

[质量控制]

UPLC-MS/MS 法同时测定六味安神胶囊中 35 种成分的含量

赵 焱¹, 何欣宇¹, 刘 萍², 王 平^{2,3,4*}, 陈霖霖^{1,3,4*}

(1. 湖北中医药大学药学院, 湖北 武汉 430065; 2. 湖北中医药大学基础医学院, 湖北 武汉 430065; 3. 湖北中医药大学老年脑健康中医药防治与新产品开发教育部工程中心, 湖北 武汉 430065; 4. 湖北时珍实验室, 湖北 武汉 430065)

摘要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 法同时测定六味安神胶囊中梓醇、地黄苷 D、莲心季铵碱、西伯利亚远志糖 A5、西伯利亚远志糖 A6、木兰花碱、莲心碱、维采宁-II、杏黄甾碱、焦地黄苯乙醇苷 A1、西伯利亚远志吡啶酮 B、甲基莲心碱、圣草次苷、芹糖甘草苷、甘草苷、远志吡啶酮 III、斯皮诺素、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、芸香柚皮苷、异毛蕊花糖苷、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、橙皮苷、荷叶碱、N-去甲荷叶碱、芹糖异甘草苷、细叶远志皂苷 A、异甘草苷、甘草素、陈皮素、异甘草素、细叶远志皂苷、6-去甲氧基橘皮素、川陈皮素、甘草异黄酮 B 的含量。**方法** 分析采用 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相水 (含 0.1% 甲酸) - [甲醇-乙腈 (1:1, 含 0.1% 甲酸)], 梯度洗脱; 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 35 °C; 电喷雾离子源; 正负离子扫描; 多反应监测模式。再进行聚类分析和偏最小二乘判别分析。**结果** 35 种成分在各自范围内线性关系良好 ($r \geq 0.9973$), 平均加样回收率 91.41% ~ 106.72%, RSD 0.66% ~ 5.59%。12 批样品化学成分的年间差异明显, 年内批间一致性良好。**结论** 该方法专属性强, 灵敏准确, 可为六味安神胶囊的质量控制和临床应用提供参考。

关键词: 六味安神胶囊; 化学成分; 含量测定; 超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS); 聚类分析; 偏最小二乘判别分析

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)06-1777-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2026.06.001

Simultaneous content determination of thirty-five constituents in Liuwei Anshen Capsules by UPLC-MS/MS

ZHAO Yi¹, HE Xin-yu¹, LIU Ping², WANG Ping^{2,3,4*}, CHEN Lin-lin^{1,3,4*}

(1. School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. School of Basic Medicinal Sciences, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 3. Ministry of Education Engineering Center for Traditional Chinese Medicine Protection and Treatment and New Product Development for Elderly Brain Health, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 4. Hubei Shizhen Laboratory, Wuhan 430065, China)

ABSTRACT: AIM To establish a ultra-high performance liquid chromatography quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the simultaneous content determination of catalpol, rehmannioside D, lotusine, sibiricose A5, sibiricose A6, magnoflorine, liensinine, vicenin II, arnepavine, jionoside A1, sibiricaxanthone B, neferine, eriocitrin, liquiritin apioside, liquiritin, polygalaxanthone III, spinosin, verbascoside, jionoside B1, narirutin, isoacteoside, 3, 6'-disinapoylsucrose, hesperidin, nuciferine, N-nornuciferine, isoliquiritin apioside, tenuifoliside A, isoliquiritin, liquiritigenin, hesperetin, isoliquiritigenin, tenuifolin, 6-demethoxytangeretin, nobiletin and licoisoflavone B in Liuwei Anshen Capsules. **METHODS** The analysis was performed on a 35 °C thermostatic Waters Acquity UPLC HSS T3 column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm), with the mobile phase

收稿日期: 2026-03-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82474377)

作者简介: 赵 焱 (1998—), 女, 硕士, 从事中药质量控制、分析研究。E-mail: zhaoyi072025@163.com

* 通信作者: 王 平 (1962—), 男, 博士, 教授, 从事中医基础理论研究。E-mail: pwang54@aliyun.com

陈霖霖 (1980—), 男, 博士, 研究员, 从事中药质量控制研究。E-mail: lin-lin.chen@hotmail.com

comprising of water (containing 0.1% formic acid) - [methanol-acetonitrile (1 : 1, containing 0.1% formic acid)] flowing at 0.3 mL/min in a gradient elution manner, and electron spray ionization source was adopted in positive and negative ion scanning with multiple reaction monitoring mode. Subsequently, cluster analysis and partial least squares discriminant analysis were performed. **RESULTS** Thirty-five constituents showed good linear relationships within their own ranges ($r \geq 0.9973$), whose average recoveries were 91.41% - 106.72% with the RSDs of 0.66% - 5.59%. The chemical constituents in 12 batches of samples demonstrated obvious annual differences with good intra-year batch-to-batch consistency. **CONCLUSION** This specific, sensitive and accurate method can provide a reference for the quality control and clinical application of Liuwei Anshen Capsules.

KEY WORDS: Liuwei Anshen Capsules; chemical constituents; content determination; ultra-high performance liquid chromatography quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS); cluster analysis; partial least squares discriminant analysis

六味安神胶囊由地黄、酸枣仁、莲子心、远志(炙)、陈皮、甘草6味中药组成,临床上用于治疗失眠、焦虑、神经衰弱等病症,尤其适合心肾阴虚、心神不宁患者,方中地黄滋阴养血,酸枣仁养心安神,莲子心清心火,远志安神益智,陈皮理气健脾,甘草调和诸药,诸药配伍,共奏安神定志、调和气血功效。临床研究表明,六味安神胶囊可显著改善睡眠质量,缓解焦虑情绪^[1-3],并且在更年期综合征和抑郁症的辅助治疗中展现出潜力^[4-5];药理研究表明,它具有多方面的药理作用^[6-8],可通过调节神经递质(如GABA、5-HT等)来发挥镇静催眠作用,调节下丘脑-垂体-肾上腺轴功能来发挥抗焦虑作用,抗炎、抗氧化、抗凋亡来减轻神经损伤。

