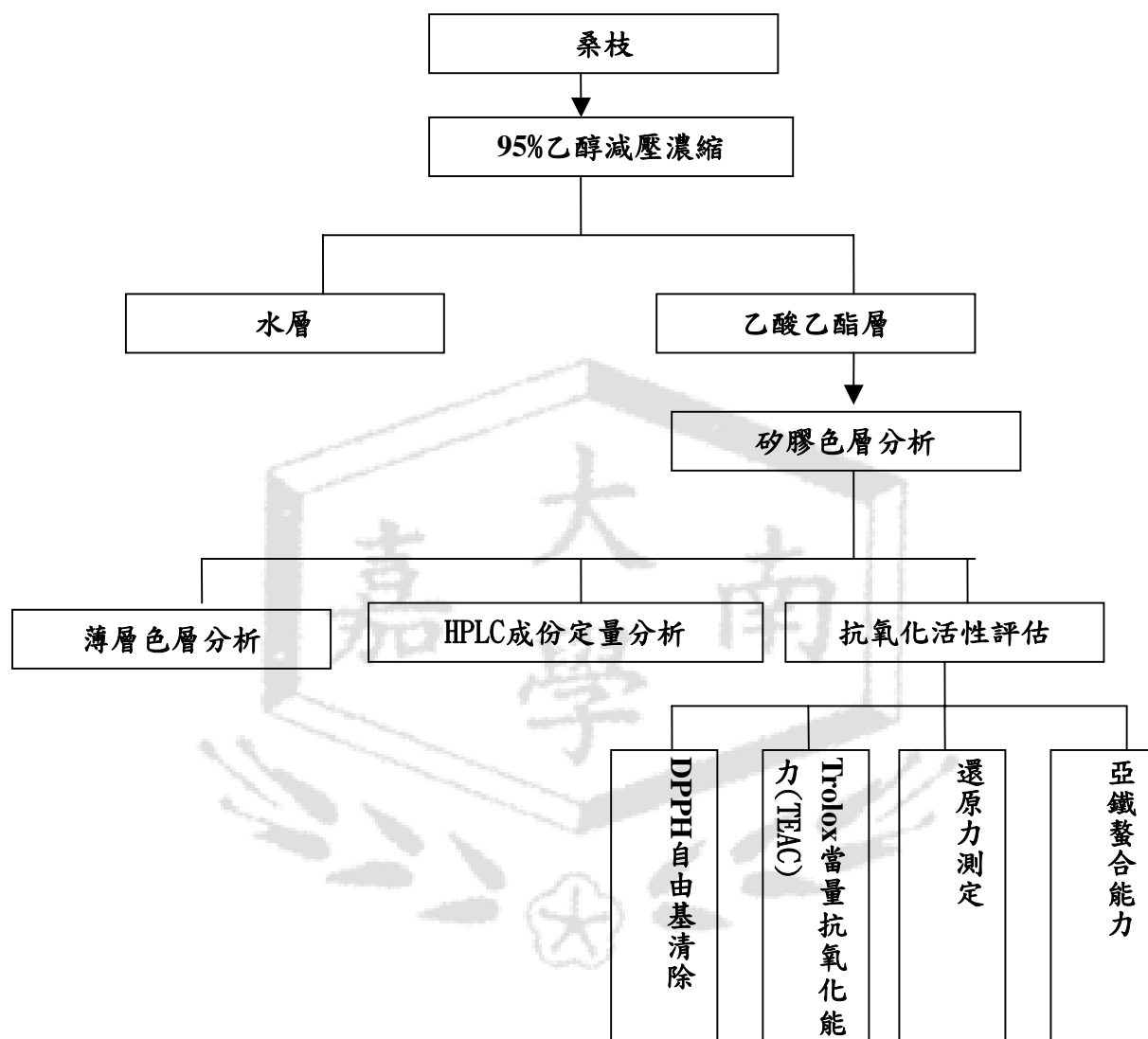
3. 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl ; chroman-carboxylic acid
(Trolox) : Aldrich (Milwaukee , USA)
4. L-Ascorbic Acid ($C_6H_8O_6$) : SIGMA Chemical Co. , USA.
5. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) : Osaka (Japan)
6. 3-(2-Pyridyl)5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-p,p'-disulfonic acid ,
disodium salt hydrate,p.a (Ferrozine) : Osaka (Japan)
7. Ferric Chloride ($FeCl_3 \cdot 6 H_2O$) : 純度 > 99% SIGMA Chemical
Co. (USA)
8. Ferrous Chloride($FeCl_2 \cdot 4 H_2O$) : 純度 > 99% SIGMA Chemical
Co. (USA)
9. H_2O_2 : Osaka (Japan)
10. Peroxidase 44 unit/mL : SIGMA Chemical Co. (USA)
11. Potassium Ferricyanide ($K_3Fe[CN]_6$) : Aldrich (Milwaukee , USA)
12. Trichloroacetic Acid (TCA) : Merck (Darmstadt , Germany)

