

女貞子

(LIGUSTRI LUCIDI FRUCTUS)

女貞子 MI	2
一、形態:	2
二、顯微	2
女貞子 HPLC	3
一、材料	3
二、儀器及層析管柱	3
三、實驗藥品及試劑來源	3
四、方法	3
五、結果	7
女貞子 TLC	17
一、方法	17
二、萃法選擇及濃度測試	18
三、溶媒系統選擇	19
四、觀察方式選擇	21
五、十家樣品檢測:	23

女貞子 MI

一、形態:

本品為木犀科 Oleaceae 植物女貞 *Ligustrum lucidum* Ait. 的乾燥果實。本品呈卵形、橢圓形或腎形，長 5~10 mm，直徑 4~5 mm。表面黑紫色或棕黑色，有不規則網狀皺紋，基部常有宿萼和果柄殘痕。外果皮薄，中果皮稍疏鬆，內果皮木質，黃棕色，有縱稜。橫切面觀子房 2 室，每室有種子 1 枚，但常有 1 枚不發育。種子腎形，紅棕色。氣微，味微苦、澀。

二、顯微

本品橫切面，最外層為 1 列外果皮細胞，外壁及側壁增厚。中果皮為數列薄壁細胞，可見維管束散在。內果皮為 4~8 列纖維細胞所組成。種皮細胞細胞類長方形，胞腔內常含油滴。胚乳發達，內含細小草酸鈣結晶。



略字解

epc: 外果皮

f: 纖維

sd: 種皮

alb: 胚乳

cot: 子葉

女貞子(Ligustri Lucidi Fructus)

一、材料

分別購自於台灣北中南部各中藥店女貞子藥材共 10 件。

二、儀器及層析管柱

(一) HPLC 儀器及層析管柱

Shimadzu SCL 10Avp System Controller, SPD-10Avp UV-Vis Detector, LC-20AT Pump, and Biotech 2003 Degasser, 層析管柱 Cosmosil AR-II C₁₈ Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)。

(二) UPLC 儀器及層析管柱

Agilent 1200 Infinity Series UPLC: 1290 DAD, 1290 TCC, 1290 Sampler, 1290 Thermostat, 1290 Bin Pump, 層析管柱 Agilent Poroshell 120, EC-C₁₈ Column (150 x 3.0 mm, 2.7 μ m)

三、實驗藥品及試劑來源

(一) 試劑

甲醇(99.9%)購自於 Mallinckrodt Baker. Inc.；乙腈(99.9%)和乙醇(95%)皆購自於景明化工。

(二) 標準品

特女貞苷(Nüzhenide)自行製備，純度在 98%以上。

四、方法

(一) 萃取溶媒開發

取本品粉末五份，每份精確稱定約 0.5 g，置 50 mL 離心管中，各精確加入 30%乙醇、50%乙醇、70%乙醇、95%乙醇與水 50 mL，超音波震盪處理(功率 500 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘。各提取液離心 (3000 rpm, 15 分鐘)，過濾 (Syringe filter, 0.45 μ m)，取濾液，即得。每針 10 μ L 注入高效液相層析儀(HPLC)，以所測得每克重量之最大波峰面積之溶媒為女貞子最佳萃取溶媒。

(二) 萃取次數考察

取本品粉末約 0.5 g，精確稱定，置 50 mL 離心管中，精密加入 50%乙醇 50 mL，超音波震盪處理(功率 500 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘，離心 (3000 rpm, 15 分鐘)，取上清液，過濾(Syringe filter, 0.45 μ m)，取濾液，即得。殘渣部分重複上述方法再次萃取、進樣，直到指標成分被萃取完全，並選出最佳萃取次數。

(三) 對照標準品溶液

取特女貞苷(Nüzhenide)精確稱定 25 mg，加 10 mL 的 50%乙醇製成每 1 mL 含特女貞苷(Nüzhenide) 2.5 mg 的標準品儲備溶液。

(四) 檢品溶液

取本品粉末精確稱定 0.5 g，置 50 mL 離心管中，精確加入 50%乙醇 50 mL，超音波震盪處理(功率 500 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘。將提取液離心(3000 rpm, 15 分鐘)，取上清液並過濾(Syringe filter, 0.45 μ m)，取濾液，即得。

(五) 測定法

分別精確吸取標準品溶液 10 μ L、檢品溶液 20 μ L，注入 HPLC，測定，用標準曲線計算溶液中特女貞苷(Nüzhenide)的含量，即得。

(六) 檢量線

精確吸取特女貞苷(Nüzhenide)標準品儲備溶液適量(2.5 mg/mL)，以 50%乙醇稀釋製成含特女貞苷(Nüzhenide)分別為 2.5 mg/mL、0.5 mg/mL、0.25 mg/mL、0.05 mg/mL、0.025 mg/mL 的標準品溶液。以上溶液各取 10 μ L 分別注入 HPLC 進行定量分析，利用標準品之波峰面積(y 軸)和標準品之濃度(x 軸)進行線性回歸，並求得檢量線之方程式 $y = ax + b$ 與相關係數 R^2 。

(七) 精密度試驗

以特女貞苷(Nüzhenide)濃度為 0.25 mg/mL 之標準品液連續進樣五針，以特女貞苷(Nüzhenide)波峰面積為指標，求出相對標準偏差。

(八) 再現性與穩定性試驗

1. 再現性：取同一家市售女貞子粉末，依女貞子檢品溶液製備方法平行製備五份女貞子檢品溶液，進樣測定，以特女貞苷(Nüzhenide)波峰面積為指標，求出相對標準差。

2. 穩定性：取同一家市售女貞子粉末，依女貞子檢品溶液製備方法製備一份女貞子檢品溶液，分別在 0、2、4、8、24 小時進樣測定，以特女貞苷(Nüzhenide)波峰面積為指標，求出相對標準差。

(九) 偵測極限與定量極限試驗

偵測極限(Limit of Detection, LOD)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比 $\geq 3:1$ 時之濃度，作為偵測極限估計值；定量極限(Limit of Quantitation, LOQ)：將已知濃度之標準品溶液不斷稀釋，並以訊號雜訊比 $\geq 10:1$ 時之濃度，作為定量極限估計值。

(十) 同日間與異日間差異試驗

取 0.25 mg/mL 之標準品溶液進行同日間測試(在 24 小時內進樣三次)與異日間測試(七天內進樣三次，每次間隔 24 小時以上)，求其相對標準差，以評估 HPLC 分析條件之穩定性與再現性。

