

UPLC-ECD法同时测定不同产地女贞子中9种成分的含量

淳泽利, 朱 娅, 陈荣祥

Simultaneous Determination of Nine Components in Ligustri Lucidi Fructus from Different Habitats by UPLC-ECD

CHUN Zeli, ZHU Ya, and CHEN Rongxiang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021090005>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

超高效液相色谱-串联质谱法测定保健酒中紫杉醇的含量

Determination of Paclitaxel in Health Care Wine by Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

食品工业科技. 2020, 41(17): 248-252,257

响应面法优化微波辅助提取女贞子中熊果酸工艺

Optimization of Microwave-assisted Extraction of Ursolic Acid from *Ligustrum lucidum* Ait Using Response Surface Methodology

食品工业科技. 2019, 40(22): 169-174

超高效液相色谱法(UPLC)测定猪肉中9种生物胺含量

Determination of 9 Biogenic Amines in Pork by Using Ultra-high Performance Liquid Chromatography

食品工业科技. 2019, 40(10): 255-261,268

山楂荷叶复合固体饮料的制备工艺优化及功能性成分含量测定

Optimization of Preparation Process and Determination of Functional Components in Hawthorn and Lotus Leaf Compound Solid Beverage

食品工业科技. 2018, 39(19): 150-155

明党参中游离氨基酸与核苷类成分的同时测定及品质评价

Simultaneous Determination and Quality Evaluation of Free Amino Acids and Nucleosides in *Changium myrsinoides* Wolff

食品工业科技. 2019, 40(23): 1-9,16

当归胶囊中三种有效成分含量测定的方法学验证

Method Validation for the Determination of Three Kinds of Active Ingredients in Angelica Capsules

食品工业科技. 2019, 40(23): 247-253



关注微信公众号，获得更多资讯信息

淳泽利, 朱娅, 陈荣祥. UPLC-ECD 法同时测定不同产地女贞子中 9 种成分的含量 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(8): 305-311. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021090005

CHUN Zeli, ZHU Ya, CHEN Rongxiang. Simultaneous Determination of Nine Components in Ligustri Lucidi Fructus from Different Habitats by UPLC-ECD[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(8): 305-311. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021090005

· 分析检测 ·

UPLC-ECD 法同时测定不同产地女贞子中 9 种成分的含量

淳泽利^{1,2}, 朱 娅³, 陈荣祥^{1,2,*}

(1. 遵义医科大学分析测试中心, 贵州遵义 563000;

2. 遵义市理化分析测试工程技术研究中心, 贵州遵义 563000;

3. 遵义医科大学药学院, 贵州遵义 563000)

摘要: 建立超高效液相色谱-电化学检测法 (UPLC-ECD) 同时测定不同产地女贞子中羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁的方法。取女贞子药材粉末 0.25 g 经 10 mL 80% 甲醇超声提取 20 min, 提取液再经 0.22 μm 滤膜过滤后上样进行色谱分离。采用 Waters ACQUITY UPLC BEH shield RP 18 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm) 色谱柱分离, 以甲醇-50 mmol/L 柠檬酸盐缓冲液为流动相, 梯度洗脱, 流速为 0.4 mL $\cdot$ min⁻¹, 柱温为 45 $^{\circ}\text{C}$, 进样体积为 1 μL , 电化学检测器检测, 库伦检测池第一通道电压为 450 mV, 第二通道为 700 mV。结果表明, 9 种化合物在各自的质量浓度范围内线性关系良好 ($R^2 \geq 0.9993$); 仪器精密性、方法重复性、稳定性试验的 RSD $\leq 2.5\%$; 平均加样回收率在 97.9%~102.2% 范围内, RSD 在 2.4%~4.6% 范围内。研究所建立的方法快速、简便, 灵敏度高, 结果稳定可靠, 可用于同时测定女贞子中 9 种化合物的含量, 为女贞子的质量控制提供参考。

关键词: 超高效液相色谱-电化学检测法, 女贞子, 成分, 含量测定

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)08-0305-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021090005



本文网刊:

Simultaneous Determination of Nine Components in Ligustri Lucidi Fructus from Different Habitats by UPLC-ECD

CHUN Zeli^{1,2}, ZHU Ya³, CHEN Rongxiang^{1,2,*}

(1. Analytical and Testing Center, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China;