2-3 桑枝指標成分的結構



圖一 桑枝指標成分的結構

2-4 實驗架構：針對桑枝有效成分分離純化後其區段抗氧化能力比較。



2-5 分析條件

分離管柱：Cosmosil 5C₁₈-AR, 5 μm, 25 cm × 4.6 mm (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan)

流動相：(A) 0.01% H₃PO₄

(B) H₂O/CH₃OH/CH₃CN：20/40/40 (V/V)

(C) H₂O /CH₃CN : 20/80 (V/V)

流速 : 0.8 mL/min

偵測波長 : 254 nm

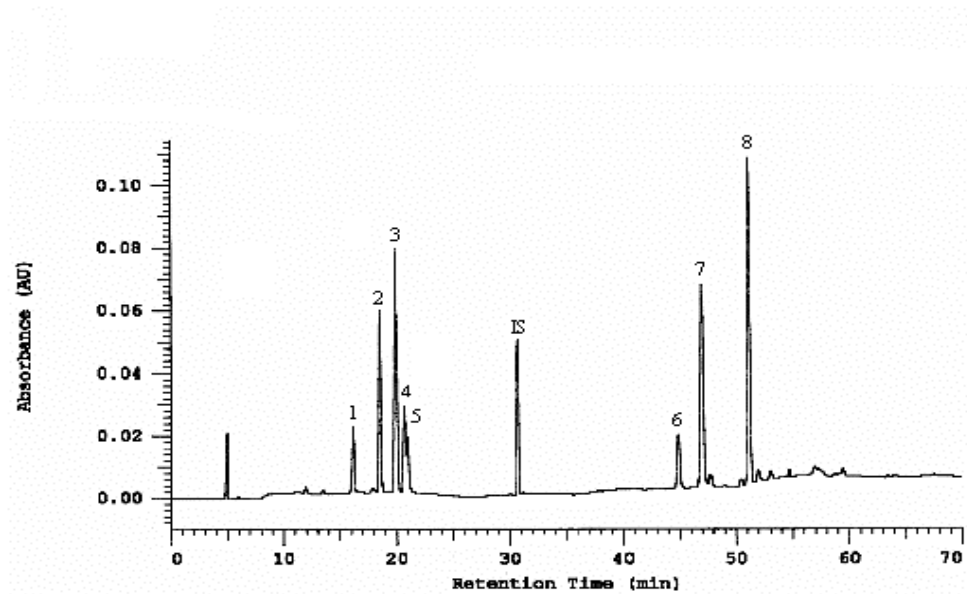
梯度沖提程式 : 如表 1

表 1 分析桑枝之梯度沖提程式

時間 (min)	流速 (mL/min)	流動相 A(%)	流動相 B(%)	流動相 C(%)
起始	0.6	95	5	0
5	0.8	80	20	0
15	0.8	70	30	0
20	0.8	85	15	0
30	0.8	55	0	25
35	0.8	40	0	40
45	0.8	35	0	55
50	0.8	0	0	100
65	0.8	0	0	100
70	0.6	0	0	100

