

素和山柰素的含量[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(9): 1368-1370.

[14] 彭贵龙, 周光明, 秦红英. HPLC 法同时测定高良姜中 6 个成分的含量[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(6): 966-970.

[15] 周 卿, 尚京川. HPLC-DAD 法同时测定延胡索中 4 种生物碱的含量[J]. 重庆医科大学学报, 2014, 39(7): 1017-1019.

一测多评法同时测定宁神定志丸中 8 种成分

许 伟
(东营市食品药品检验中心, 山东 东营 257091)

摘要: **目的** 建立一测多评法同时测定宁神定志丸(远志、党参、石菖蒲等)中远志呋喃酮Ⅲ、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、党参炔苷、β-细辛醚、α-细辛醚、去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸的含量。**方法** 该药物 70% 甲醇提取液的分析采用 Kromasil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流动相乙腈-0.05% 磷酸, 梯度洗脱; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30 ℃; 检测波长 210、257、269、320 nm。以 3, 6'-二芥子酰基蔗糖为内标, 计算其他 7 种成分的相对校正因子, 测定其含量。**结果** 8 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r\geq0.999\ 1$), 平均加样回收率 96.93%~100.04%, RSD 0.59%~1.44%, 一测多评法所得结果与外标法接近。**结论** 该方法简便、准确、可靠, 可用于宁神定志丸的质量控制。

关键词: 宁神定志丸; 化学成分; 一测多评

中图分类号: R927.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2019)11-2586-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.11.007

Simultaneous determination of eight constituents in Ningshen Dingzhi Pills by QAMS

XU Wei
(Dongying Municipal Center for Food and Drug Inspection, Dongying 257091, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for the simultaneous content determination of polygalaxanthone Ⅲ, 3, 6'-disinapoyl sucrose, lobetyolin, β-asarone, α-asarone, dehydrotumulosic acid, dehydropachymic acid and pachymic acid in Ningshen Dingzhi Pills (*Polygalae Radix*, *Codonopsis Radix*, *Acori tatarinowii Rhizoma*, etc.). **METHODS** The analysis of 70% methanol extract of this drug was performed on a 30 ℃ thermostatic Kromasil C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), with the mobile phase comprising of acetonitrile-0.05% phosphoric acid flowing at 1.0 mL/min in a gradient elution manner, and the detection wavelengths were set at 210, 257, 269, 320 nm. 3, 6'-Disinapoyl sucrose was used as an internal standard to calculate the relative correction factors of the other seven constituents, after which the content determination was made. **RESULTS** Eight constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r\geq0.999\ 1$), whose average recoveries were 96.93%-100.04% with the RSDs of 0.59%-1.44%. The results obtained by QAMS approximated those obtained by external standard method. **CONCLUSION** This simple, accurate and reliable method can be used for the quality control of Ningshen Dingzhi Pills.

KEY WORDS: Ningshen Dingzhi Pills; chemical constituents; quantitative analysis of multi-components by single-marker

宁神定志丸收载于《卫生部颁药品标准（中药成方制剂第三册）》^[1]，是由远志、党参、石菖蒲、茯苓 4 味药材加工而成的中成药复方制剂，具有益气安神、交通心肾、明目等功效，主要用于神志不宁、惊悸健忘、失眠，倦怠、视力减退等病症的治疗，疗效显著，但其现行质量标准仅对性状进行规定，未涉及成分定性鉴别或定量测定。

一测多评法通过测定复方制剂中对照品稳定、价格低廉的 1 种成分，利用中药成分之间存在的函数关系来实现多种成分同时测定，可有效降低检验成本，提高检测结果稳定性，广泛应用于中药材及中药制剂质量分析中。因此，本实验采用一测多评法，以 3，6'-二芥子酰基蔗糖为内标，建立其与远志呋酮Ⅲ、党参炔苷、β-细辛醚、α-细辛醚、去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸之间的相对校正因子，测定宁神定志丸中各成分含有量，以期验证所建立方法的可行性和准确性。