2. Zunyi Engineering Technology Research Center of Physical and Chemical Analysis, Zunyi 563000, China;

3. School of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

Abstract: A method was developed for the determination of hydroxytyrosol, protocatechuic acid, tyrosol, salidroside, verbascoside, specnuezhenide, luteolin, oleuropein and rutin in Ligustri Lucidi Fructus from different habitats by ultra-high performance liquid chromatography-electrochemical detection (UPLC-ECD). Ligustri Lucidi Fructus powder (0.25 g) was extracted ultrasonically for 20 min with 10 mL of 80% methanol. The extract was filtered through microporous membrane of 0.22 μm and then separated by a Waters ACQUITY UPLC BEH shield RP 18 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μm) chromatographic column. Methanol-50 mmol $\cdot$ L⁻¹ potassium citrate solution with gradient elution was employed as the mobile phase. The flow rate was 0.4 mL $\cdot$ min⁻¹, the column temperature was maintained at 45 $^{\circ}\text{C}$ and the injection volume was 1 μL . The potential of electrochemical detector was set at 450 mV in the first channel and 700 mV in the second channel. The results showed that the linearity of nine constituents was good in the range of their mass concentration ($R^2 \geq 0.9993$). RSD of precision, repeatability, and stability (12 h) were less than or equal to 2.5%. The average recovery rates were from 97.9% to

收稿日期: 2021-09-02

基金项目: 国家自然科学基金 (81760652); 遵义医科大学硕士启动资金 (F-972); 遵义市汇川区科技计划项目 (遵汇科合 201827)。

作者简介: 淳泽利 (1990-), 女, 硕士, 实验师, 研究方向: 食品药品色谱分析, E-mail: 251341672@qq.com。

* 通信作者: 陈荣祥 (1984-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品药品色谱分析, E-mail: chenrongxiang2014@163.com。

102.2% and the RSD was in the range of 2.4%~4.6%. The method in this study was rapid, simple, sensitive, stable and reliable. It could be applied for simultaneous determination of nine components in *Ligustri Lucidi Fructus*, which would provide a reference for the quality control of *Ligustri Lucidi Fructus*.

Key words: ultra-high performance liquid chromatography-electrochemical detection(UPLC-ECD); *Ligustri Lucidi Fructus*; components; content determination

女贞子为木犀科植物女贞(*Ligustrum lucidum* Ait)的干燥成熟果实,其味甘、苦,性凉,归肝、肾经,具有滋补肝肾、明目乌发的功效,主要用于治疗肝肾阴虚、眩晕耳鸣、腰膝酸软、须发早白、目暗不明、内热消渴、骨蒸潮热等^[1]。女贞子为药食两用,主要含有环烯醚萜苷类、黄酮类、苯乙醇类、三萜类、挥发油、脂肪酸和氨基酸等多种活性化合物^[2-6],具有抗氧化、抗肿瘤、保肝护肝、降血糖、降血脂、免疫调节、抗衰老、抗骨质疏松等药理作用^[7-15]。女贞子的主要活性成分为特女贞苷、橄榄苦苷等环烯醚萜苷类化合物,此外苯乙醇类、黄酮类等成分因具有抗氧化和抗骨质疏松等生物活性也常被用来评价女贞子的质量。

目前,女贞子中活性化合物含量的检测多集中于特女贞苷、红景天苷、羟基酪醇、酪醇等的测定,采用的方法多为液相色谱分离,紫外检测器、二极管阵列检测器或荧光检测器等光学检测器检测^[2,16-21],以及高效液相色谱-串联质谱法^[22-25]检测,除此之外,周逸芝等^[26]采用胶束电动毛细管色谱-二极管阵列检测法同时测定女贞子饮片中红景天苷、酪醇、女贞苷、特女贞苷、齐墩果酸和熊果酸的含量。相对于光学检测器,电化学检测器(electrochemical detector, ECD)特别适合检测容易被氧化的物质,如酚酸、杂环类化合物,其灵敏度高,可达 fmol 水平^[27-30],羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁的化学结构式中均含有酚羟基,非常容易被氧化。相对于质谱检测器,电化学检测器价格较低,前处理简单,无基质效应。因此,本研究建立了超高效液相色谱-电化学检测法测定女贞子中羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁的含量,通过分析女贞子发挥药效相关的化合物群的含量来评价女贞子药材的质量。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

女贞子药材 市售,经遵义医科大学生命科学研究孟令杰博士鉴定为木犀科女贞果实女贞子(*Ligustri lucidi Fructus*);甲醇(色谱纯)、柠檬酸钾-水合物、柠檬酸(分析纯)、酪醇、红景天苷、羟基酪醇、原儿茶酸、橄榄苦苷、木犀草苷对照品(HPLC $\geq$ 98%) 上海阿拉丁;超纯水 自制;毛蕊花糖苷对照品(HPLC $\geq$ 98%)、特女贞苷对照品(HPLC $\geq$ 98%) 美国 Ark Pharm。

U3000 超高效液相色谱仪(配有 Chromeleon 7.2

工作站、ECD-3000 RS 电化学检测器(检测池为 6011 库伦检测池)、DAD-3400RS 型二极管阵列检测器)、Legend Micro 17 小型台式离心机 美国 Thermo; ME104E/02 型电子天平 梅特勒-托利多; SB-5200DT 型超声波清洗机 宁波新芝; Purelab Chorus 2 超纯水系统 英国埃尔格。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 称取女贞子药材粉末 0.25 g,置 20 mL 具塞锥形瓶中,加 80% 甲醇 10 mL,密塞,称重,超声 20 min,放冷至室温,称重,用 80% 甲醇补足减失的质量,混合均匀,10000 r/min 离心 5 min,上清液用 0.22 μ m 滤膜过滤后进样分析。