六味安神胶囊药效成分包括环烯醚萜、皂苷、黄酮、生物碱等,但其含量可能因药材来源、炮制方法、制剂工艺等因素而存在差异,影响其质量一致性和疗效稳定性。目前,相关研究大多聚焦于药理机制或临床疗效,在质量控制方面尚属空白。因此,本实验建立特异性强、灵敏度高的UPLC-MS/MS法同时测定六味安神胶囊中梓醇、地黄苷D、莲心季铵碱、西伯利亚远志糖A5、西伯利亚远志糖A6、木兰花碱、莲心碱、维采宁-II、杏黄甾粟碱、焦地黄苯乙醇苷A1、西伯利亚远志吡啶酮B、甲基莲心碱、圣草次苷、芹糖甘草苷、甘草苷、远志吡啶酮III、斯皮诺素、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B1、芸香柚皮苷、异毛蕊花糖苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、橙皮苷、荷叶碱、N-去甲荷叶碱、芹糖异甘草苷、细叶远志皂苷A、异甘草苷、甘草素、陈皮素、异甘草素、细叶远志皂苷、6-去甲氧基橘皮素、川陈皮素、甘草异黄酮B的含量,对于保证该制剂稳定性、安全性和有效性具有重要

意义。

1 材料

ExionLC™超高效液相色谱仪、Triple Quad™4500三重四极杆质谱仪(美国AB SCIEX公司);QUINTIX35-1CN电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];TW-1超声仪(上海泰特睿杰科技有限公司);Centrifuge 5418离心机(德国Eppendorf公司)。

地黄苷D(批号AF20120402)、莲心季铵碱(批号AF21071809)、西伯利亚远志糖A5、西伯利亚远志糖A6(批号AF21060510、AF21060521)、莲心碱(批号AF20111701)、维采宁-II(批号AF20112508)、杏黄甾粟碱(批号AF21070902)、焦地黄苯乙醇苷A1、B1(批号AFCD1209、AFCD1210)、芹糖甘草苷(批号AF21021051)、甘草苷(批号AFBI0102)、远志吡啶酮III(批号AFCG0604)、斯皮诺素(批号AF21022080)、3,6'-二芥子酰基蔗糖(批号AF21017034)、西伯利亚远志吡啶酮B(批号AF21051804)、甲基莲心碱(批号AF20071511)、芸香柚皮苷(批号AF21062883)、异毛蕊花糖苷(批号AF21052985)、荷叶碱(批号AF20031351)、N-去甲荷叶碱(批号AF21022412)、细叶远志皂苷A(批号AF20101703)、陈皮素(批号AF20092151)、甘草异黄酮B(批号AFCG0615)、6-去甲氧基橘皮素(批号AF21060508)对照品均购自成都埃法生物科技有限公司;圣草次苷(批号MUST-18092305)、芹糖异甘草苷(批号MUST-19051608)、异甘草苷(批号MUST-19052501)、甘草素(批号MUST-18101611)、异甘草素(批号MUST-19021310)、川陈皮素(批号MUST-19041210)对照品均购自成都曼思特生物科技有限公司;毛蕊花糖苷(批号111530-201713)、橙皮苷

(批号 110721-200512)、细叶远志皂苷(批号 111849-201705)对照品均购自中国食品药品检定研究院;梓醇对照品(批号 L20N8Y48597)购自上海源叶生物科技有限公司;木兰花碱对照品(批号 CRN0136)购自湖北萃园生物科技有限公司,纯度 $\geq 98\%$ 。六味安神胶囊(批号 220101、220602、231001、231002、231003、230602、230701、240702、240801、250601、250602、250603,重庆华森制药股份有限公司)。乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯(美国 Fisher 公司);水为纯净水(香港屈臣氏集团有限公司)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液制备 精密称取各对照品适量,80%甲醇溶解,摇匀,精密吸取适量,置于同一量瓶中,80%甲醇定容至刻度,摇匀,制成每 1 mL 分别含 10.15 μg 梓醇、0.500 μg 地黄苷 D、0.402 μg 莲心季铵碱、0.515 μg 西伯利亚远志糖 A5、0.261 25 μg 西伯利亚远志糖 A6、0.286 25 μg 木兰花碱、0.055 μg 莲心碱、0.252 5 μg 维采宁-II、0.103 5 μg 杏黄鞣栗碱、0.117 μg 焦地黄苯乙醇苷 A1、0.101 μg 西伯利亚远志吡啶 B、0.532 5 μg 甲基莲心碱、0.058 5 μg 圣草次苷、0.520 μg 芹糖甘草苷、1.22 μg 甘草苷、0.125 μg 远志吡啶 III、0.300 μg 斯皮诺素、0.268 75 μg 毛蕊花糖苷、0.116 5 μg 焦地黄苯乙醇苷 B1、1.325 μg 芸香柚皮苷、0.282 5 μg 异毛蕊花糖苷、1.55 μg 3, 6'-二芥子酰基蔗糖、2.14 μg 橙皮苷、0.010 16 μg 荷叶碱、0.002 6 μg *N*-去甲荷叶碱、0.109 μg 芹糖异甘草苷、1.04 μg 细叶远志皂苷 A、0.262 5 μg 异甘草苷、0.117 μg 甘草素、0.011 15 μg 陈皮素、0.052 μg 异甘草素、0.200 μg 细叶远志皂苷、0.051 5 μg 6-去甲氧基橘皮素、0.557 5 μg 川陈皮素、0.049 5 μg 甘草异黄酮 B 的溶液,即得,冷藏保存。

2.2 供试品、阴性样品溶液制备 取本品内容物粉末约 100 mg,精密称定,置于 50 mL 具塞锥形瓶中,加入 20 mL 80%甲醇,超声处理 40 min,放冷,80%甲醇补足至初始质量,摇匀,12 000 r/min 离心 10 min,取 2.5 mL 上清液,置于 50 mL 量瓶中,80%甲醇定容,即得。同法按处方量制备缺相应药材的阴性样品溶液。

2.3 UPLC-MS/MS 分析条件

2.3.1 色谱 Waters Acquity UPLC HSS T3 色谱柱

(100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm);流动相 0.1%甲酸(A) - [甲醇-乙腈(1:1,含 0.1%甲酸)](B),梯度洗脱(0~2 min, 95% A; 2~15 min, 95%~50% A; 15~21 min, 50%~1% A);体积流量 0.3 mL/min;柱温 35 $^{\circ}\text{C}$;进样量 2 μL 。

2.3.2 质谱 电喷雾离子源(ESI);多反应监测(MRM)模式;离子化电压(IS) 5 500、-4 500 V;离子源温度(TEM) 550 $^{\circ}\text{C}$;喷雾气(GS1) 50 psi (1 psi = 0.133 kPa);辅助加热气(GS2) 50 psi;气帘气(CUR) 35 psi;碰撞气(CAD) 压力 Medium;每个离子对驻留时间 50 ms。采用 Analyst v1.7 工作站采集质谱数据,见表 1。

