

# 麝川脑立通颗粒的HPLC指纹图谱及一测多评含量测定方法研究<sup>△</sup>

张笑颜<sup>1\*</sup>, 丁凯茹<sup>2</sup>, 张红<sup>1</sup>, 支文冰<sup>1</sup>, 姜盛楠<sup>1</sup>, 许宗仁<sup>1</sup>, 崔妮<sup>3,4</sup>, 卫向锋<sup>3,4</sup>, 刘洋<sup>1#</sup>[1. 陕西省中医药研究院(陕西省中医医院)中药研究所, 西安 710003; 2. 西北大学生命科学学院, 西安 710069; 3. 西安中医脑病医院制剂中心, 西安 710032; 4. 西安市中药制剂工程技术研究中心, 西安 710032]

中图分类号 R917;R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)19-2409-06  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.19.09



**摘要** 目的 为优化和提升麝川脑立通颗粒的质量标准提供参考依据。方法 以15批麝川脑立通颗粒为样品,通过《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》建立其高效液相色谱(HPLC)指纹图谱,进行相似度评价和共有峰指认,并通过正交偏小二乘-判别分析(OPLS-DA)对其进行质量差异评价,筛选质量差异性成分。以丹酚酸B(SAB)为内参物,建立京尼平苷酸(GA)、绿原酸(CA)、王不留行黄酮苷(VA)、阿魏酸(FA)、洋芎内酯I(SI)的一测多评法,并与外标法测定结果进行比较。结果 在15批样品指纹图谱中共标定出13个共有峰,图谱相似度均大于0.96;指认出其中7个色谱峰,分别为GA(峰3)、CA(峰6)、VA(峰8)、FA(峰9)、SI(峰11)、SAB(峰12)、TA(峰13)。OPLS-DA结果表明,15批样品的质量差异性成分为峰5、11(SI)、12(SAB)。以SAB为内参物,计算得GA、CA、VA、FA、SI的相对校正因子分别为1.058 4、0.594 3、0.643 3、0.342 7、0.262 8,一测多评法测得的15批样品中GA、CA、VA、FA、SI和SAB的平均含量分别为0.155 0、0.085 4、0.140 3、0.071 8、0.072 7、1.276 3 mg/g,与外标法测定结果差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 所建立的HPLC指纹图谱和一测多评法操作简便且高效、经济,可为麝川脑立通颗粒质量控制与深入开发提供参考。

**关键词** 麝川脑立通颗粒;指纹图谱;一测多评法;质量差异性成分;质量控制

## Study on HPLC fingerprint and quantitative analysis of multi-components by single-marker content determination method for Shechuan naolitong granules

ZHANG Xiaoyan<sup>1</sup>, DING Kairu<sup>2</sup>, ZHANG Hong<sup>1</sup>, ZHI Wenbing<sup>1</sup>, JIANG Shengnan<sup>1</sup>, XU Zongren<sup>1</sup>, CUI Ni<sup>3,4</sup>, WEI Xiangfeng<sup>3,4</sup>, LIU Yang<sup>1#</sup>[1. Institute of Chinese Materia Medica, Shaanxi Academy of Traditional Chinese Medicine (Shaanxi Hospital of TCM), Xi'an 710003, China; 2. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China; 3. Medicine Preparation Center, Xi'an TCM Hospital of Encephalopathy, Xi'an 710032, China; 4. Xi'an TCM Preparation Engineering Technology Research Center, Xi'an 710032, China]

**ABSTRACT** **OBJECTIVE** To provide a reference for optimizing and promoting the quality standards of Shechuan naolitong granules. **METHODS** Fifteen batches of Shechuan naolitong granules were used as samples to establish HPLC fingerprints using the *Similarity Evaluation System for Chromatographic Fingerprint of Traditional Chinese Medicine (2012 edition)*. Similarity evaluation and common peak identification were performed, and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) was used to assess quality differences among different batches and to screen quality differential components. Using salvianolic acid B (SAB) as the internal reference, quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) was developed to simultaneously determine geniposidic acid (GA), chlorogenic acid (CA), vaccarin (VA), ferulic acid (FA) and senkyunolide I (SI). The results were compared with those obtained by the external standard method. **RESULTS** A total of 13 common peaks were identified in the HPLC fingerprints of 15 batches of samples, and the similarities of the spectra were all above 0.96. Seven chromatographic peaks