參 結果與討論

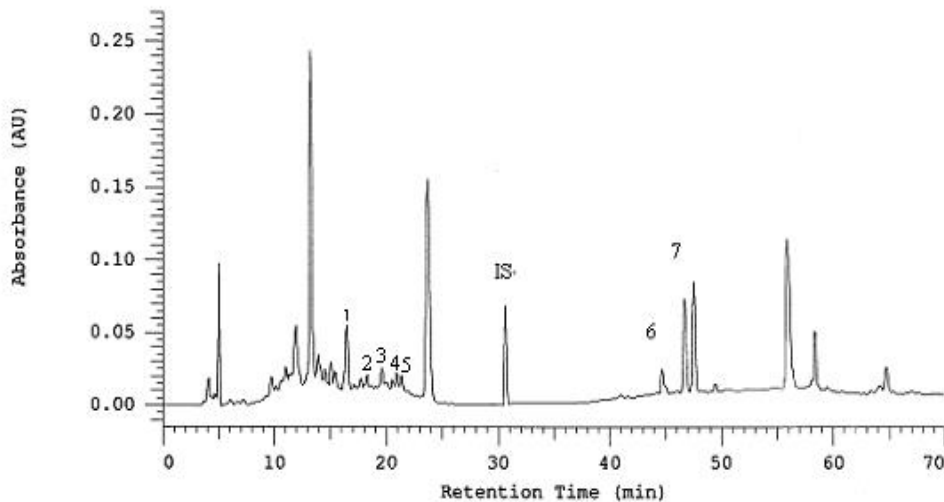
3-1 桑枝之指標成分標準品高效液相層析圖



圖二 桑枝成分分析之 HPLC 層析圖 (254 nm)

(1) maclurin (2) rutin (3) isoquercitrin (4) scopoletin (5) umbelliferone
(6) resveratrol (7) morin (8) quercetin

3-2 桑枝市售品之高效液相層析圖



圖三 市售桑枝中藥之 HPLC 層析圖 (254 nm)

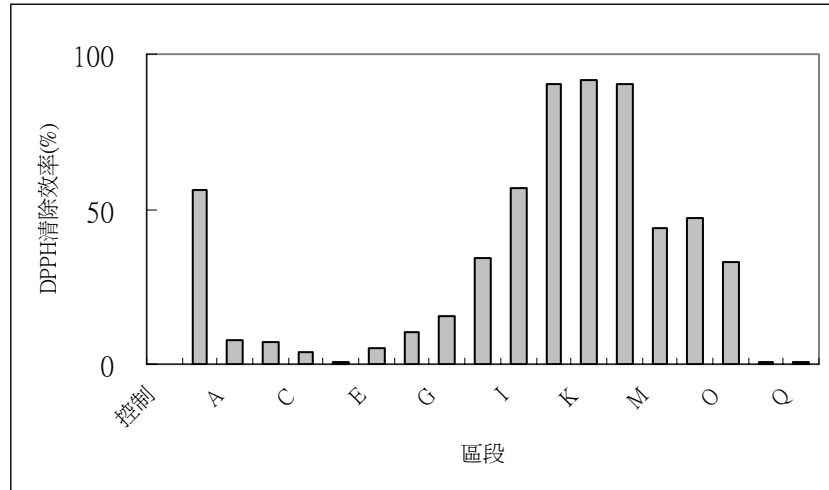
3-3 抗氧化活性之分析

3-3-1 桑枝之抗氧化活性之分析

利用四種抗氧化平台，DPPH 自由基清除效率、Trolox 當量抗氧化能力、亞鐵螯合能力、還原力測定，分析乙酸乙脂分層區段之抗氧化活性分析。

1. DPPH 自由基清除效率：

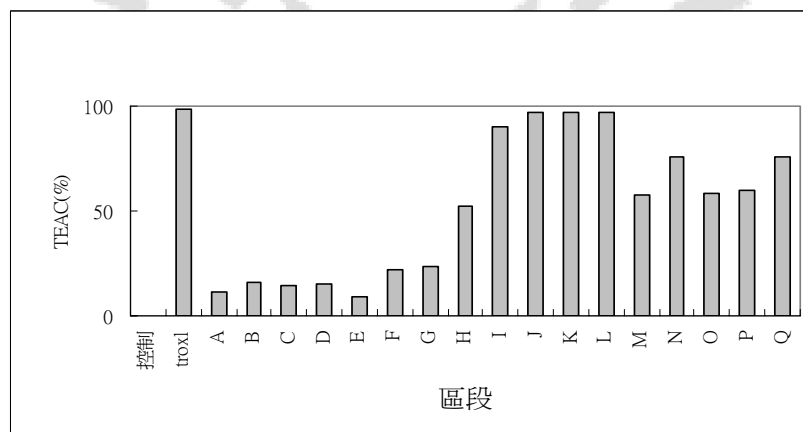
圖四為桑枝乙酸乙脂區分層之 DPPH 自由基清除效應比較。由圖中結果顯示，樣品濃度為 30ppm 時，自由基清除(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl)效應試驗中，區段 J、K、L 之清除率皆大於 90%，如此之結果顯示桑枝具有相當高的 DPPH 自由基清除能力。