2.4 专属性试验 取空白溶剂及阴性样品、对照品、供试品溶液适量,在“2.3”项条件下进样测定,结果见图 1。由此可知,供试品溶液中其他物质对测定无干扰,表明该方法专属性良好。

2.5 线性关系考察 取“2.1”项下对照品溶液适量,分别精密量取 0.25、0.5、1、2、5、10 mL,置于 10 mL 量瓶中,80%甲醇稀释至刻度,在“2.3”项条件下进样测定。以对照品峰面积为纵坐标(Y),质量浓度为横坐标(X)进行回归,并以信噪比 $S/N \geq 3$ 时的质量浓度为检出限,信噪比 $S/N \geq 10$ 时的质量浓度为定量限,结果见表 2,可知各成分在各自范围内线性关系良好。

2.6 精密度试验 取对照品溶液适量,同一天内在“2.3”项条件下进样测定 6 次,测得梓醇、地黄苷 D、莲心季铵碱、西伯利亚远志糖 A5、西伯利亚远志糖 A6、木兰花碱、莲心碱、维采宁-II、杏黄鞣栗碱、焦地黄苯乙醇苷 A1、西伯利亚远志吡啶 B、甲基莲心碱、圣草次苷、芹糖甘草苷、甘草苷、远志吡啶 III、斯皮诺素、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、芸香柚皮苷、异毛蕊花糖苷、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、橙皮苷、荷叶碱、*N*-去甲荷叶碱、芹糖异甘草苷、细叶远志皂苷 A、异甘草苷、甘草素、陈皮素、异甘草素、细叶远志皂苷、6-去甲氧基橘皮素、川陈皮素和甘草异黄酮 B 峰面积 RSD 分别为 2.80%、1.88%、0.34%、3.61%、2.23%、0.52%、2.95%、2.14%、0.67%、3.63%、3.47%、2.30%、2.84%、1.33%、1.38%、1.61%、3.41%、2.80%、2.50%、1.25%、3.38%、1.59%、1.56%、1.47%、0.71%、1.50%、1.39%、3.01%、1.97%、1.29%、0.99%、1.14%、1.19%、0.42%、0.66%,表明仪器精密度良好。

表1 各成分质谱参数

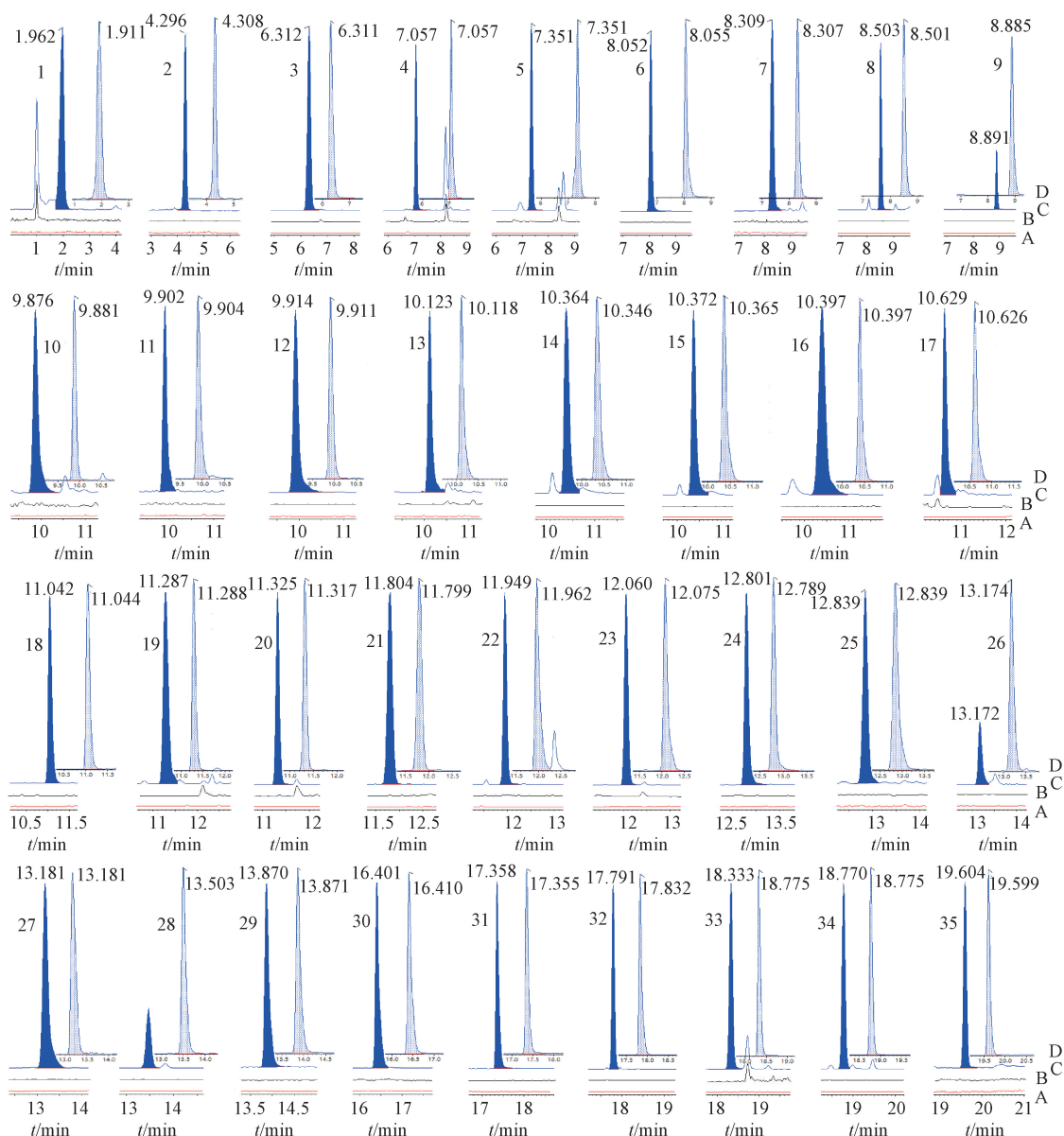
Tab. 1 Mass spectrometry parameters for various constituents