(十一) 添加回收率試驗

取已知特女貞苷(Nüzhenide)含量的藥材粉末約 0.25 g，精確稱定 5 份，分別置 50 mL 離心管，再分別精確加入 0.125 mg/mL 特女貞苷(Nüzhenide) 25 mL，超音波震盪處理(功率 500 W，頻率 40 kHz) 30 分鐘。將提取液離心(3000 rpm, 15 分鐘)，取上清液並過濾(Syringe filter, 0.45 µm)，取濾液，即得，進樣 10 µL。

(十二) HPLC 分析條件

1. 層析管：Cosmosil AR-II 5C₁₈ Column (250 x 4.6 mm, 5 µm)
2. 檢測波長：UV 224 nm
3. 流速：1.0 mL/min
4. 管柱溫度：室溫
5. 注入量：10 µL
6. 移動相：

時間(min)	甲醇(%,v/v)	H ₂ O (%, v/v)
0	35	65
21	35	65
21.1	100	0
26	100	0
26.1	35	65
36	35	35

(十三) 臺灣市售女貞子含量測定

取十家市售女貞子檢品溶液(平行操作各 3 份)各 10 µL 連續兩針注入 HPLC，所得平均波峰面積依附錄 I 公式計算樣品特女貞苷(Nüzhenide)的百分含量。

(十四) 女貞子 UPLC 分析條件

(1) 層析管：Agilent Poroshell 120, EC-C₁₈ Column (150 x 3.0 mm, 2.7 μm)

(2) 檢測波長：UV 224 nm

(3) 流速：0.5 mL/min

(4) 管柱溫度：室溫

(5) 注入量：1 μL

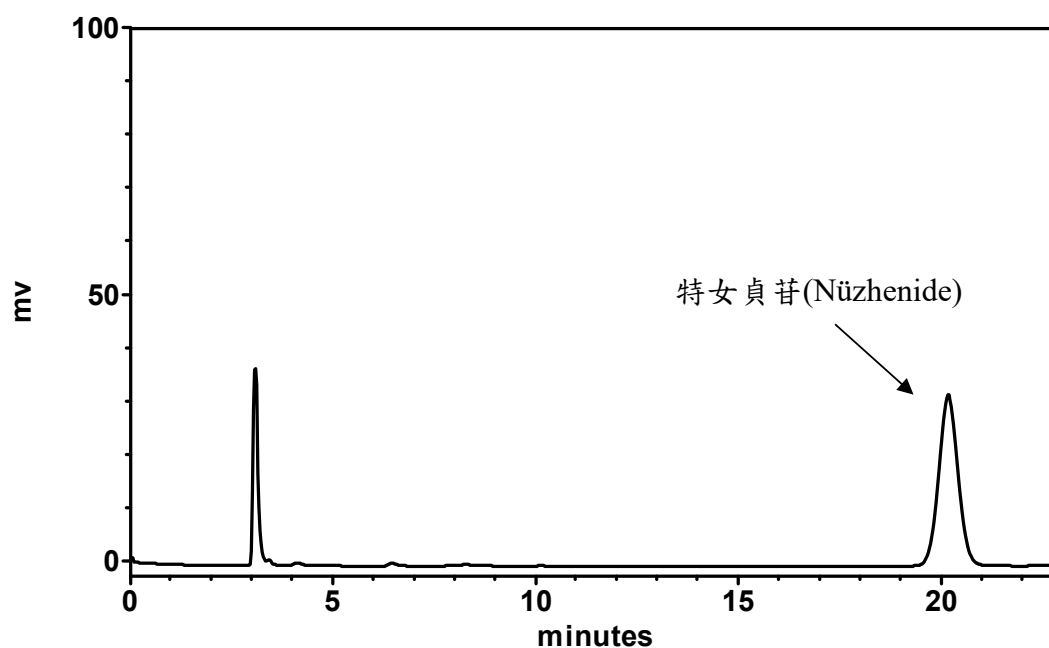
(6) 移動相：

時間(min)	MeOH(%, v/v)	H ₂ O (%, v/v)
0	35	65
15.0	35	65
15.1	100	0
18.0	100	0
18.1	35	65
23.0	35	65

五、結果

(一) 標準品特女貞苷(Nüzhenide)之 HPLC 層析^[1]

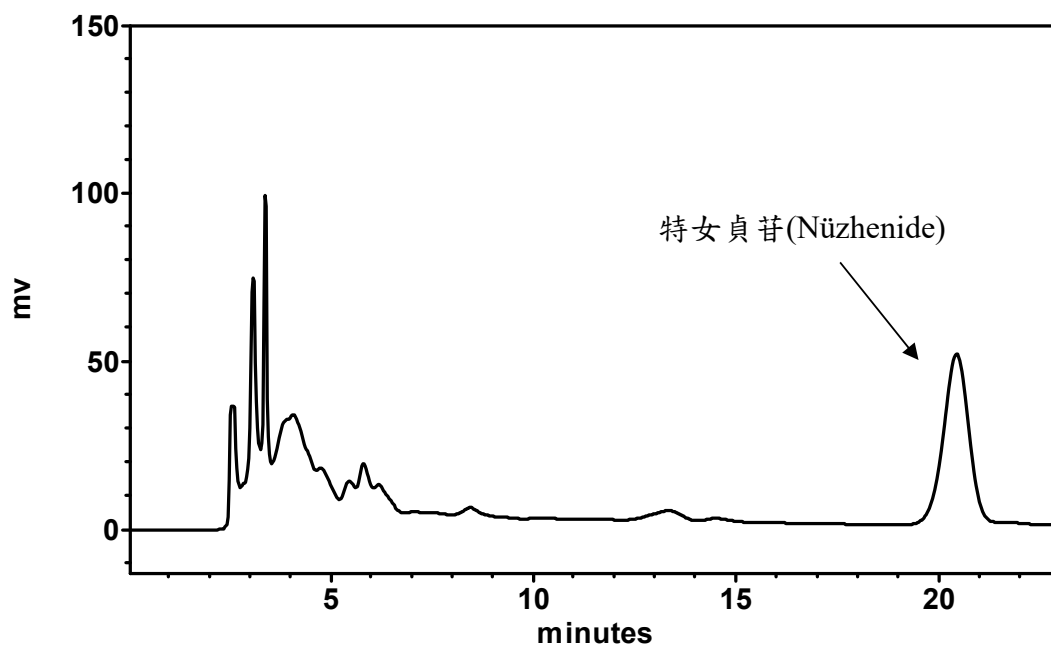
於滯留時間 20.1 分鐘處顯示特女貞苷(Nüzhenide)標準品波峰(圖一)。



圖一、特女貞苷(Nüzhenide)標準品溶液之 HPLC 圖

(二) 市售女貞子檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 20.1 分鐘處顯示女貞子檢品中特女貞苷(Nüzhenide)波峰(圖二)。