1 材料

Waters e2695 高效液相色谱仪（美国 Waters 公司）；MS104TS 电子天平（瑞士 Mettler-Toledo 公司）；KQ-250DE 数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。宁神定志丸（每袋 9 g，批号 170902、180201、180403）购自广西梧州制药（集团）股份有限公司。远志呋酮Ⅲ（111850-201705，含有量 96.5%）、3，6'-二芥子酰基蔗糖（111848-201604，含有量 96.7%）、党参炔苷（111732-201607，含有量 100.0%）、β-细辛醚（112018-201601，含有量 96.8%）对照品购自中国食品药品检定研究院；α-细辛醚（2883-98-9，含有量 98.0%）对照品购自成都曼思特生物科技有限公司；去氢土莫酸（6754-16-1，含有量 98.0%）、去氢茯苓酸（77012-31-8，含有量 98.0%）对照品购自南京森贝伽生物科技有限公司；茯苓酸（29070-92-6，含量 98.0%）对照品购自上海纯优生物科技有限公司。乙腈为色谱纯；其他试剂为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Kromasil C₁₈ 色谱柱（4.6 mm×250 mm，5 μm）；流动相乙腈（A）-0.05% 磷酸（B），梯度洗脱（0~13.0 min，21.0% A；13.0~29.0 min，21.0%~43.0% A；29.0~41.0 min，43.0%~72.0% A；41.0~52.0 min，72.0%~90.0% A；52.0~60.0 min，90.0%~21.0% A）；

0~22.0 min 时在 320 nm^[2-3] 波长下检测远志呋酮Ⅲ、3，6'-二芥子酰基蔗糖，22.0~29.0 min 时在 269 nm^[4-5] 波长下检测党参炔苷，29.0~41.0 min 时在 257 nm^[6] 波长下检测 β-细辛醚、α-细辛醚，41.0~60.0 min 时在 210 nm^[7] 波长下检测去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸；体积流量 1.0 mL/min；柱温 30 ℃；进样量 10 μL。

2.2 溶液制备

2.2.1 对照品溶液 取各对照品适量，70% 甲醇制成分别含远志呋酮Ⅲ 1.538 mg/mL、3，6'-二芥子酰基蔗糖 2.812 mg/mL、党参炔苷 1.754 mg/mL、β-细辛醚 4.332 mg/mL、α-细辛醚 2.158 mg/mL、去氢土莫酸 0.396 mg/mL、去氢茯苓酸 0.318 mg/mL、茯苓酸 0.482 mg/mL 的贮备液，各精密量取适量，70% 甲醇制备，即得（各成分质量浓度分别为 76.9、140.6、87.7、433.2、107.9、19.8、15.9、24.1 μg/mL）。

2.2.2 供试品溶液 取丸剂适量研细，精密称取 2.0 g，加入 70% 甲醇 25 mL，密塞，称定质量，超声提取 45 min，放冷，70% 甲醇补足减失质量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.2.3 阴性样品溶液 按照丸剂处方及工艺，分别制备缺远志、党参、石菖蒲、茯苓的阴性样品，按“2.2.2”项下方法制备，即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 精密吸取对照品、供试品、阴性样品溶液适量，在“2.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。由图可知，各成分与相邻色谱峰均能达到有效分离，分离度均大于 1.5，理论塔板数均大于 3 500，阴性无干扰，表明该方法专属性良好。

2.3.2 线性关系考察 取“2.2.1”项下贮备液各适量，70% 甲醇分别制成 25 倍差的 6 个系列质量浓度线标溶液 I~Ⅵ，在“2.1”项色谱条件下进样测定。以溶液质量浓度为横坐标（X），峰面积为纵坐标（Y）进行回归，结果见表 1，可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.3.3 精密度试验 精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样 6 次，测得远志呋酮Ⅲ、3，6'-二芥子酰基蔗糖、党参炔苷、β-细辛醚、α-细辛醚、去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸峰面积 RSD 分别为 0.89%、0.73%、0.77%、0.59%、0.65%、1.14%、1.19%、1.07%，表明仪器精密度良好。