1.2.2 色谱条件 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH shield RP18(2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.7 μ m); 流动相: 流动相 A 为甲醇,流动相 B 为 50 mmol/L 柠檬酸-柠檬酸钾缓冲液(pH 约 2.8 左右),梯度洗脱(0~5 min, 5%A~6.5%A; 5~8 min, 6.5%A~24%A; 8~21 min, 24%A~32%A); 流速为 0.4 mL/min; 柱温: 45 $^{\circ}$ C; 进样量为 1 μ L; 自动进样器温度 10 $^{\circ}$ C; 电化学检测器检测池电压第一通道为 450 mV,第二通道为 700 mV。

1.2.3 对照品溶液的配制

1.2.3.1 单个对照品溶液的配制 称取羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷和芦丁对照品 10.00 mg,分别置 5 mL 棕色容量瓶中,加甲醇溶解并定容,涡旋振荡摇匀,配制成质量浓度为 2 mg $\cdot$ mL⁻¹ 的单个对照品储备溶液,4 $^{\circ}$ C 冷藏备用。

1.2.3.2 系列混合对照品工作溶液的配制 分别取各对照品储备液适量,加 50% 甲醇稀释,配制成毛蕊花糖苷、特女贞苷、橄榄苦苷质量浓度为 400 μ g $\cdot$ mL⁻¹,羟基酪醇、酪醇、红景天苷质量浓度为 100 μ g $\cdot$ mL⁻¹,芦丁质量浓度为 200 μ g $\cdot$ mL⁻¹,木犀草苷质量浓度为 40 μ g $\cdot$ mL⁻¹,原儿茶酸质量浓度为 20 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 的混合对照品储备液。再将混合对照品储备液配制成分系列混合对照品工作溶液,其中毛蕊花糖苷、特女贞苷、橄榄苦苷质量浓度为 20、40、80、160、240、320、400 μ g $\cdot$ mL⁻¹,羟基酪醇、酪醇、红景天苷质量浓度为 5、10、20、40、60、80、100 μ g $\cdot$ mL⁻¹,芦丁质量浓度为 10、20、40、80、120、160、200 μ g $\cdot$ mL⁻¹,木犀草苷质量浓度为 2、4、8、16、24、32、40 μ g $\cdot$ mL⁻¹,原儿茶酸质量浓度为 1、2、4、8、12、16、20 μ g $\cdot$ mL⁻¹,4 $^{\circ}$ C 冷藏备用。

1.3 数据处理

采用 Chromeleon 7.2 软件进行数据采集; 采用 Excel 办公软件进行数据分析; 采用 Origin 8.0 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 流动相的选择

在使用电化学检测器检测易被氧化的化合物

时, 流动相中缓冲盐的浓度至关重要, 适当浓度的缓冲盐(通常大于 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)不仅可以保护检测器的电极, 还可以降低基线噪音。故本实验选择以甲醇为流动相 A, 50 mmol/L 柠檬酸-柠檬酸钾缓冲液(pH 约 2.8 左右)为流动相 B, 分离样品溶液中的 9 种待测化合物, 其响应高, 分离度好, 混合对照品溶液和样品溶液的色谱图见图 1。