圖二、市售女貞子檢品之 HPLC 圖

(三) 萃取溶媒選擇

以 50%乙醇為溶媒時，每克重量所得的波峰面積最大，顯示 50%乙醇為最佳萃取溶媒。

表一、不同溶媒萃取比較

Solvents	Nüzhenide 相對含量
30% EtOH	0.96
50% EtOH	1.00
70% EtOH	0.75
95% EtOH	0.60
H ₂ O	0.92

(四) 萃取次數考察

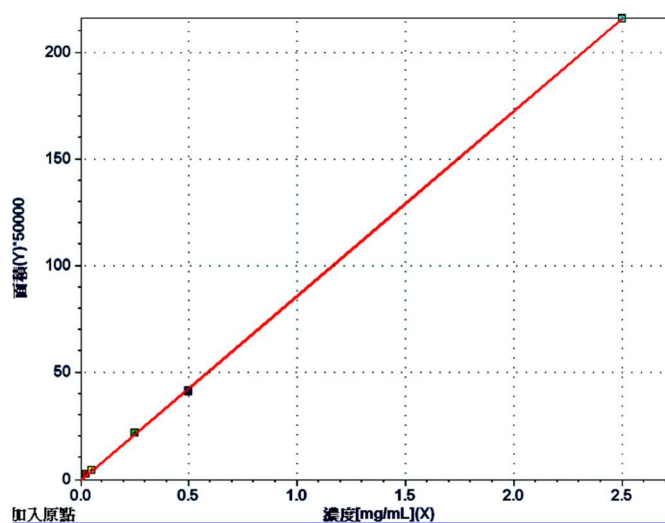
結果顯示萃取一次基本上已將特女貞苷(Nüzhenide)萃取完全(萃取率約為 98%)

表二、女貞子檢品萃取次數考察

50%乙醇萃取次數	峰面積
第一次	1274483
第二次	26900

(五) 標準品特女貞苷(Nüzhenide)檢量線

經不同濃度特女貞苷(Nüzhenide) (x)對各自層析波峰面積的反應值(y)所得到的檢量線方程式為： $y = 4326702x - 17572.04$ ， $R^2 = 0.9999$ ，顯示濃度在 0.025—2.5 mg/mL 有良好的線性關係(圖三)。



圖三、特女貞苷(Nüzhenide)之檢量線圖

(六) 精密度試驗

實驗結果顯示，利用 HPLC 定量條件的精密度良好，特女貞苷(Nüzhenide) 精密度之相對標準差為 1.51%。再現性之相對標準差 0.50%，均在可接受的範圍以內。

(七) 穩定性試驗

由結果可以得知，檢品溶液在 24 小時內穩定，相對標準差為 2.75%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則無太大差異。

(八) 偵測極限、定量極限及再現性

特女貞苷(Nüzhenide, Limit of Detection, LOD)為 0.1 µg/mL，定量極限 (Limit of Quantitation, LOQ)為 1.0 µg/mL。

表三、各項檢驗分析

檢測項目	特女貞苷(Nüzhenide)	
	濃度	R.S.D. (%)
精密度 (n=5)	0.25 mg/mL	1.51
再現性 (n=5)	檢品溶液(TS)	0.50
穩定性 (n=5)	檢品溶液(TS)	2.75
偵測極限 (n=1)	0.1 µg/mL	-
定量極限 (n=1)	1.0 µg/mL	-

(九) 同日間與異日間試驗

由結果可以得知，特女貞苷(Nüzhenide) 0.25 mg/mL，同日間的相對標準差為 0.78%，變化差異小，若所有樣品處理都在 24 小時內完成，則幾乎無差異；異日間的相對標準差為 1.16%。

表四、特女貞苷(Nüzhenide)同日間與異日間試驗

對照標準品	濃度 (mg/mL)	同日間 (n=3) mean ± SD	異日間 (n=3) mean ± SD
特女貞苷 (Nüzhenide)	0.25	0.256 ± 0.002	0.258 ± 0.003

(十) 添加回收率試驗

添加特女貞苷(Nüzhenide)平均回收率為 97.9%，相對標準偏差為 1.91%。

表五、特女貞苷(Nüzhenide)添加回收率試驗

編號	藥材稱重 (g)	含有量 (mg)	加入量 (mg)	測得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	R.S.D. (%)
1	0.2513	3.5484	3.125	6.5991	97.63	97.85	1.91
2	0.2503	3.5342	3.125	6.5680	97.08		
3	0.2511	3.5455	3.125	6.5250	95.34		
4	0.2513	3.5484	3.125	6.6109	98.00		
5	0.2512	3.5469	3.125	6.7093	101.20		

(十一) 台灣市售女貞子含量測定

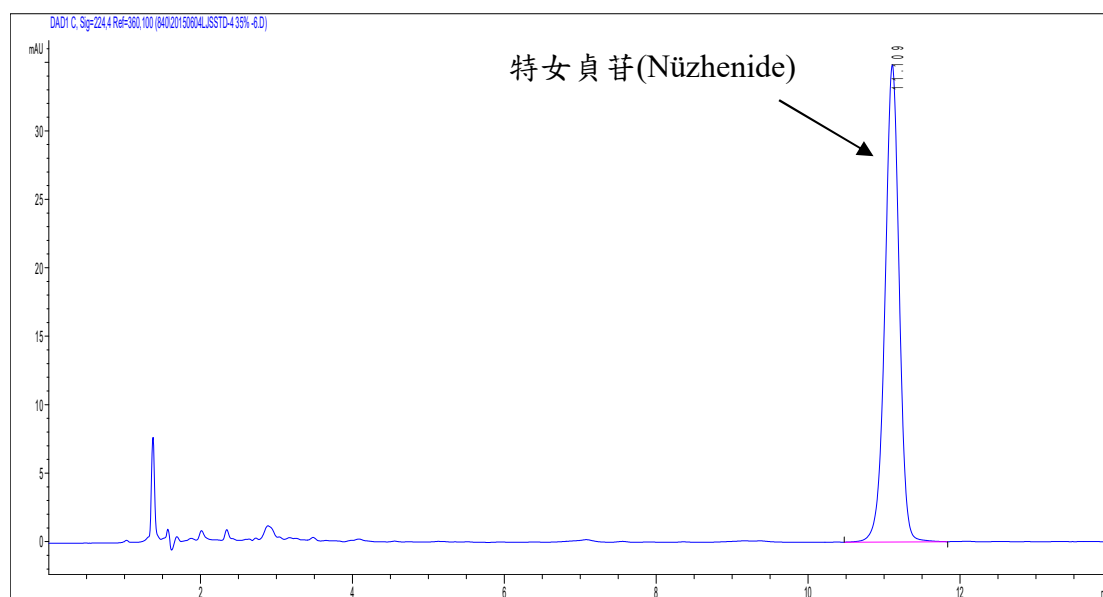
10 家女貞子藥材之含量測定結果(乾燥品)如表六，其中一家(CD)未檢出，二家(SE、SQ)檢品之特女貞苷(Nüzhenide)的含量小於大陸藥典規範 0.7%，其餘七家檢品之特女貞苷(Nüzhenide)的含量為 1.02—2.96 %，符合大陸藥典規範。