成分	保留时间/min	相对分子质量	离子模式	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压/V	碰撞能量/V
梓醇	1.96	362.33	$[M-H]^-$	361.0	198.9	-45	-14
地黄苷 D	4.30	686.61	$[M-H]^-$	685.1	263.0	-125	-30
莲心季铵碱	6.31	314.40	$[M]^+$	314.2	58.1	76	63
西伯利亚远志糖 A5	7.06	518.47	$[M-H]^-$	517.0	174.9	-100	-32
西伯利亚远志糖 A6	7.35	548.49	$[M-H]^-$	547.0	204.9	-110	-32
木兰花碱	8.05	342.41	$[M]^+$	342.1	297.0	86	29
莲心碱	8.31	610.74	$[M+H]^+$	611.2	206.0	131	43
维采宁-Ⅱ	8.50	594.52	$[M-H]^-$	593.1	353.0	-160	-52
杏黄罂粟碱	8.89	313.39	$[M+H]^+$	314.1	107.0	91	41
焦地黄苯乙醇苷 A1	9.88	800.75	$[M-H]^-$	799.1	623.2	-190	-50
西伯利亚远志吡啶酮 B	9.90	538.45	$[M-H]^-$	537.0	315.0	-125	-44
甲基莲心碱	9.91	624.77	$[M+H]^+$	625.3	206.1	121	45
圣草次苷	10.12	596.53	$[M-H]^-$	595.1	287.0	-140	-36
芹糖甘草苷	10.36	550.51	$[M-H]^-$	549.1	255.0	-140	-44
甘草苷	10.37	418.39	$[M-H]^-$	417.0	255.0	-95	-30
远志吡啶酮Ⅲ	10.40	568.48	$[M-H]^-$	567.0	272.0	-150	-70
斯皮诺素	10.63	608.54	$[M-H]^-$	607.1	427.2	-170	-44
毛蕊花糖苷	11.04	624.59	$[M-H]^-$	623.1	161.0	-140	-42
焦地黄苯乙醇苷 B1	11.29	814.78	$[M-H]^-$	813.1	159.9	-175	-102
芸香柚皮苷	11.33	580.53	$[M-H]^-$	579.1	271.0	-155	-36
异毛蕊花糖苷	11.80	624.59	$[M-H]^-$	623.1	160.9	-130	-46
3,6'-二芥子酰基蔗糖	11.95	754.69	$[M-H]^-$	753.1	190.0	-150	-86
橙皮苷	12.06	610.56	$[M-H]^-$	609.1	301.0	-175	-38
荷叶碱	12.80	295.38	$[M+H]^+$	296.1	265.0	81	23
N-去甲荷叶碱	12.84	281.35	$[M+H]^+$	282.1	265.0	66	19
芹糖异甘草苷	13.17	550.51	$[M-H]^-$	549.1	255.0	-145	-40
细叶远志皂苷 A	13.18	682.62	$[M-H]^-$	681.1	443.1	-150	-38
异甘草苷	13.47	418.39	$[M-H]^-$	417.0	255.0	-120	-28
甘草素	13.87	256.25	$[M-H]^-$	255.0	119.0	-75	-38
陈皮素	16.41	302.28	$[M+H]^+$	303.0	177.0	91	27
异甘草素	17.36	256.25	$[M-H]^-$	255.1	119.0	-100	-30
细叶远志皂苷	17.80	680.82	$[M-H]^-$	679.3	455.3	-145	-40
6-去甲氧基橘皮素	18.33	342.34	$[M+H]^+$	343.0	313.0	126	37
川陈皮素	18.77	402.39	$[M+H]^+$	403.0	373.1	126	41
甘草异黄酮 B	19.60	352.34	$[M-H]^-$	351.0	283.0	-120	-34

2.7 重复性试验 取本品(批号240702)适量,按“2.2”项下方法制备6份供试品溶液,在“2.3”项条件下进样测定,测得梓醇、地黄苷D、莲心季铵碱、西伯利亚远志糖A5、西伯利亚远志糖A6、木兰花碱、莲心碱、维采宁-Ⅱ、杏黄罂粟碱、焦地黄苯乙醇苷A1、西伯利亚远志吡啶酮B、甲基莲心碱、圣草次苷、芹糖甘草苷、甘草苷、远志吡啶酮Ⅲ、斯皮诺素、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷B1、芸香柚皮苷、异毛蕊花糖苷、3,6'-二芥子酰基蔗糖、橙皮苷、荷叶碱、N-去甲荷叶碱、芹糖异甘草苷、细叶远志皂苷A、异甘草苷、甘草素、陈皮素、异甘草素、细叶远志皂苷、6-去甲氧基橘皮素、川陈皮素、甘草异黄酮B含量RSD分别为2.63%、2.30%、1.32%、3.17%、3.46%、

2.07%、2.72%、2.69%、2.04%、2.74%、1.88%、3.00%、2.57%、2.87%、2.16%、2.34%、2.14%、2.10%、3.74%、0.82%、3.04%、0.87%、2.99%、0.64%、3.04%、3.29%、2.54%、3.72%、2.98%、1.53%、2.20%、2.16%、1.49%、0.93%、1.78%,表明该方法重复性良好。

2.8 稳定性试验 取本品(批号240702)适量,按“2.2”项下方法制备供试品溶液,于0、2、4、8、12、24h在“2.3”项条件下进样测定,测得梓醇、地黄苷D、莲心季铵碱、西伯利亚远志糖A5、西伯利亚远志糖A6、木兰花碱、莲心碱、维采宁-Ⅱ、杏黄罂粟碱、焦地黄苯乙醇苷A1、西伯利亚远志吡啶酮B、甲基莲心碱、圣草次苷、芹糖甘草苷、甘草苷、远志吡啶酮Ⅲ、斯皮诺素、毛蕊花糖



注：A~D 分别为空白溶剂、阴性样品、供试品、对照品。阴性样品中 1、2、10、18、19、21 缺地黄，3、7~9、12、24、25 缺莲心子心，4、5、11、16、22、27、32 缺远志，6、8、17、24、25 缺酸枣仁，8、13、20、23、30、33、34 缺陈皮，14、15、26、28、29、31、35 缺甘草。