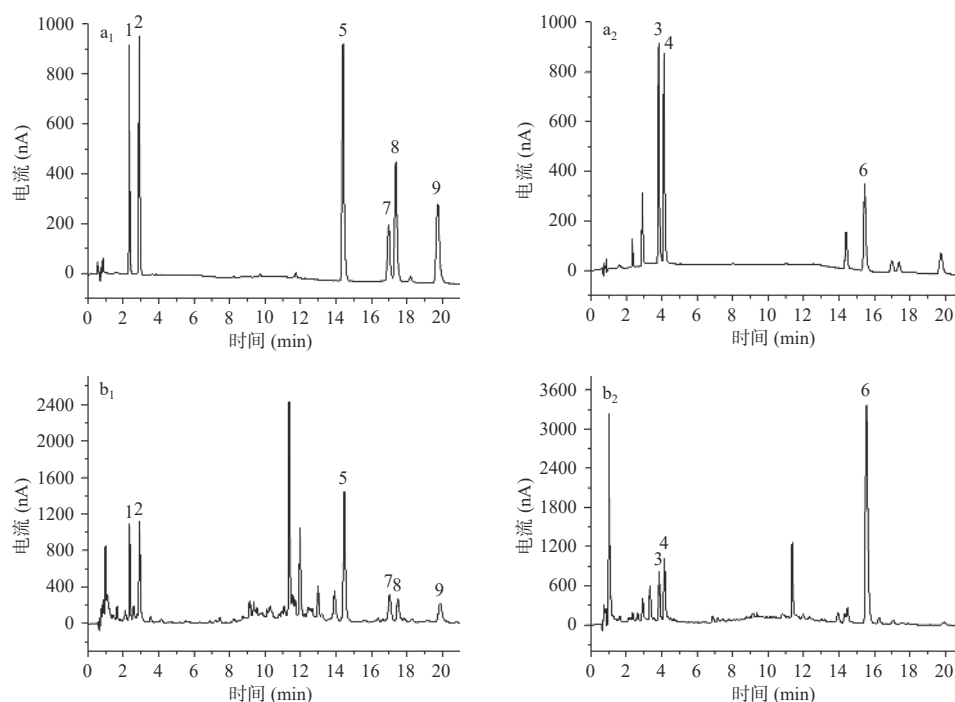


图 1 混合对照品溶液色谱图(a)与供试品溶液色谱图(b)

Fig.1 Chromatograms of the reference solution(a) and samples(b)

注: 1: 羟基酪醇; 2: 原儿茶酸; 3: 酪醇; 4: 红景天苷; 5: 毛蕊花糖苷; 6: 特女贞苷; 7: 木犀草苷; 8: 橄榄苦苷; 9: 芦丁; a_1 —羟基酪醇、原儿茶酸、毛蕊花糖苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁对照品色谱图(ECD 1); a_2 —酪醇、红景天苷、特女贞苷对照品色谱图(ECD 2); b_1 —女贞子样品色谱图(ECD 1); b_2 —女贞子样品色谱图(ECD 2)。

2.2 检测电压的选择

将电化学检测器的电压由 50 mV 逐渐升高至 800 mV , 同一混合对照品溶液重复进样, 考察不同检测电压下各分析物峰面积的变化, 以确定最佳的检测条件。将同一化合物在不同检测电压下的峰面积除以该化合物的最大峰面积即得归一化后的峰面积百分比, 以峰面积百分比为纵坐标, 检测电压为横坐标作图, 结果见图 2。由图 2 可知, 当电压高于 450 mV 时, 羟基酪醇、原儿茶酸、毛蕊花糖苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁在表面积比较大、抗污染能力比较强的多孔石墨电极中接近完全氧化, 故采用 450 mV 作为羟基酪醇、原儿茶酸、毛蕊花糖苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁的检测电压, 设为 ECD 1; 当电压低于 500 mV 时酪醇、红景天苷、特女贞苷几乎没有氧化, 随着电压升高, 酪醇、红景天苷、特女贞苷逐渐被氧化, 当电压升高至 700 mV 时, 氧化完全, 故选择 700 mV 作为酪醇、红景天苷、特女贞苷的检测电压, 设为 ECD 2。

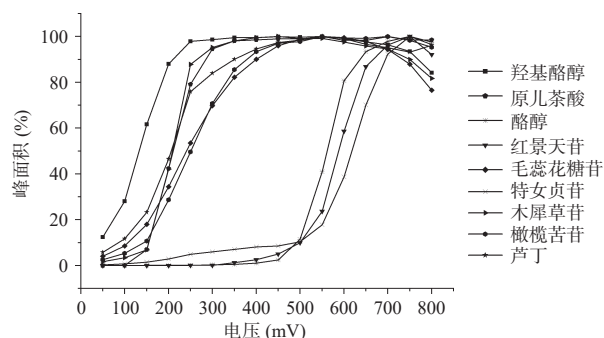


图 2 9 个组分检测电压的优化

Fig.2 Optimization of the detection potential of nine components

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系、检测限和定量限 取“1.2.3.2”项下系列混合对照品溶液, 按“1.2.2”项下的色谱条件进行分析。以各分析物峰面积 $y(\text{nA} \cdot \text{min})$ 作为纵坐标, 样品中各分析物浓度 $x(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ 作为横坐标, 作标准曲线以及回归方程, 以信噪比 3:1 和 10:1 分别计

算分析方法的检测限(LOD)和定量限(LOQ),结果见表1。

2.3.2 仪器精密度试验 取混合对照品溶液,按“1.2.2”项下的色谱条件连续进样6次,记录各分析物的峰面积,并计算RSD,羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁峰面积的RSD值分别为0.28%、0.96%、0.53%、1.3%、0.68%、1.4%、0.92%、0.86%、0.63%。结果表明,仪器的精密度良好。

2.3.3 方法重复性试验 取同一批次女贞子样品粉末0.25 g,精密称取6份,照“1.2.1”项下处理,按“1.2.2”项下色谱条件进样分析,记录各分析物峰面积,并计算RSD,羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁峰面积的RSD值分别为0.63%、1.4%、0.84%、2.2%、0.79%、1.9%、1.1%、1.3%、0.55%。结果表明,该方法重复性良好。