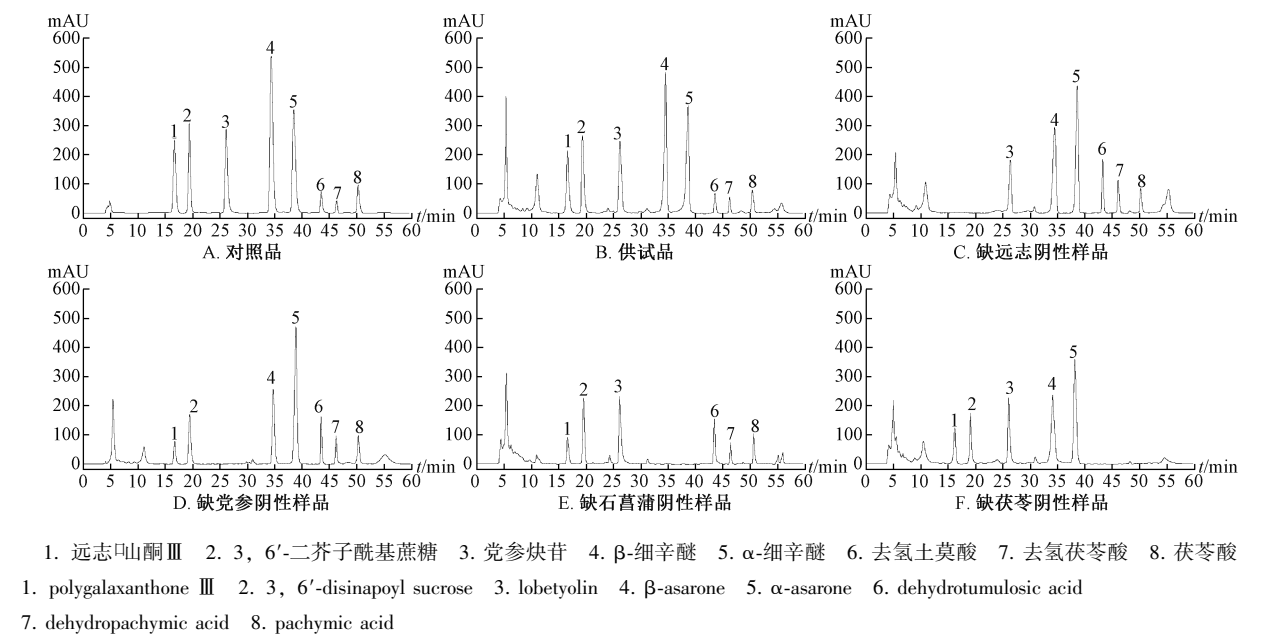


图 1 各成分 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of various constituents

表 1 各成分线性关系

Tab. 1 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	<i>r</i>
远志皂酮Ⅲ	$Y=8.316\ 1\times10^4X-830.9$	7.690~192.2	0.999 1
3,6'-二芥子酰基蔗糖	$Y=7.281\ 1\times10^4X+953.4$	14.06~351.5	0.999 2
党参炔苷	$Y=8.919\ 2\times10^4X-792.2$	8.770~219.2	0.999 5
β-细辛醚	$Y=6.039\ 3\times10^4X-453.8$	21.66~541.5	0.999 3
α-细辛醚	$Y=1.151\ 1\times10^5X+985.2$	10.79~269.8	0.999 7
去氢土莫酸	$Y=5.088\ 4\times10^4X-567.1$	1.980~49.50	0.999 1
去氢茯苓酸	$Y=3.487\ 3\times10^4X+151.2$	1.590~39.75	0.999 3
茯苓酸	$Y=4.968\ 9\times10^4X+946.6$	2.410~60.25	0.999 6

2.3.4 重复性试验 取同一丸剂（批号 170902），按“2.2.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样，测得远志皂酮Ⅲ、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、党参炔苷、β-细辛醚、α-细辛醚、去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸含量 RSD 分别为 1.11%、1.06%、1.10%、0.97%、1.02%、1.72%、1.83%、1.66%，表明该方法重复性良好。