1. 梓醇 2. 地黄苷 D 3. 莲心季铵碱 4. 西伯利亚远志糖 A5 5. 西伯利亚远志糖 A6 6. 木兰花碱 7. 莲心碱 8. 维采宁-II 9. 杏黄甾粟碱 10. 焦地黄苯乙醇苷 A1 11. 西伯利亚远志吡啶 B 12. 甲基莲心碱 13. 圣草次苷 14. 芹糖甘草苷 15. 甘草苷 16. 远志吡啶 III 17. 斯皮诺素 18. 毛蕊花糖苷 19. 焦地黄苯乙醇苷 B1 20. 芸香柚皮苷 21. 异毛蕊花糖苷 22. 3, 6'-二芥子酰基蔗糖 23. 橙皮苷 24. 荷叶碱 25. N-去甲荷叶碱 26. 芹糖异甘草苷 27. 细叶远志皂苷 A 28. 异甘草苷 29. 甘草素 30. 陈皮素 31. 异甘草素 32. 细叶远志皂苷 33. 6-去甲氧基橘皮素 34. 川陈皮素 35. 甘草异黄酮 B
1. catalpol 2. rehmannioside D 3. lotusine 4. sibiricose A5 5. sibiricose A6 6. magnoflorine 7. liensinine 8. vicenin II 9. arnepavine 10. jionoside A1 11. sibiricaxanthone B 12. neferine 13. eriocitrin 14. liquiritin apioside 15. liquiritin 16. polygalaxanthone III 17. spinosin 18. verbascoside 19. jionoside B1 20. narirutin 21. isoacteoside 22. 3, 6'-disinapoylsucrose 23. hesperidin 24. nuciferine 25. N-nornuciferine 26. isoliquiritin apioside 27. tenuifolside A 28. isoliquiritin 29. liquiritigenin 30. hesperetin 31. isoliquiritigenin 32. tenuifolin 33. 6-demethoxytangeretin 34. nobiletin 35. licoisoflavone B

图 1 各成分 MRM 色谱图

Fig. 1 MRM chromatograms of various constituents

表2 各成分线性关系

Tab. 2 Linear relationships of various constituents

成分	回归方程	r	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	检出限/(ng·mL ⁻¹)	定量限/(ng·mL ⁻¹)
梓醇	Y=60.68X+646.15	0.9997	253.75~1.02×10 ⁵	15.860	100.00
地黄苷D	Y=591.43X+578.74	0.9990	12.50~500.00	0.122	5.00
莲心季铵碱	Y=4.57×10 ⁴ X+5.03×10 ⁵	0.9976	25.13~402.00	0.002	10.00
西伯利亚远志糖A5	Y=2795.00X-1317.90	0.9999	12.88~515.00	0.126	5.00
西伯利亚远志糖A6	Y=3040.16X-2689.26	0.9999	6.63~261.25	0.016	3.00
木兰花碱	Y=4.48×10 ⁴ X+5.03×10 ⁴	0.9986	7.16~286.25	0.010	3.00
莲心碱	Y=2.12×10 ⁴ X-3204.53	0.9999	1.38~55.00	0.034	0.67
维采宁-II	Y=2943.97X-943.80	0.9996	6.31~252.50	0.031	3.00
杏黄鞣栗碱	Y=6.83×10 ⁴ X+2.49×10 ⁴	0.9994	2.59~103.50	0.002	1.00
焦地黄苯乙醇苷A1	Y=742.26X+131.08	0.9973	2.93~117.00	0.286	1.00
西伯利亚远志吡啶B	Y=2240.01X-223.36	0.9997	2.53~101.00	0.031	1.00
甲基莲心碱	Y=1.43×10 ⁴ X+1.42×10 ⁴	0.9988	13.31~532.50	0.002	5.00
圣草次苷	Y=4803.81X-645.10	0.9999	1.46~58.50	0.036	0.71
芹糖甘草苷	Y=5750.99X-1518.18	0.9999	13.00~520.00	0.032	5.00
甘草苷	Y=8700.58X-1.00×10 ⁴	0.9995	30.50~1220.00	0.019	10.00
远志吡啶Ⅲ	Y=4362.04X+226.67	0.9997	3.13~125.00	0.015	1.00
斯皮诺素	Y=1802.68X-605.19	0.9977	7.50~300.00	0.146	3.00
毛蕊花糖苷	Y=2064.32X-2086.37	0.9990	6.72~268.75	0.066	3.00
焦地黄苯乙醇苷B1	Y=536.08X+334.46	0.9975	2.91~116.50	0.036	1.00
芸香柚皮苷	Y=6341.31X-2.03×10 ⁴	0.9997	33.13~1325.00	0.016	10.00
异毛蕊花糖苷	Y=1744.29X-642.99	0.9998	7.06~282.50	0.138	3.00
3,6'-二芥子酰基蔗糖	Y=1434.65X-1847.25	0.9997	38.75~1550.00	0.038	15.00
橙皮苷	Y=1774.90X+300.81	0.9996	53.50~2140.00	0.042	20.00
荷叶碱	Y=2.34×10 ⁵ X-651.48	0.9999	0.53~10.60	0.001	0.20
N-去甲荷叶碱	Y=1.32×10 ⁵ X+2151.61	0.9995	0.13~2.60	0.002	0.08
芹糖异甘草苷	Y=6114.10X+291.11	0.9994	2.73~109.00	0.008	1.00
细叶远志皂苷A	Y=2229.93X-3813.54	0.9998	26.00~1040.00	0.032	10.00
异甘草苷	Y=1.16×10 ⁴ X-5531.11	0.9998	6.56~262.50	0.032	3.00
甘草素	Y=1.74×10 ⁴ X-5411.79	0.9999	2.93~117.00	0.071	1.00
陈皮素	Y=7401.40X-285.75	0.9990	0.56~11.15	0.136	0.27
异甘草素	Y=8506.99X-744.08	0.9999	1.30~52.00	0.063	0.50
细叶远志皂苷	Y=3278.14X-1189.26	0.9992	5.00~200.00	0.049	2.00
6-去甲氧基橘皮素	Y=7.66×10 ⁴ X-1563.61	0.9999	1.29~51.50	0.001	0.50
川陈皮素	Y=5.99×10 ⁴ X+2.20×10 ⁵	0.9982	13.94~557.50	0.004	5.00
甘草异黄酮B	Y=1.95×10 ⁴ X+217.36	0.9998	1.24~49.50	0.014	0.60

苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、芸香柚皮苷、异毛蕊花糖苷、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、橙皮苷、荷叶碱、N-去甲荷叶碱、芹糖异甘草苷、细叶远志皂苷 A、异甘草苷、甘草素、陈皮素、异甘草素、细叶远志皂苷、6-去甲氧基橘皮素、川陈皮素、甘草异黄酮 B 峰面积 RSD 分别为 2.70%、2.63%、0.52%、3.96%、3.54%、0.86%、3.64%、2.95%、1.52%、1.64%、3.12%、3.86%、5.51%、3.51%、2.54%、3.01%、2.44%、3.38%、3.99%、1.39%、2.95%、2.48%、1.99%、1.43%、3.90%、3.93%、1.41%、3.84%、1.35%、3.29%、3.30%、1.89%、1.84%、1.47%、1.82%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.9 加样回收率试验 取各成分含量已知的本品(批号 240702)内容物 6 份, 每份约 50 mg, 精密