表六、台灣市售女貞子檢品之特女貞苷(Nüzhenide)含量

中藥店編號	含量(%)	中藥店編號	含量(%)
CD	0	SG	2.311 ± 0.000
NH	2.666 ± 0.016	SJ	1.017 ± 0.003
NJ	2.960 ± 0.027	SL	1.954 ± 0.025
SC	1.331 ± 0.040	SQ	0.301 ± 0.004
SE	0.544 ± 0.003	TS	1.412 ± 0.004

(十二) 女貞子 UPLC 圖譜

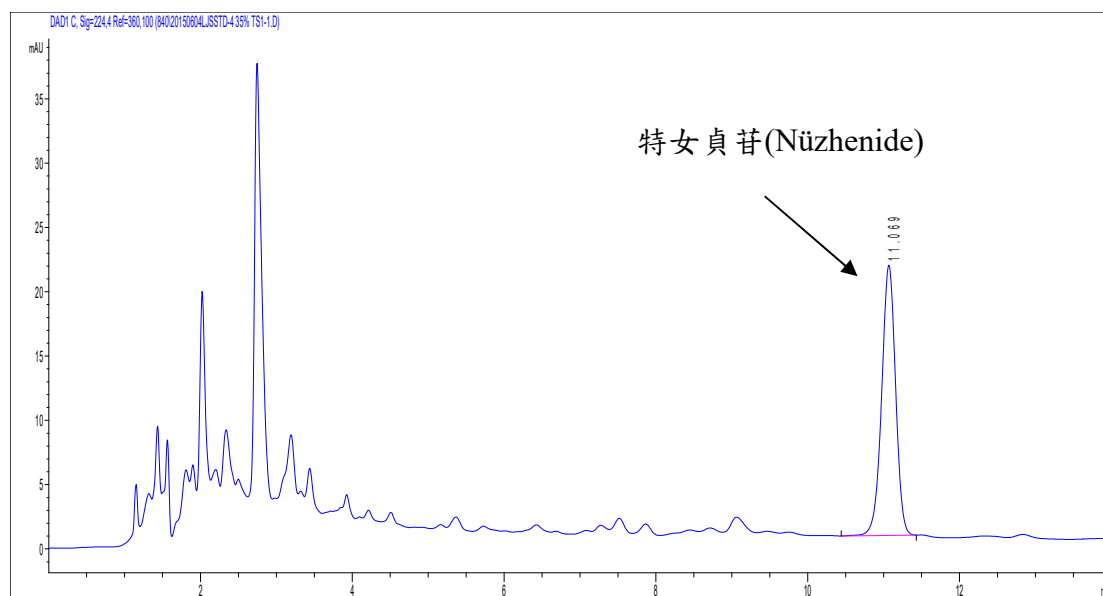
於滯留時間 11.1 分鐘處顯示特女貞苷(Nüzhenide)標準品波峰(圖四)。



圖四、特女貞苷(Nüzhenide)標準品溶液之 UPLC 圖(UV 224 nm)

(十三) 市售女貞子檢品之 HPLC 層析

於滯留時間 11.1 分鐘處顯示女貞子檢品中特女貞苷(Nüzhenide)波峰(圖五)。

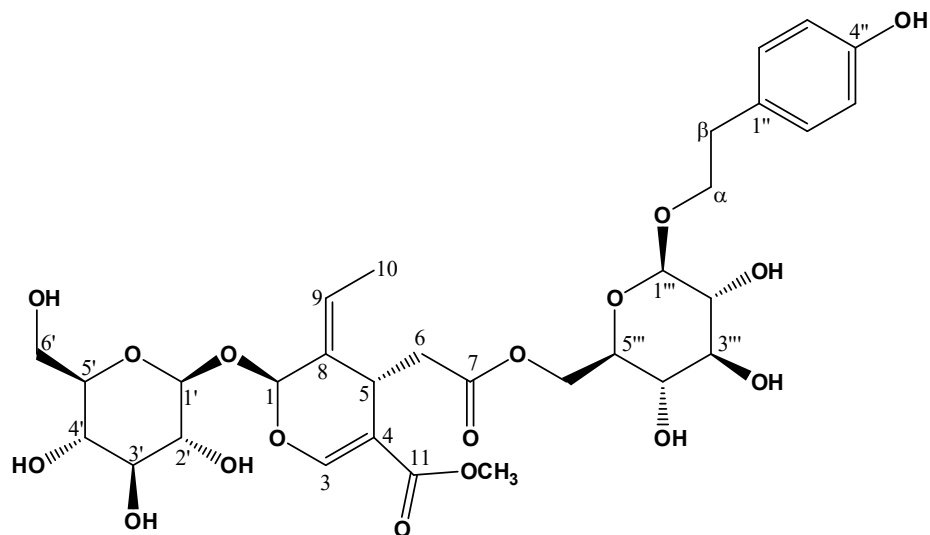


圖五、市售女貞子之 UPLC 圖譜(UV 224 nm)