2.3.5 稳定性试验 取同一供试品溶液（批号 170902）的，室温下于 0、2、4、6、12、16 h 在“2.1”项色谱条件下进样测定，测得远志皂酮Ⅲ、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、党参炔苷、β-细辛醚、α-细辛醚、去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸峰面积 RSD 分别为 0.85%、0.78%、0.83%、0.64%、0.71%、1.06%、1.15%、1.03%，表明溶液在 16 h 内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 取含有量已知的丸剂（批号 170902）适量，研成细粉，精密称取 6 份，每份约 1.0 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入对照品溶液（远志皂酮Ⅲ 0.849 mg/mL、3, 6'-二芥子酰基蔗糖 1.562 mg/mL、党参炔苷 1.097 mg/mL、β-细辛醚 4.619 mg/mL、α-细辛醚 1.607 mg/mL、去氢土莫酸 0.301 mg/mL、去氢茯苓酸 0.192 mg/mL、茯苓酸 0.368 mg/mL）各 1.0 mL，按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，远志皂酮Ⅲ、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、党参炔苷、β-细辛醚、α-细辛醚、去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸平均加样回收率（RSD）分别为 98.58%（1.17%）、99.46%（0.97%）、97.98%（1.30%）、100.04%（0.69%）、99.33%（0.59%）、97.66%（1.36%）、96.93%（1.44%）、97.84%（1.20%）。

2.4 相对校正因子计算 精密吸取“2.3.2”项下线标溶液 I ~ VI 适量,在“2.1”项色谱条件下进样测定,以 3, 6'-二芥子酰基蔗糖为内标,计算其他 7 种成分的相对校正因子,结果见表 2。

表 2 各成分相对校正因子

Tab. 2 Relative correction factors of various constituents

线标溶液	相对校正因子(内标 3,6'-二芥子酰基蔗糖)						
	远志卍山酮Ⅲ	党参炔苷	β-细辛醚	α-细辛醚	去氢土莫酸	去氢茯苓酸	茯苓酸
VI	1.147 8	1.243 2	0.830 7	1.596 0	0.695 8	0.476 1	0.684 5
V	1.179 4	1.261 8	0.841 1	1.611 7	0.720 4	0.481 3	0.689 2
IV	1.156 9	1.243 9	0.839 1	1.598 9	0.705 4	0.484 2	0.685 9
Ⅲ	1.113 4	1.220 4	0.821 6	1.605 3	0.683 3	0.478 8	0.693 9
Ⅱ	1.145 5	1.208 5	0.827 6	1.548 5	0.700 0	0.477 4	0.674 5
I	1.142 4	1.229 0	0.830 1	1.587 7	0.698 9	0.479 4	0.684 2
平均值	1.147 6	1.234 5	0.831 7	1.591 4	0.700 7	0.479 5	0.685 4
RSD/%	1.86	1.54	0.88	1.41	1.74	0.60	0.93

2.5 耐用性考察 取“2.2.1”项下对照品溶液适量,在“2.1”项色谱条件下进样测定,考察 Waters 2695、LC-2010 高效液相色谱仪,以及 Kromasil C₁₈、Shim-pack C₁₈、ODS-C₁₈ 色谱柱对相对校正因子的影响,结果见表 3,可知均无明显影响。

表 3 不同仪器、色谱柱对相对校正因子的影响

Tab. 3 Effects of different instruments and columns on relative correction factors

仪器	相对校正因子(内标 3,6'-二芥子酰基蔗糖)							
	色谱柱	远志卍山酮Ⅲ	党参炔苷	β-细辛醚	α-细辛醚	去氢土莫酸	去氢茯苓酸	茯苓酸
Waters 2695	Kromasil C ₁₈	1.146 6	1.256 3	0.838 6	1.590 4	0.686 9	0.480 0	0.675 8
	Shim-pack C ₁₈	1.157 9	1.269 1	0.835 0	1.593 7	0.711 5	0.479 3	0.679 6
	ODS-C ₁₈	1.148 3	1.230 4	0.841 7	1.608 9	0.712 7	0.478 5	0.680 2
LC-2010	Kromasil C ₁₈	1.129 5	1.237 1	0.833 5	1.588 3	0.696 4	0.467 5	0.679 0
	Shim-pack C ₁₈	1.150 2	1.215 9	0.826 4	1.557 4	0.701 5	0.478 3	0.688 5
	ODS-C ₁₈	1.137 4	1.221 6	0.840 8	1.572 6	0.689 1	0.490 6	0.686 7
平均值	—	1.145 0	1.238 4	0.836 0	1.585 2	0.699 7	0.479 0	0.681 6
RSD/%	—	0.88	1.66	0.68	1.13	1.56	1.53	0.72