称定, 按 100% 水平加入对照品溶液, 按“2.2”项下方法制备供试品溶液, 在“2.3”项条件下进行测定, 计算回收率。结果, 梓醇、地黄苷 D、莲心季铵碱、西伯利亚远志糖 A5、西伯利亚远志糖 A6、木兰花碱、莲心碱、维采宁-II、杏黄鞣栗碱、焦地黄苯乙醇苷 A1、西伯利亚远志吡啶 B、甲基莲心碱、圣草次苷、芹糖甘草苷、甘草苷、远志吡啶Ⅲ、斯皮诺素、毛蕊花糖苷、焦地黄苯乙醇苷 B1、芸香柚皮苷、异毛蕊花糖苷、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、橙皮苷、荷叶碱、N-去甲荷叶碱、芹糖异甘草苷、细叶远志皂苷 A、异甘草苷、甘草素、陈皮素、异甘草素、细叶远志皂苷、6-去甲氧基橘皮素、川陈皮素、甘草异黄酮 B 平均加样回收率分别为 102.37%、95.26%、101.03%、101.74%、

94.09%、93.87%、93.18%、96.89%、101.79%、97.45%、94.31%、91.41%、102.90%、100.97%、97.99%、92.05%、101.55%、94.28%、102.62%、99.64%、97.62%、95.50%、99.27%、106.72%、100.62%、94.34%、99.03%、94.14%、100.63%、94.39%、102.61%、102.71%、96.72%、104.41%、94.33%，RSD 分别为 2.31%、1.99%、1.13%、2.36%、3.54%、0.66%、2.63%、1.91%、1.36%、3.25%、3.57%、1.94%、4.13%、2.38%、2.11%、

2.61%、2.00%、3.75%、3.12%、1.78%、3.36%、2.51%、1.84%、4.88%、2.11%、2.80%、2.18%、2.31%、2.00%、5.59%、3.46%、1.89%、1.82%、1.69%、1.91%。

2.10 样品含量测定 取 12 批样品内容物粉末，每批约 100 mg，精密称定，按“2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.3”项条件下进样测定，计算含量，结果见表 3。

表 3 各成分含量测定结果 (μg/g, n=3)

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

成分	220101	220601	231001	231002	231003	230602	230701	240702	240801	250601	250602	250603
梓醇	1 680.06	2 807.54	6 443.82	5 383.43	5 682.47	3 504.06	3 586.36	8 193.68	7 754.73	9 902.57	8 176.76	7 729.82
地黄苷 D	527.52	520.19	681.05	682.77	764.84	622.63	615.01	693.98	689.73	1 304.97	1 283.10	1 181.60
莲心季铵碱	1 136.23	1 161.48	983.25	974.03	1 009.97	1 024.75	1 003.64	1 114.77	1 041.31	1 227.05	1 254.23	1 222.84
西伯利亚远志糖 A5	580.52	387.08	367.75	362.08	309.91	316.10	331.45	282.42	282.25	181.25	176.65	165.64
西伯利亚远志糖 A6	398.79	314.82	267.14	265.13	229.92	229.91	235.02	216.32	205.42	134.50	127.90	118.44
木兰花碱	417.77	362.92	238.39	204.38	209.39	181.62	207.70	221.51	206.73	326.31	287.08	258.58
莲心碱	57.84	63.65	22.35	31.64	32.22	25.98	22.82	22.79	25.10	86.90	105.62	111.92
维采宁-II	266.88	269.11	315.63	322.01	350.24	251.06	263.27	416.84	368.75	341.96	337.80	320.02
杏黄甾碱	53.85	55.26	52.12	51.76	55.00	50.63	50.21	58.74	55.95	68.34	71.98	72.18
焦地黄苯乙醇苷 A1	181.82	193.46	234.21	234.42	230.85	222.94	207.26	132.40	130.24	61.28	59.68	64.15
西伯利亚远志吡啶酮 B	160.64	104.73	89.39	83.35	82.50	86.94	75.71	101.64	95.24	72.80	71.60	63.58
甲基莲心碱	739.59	829.91	316.32	395.32	419.98	339.45	281.89	353.04	349.20	830.39	990.96	1147.11
圣草次苷	60.85	59.55	80.14	84.89	41.20	60.79	62.92	46.00	41.61	59.35	59.00	58.64
蔗糖甘草苷	510.28	426.31	376.14	604.06	380.72	331.27	330.06	380.84	467.68	537.07	471.23	431.98
甘草苷	857.96	1 981.00	1 153.15	686.64	1 027.84	1 087.56	1 114.11	1 065.49	820.48	506.74	453.92	487.69
远志吡啶酮 III	201.71	114.98	96.98	103.80	89.68	82.36	78.84	104.37	111.43	84.75	91.67	70.01
斯皮诺素	347.81	358.28	248.30	242.31	231.54	206.48	235.48	262.28	255.44	447.96	435.94	397.92
毛蕊花糖苷	181.93	134.24	207.53	226.30	224.88	239.23	227.87	77.48	90.91	22.26	27.26	30.10
焦地黄苯乙醇苷 B1	105.09	110.33	169.63	161.19	161.21	147.48	139.43	77.50	75.12	33.67	41.07	39.41
芸香柚皮苷	1 734.25	1 463.30	2 292.66	2 348.29	1 095.00	1 790.04	1 805.96	989.83	1 140.49	1 553.52	1 552.5	1 572.32
异毛蕊花糖苷	249.46	251.94	526.30	413.63	343.64	356.29	374.47	175.62	175.64	38.11	29.23	34.00
3,6'-二芥子酰基蔗糖	1 082.69	964.84	994.57	939.42	881.66	776.12	808.79	819.28	834.62	549.13	536.77	433.50
橙皮苷	4 784.01	4 487.15	5 620.02	5 251.70	4 835.79	3 595.60	3 903.34	5 923.22	5 460.52	6 610.43	6 397.96	6 398.33
荷叶碱	3.46	3.73	2.51	2.68	2.81	2.62	2.46	3.34	2.94	4.51	4.76	4.66
N-去甲荷叶碱	1.18	1.24	1.50	1.28	1.19	1.28	1.46	1.38	1.35	1.58	1.39	1.08
蔗糖异甘草苷	108.99	74.93	65.31	104.89	67.58	70.54	61.24	70.11	88.18	86.12	82.95	74.98
细叶远志皂苷 A	1 004.88	745.37	726.84	731.99	699.33	640.32	637.62	664.48	672.48	623.14	635.94	556.85
异甘草苷	150.51	349.44	191.84	122.10	179.11	205.54	186.56	175.95	613.77	96.99	86.25	105.26
甘草素	89.00	105.88	104.91	75.44	101.73	102.67	96.74	79.68	72.62	55.70	62.14	68.77
陈皮素	6.60	5.46	6.31	6.54	5.56	5.68	4.95	6.98	6.20	5.67	5.77	5.89
异甘草素	31.08	32.83	32.80	22.68	29.94	38.23	30.94	24.37	22.46	14.49	16.73	19.26
细叶远志皂苷	186.51	217.68	285.79	252.54	212.98	215.00	225.22	297.52	280.30	226.94	184.90	174.14
6-去甲氧基橘皮素	8.51	8.78	9.09	9.31	40.32	8.74	8.18	54.57	44.51	11.86	11.47	11.40
川陈皮素	76.67	80.20	95.18	96.70	653.60	80.94	77.09	843.38	685.76	121.79	113.30	120.46
甘草异黄酮 B	64.36	7.35	21.55	26.78	20.15	34.11	36.12	24.60	30.89	20.70	22.80	26.35