(十四) 特女貞苷(Nüzhenide)的分子式、分子量與熔點

分子式： $C_{31}H_{42}O_{17}$ Mol. Wt.: 686.3 mp: 129 °C

(十五) 特女貞苷(Nüzhenide)的化學結構

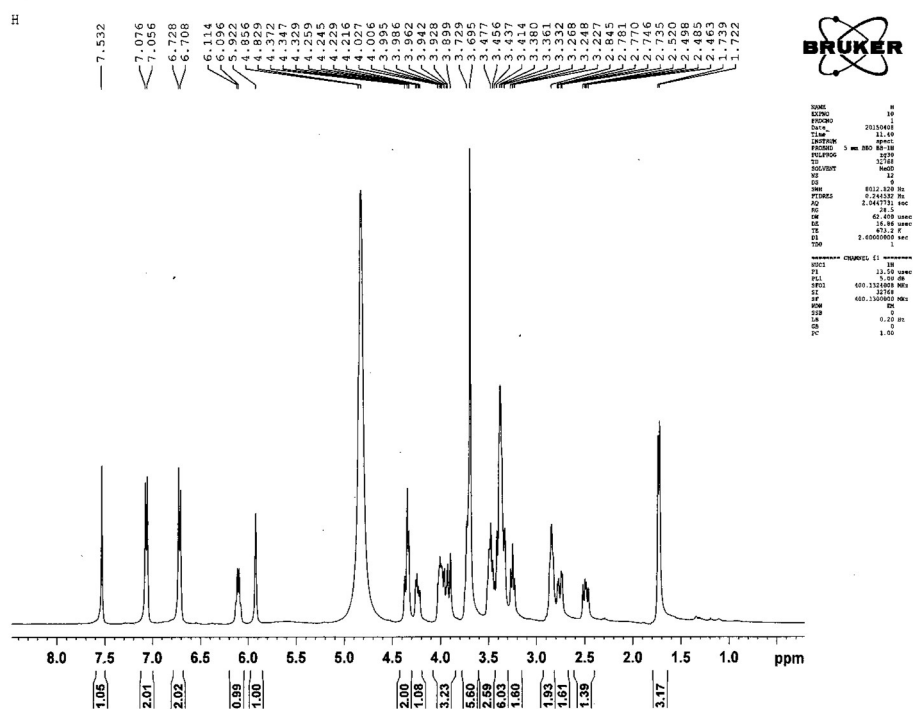


Chemical Formula: $C_{31}H_{42}O_{17}$

Exact Mass: 686.24

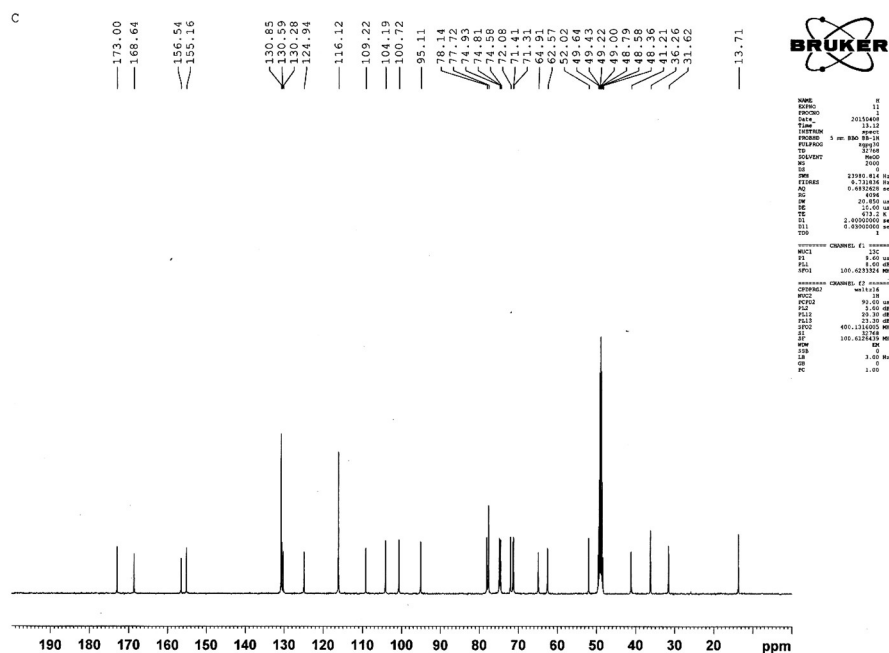
圖六、特女貞苷(Nüzhenide)的化學結構

(十六) 特女貞苷(Nüzhenide)的 1H -NMR 圖譜



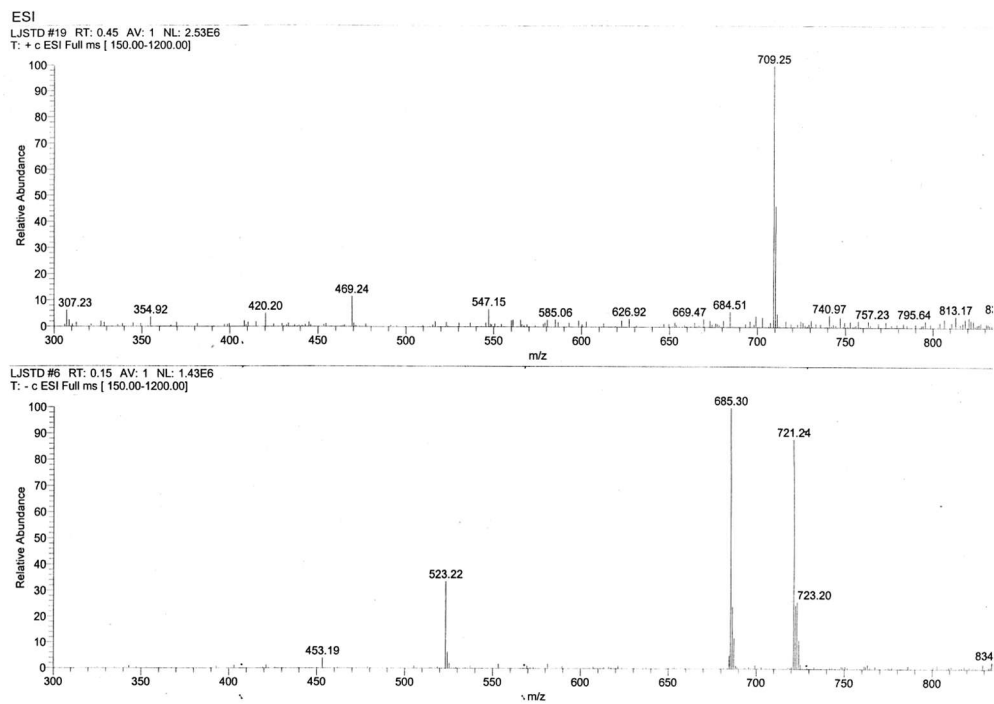
圖七、特女貞苷(Nüzhenide)的 1H -NMR 圖譜(CD_3OD)