2.6 色谱峰定位 以 3, 6'-二芥子酰基蔗糖为内标,考察其他 7 种成分在“2.5”项色谱仪、色谱柱下的相对保留值,结果见表 4,可知均无明显影响。

表 4 各成分相对保留值

Tab. 4 Relative retention values of various constituents

仪器	相对保留值(内标 3, 6'-二芥子酰基蔗糖)							
	色谱柱	远志卍山酮Ⅲ	党参炔苷	β-细辛醚	α-细辛醚	去氢土莫酸	去氢茯苓酸	茯苓酸
Waters 2695	Kromasil C ₁₈	0.860 7	1.348 4	1.772 2	1.985 1	2.246 8	2.389 7	2.593 4
	Shim-pack C ₁₈	0.856 1	1.329 4	1.764 9	1.951 6	2.217 3	2.317 5	2.565 9
	ODS-C ₁₈	0.865 4	1.351 3	1.780 1	1.987 9	2.251 1	2.411 6	2.630 5
LC-2010	Kromasil C ₁₈	0.854 9	1.329 9	1.758 6	1.967 2	2.220 7	2.335 2	2.584 9
	Shim-pack C ₁₈	0.851 6	1.321 3	1.757 9	1.974 3	2.197 6	2.321 7	2.548 8
	ODS-C ₁₈	0.874 9	1.381 5	1.823 7	1.990 6	2.310 5	2.403 8	2.631 2
平均值	—	0.860 6	1.343 6	1.776 2	1.976 1	2.240 7	2.363 3	2.592 5
RSD/%	—	0.99	1.63	1.39	0.76	1.77	1.82	1.29

2.7 样品含有量测定 取 3 批丸剂(批号为 170902、180201、180403)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,在“2.1”项色谱条件下进样测定,分别采用外标法和一测多评法计算含有量,结果见表 5,可知 2 种方法所得结果无明显差异,相对平均偏差(RAD) <2%。

3 讨论

3.1 指标成分选择 宁神定志丸中远志为君药,主要含有皂苷、糖酯、卍山酮,其中远志卍山酮Ⅲ为卍山酮类代表性成分,3, 6'-二芥子酰基蔗糖为糖酯类代表性成分,具有良好的神经细胞保护、抗抑郁等作用;石菖蒲具有醒神益智、开窍豁痰、化湿开

表 5 各成分含量测定结果 (mg/g, n=3)

Tab. 5 Results of content determination of various constituents (mg/g, n=3)

批号	3,6'-二芥子酰基蔗糖			远志卅酮Ⅲ			党参炔苷			β-细辛醚		
	外标法			外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%
170902	1. 572			0. 847	0. 836	0. 65	1. 093	1. 065	1. 30	4. 653	4. 633	0. 22
180201	1. 423			0. 725	0. 747	1. 49	1. 247	1. 219	1. 14	4. 882	4. 840	0. 43
180403	1. 716			0. 961	0. 943	0. 95	0. 988	1. 004	0. 80	4. 430	4. 489	0. 66
批号	α-细辛醚			去氢土莫酸			去氢茯苓酸			茯苓酸		
	外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%	外标法	一测多评法	RAD/%
170902	1. 618	1. 636	0. 55	0. 296	0. 293	0. 53	0. 194	0. 196	0. 51	0. 365	0. 359	0. 83
180201	1. 855	1. 801	1. 48	0. 254	0. 259	0. 97	0. 166	0. 160	1. 84	0. 316	0. 325	1. 40
180403	1. 459	1. 497	1. 29	0. 340	0. 333	1. 04	0. 220	0. 217	0. 69	0. 410	0. 395	1. 86

胃的功效，主要含有挥发油、黄酮、生物碱、氨基酸等成分，以 β-细辛醚、α-细辛醚等挥发油为主；茯苓具有宁心、健脾、利水渗湿等功效，去氢土莫酸、去氢茯苓酸、茯苓酸等三萜是其主要药效成分；党参具有养血生津、健脾益肺的功效，党参炔苷为其代表性成分。因此，本实验选择上述 8 种成分作为指标成分。

