

制女贞子 UPLC-DAD 指纹图谱建立及 4 种成分含量测定

陆毅潇¹, 黄豆豆¹, 罗 虹², 陆欢欢³, 孙连娜^{1*}
(1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 本溪 117004; 3. 上海余天成中药饮片有限公司, 上海 201606)

摘要: **目的** 建立制女贞子 UPLC-DAD 指纹图谱, 并测定红景天苷、新女贞苷、特女贞苷、女贞苷 G13 的含量。**方法** 分析采用 ACQUITY UPLC BEH C₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈-水, 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 224 nm; 进样量 1 μL。**结果** 11 批样品指纹图谱中有 15 个共有峰, 共指认出 6 种成分, 相似度均大于 0.900。4 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r>0.999\ 6$), 平均加样回收率 86.53%~102.17%, RSD 1.34%~2.97%。在生品炮制过程中, 红景天苷含量呈升高趋势, 新女贞苷、特女贞苷、女贞苷 G13 含量呈降低趋势。**结论** 该方法快速准确, 可为制女贞子炮制机理、质量控制研究提供参考。**关键词:** 制女贞子; UPLC-DAD 指纹图谱; 红景天苷; 新女贞苷; 特女贞苷; 女贞苷 G13; 含量测定
中图分类号: R283 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)10-3391-04
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.10.032

女贞子为木犀科植物女贞 *Ligustrum lucidum* Ait. 干燥成熟果实, 具有滋补肝肾、明目乌发功效^[1], 其中生品具有寒凉之性, 适用于治疗肝肾亏虚、内热消渴、骨蒸潮热等症状^[2], 而炮制后在寒凉之性减弱的同时, 增强了滋补肝肾功能^[3], 常见方法有酒蒸、酒炖、清蒸等。2018 年版《上海市中药饮片炮制规范》^[4]中载载的上海市地方品种为制女贞子, 即清蒸女贞子, 其炮制过程为将药材除去杂质后洗净, 置于蒸具中蒸制 4 h, 焖润过夜, 直至色泽乌黑, 干燥, 筛去灰屑, 并且规定特女贞苷含量不得低于 0.7%, 与 2020 年版《中国药典》一致, 但均未体现炮制前后饮片变化。因此, 本实验建立制女贞子 UPLC-DAD 指纹图谱, 测定红景天苷、新女贞苷、特女贞苷、女贞苷 G13 的含量, 并收集关键工序时间点炮制品, 追踪其特征性成分变化, 旨在为该炮制品质量评价和炮制机理研究提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器 安捷伦 1290 型超高效液相色谱仪, 配置二极管阵列紫外检测器, 购自美国安捷伦公司; SK72000H 型超声波清洗器, 购自上海科导超声仪器有限公司; L-200 型冷冻干燥机, 购自瑞士步琦公司; TQ-250 型粉碎机, 购自永康市天祺盛世工贸有限公司; BSA323S 型电子分析天平 (千分之一)、CPA225D 型电子分析天平 (十万分之一), 均购自赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司。

1.2 试剂与药材 女贞苷 G13 (批号 ST24340105, 纯度 ≥ 98.0%)、红景天苷 (批号 ST01740120, 纯度 98.0%)、松果菊苷 (批号 ST00040120, 纯度 ≥ 98.0%)、新女贞苷 (批号 ST08180120, 纯度 ≥ 98.0%)、女贞苷 (批号

ST07150120, 纯度 ≥ 98.0%)、特女贞苷 (批号 ST11390120, 纯度 98.0%) 对照品均购自上海诗丹德标准技术服务有限公司。制女贞子共 11 批, 并委托厂家对同一批生品进行加工, 共收集 5 个不同时间点炮制品 (编号 S12-1~S12-5), 冷冻干燥后保存, 经上海中医药大学孙连娜副教授鉴定为正品, 具体见表 1。乙腈为色谱纯, 购自德国默克公司; 水为蒸馏水 (自制)。