2.3.4 稳定性试验 精密称取女贞子样品粉末0.25 g,照“1.2.1”项下处理,在0、2、4、6、8、10、12 h按“1.2.2”项下色谱条件进样,记录各分析物的峰面积并计算RSD,羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁峰面积的RSD值分别为0.76%、2.1%、2.3%、2.5%、2.3%、2.0%、1.3%、1.7%、2.0%。表明样品溶液在12 h内稳定。

2.3.5 加标回收率试验 精密称取已知含量的女贞子样品(S10)0.125 g,精密加入一定量的对照品,照“1.2.1”项下处理,平行制备6份,按“1.2.2”项下色谱条件进样,记录各分析物的峰面积,计算平均回收率。结果见表2,羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁的平均回收率在97.9%~102.2%范围内,RSD≤4.6%。

2.4 样品含量的测定

精密称取10批不同产地女贞子药材各0.25 g,照“1.2.1”项下处理,按“1.2.2”项下色谱条件进样分析,结果见表3。《中国药典》2020年版一部规定,特女贞苷作为品质评价的指标成分,其在女贞子样品中的含量不得少于0.7%(7 mg·g⁻¹),所测10批样品中,特女贞苷的含量均高于0.7%(7 mg·g⁻¹),其中编号为S2的女贞子中特女贞苷的含量最高,为1.556%(15.56 mg·g⁻¹)。10批女贞子中,特女贞苷、橄榄苦苷、毛蕊花糖苷、芦丁的含量相对较高,羟基酪醇、酪醇、红景天苷、木犀草苷次之,原儿茶酸含量最低。女贞子的主要活性成分为环烯醚萜苷类,特女贞苷、橄榄苦苷均属此类,但女贞子的药效作用并不是由个别成分的含量决定,需通过分析女贞子发挥药效相关的化合物群的含量才能真正评价女贞子药材的质量。本实验建立超高效液相色谱-电化学检测法测定女贞子中的9种化学成分,能客观反映不同产地女贞子化学成分的差异,对于评价女贞子质量优劣

表1 9种化合物的回归方程、决定系数(R²)、线性范围、检测限和定量限

Table 1 Linear regression equations, coefficients of determination (R²), liner range, LODs and LOQs of nine components

化合物	线性回归方程	R ²	线性范围(μg·mL ⁻¹)	检测限(ng·mL ⁻¹)	定量限(ng·mL ⁻¹)
羟基酪醇	y=32.419x-0.7463	0.9993	5~100	2.5	8.3
原儿茶酸	y=22.793x-0.4766	0.9993	1~20	2.1	7.0
酪醇	y=37.852x-0.6447	0.9995	5~100	2.8	9.3
红景天苷	y=10.181x-1.5537	0.9994	5~100	3.8	12.7
毛蕊花糖苷	y=6.095x-2.1708	0.9995	20~400	2.0	6.7
特女贞苷	y=1.329x+1.0532	0.9993	20~400	21.2	70.7
木犀草苷	y=3.469x-0.0113	0.9996	2~40	10.1	33.7
橄榄苦苷	y=4.103x-0.1065	0.9995	20~400	6.4	21.3
芦丁	y=4.019x+7.5408	0.9997	10~200	7.3	24.3

表2 9种化合物的加标回收率及其相对标准偏差(n=6)

Table 2 Recoveries of nine components and their relative standard deviations (n=6)

化合物	样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	平均回收率(%)	RSD(%)
羟基酪醇	337.7±6.2	300	633.9±14.9	98.7±4.1	4.2
原儿茶酸	57.7±1.1	500	108.8±1.7	102.2±3.3	3.3
酪醇	278.1±5.1	300	582.8±9.5	101.6±2.8	2.8
红景天苷	109.9±2.0	100	207.7±2.1	97.9±2.4	2.5
毛蕊花糖苷	1203.9±22.2	1200	2399.6±42.2	98.8±3.0	3.1
特女贞苷	994.6±18.2	1000	1977.0±39.5	98.2±2.3	2.4
木犀草苷	113.6±2.1	100	214.3±4.9	100.7±4.6	4.6
橄榄苦苷	300.5±5.5	300	606.0±11.1	101.8±3.2	3.1
芦丁	393.4±7.2	400	790.2±11.8	99.2±3.5	3.6

表 3 不同产地女贞子样品含量测定结果

Table 3 Determination of the nine components in Ligustri Lucidi Fructus samples from different habitats