2.11 化学模式识别 以各成分含量为指标，将其导入 SIMCA 14.1 软件中进行聚类分析和偏最小二乘分析。

图 2A 显示，2022、2025 年产样品均能单独聚为一类，并且与 2023、2024 年产者成分差异明显；

2023、2024 年产样品质量接近，导致 231003 批次与 2024 年产者聚为一类，表明不同年份样品所含成分的含量存在较大差异，但年内批间差异较小，即聚类分析不足以区分不同年份样品。

图 2B 显示，监督模型拟合参数 R^2X 、 R^2Y 分

别为 0.853、0.949，预测能力参数 Q^2 为 0.836，均大于 0.5，表明模型成功建立；2022 年至 2025 年产样品分别聚为一类，并且能明显区分开 2023、2024 年产者，进一步说明不同年份样品存在质量差异和年份特征。

再采用变量权重值 (VIP 值) 筛选导致年份差异的成分，以 VIP 值 > 1 为标准，发现有 11 种，

分别为梓醇 (2.777)、芸香柚皮苷 (1.925)、甲基莲心碱 (1.787)、川陈皮素 (1.739)、橙皮苷 (1.657)、地黄苷 D (1.265)、甘草苷 (1.172)、异甘草苷 (1.134)、异毛蕊花糖苷 (1.097)、莲心季铵碱 (1.018)、木兰花碱 (1.017)，它们可能导致不同年份样品质量差异，见图 2C。

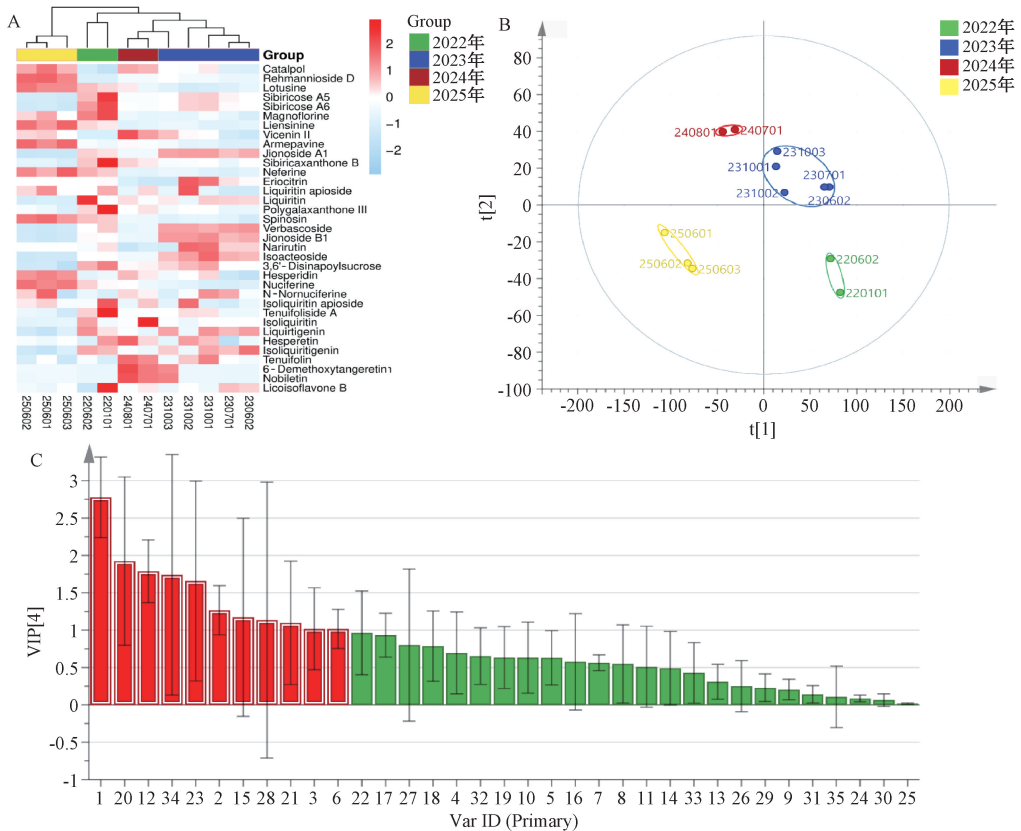


图 2 12 批六味安神胶囊聚类分析、偏最小二乘判别分析图

Fig. 2 Cluster analysis and partial least squares discriminant analysis plots for 12 batches of Liuwei Anshen Capsules

3 讨论

课题组前期采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 法鉴定出六味安神胶囊中 85 种成分^[8]，其中梓醇、地黄苷 D、斯皮诺素、甲基莲心碱、细叶远志皂苷、远志吡啶酮Ⅲ、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、橙皮苷、川陈皮素、甘草苷分别是地黄、酸枣仁、莲子心、远志、陈皮、甘草在 2020 年版《中国药典》中的指标成分。另外，上述药材所含特征成分，如地黄中的苯乙醇苷类，莲子心中的莲心碱及其衍生物，远志中的远志皂苷、远志吡啶酮和寡糖酯类，甘草中的芹糖甘草苷、甘草素和甘草异黄酮 B，陈皮中的芸香柚皮苷、陈皮素和 6-去甲氧基橘皮素，莲子心、陈皮和酸枣仁中的维采宁-II，莲子心和酸枣仁中的荷叶碱和 N-去甲荷叶碱均为潜在质量标志物，