(十七) 特女貞苷(Nüzhenide)的 ^{13}C -NMR 圖譜



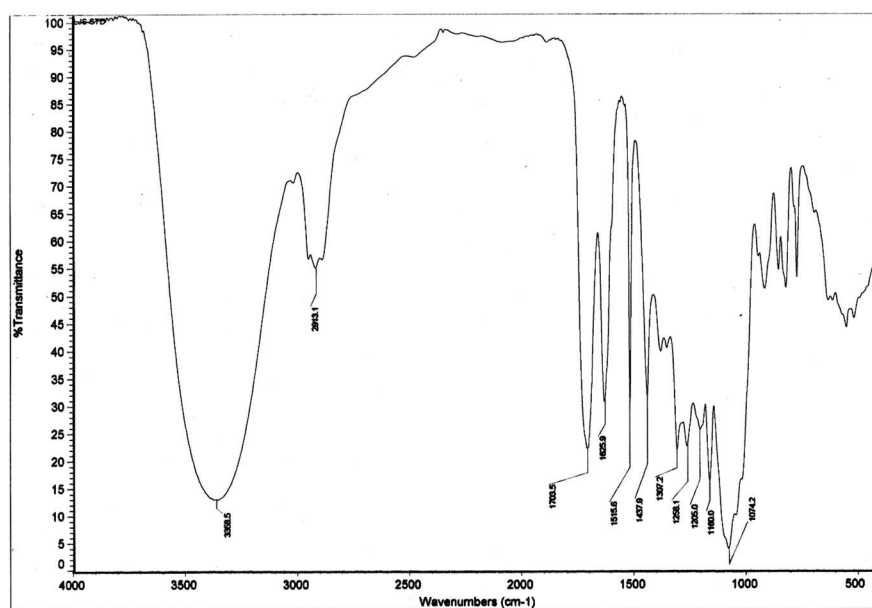
圖八、特女貞苷(Nüzhenide)的 ^{13}C -NMR 圖譜(CD_3OD)

(十八) 特女貞苷(Nüzhenide)的 Mass 圖譜



圖九、特女貞苷(Nüzhenide)的 Mass 圖譜

(十九) 特女貞苷(Nüzhenide)FTIR 圖譜



圖十四、特女貞苷(Nüzhenide)的 FTIR 圖譜

(二十) 特女貞苷(Nüzhenide)之氫、碳化學位移^[2]

表七、特女貞苷(Nüzhenide)的氫、碳化學位移(CD₃OD)^a

position	δ_H (400 MHz)	δ_C (100 MHz)
1	5.92 (brs)	95.1
3	7.53 (s)	155.2
4		109.2
5	4.0 (overlapped)	31.6
6	2.76 (dd, 14.0, 4.4), 2.49 (dd, 14.0, 8.8)	41.2
7	6.11 (d, 2.0)	173.0
8		124.9
9	6.26 (d, 2.0)	130.3
10		13.7
11		168.6
OCH ₃	3.69 (s, 3H)	52.0
1'	4.80 (overlapped)	100.7
2'	3.30—3.50 (m)	74.8
3'	3.30—3.50 (m)	78.1
4'	3.30—3.50 (m)	71.4
5'	3.30—3.50 (m)	77.7
6'	3.90 (overlapped), 3.70 (overlapped)	62.6
α	3.95 (overlapped), 3.71 (overlapped)	72.1
β	2.85 (brs)	36.3
1''		130.6
2''	7.07 (d, 8.0)	130.9
3''	6.72 (d, 8.0)	116.1
4''		156.5
5''	6.72 (d, 8.0)	116.1
6''	7.07 (d, 8.0)	130.9
1'''	4.33 (d, 7.2)	104.2
2'''	3.25 (t, 8.0)	74.8
3'''	3.30~3.50 (m)	77.7
4'''	3.30~3.50 (m)	71.3
5'''	3.30~3.50 (m)	74.9
6'''	4.34 (brd, 12.0), 4.24 (dd, 12.0, 5.6)	64.9

^a(Multiplicity, *J* in Hz) in ppm.

(二十一) 參考文獻

- [1] State Pharmacopoeia Commission of People's Republic of China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Medical Science & Technology Press. Beijing. 2010 ed, Vol 1. pp. 43.
- [2] Studies on the Constituents of *Syringa* Species. X.1) Five New Iridoid Glycosides from the Leaves of *Syringa reticulata* (BLUME) HARA. Machida K, Kaneko A, Hosogai T, Kakuda R, Yaoita Y, Kikuchi MShe GM, Sun FF, Wang S, Liu B. *Chem. Pharm. Bull.* 2002, 50, 493-497.

女貞子

中文名：女貞子

生藥拉丁名：LIGUSTRI LUCIDI FRUCTUS

英文名：Glossy Privet Fruit

基 原：本品為木犀科 Oleaceae 植物女貞 *Ligustrum lucidum* Ait.之乾燥成熟果實。

一、方法

(一) 檢 品 溶 液 【萃取方法 1】(台灣中藥典第二版) ✓

——取本品粉末 1g，加乙酸乙酯 10 mL，超音波振盪三十分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

【萃取方法 2】(中華人民共和國藥典 2010)

——取本品粉末 0.5 g，加二氯甲烷 20 mL，超音波振盪三十分鐘，過濾，濾液蒸乾，殘渣加甲醇 1 mL 使之溶解，作為檢品溶液。

(二) 對照標準品 溶 液 取紅景天苷(Salidroside)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 1 mg 的溶液，作為對照標準品溶液。

取齊墩果酸(Oleanolic Acid)對照標準品，加甲醇製成每 1 mL 含 1mg 的溶液，作為對照標準品溶液。

(三) 薄 層 板 HPTLC silica gel 60 F₂₅₄，10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm

(四) 展 開 劑 【展開劑 1】(台灣中藥典第二版)

——正丁醇：二氯甲烷：甲醇：水(2：4：1：0.5)

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010) ✓

——二氯甲烷：甲醇：甲酸(40：1：1)

(五) 展 開 槽 10 cm × 10 cm、20 cm × 10 cm

(六) 展 開 展 開槽預先平衡 15 分鐘，上行展開，展開距離 8 cm。

(七) 顯色&檢視 浸泡 10%硫酸乙醇試液，加熱後於紫外光(365 nm)下檢視。

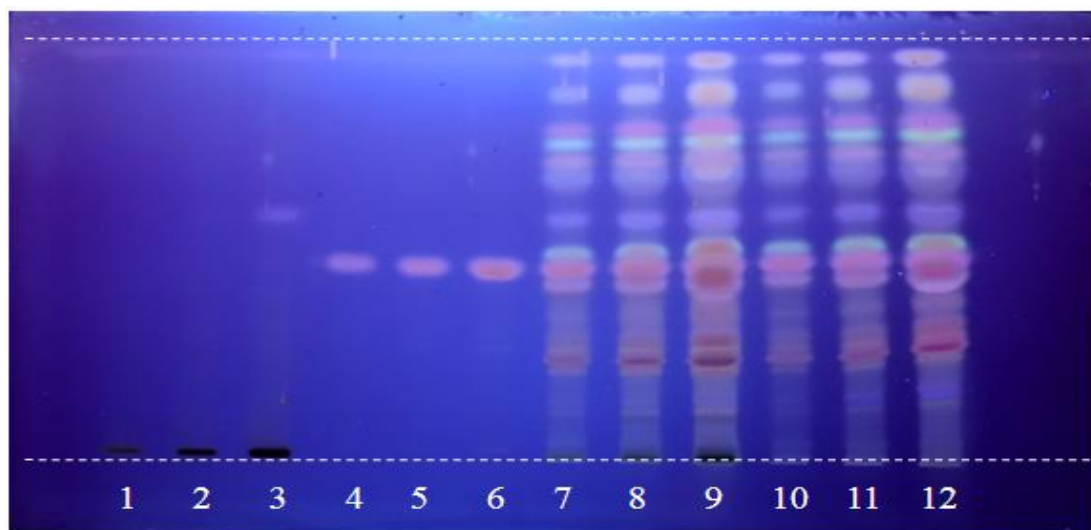
二、萃法選擇及濃度測試

實驗日期：104/11/25

相對溼度(RH)：56%

溫度(RT)：25 °C

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——二氯甲烷：甲醇：甲酸(40：1：1)