3.2 供试品溶液制备方法选择 本实验考察了甲醇^[4-9]、70% 甲醇^[2-3,10]、50% 甲醇，发现以 70% 甲醇为提取溶剂时各成分的综合提取率最高；考察了超声提取^[4-10]、回流提取^[2-3]，发现两者提取效果差异不大，考虑到操作便捷性，故选择前者；考察了提取时间 30 min^[5,7,10]、45 min^[6,8]、60 min^[4]，发现提取 45、60 min 时各成分提取率差异不大，但明显优于提取 30 min。最终确定，供试品溶液制备方法为 70% 甲醇超声提取 45 min。

3.3 流动相优化 本实验考察了乙腈-水^[5,11]、甲醇-水、甲醇-0.1% 甲酸^[6,8]、乙腈-0.1% 甲酸^[4,12]、乙腈-0.1% 磷酸^[10]、乙腈-0.05% 磷酸^[2-3,7,9,13-14] 流动相系统，同时对其比例进行不断摸索。最终，选择乙腈-0.05% 磷酸作为流动相，按“2.1”项下比例进行梯度洗脱。

3.4 成分含有量分析 宁神定志丸与其阴性样品中所测成分相对含有量存在一定差异，以 β-细辛醚和 α-细辛醚更明显，可能与药材所含成分在不同产地、采收期存在差异有关。因此，企业在生产时需关注原药材产地、采收季节等因素。

4 结论

本实验建立一测多评法同时测定宁神定志丸中 8 种成分的含有量，该方法简便、准确、可靠，可有效降低检验成本，为完善提高该制剂质量标准提供全新的方法和依据。

参考文献：

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 卫生部颁药品标准 (中药成方制剂第三册) [S]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 62.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 91, 156, 240, 281.

[3] 刘艳芳, 姜 勇, 屠鹏飞. 不同来源远志药材有效成分的定量分析[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(24): 1879-1883.

[4] 李 颖, 张 宽, 叶 华, 等. 高效液相色谱法测定两种不同来源党参中党参炔苷的含量[J]. 海峡药学, 2014, 26(6): 47-49.

[5] 刘书斌, 张樱山, 李 硕, 等. 甘肃不同产地党参中表征成分党参炔苷的含量分析[J]. 甘肃中医学院学报, 2014, 31(5): 15-19.

[6] 柳梦婷, 方 婧, 吴宏伟, 等. 高效液相色谱法同时检测石菖蒲中 β-细辛醚、α-细辛醚的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(19): 75-78.

[7] 张靓琦, 贾 英, 罗 洁, 等. 超高效液相色谱法同时测定茯苓中去氢土莫酸等 6 种活性成分的含量[J]. 中国药 学杂志, 2012, 47(13): 1080-1083.

[8] 陈龙梗, 杨青山, 杨 烁, 等. 高效液相色谱法测定安徽 产石菖蒲中 α-细辛醚、β-细辛醚的含量[J]. 甘肃中医药 大学学报, 2017, 34(5): 15-18.

[9] 车 爽, 李 清, 霍艳双, 等. 波长转换 RP-HPLC 法同时 测定茯苓不同部位中 5 种三萜酸含量[J]. 药科学报, 2010, 45(4): 494-497.

[10] 李智利, 谢 婷, 陈文华. HPLC 法测定莫苋强肾胶囊中 远志卅酮Ⅲ、3, 6'-二芥子酰基蔗糖和马钱苷[J]. 中成药, 2013, 35(8): 1685-1689.

[11] 彭雪晶, 樊 秦, 夏鹏飞, 等. 党参中党参炔苷和苍术内 酯Ⅲ纯化工艺优化及抗氧化部位筛选[J]. 中成药, 2017, 39(6): 1301-1304.

[12] 徐保鑫, 刁家威, 张学兰, 等. 远志炮制过程中 6 种寡糖酯 类成分转化机制[J]. 中成药, 2018, 40(8): 1790-1794.

[13] 潘 杰, 甘杰华, 郑晓英, 等. 蜜远志配方颗粒质量标准的 研究[J]. 中成药, 2017, 39(4): 751-755.

[14] 王海波, 栾泽柱, 刘 勇, 等. HPLC 法测定远志饮片中 7 种指标成分含量[J]. 中药材, 2018, 41(6): 1404-1407.