表 1 女贞子信息

编号	产地	批号
S1	安徽	20230413-1
S2	江苏	20211001
S3	江苏	2023121903
S4	江苏	20240110
S5	江苏	20231026-1
S6	安徽	20240815
S7	安徽	20240529
S8	江苏	20240620
S9	江苏	20240723-1
S10	江苏	2024061203
S11	安徽	2022122201
S12-1(生品)	安徽	20240924-1
S12-2(洗净后)	安徽	20240924-1
S12-3(蒸制后)	安徽	20240924-1
S12-4(焖润后)	安徽	20240924-1
S12-5(炮制品)	安徽	20240924-1

2 方法与结果

2.1 色谱条件 ACQUITY UPLC BEH C₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈 (A) -水 (B), 梯度洗

收稿日期: 2025-03-27
基金项目: 上海市大学生创新创业训练计划项目 (202410268073); 中医药联合创新发展中心建设项目 (ZJ2022-ZD-009)
作者简介: 陆毅潇 (2002—), 男, 研究方向为中药品质评价。Tel: 18019398512, E-mail: luyixiao0295@163.com
* 通信作者: 孙连娜 (1973—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药品质评价。Tel: (021) 51322211, E-mail: sssnmr@163.com

脱，程序见表 2；体积流量 0.3 mL/min；柱温 30 ℃；检测波长 224 nm；进样量 1 μL。

表 2 梯度洗脱程序		
时间/min	A 乙腈/%	B 水/%
0	2	98
3	10	90
7	17	83
9	17	83
12.5	18	82
20	33	67

2.2 对照品溶液制备 精密称取特女贞苷、松果菊苷、女贞苷、红景天苷、新女贞苷、女贞苷 G13 对照品适量，70%甲醇制成质量浓度分别为 2 056、208.0、208.0、320.0、250.0、680.0 μg/mL 的贮备液，精密吸取适量，置于 10 mL 量瓶中，70%甲醇定容至刻度，摇匀，即得。

2.3 供试品溶液制备 参考文献 [5-6] 报道，准确称取炮制品粉末 0.4 g（过 3 号筛），置于密闭锥形瓶中，加入 10 mL 70% 甲醇，称定质量，超声处理 30 min，静置至室温，70% 甲醇补足减失的质量，过滤，即得。

2.4 UPLC-DAD 指纹图谱方法学考察

2.4.1 稳定性试验 精密称取炮制品（S1）0.4 g，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，室温下于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定，以特女贞苷为参照，测得其余共有峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 分别小于 0.13%、1.98%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

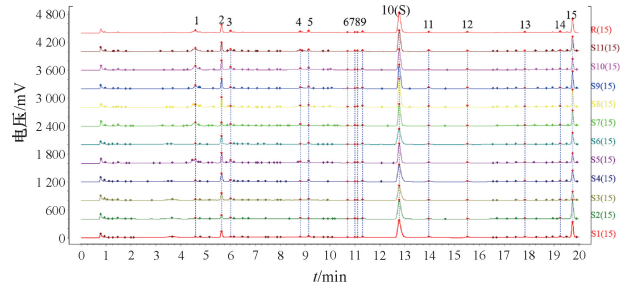
2.4.2 精密度试验 精密称取炮制品（S1）0.4 g，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定 6 次，以特女贞苷为参照，测得其余共有峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 分别小于 0.06%、1.39%，表明仪器精密度良好。

2.4.3 重复性试验 取 6 份炮制品（S1），每份 0.4 g，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，以特女贞苷为参照，测得其余共有峰相对保留时间、相对峰面积 RSD 分别小于 0.04%、1.23%，表明该方法重复性良好。

2.4.4 图谱生成及相似度评价 取 11 批炮制品，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”（2012 版）进行处理，选择中位数法，设定时间窗宽度为 0.1 min，以 S1 图谱为参照，确定 15 个共有峰，以 Mark 峰模式进行峰匹配，生成对照图谱（R），见图 1，共有 15 个共有峰，与对照品比对后指出 6 个，分别为红景天苷（2 号峰）、松果菊苷（4 号峰）、新女贞苷（6 号峰）、女贞苷（9 号峰）、特女贞苷（10 号峰）、女贞苷 G13（15 号峰）。再测定相似度，结果见表 3，可知均大于 0.956，表明不同厂家炮制品质量稳定，一致性良好。

2.5 含量测定

2.5.1 专属性试验 取“2.3”项下供试品溶液、“2.2”项下对照品溶液、空白溶剂（70% 甲醇）适量，在“2.1”