編號	名稱	含量
1, 2, 3	紅景天苷(Salidroside)(1mg/mL)	1, 2, 5 µL
4, 5, 6	齊墩果酸(Oleanolic Acid)(1mg/mL)	1, 2, 5 µL
7, 8, 9	NF Sample 【萃取方法 1】	1, 2, 5 µL
10, 11, 12	NF Sample 【萃取方法 2】	1, 2, 5 µL

建議萃法：【萃取方法 1】

建議點注量：紅景天苷(Salidroside)標準品溶液 2 µL，齊墩果酸(Oleanolic Acid)標準品溶液 2 µL，【萃取方法 1】 2 µL

三、溶媒系統選擇

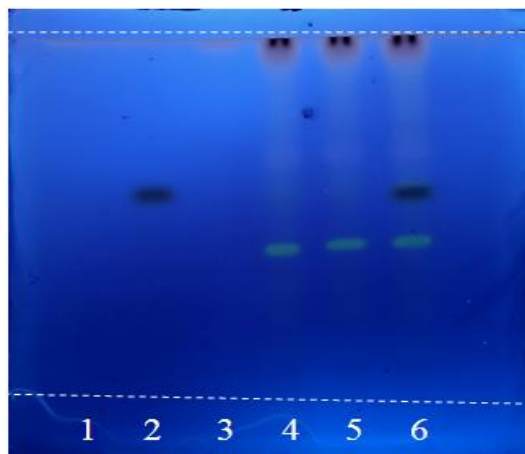
實驗日期：104/11/29

相對溼度(RH)：44%

溫度(RT)：27 °C

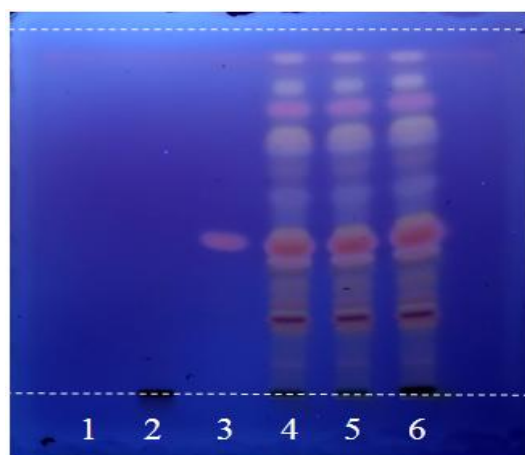
【展開劑 1】(台灣中藥典第二版)——正丁醇：二氯甲烷：甲醇：水(2：4：1：0.5)

【萃取方法 1】(台灣中藥典第二版)——浸泡 10%硫酸乙醇試液，加熱後於紫外光(365 nm)下檢視。



【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——二氯甲烷：甲醇：甲酸(40：1：1)

【萃取方法 1】(台灣中藥典第二版)——浸泡 10%硫酸乙醇試液，加熱後於紫外光(365 nm)下檢視。



1：Blank

2：紅景天苷(Salidroside)

3：齊墩果酸(Oleanolic Acid)

4，5：NF Sample

6：Spike (NF Sample)

以中華人民共和國藥典 2010 萃取方式，採用中華人民共和國藥典 2010 之溶媒

系統【展開劑 2】展開，其結果與經【展開劑 1】比較：斑點較多且 R_f 值較適中。

四、觀察方式選擇

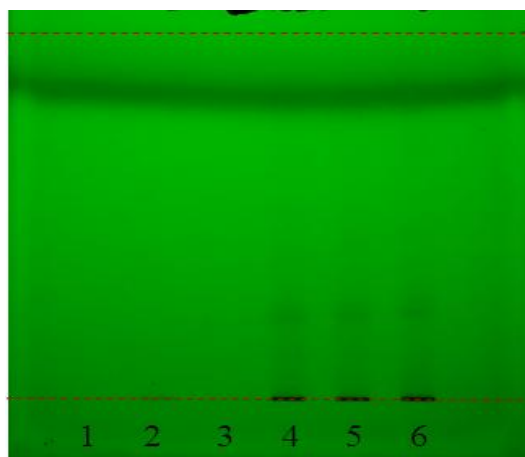
實驗日期：104/11/29

相對溼度(RH)：44%

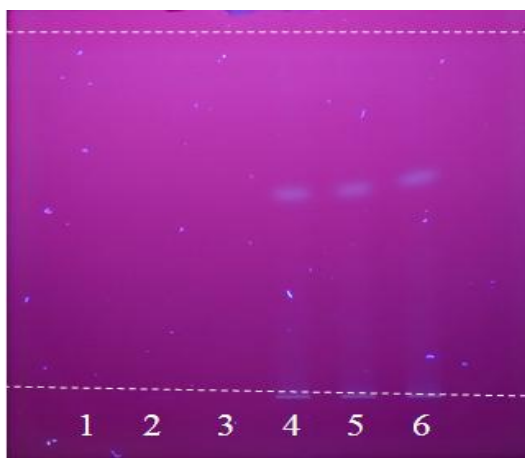
溫度(RT)：27 °C

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——二氯甲烷：甲醇：甲酸(40：1：1)