样品编号	含量(mg·g ⁻¹)								
	羟基酪醇	原儿茶酸	酪醇	红景天苷	毛蕊花糖苷	特女贞苷	木犀草苷	橄榄苦苷	芦丁
S1(四川内江)	2.07	0.32	1.72	0.76	2.46	12.39	1.33	13.11	5.95
S2(云南昆明)	3.06	0.31	3.22	1.45	5.50	15.56	0.45	3.36	3.67
S3(河北保定)	2.37	0.25	2.71	1.43	8.37	12.65	0.12	1.98	1.24
S4(河北安国)	2.68	0.32	2.93	1.94	10.52	12.18	0.90	10.60	3.03
S5(浙江宁波)	2.48	0.29	3.59	2.35	10.31	12.99	0.64	9.18	2.54
S6(江苏徐州)	1.48	0.15	1.93	2.34	9.42	8.53	0.26	3.27	0.97
S7(江苏连云港)	2.38	0.36	3.78	2.18	7.04	14.03	0.53	5.75	2.23
S8(陕西宝鸡)	1.17	0.36	0.57	1.58	10.02	12.30	1.36	12.62	5.41
S9(陕西宝鸡)	1.58	0.17	1.54	2.21	10.26	10.73	0.49	1.37	1.24
S10(甘肃陇南)	2.67	0.46	2.20	0.87	9.61	7.87	0.90	2.38	3.11

有一定的参考价值。样品中多成分的含量测定有利于更加全面地考察女贞子的药效物质基础,有利于更全面、客观地评价女贞子的药材质量。

2.5 与 UPLC-DAD 比较

当色谱柱、流动相、进样体积、柱温等色谱条件一致时,设置 DAD 检测器的检测波长为 230、280 和 330 nm,ECD 检测器电压为 450 和 700 mV,对同一样品溶液进行检测。测定结果如图 3 所示。

由上图可知,采用 UPLC-ECD 进行检测时,如图 3b,9 种化合物分离度好、灵敏度高、检测限低;采用 UPLC-DAD 进行检测时,如图 3a,毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁可检出,信噪

比也较好,但羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷响应较差,在此波长处,有更多的未知物质被检出,故分离度也较差。因此,采用 UPLC-ECD 测定女贞子中羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁含量的方法灵敏度高、检出限低,具有明显的优势。

3 结论

本实验通过检测电压的优化、方法学考察,建立了 UPLC-ECD 同时测定不同产地 10 批女贞子样品中羟基酪醇、原儿茶酸、酪醇、红景天苷、毛蕊花糖苷、特女贞苷、木犀草苷、橄榄苦苷、芦丁的含量。通过电压的优化,9 种化合物在 450、700 mV 电压下分离度好、灵敏度高,通过方法学考察,线性、精密度、重复性、稳定性、加标回收率等均符合要求。结果表明,本试验建立超高效液相色谱-电化学检测法测定女贞子中的 9 种化学成分,该方灵敏度高、选择性强、准确度高,能客观反映不同产地女贞子化学成分的差异,对于评价女贞子质量优劣有一定的参考价值。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2020 版)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 47-48. [Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the people's republic of China (2020 edition)[M]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2020: 47-48.]

[2] 李昌勤,姚辰,朱荣遥,等. 基于 DPPH、ABTS 和 FRAP 的中药女贞子抗氧化谱效关系研究[J]. 中国中药杂志, 2016, 4(9): 1670-1677. [LI Changqin, YAO Chen, ZHU Rongyao, et al. Spectrum-effect relationship in antioxidant activity of Ligustri Lucidi Fructus based on DPPH, ABTS and FRAP assays[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 4(9): 1670-1677.]

[3] 陈进芳,翁育才. 三种不同炮制方法对女贞子中 7 种化学成分变化的影响[J/OL]. 中国现代中药, 2020. <https://doi.org/10.13313/j.issn.1673-4890.20200618010>. [CHEN Jinfang, WENG Yucai. Effects of three processing methods on changes of seven chemical constituents in Ligustri Lucidi Fructus[J/OL]. Modern Chinese Medicine, 2020. <https://doi.org/10.13313/j.issn.1673-4890.20200618>

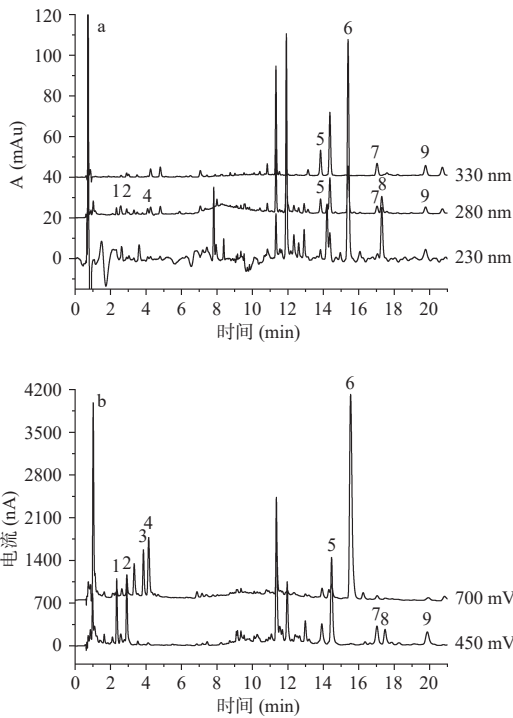


图 3 DAD 检测器色谱图(a)与 ECD 检测器色谱图(b)

Fig.3 Chromatograms of DAD detector(a) and ECD detector(b)

注: 1: 羟基酪醇; 2: 原儿茶酸; 3: 酪醇; 4: 红景天苷; 5: 毛蕊花糖苷; 6: 特女贞苷; 7: 木犀草苷; 8: 橄榄苦苷; 9: 芦丁。

010.]