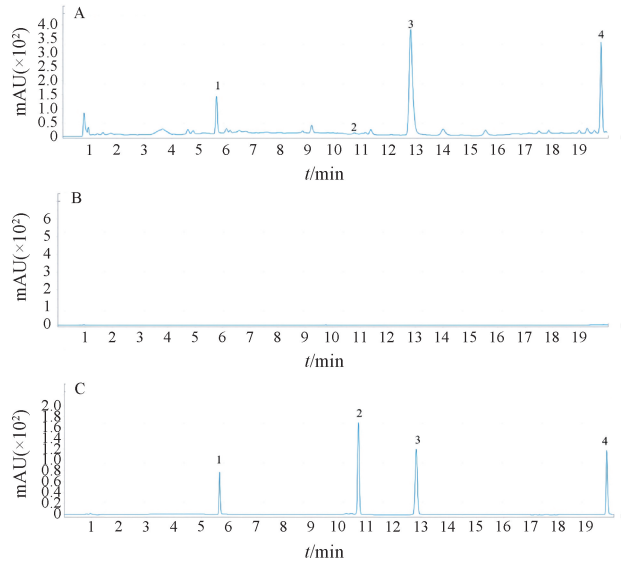


2. 红景天苷 4. 松果菊苷 6. 新女贞苷 9. 女贞苷 10. 特女贞苷 15. 女贞苷 G13

图 1 11 批制女贞子 UPLC-DAD 指纹图谱

表 3 相似度测定结果			
编号	相似度	编号	相似度
S1	0.994	S7	0.975
S2	0.986	S8	0.993
S3	0.994	S9	0.991
S4	0.995	S10	0.956
S5	0.995	S11	0.977
S6	0.993		

项色谱条件下进样测定，结果见图 2。由此可知，供试品、对照品溶液中各成分色谱峰匹配度高，空白溶剂无干扰，表明该方法专属性良好。



注：A~C 分别为供试品、空白溶剂、对照品。

1. 红景天苷 2. 新女贞苷 3. 特女贞苷 4. 女贞苷 G13

图 2 各成分 UPLC 色谱图

2.5.2 线性关系考察 精密量取“2.2”项下对照品溶液适量，70% 甲醇稀释成不同质量浓度，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以对照品质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 4，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.5.3 重复性试验 取炮制品（S1）6 份，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.5.1”项色谱条件下进样测定，测得女贞苷 G13、红景天苷、新女贞苷、特女贞苷

表 4 各成分线性关系

成分	回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
红景天苷	$Y=4.098\ 9X-3.050\ 2$	0.999 6	20.00~320.0
新女贞苷	$Y=3.774\ 5X-4.091$	0.999 9	5.000~80.00
特女贞苷	$Y=3.564\ 7X-69.475$	0.999 8	128.5~2 056
女贞苷 G13	$Y=2.752\ 6X-25.876$	0.999 8	42.50~680.0

含量 RSD 分别为 1.13%、0.35%、1.04%、0.29%，表明该方法重复性良好。

2.5.4 稳定性试验 取炮制品（S1）0.4 g，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，室温下于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.5.1”项色谱条件下进样测定，测得红景天苷、新女贞苷、特女贞苷、女贞苷 G13 峰面积 RSD 分别为