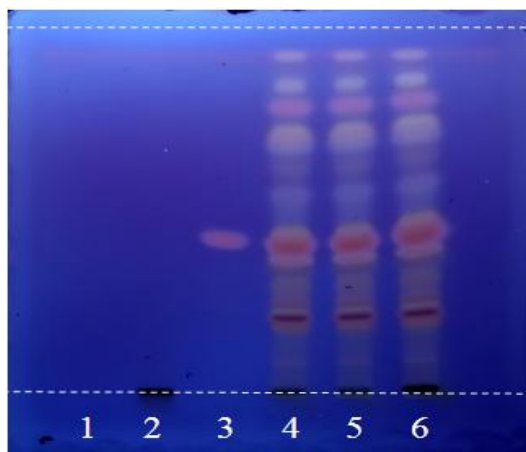
【萃取方法 1】(台灣中藥典第二版)——TLC 紫外光(254 nm)檢出



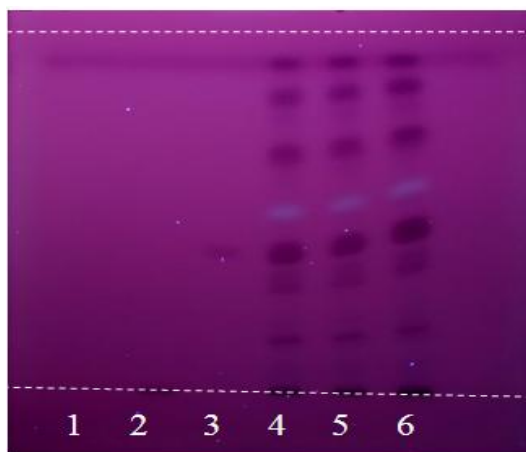
【萃取方法 1】(台灣中藥典第二版)——TLC 紫外光(365 nm)檢出



【萃取方法 1】(台灣中藥典第二版)——TLC 10%硫酸乙醇試液/紫外光(365 nm)
檢出



【萃取方法 1】(台灣中藥典第二版)——TLC 碘薰/紫外光(365 nm)檢出



- 1 : Blank
- 2 : 紅景天苷(Salidroside)
- 3 : 齊墩果酸(Oleanolic Acid)
- 4, 5 : NF Sample
- 6 : Spike (NF Sample)

以【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——二氯甲烷：甲醇：甲酸(40：1：1)

展開下，經 10%硫酸乙醇試液呈色後在紫外光(365 nm)下檢出，比較其他觀察方式的斑點數較多且清楚，因此經 10%硫酸乙醇試液呈色後在紫外光(365 nm)下檢出即可。

五、十家樣品檢測：

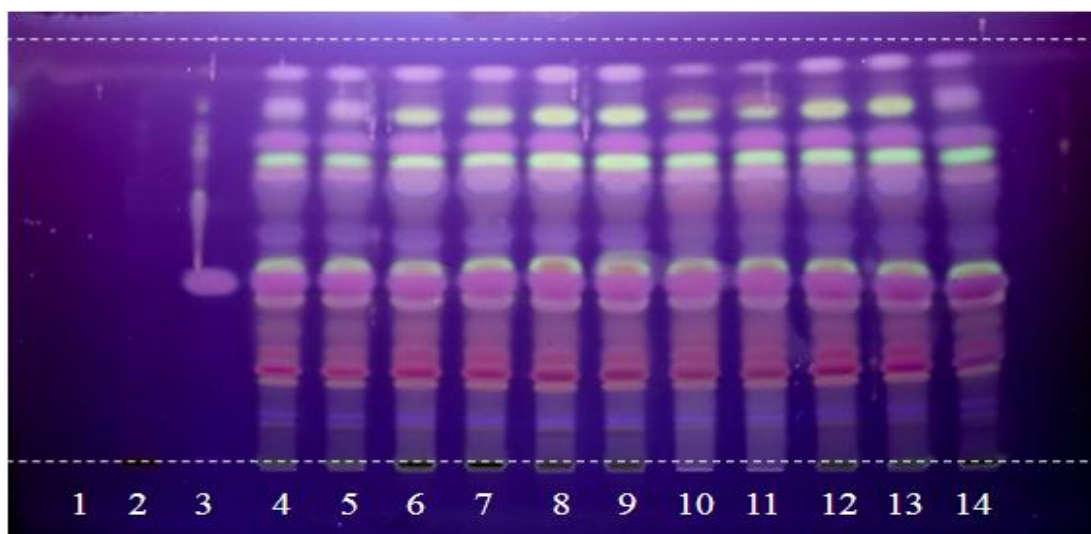
實驗日期：104/11/30

相對溼度(RH)：48%

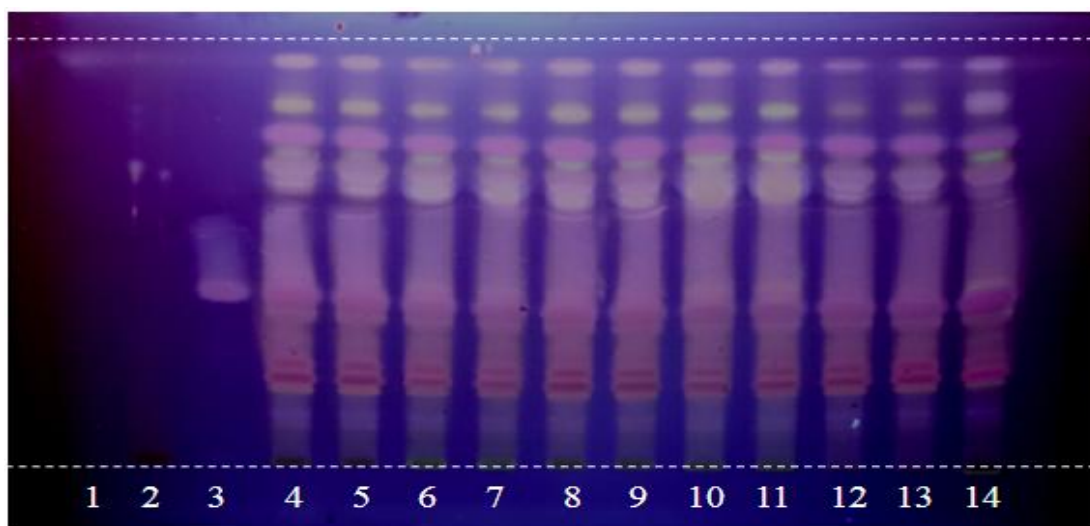
溫度(RT)：29 °C

【展開劑 2】(中華人民共和國藥典 2010)——二氯甲烷：甲醇：甲酸(40：1：1)

【萃取方法 1】(台灣中藥典第二版)——浸泡 10%硫酸乙醇試液，加熱後於紫外光(365 nm)下檢視。



1	Blank
2	紅景天苷(Salidroside)(1mg/mL)
3	齊墩果酸(Oleanolic Acid)(1mg/mL)
4 , 5	NF Sample
6 , 7	NJ Sample
8 , 9	NY Sample
10 , 11	CD Sample
12 , 13	SC Sample
14	Spike (NF Sample)



1	Blank
2	紅景天苷(Salidroside)(1mg/mL)
3	齊墩果酸(Oleanolic Acid)(1mg/mL)
4 , 5	SE Sample
6 , 7	SG Sample
8 , 9	SJ Sample
10 , 11	SL Sample
12 , 13	SQ Sample