[4] 张丹捷, 赵盼, 栾茹乔, 等. 酒蒸对女贞子活性成分体内分布的影响[J]. 中药材, 2021, 44(7): 1605–1610. [ZHANG Danjie, ZHAO Pan, LUAN Ruqiao, et al. Effect of wine steaming on the distribution *in vivo* of active compounds in Ligustri Lucidi Fructus[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2021, 44(7): 1605–1610.]

[5] 纪鑫, 刘晓谦, 高陆, 等. 女贞子中三萜类成分的定性定量研究[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(5): 1168–1178. [JI Xin, LIU Xiaoqian, GAO Lu, et al. Qualitative and quantitative analysis on triterpenoids in Ligustri Lucidi Fructus[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021, 46(5): 1168–1178.]

[6] 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. [DU Yapeng, WANG Mei, LI Luyao, et al. Research progress on effect of processing on properties and efficacy of traditional Chinese medicine containing iridoid terpenoids based on stability of compounds[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(16): 5039–5051.]

[7] LIU R H, KANG X, XU L P, et al. Effects of the combined extracts of Herba Epimedii and Fructus Ligustri Lucidi on bone mineral content and bone turnover in osteoporotic rats[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2015(15): 112.

[8] 刘静, 赵海霞, 袁丁, 等. 女贞子及其有效成分延缓衰老作用的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(12): 2974–2977. [LIU Jing, ZHAO Haixia, YUAN Ding, et al. Research advances of Fructus Ligustri Lucidi and its effective components on delaying aging[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2016, 27(12): 2974–2977.]

[9] 覃小燕, 韩晓玲, 张媛, 等. 基于网络药理学的女贞子抗骨质疏松作用机制研究[J]. 中国药理学杂志, 2021, 56(5): 368–378. [QIN Xiaoyan, HAN Xiaoling, ZHANG Yuan, et al. Mechanism of *Ligustrum lucidum* in treatment of osteoporosis based on network pharmacology[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2021, 56(5): 368–378.]

[10] LI L, CHEN B B, ZHU R Y, et al. Fructus Ligustri Lucidi preserves bone quality through the regulation of gut microbiota diversity, oxidative stress, TMAO and Sirt6 levels in aging mice[J]. Aging, 2019, 11(21): 9348–9368.

[11] 战兴晓, 刘希光, 刘祥龙, 等. 女贞子多糖相对分子质量与组成分析[J]. 中草药, 2019, 50(18): 488–492. [ZHAN Xingxiao, LIU Xiguang, LIU Xianglong, et al. Molecular weight and composition determination of polysaccharide from *Ligustrum lucidum*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(18): 488–492.]

[12] 刘婵婵, 杨薪正, 钱卫东, 等. 中药女贞子的化学成分及药理作用研究进展[J]. 海峡药理学, 2021, 33(2): 37–39. [LIU Chanchan, YANG Xinzhen, QIAN Weidong, et al. Advances in research on chemical constituents and pharmacological effects of *Ligustrum lucidum*[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2021, 33(2): 37–39.]

[13] 刘亭亭, 王萌. 女贞子化学成分与药理作用研究进展中国实验方剂学[J]. 中国实验方剂学, 2014, 20(14): 228–234. [LIU Tingting, WANG Meng. Research progress of chemical composition and pharmacological effects of Fructus Figustri Lucidi[J].

Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2014, 20(14): 228–234.]

[14] JU H Y, CHEN S C, WU K J, et al. Antioxidant phenolic profile from ethyl acetate fraction of Fructus Ligustri Lucidi with protection against hydrogen peroxide-induced oxidative damage in SH-SY5Y cells[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012(50): 492–502.

[15] CHEN B B, WANG L L, LI L, et al. Fructus Ligustri Lucidi in osteoporosis: a review of its pharmacology, phytochemistry, pharmacokinetics and safety[J]. Molecules, 2017(22): 1469.

[16] 廖晓燕, 洪圆, 姜雯文, 等. HPLC-荧光法测定酒女贞子中羟基酪醇、红景天苷和酪醇[J]. 中国现代应用药理学, 2019, 36(24): 3064–3067. [LIAO Xiaoyan, HONG Yuan, JIANG Wenwen, et al. Determination of hydroxytyrosol, salidroside and tyrosol in wine-fried Ligustri Lucidi Fructus by HPLC with fluorescence detection[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2019, 36(24): 3064–3067.]

[17] 刘颖新, 冯传平, 刘利利, 等. 一测多评法同时测定二至丸中8个成分[J]. 药物分析杂志, 2021, 4(2): 210–218. [LIU Yingxin, FENG Chuanping, LIU Lili, et al. Simultaneous determination of 8 components in Erzhi pills by QAMS method[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2021, 4(2): 210–218.]