圖四 桑枝乙醇萃取乙酸乙脂層區段之 DPPH

2. Trolox 當量抗氧化能力 (TEAC) :

圖五為桑枝乙酸乙脂區分層之總抗氧化力比較。圖中結果顯示，區段 I、J、K、L 大於 90%。因此，樣品濃度為 7.5ppm 時，其桑枝乙酸乙脂區分層，都皆具有極高的總抗氧化能力。

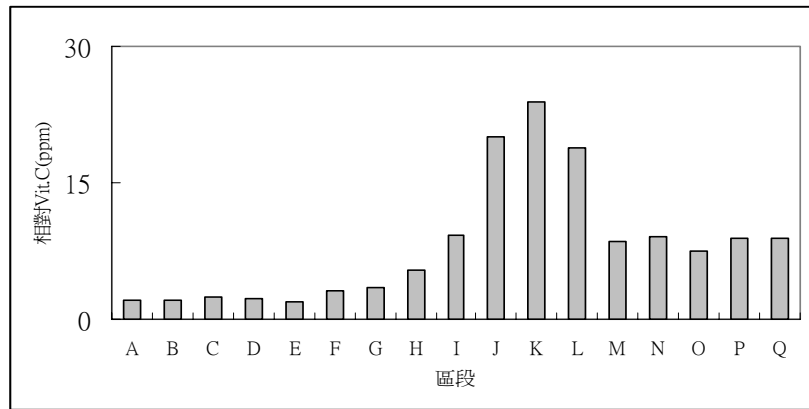


圖五 桑枝乙醇萃取乙酸乙脂層區段之 TEAC

3. 亞鐵螯合能力 :

圖六結果顯示，在赤血鹽 (potassium ferricyanide) 的桑枝乙酸乙脂

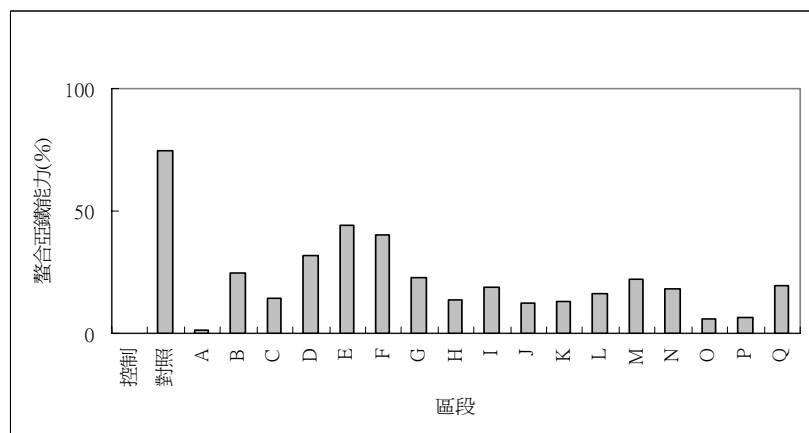
區分層之還原力之測定。樣品濃度為 100ppm 時，發現區段濃度 J、K、L 相當於 20ppm Ascorbic acid 還原能力之效用。



圖六 桑枝乙醇萃取乙酸乙酯層區段之還原力測定

4. 還原力測定：

由圖七結果顯示，在亞鐵離子螯合的桑枝乙酸乙脂區分層之亞鐵離子螯合能力之測定。樣品濃度為 250ppm 時，發現區段濃度 D、E、F 相當於 40% 螯合能力之效用。



圖七 桑枝乙醇萃取乙酸乙脂層區段之亞鐵螯合能力

肆、結論

從化妝品的觀點來看，桑枝在抗氧化方面是明日之星。此研究中發現區段 J、K、L 在自由基清除 (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) 效應、總抗氧化能力 (TEAC) 及赤血鹽 (potassium ferricyanide) 還原力之三種抗氧化試驗中，均具有顯著的效果。在本實驗螯合離子系統中的亞鐵離子螯合能力方面，區段 J、K、L 螯合效果不佳。就上述抗氧化平台分析結果顯示，在體外抗氧化活性測定中，桑枝有極佳的抗氧化效果。