并且大多具有抗抑郁、抗焦虑、镇静、神经保护等作用^[9-17]。因此，本实验选择梓醇等 35 种含量较高、分离度较好、具有中枢神经活性的成分进行含量测定。

本实验首先分别考察了不同体积分数甲醇 (60%、80%、100%)、提取时间 (20、40、60 min)、溶剂体积 (10、20、40 mL) 的提取效果，发现各因素影响程度依次为甲醇体积分数 > 溶剂体积 > 提取时间，最终确定为 20 mL 80% 甲醇超声提取 40 min。然后，分别考察了不同流动相 [甲醇、乙腈、甲醇+乙腈 (1:1) 结合不同体积分数 (0.05%~0.2%) 甲酸]、柱温对各成分色谱峰峰面积和分离度的影响，发现甲醇对极性成分的选择性更优，而乙腈对黄酮类异构体的分离效果更好，

并且添加 0.1% 甲酸可改善部分成分色谱峰的峰形和质谱响应, 最终确定为“2.3”项下条件^[18-20]。

含量测定结果显示, 12 批六味安神胶囊中梓醇、地黄苷 D、莲心季铵碱、甲基莲心碱、甘草苷、芸香柚皮苷、3, 6'-二芥子酰基蔗糖、橙皮苷、细叶远志皂苷 A 较高(平均值均大于 582 $\mu\text{g/g}$), 并且批间波动较小($\text{RSD} < 52.29\%$), 建议作为候选质量标志物纳入关键质量属性(CQAs), 并设定其含量范围。另外, 各成分含量呈现明显的年份相关性, 可能与药材来源差异有关, 建议对高变异成分的含量设置预警限度, 并进行过程监测。

4 结论

本实验所建立的 UPLC-MS/MS 法专属性好, 灵敏度高, 可准确测定六味安神胶囊中 35 种成分的含量, 并能揭示该制剂内在质量波动的潜在影响因素, 指导药企对药材来源、制剂质量及制备工艺进行有效控制, 从而为其质量标准的制定和监控方法的建立提供参考依据。

参考文献:

[1] 刘锦龙, 刘涛, 欧雨. 六味安神胶囊治疗失眠症 60 例[J]. 中国药业, 2013, 22(24): 84-85.

[2] 李婷, 郭铁, 张鹏. 六味安神胶囊联合右佐匹克隆治疗失眠临床研究[J]. 实用中医药杂志, 2018, 34(6): 672-673.

[3] 黄雪萍, 杨辉, 文晏, 等. 六味安神胶囊联合氟哌噻吨美利曲辛片治疗轻中度焦虑抑郁的临床研究[J]. 中国医药导报, 2019, 16(1): 149-152.

[4] 钮伟芳, 郑军然. 六味安神胶囊联合阿戈美拉汀片治疗老年抑郁症伴失眠的临床研究[J]. 转化医学杂志, 2024, 13(7): 1127-1131.

[5] 毛龙金, 高志勤, 丁松柏, 等. 六味安神胶囊联合艾司西酞普兰治疗抑郁症临床疗效观察[J]. 临床军医杂志, 2024, 52(10): 1010-1013.

[6] 冉思邈, 鲁海菲, 叶子靖, 等. 六味安神胶囊对睡眠剥夺斑马鱼模型的节律基因、雌激素水平以及卵巢功能的影响[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2023, 25(11): 3728-3735.

[7] 李童, 谢光璟, 王瑛, 等. 基于突触可塑性探讨六味安神胶囊对 D-gal 诱导亚急性衰老小鼠学习记忆的影响[J].

中国老年学杂志, 2024, 44(16): 3970-3975.

[8] Li L Y, Liu S Z, Yu X, et al. Liuwei Anshen Capsule alleviates cognitive impairment induced by sleep deprivation by reducing neuroapoptosis and inflammation[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 341: 119311.

[9] Zhao Y, Wang S J, Pan J, et al. Verbascoside: A neuroprotective phenylethanoid glycosides with anti-depressive properties[J]. *Phytomedicine*, 2023, 120: 155027.

[10] Yang W S, Shi Z G, Dong X Z, et al. Involvement of 5-HT-BDNF signaling axis in mediating synergistic antidepressant-like effects after combined administration of two oligosaccharide esters[J]. *Food Sci Nutr*, 2021, 9(2): 1180-1191.

[11] Chen J, Li L F, Hu X R, et al. Network pharmacology-based strategy for elucidating the molecular basis for the pharmacologic effects of Licorice (*Glycyrrhiza* spp.) [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 590477.

[12] Scoditti E. Neuroinflammation and neurodegeneration: The promising protective role of the *Citrus* flavanone hesperetin[J]. *Nutrients*, 2020, 12(8): 2236.

[13] Wu M C, Gao Y H, Zhang C, et al. Liensinine and neferine exert neuroprotective effects via the autophagy pathway in transgenic *Caenorhabditis elegans*[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2023, 23(1): 386.

[14] 张莉, 卢仁睿, 王慧慧, 等. 地黄苷 D 对皮质酮诱导的 PC-12 细胞损伤的保护作用及机制研究[J]. 中草药, 2022, 53(11): 3385-3393.

[15] Dong Z Q, Xie Q L, Xu F Y, et al. Neferine alleviates chronic stress-induced depression by regulating monoamine neurotransmitter secretion and gut microbiota structure[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 974949.

[16] 王秀云, 李云, 朱含笑, 等. 甘草苷对脑卒中后抑郁大鼠额前皮质脑源性神经营养因子及 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2021, 23(6): 647-650.

[17] 陈琴, 郑文惠, 白海英, 等. 甘草抗炎活性质量标志物筛选[J]. 中成药, 2024, 46(9): 2841-2850.

[18] 刘成东, 李君, 张谦, 等. HPLC-MS/MS 法同时测定安神补心六味丸中 12 种成分的含量及其化学模式识别研究[J]. 中成药, 2025, 47(9): 2834-2840.

[19] 庄珊珊, 周琳, 洪芳, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定灯盏生脉胶囊中 22 种皂苷的含量[J]. 中成药, 2025, 47(11): 3533-3540.

[20] 宿曼筠, 傅超, 郑玉玲, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定乳康胶囊中 14 种成分的含量[J]. 中成药, 2026, 48(2): 372-376.