表 5 各成分加样回收率试验结果（*n*=6）

成分	取样量/g	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
红景天苷	0.200	0.968 7	0.960 0	1.950 6	102.28	100.93	2.73
	0.200	0.946 9	0.960 0	1.949 7	104.46		
	0.200	0.966 9	0.960 0	1.898 6	97.05		
	0.200	0.957 5	0.960 0	1.923 9	100.67		
	0.200	0.967 2	0.960 0	1.913 0	98.52		
	0.200	0.955 2	0.960 0	1.940 0	102.58		
新女贞苷	0.200	0.052 0	0.050 0	0.095 5	87.00	86.53	2.97
	0.200	0.054 0	0.050 0	0.096 3	84.60		
	0.200	0.052 9	0.050 0	0.094 7	83.60		
	0.200	0.051 6	0.050 0	0.096 6	90.00		
	0.200	0.052 6	0.050 0	0.095 1	85.00		
	0.200	0.050 9	0.050 0	0.095 4	89.00		
特女贞苷	0.200	5.088 9	5.090 0	10.114 4	98.73	102.17	1.73
	0.200	5.056 0	5.090 0	10.247 2	101.99		
	0.200	5.197 7	5.090 0	10.438 0	102.95		
	0.200	5.155 4	5.090 0	10.428 3	103.59		
	0.200	5.202 5	5.090 0	10.422 7	102.56		
	0.200	5.141 8	5.090 0	10.393 4	103.17		
女贞苷 G13	0.200	2.503 7	2.590 0	5.073 6	99.22	98.02	1.33
	0.200	2.455 3	2.590 0	5.039 1	99.76		
	0.200	2.538 6	2.590 0	5.035 3	96.40		
	0.200	2.501 7	2.590 0	5.034 2	97.78		
	0.200	2.527 1	2.590 0	5.035 1	96.83		
	0.200	2.493 2	2.590 0	5.034 7	98.12		

2.5.7 样品含量测定 取 11 批炮制品，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.5.1”项色谱条件下进样测定，计算含量，结果见表 6。

2.5.8 不同炮制时间下含量变化考察 取生品、炮制品适量，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.5.1”项色谱条件下进样测定，计算含量，结果见表 7。由此可知，在炮制过程中红景天苷含量呈升高趋势，新女贞苷、特女贞苷、女贞苷 G13 含量呈降低趋势。

3 讨论

3.1 提取工艺、色谱方法优化 本实验分别考察了不同溶剂（甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇）与提取方式（回流、超声），发现 70% 甲醇超声提取 30 min（料液比 1：25）时各成分提取效率最高，色谱峰分离度最佳。再比较了多种流动相体系及检测波长，发现以乙腈-水为流动相、224 nm 为

1.14%、1.65%、1.44%、2.04%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.5.5 精密度试验 取对照品溶液适量，在“2.5.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得红景天苷、新女贞苷、特女贞苷、女贞苷 G13 峰面积 RSD 分别为 0.14%、0.33%、0.62%、0.32%，表明仪器精密度良好。

2.5.6 加样回收率试验 取各成分含量已知的炮制品（S1）适量，按 100% 水平加入对照品，70% 甲醇定容，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，在“2.5.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率，结果见表 5，可知均符合 2020 年版《中国药典》四部^[7]相关要求。

表 6 各成分含量测定结果（*n*=3）

编号	含量/%			
	红景天苷	新女贞苷	特女贞苷	女贞苷 G13
S1	0.526	0.028	2.764	1.360
S2	0.210	0.026	2.535	1.193
S3	0.419	0.020	1.884	0.517
S4	0.505	0.021	2.317	0.674
S5	0.528	0.017	2.150	0.720
S6	0.473	0.030	1.801	0.468
S7	0.151	0.029	1.986	0.765
S8	0.468	0.039	2.637	0.873
S9	0.460	0.028	2.200	0.849
S10	0.455	0.027	1.928	0.542
S11	0.402	0.024	1.898	0.726

检测波长时，各成分色谱峰出峰多，分离效果良好。

表 7 不同炮制时间下各成分含量变化 (n=3)				
编号	含量/%			
	红景天苷	新女贞苷	特女贞苷	女贞苷 G13
S12-1(生品)	0.060	0.070	3.250	3.741
S12-2(洗净后)	0.056	0.065	3.149	3.559
S12-3(蒸制后)	0.341	0.028	2.740	1.588
S12-4(焖润后)	0.263	0.029	3.045	1.981
S12-5(炮制品)	0.401	0.025	2.764	1.482

3.2 指纹图谱建立及含量测定 11 批制女贞子 UPLC 指纹图谱中有 15 个共有峰，指认了 6 个，相似度均在 0.900 以上。再通过查阅文献 [5-6, 8-9] 结合本实验结果，选择红景天苷、新女贞苷、特女贞苷、女贞苷 G13 作为含量测定指标，其中红景天苷可作为制女贞子潜在质量标志物。