[18] 张柏生, 李斌, 李茜, 等. 不同产地酒女贞子红景天苷、特女贞苷含量测定及聚类分析[J]. 世界中医药, 2021, 16(3): 429–429. [ZHANG Bosheng, LI Bin, LI Qian, et al. Determination of salidroside and nuezhenide in different producing areas and cluster analysis[J]. World Chinese Medicine, 2021, 16(3): 429–429.]

[19] 刘美, 张娟, 肖炯昌, 等. HPLC测定女贞子中特女贞苷的含量及指纹图谱的建立[J]. 中国现代中药, 2019, 21(12): 1647–1652. [LIU Mei, ZHANG Juan, XIAO Jiongchang, et al. Determination of content of specnuezenide and establishment of fingerprint for Ligustri Lucidi Fructus by HPLC[J]. Modern Chinese Medicine, 2019, 21(12): 1647–1652.]

[20] YAO W F, DAI J, ZHENG C Z, et al. Quality assessment of Ligustri Lucidi Fructus by the simultaneous determination of six compounds and chemometric analysis[J]. Journal of Separation Science, 2015, 38(11): 1822–1827.

[21] 赵丽敏, 卢广英, 杨书娟, 等. 基于酚类成分特征图谱的女贞子质量表征研究[J]. 北京中医药大学学报, 2016, 39(6): 480–488. [ZHAO Limin, LU Guangying, YANG Shujuan, et al. Quality representation and correlation analysis of *Ligustrum lucidum* Ait. based on characteristic spectrum of drug system[J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2016, 39(6): 480–488.]

[22] ZHANG D J, SUN L L, LI H F, et al. Pharmacokinetic comparison of nine bioactive components in rat plasma following oral administration of raw and wine-processed Ligustri Lucidi Fructus by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry[J]. Journal of Separation Science, 2020, 43(21): 3995–4005.

[23] 胡雁萍, 赵迪, 李煥茹, 等. UPLC-Q-Exactive Orbitrap 高分辨质谱定量分析不同产地、炮制前后女贞子中9种成分的含量[J]. 天然产物研究与开发, 2021. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/>

- 51.1335.Q.20210416.1706.002.html. [HU Yanping, ZHAO Di, LI Huanru, et al. UPLC-Q Exactive-Orbitrap high-resolution mass spectrometry quantitative analysis of the content of 9 components in Ligustri Lucidi Fructus from different producing areas and before and after processing[J/OL]. Natural Product Research and Development, 2021. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/51.1335.Q.20210416.1706.002.html>.]
- [24] LI H, YAO W F, LIU G N, et al. Application of UHPLC-ESI-Q-TOF-MS to identify multiple constituents in processed products of the Herbal Medicine Ligustri Lucidi Fructus[J]. Molecules, 2017(22): 689.
- [25] LI Z Y, LI Q, LU J, et al. LC-MS determination and pharmacokinetic study of salidroside in rat plasma after oral administration of suspensions of traditional Chinese medicine Erzhi Wan and Ligustri Lucidi Fructus[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2011, 1(1): 8–12.
- [26] 周逸芝, 邹立思, 刘毅, 等. 胶束毛细管电泳测定女贞子饮片中 6 种指标成分的含量[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(11): 994–998. [ZHOU Yizhi, ZOU Lisi, LIU Yi, et al. Simultaneous determination of six index components in Ligustri Lucidi Fructus by MEKC-DAD[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2014, 49(11): 994–998.]
- [27] 程军, 刘延. 高效液相色谱-电化学检测法在药物分析中的应用[J]. 中国药学杂志, 2017, 52(20): 1753–1771. [CHENG Jun, LIU Yan. Electrochemical Detection in high performance liquid chromatography for analysis of pharmaceutical drugs[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2017, 52(20): 1753–1771.]
- [28] ZHU Z Y, ZHANG Y, WANG J H, et al. Sugaring-out assisted liquid-liquid extraction coupled with high performance liquid chromatography-electrochemical detection for the determination of 17 phenolic compounds in honey[J]. Journal of Chromatography A, 2019, 1601: 104–114.
- [29] 罗敏, 顾雯, 何婷, 等. 超高效液相色谱-电化学检测法测定女贞子中的 3 种成分[J]. 中国药学杂志, 2020, 55(24): 2006–2011. [LUO Min, GU Wen, HE Ting, et al. Determination of three constituent in Ligustri Lucidi Fructus by ultra-high performance liquid chromatography-electrochemical detection[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2020, 55(24): 2006–2011.]
- [30] SCHIMPF K J, MEEK C C, LEFF R D, et al. Quantification of myo-inositol, 1, 5-anhydro- D-sorbitol, and D-chiro-inositol using high-performance liquid chromatography with electrochemical detection in very small volume clinical samples[J]. Biomedical Chromatography, 2015, 29(11): 1629–1636.