3.3 特征成分变化研究 女贞子淘洗后，各成分含量均降低，但清蒸阶段红景天苷含量不断升高，而新女贞苷、特女贞苷、女贞苷 G13 含量呈降低趋势。其中，红景天苷属于苯乙醇苷类化合物，而其余三者均为含苯乙醇苷结构单元的环烯醚萜苷类化合物，通过酯键连接，推测高温高湿条件可能促使该类成分酯键发生水解，并且特女贞苷和女贞苷 G13 裂解而直接生成红景天苷^[10]。

研究表明，环烯醚萜苷类具有抗氧化、保肝等作用^[11-13]，转化为苯乙醇苷类后不仅保留了原活性^[14-16]，还新增神经保护等功效^[17-18]，可能与制女贞子补肝肾作用增强有关。同时，女贞子炮制后环烯醚萜苷（寒性药材特征成分^[19-20]）含量降低，导致药性缓和，与地黄等其他寒性药材一致，故考察该类化合物变化规律可为相关炮制机理研究提供参考。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[2] 杨光明, 陈晓红, 刘 路, 等. 女贞子生品及炮制品的 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中草药, 2016, 47(5): 760-766.

[3] 宋梦晗. 女贞子炮制的现代研究进展[J]. 科学咨询 (科技·管理), 2021(27): 69-70.

[4] 上海市药品监督管理局. 上海市中药饮片炮制规范[S]. 上海: 上海科学技术出版社, 2019: 182.

[5] 林伟雄, 邓李红, 李美洲, 等. 基于 UPLC 特征图谱及多成分同时定量的酒女贞子炮制工艺研究[J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(3): 236-246.

[6] 张炯怡, 王 勇, 宋晓宁, 等. HPLC 法同时测定贵州不同产地女贞子中红景天苷、女贞苷、特女贞苷的含量[J].

贵州医药, 2017, 41(10): 1038-1040.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

[8] 纪 鑫, 刘晓谦, 李 春, 等. 基于 UPLC 技术的女贞子中主要成分炮制变化规律研究及酒女贞子特色质量标准的探讨[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(24): 4862-4868.

[9] 薛青苹, 胡 雨, 郭志俊, 等. 基于 UPLC 结合 PCA 法研究黄酒类型对酒女贞子质量影响[J]. 亚太传统医药, 2024, 20(8): 54-59.

[10] 陈进芳, 翁育才. 3 种不同炮制方法对女贞子中 7 种化学成分变化的影响[J]. 中国现代中药, 2021, 23 (7): 1260-1265.

[11] Pang X, Zhao J Y, Yu H Y, *et al.* Secoiridoid analogues from the fruits of *Ligustrum lucidum* and their inhibitory activities against influenza A virus[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2018, 28(9): 1516-1519.

[12] Feng R, Ding F, Mi X H, *et al.* Protective effects of ligustroflavone, an active compound from *Lioustrum lucidum*, on diabetes-induced osteoporosis in mice: A potential candidate as calcium-sensing receptor antagonistr[J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(2): 457-476.

[13] 胡冬梅, 陆 杨, 房敏峰, 等. 特女贞苷对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(9): 1260-1263.

[14] 王晓东, 刘永刚, 苏薇薇. 红景天苷对小鼠实验性肝损伤的保护作用[J]. 中药材, 2004, 27(3): 198-199.

[15] 张明发, 沈雅琴. 红景天苷及其苷元酪醇的抗炎、抗肿瘤和免疫调节作用[J]. 药物评价研究, 2013, 36 (3): 228-234.

[16] 李 莺, 武 蕾, 赵 辉, 等. 红景天苷对脂多糖所致急性肺损伤治疗作用的研究[J]. 心脏杂志, 2011, 23(3): 322-325; 330.

[17] Zhang X, Zhang Y M, Li R, *et al.* Salidroside ameliorates Parkinson's disease by inhibiting NLRP3-dependentyptosis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(10): 9405-9426.

[18] Fan F, Yang L, Li R, *et al.* Salidroside as a potential neuroprotective agent for ischemic stroke: a review of sources, pharmacokinetics, mechanism and safety[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 129: 110458.

[19] 于 卉. 基于基础代谢及物质能量代谢的玄参寒热药性研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2017.

[20] 杜亚朋, 王 美, 李璐遥, 等. 基于化合物稳定性探讨炮制对含环烯醚萜类成分中药药性及功效影响的研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(16): 5039-5051.