were identified as GA (peak 3), CA (peak 6), VA (peak 8), FA (peak 9), SI (peak 11), SAB (peak 12) and TA (peak 13). OPLS-DA indicated that the differential quality markers among 15 batches were peaks 5, 11 (SI), and 12 (SAB). Using SAB as the internal reference, the relative correction factors for GA, CA, VA, FA and SI were calculated as 1.058 4, 0.594 3, 0.643 3, 0.342 7 and 0.262 8, respectively. The mean content of GA, CA, VA, FA, SI and SAB across the 15 batches of samples were 0.155 0, 0.085 4, 0.140 3, 0.071 8, 0.072 7, 1.276 3 mg/g, respectively, showing no

<sup>△</sup>基金项目 陕西省重点研发计划项目(No.2021ZDLSF04-06);西安市科技计划项目(No.23YXYJ0175);陕西省中医药管理局中医药科技创新提质扩能计划项目(No.TZKN-CXRC-05);国家中医药管理局宋虎杰全国名老中医药专家传承工作室建设项目;国家中医药管理局中药创新能力提升项目(No.GHC-2024-ZFGM-376);西安市卫生健康委员会中医药科研项目(No.SZZ202403)

\*第一作者 研究实习生,硕士。研究方向:中药质量控制与分析。  
E-mail: zhangxy9605@163.com

#通信作者 副研究员,博士。研究方向:中药药效物质基础。  
E-mail: liuyang311111@163.com

significant difference compared with the ESM ( $P>0.05$ ). **CONCLUSIONS** The established HPLC fingerprint and QAMS are simple, efficient and economical, providing a reference for the quality control and further development of Shechuan naolitong granules.

**KEYWORDS** Shechuan naolitong granules; fingerprint; quantitative analysis of multi-components by single-marker method; differential quality markers; quality control

化脓性脑膜炎是一种由肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌等病原体感染引起的神经系统急性重症,主要表现为高热、头痛、呕吐、嗜睡、昏迷等意识障碍症状,若治疗不当可能导致脑水肿、癫痫、中枢神经功能障碍甚至死亡<sup>[1]</sup>。针对化脓性脑膜炎,目前临床治疗策略主要包括早期抗生素控制感染、糖皮质激素减轻炎症损伤、降低颅内压防止脑疝及对症支持治疗等,而抗生素耐药、炎症后遗症及药物不良反应等问题是当前治疗的主要挑战<sup>[2]</sup>。近年来,中医药治疗化脓性脑膜炎疗效突出。田丰铭等<sup>[3]</sup>依据病程进展和病机特点将化脓性脑膜炎分为“热、湿、瘀、虚”4个阶段,其中“瘀阻脑窍”证期严重影响疾病的转归与后遗症的发生。此时患者热势渐退,但热毒蓄积已久,气阴已虚,虚滞成瘀,毒瘀互结,毒邪内闭,导致阳气外脱、病情危重<sup>[4]</sup>,易诱发脑积水、癫痫等后遗症<sup>[5]</sup>。

麝川脑立通颗粒(制剂备案号:陕药制备字Z20230408000)是西安中医脑病医院针对化脓性脑膜炎“瘀阻脑窍”病机研发的医疗机构制剂,由川芎、丹参、全蝎、人工麝香、水蛭、炒王不留行、车前子、路路通8味中药组方而成,临床主治梗阻性脑积水、化脓性脑膜炎属“瘀阻脑窍”证型者。临床研究表明,麝川脑立通颗粒可显著改善化脓性脑膜炎患者的意识障碍,减少中枢神经系统及外周血中炎症介质的释放,且安全性良好<sup>[1]</sup>。目前,该制剂的质量控制主要依赖于薄层色谱鉴别方法,仅能够实现对部分特征成分的定性识别,尚缺乏对主要药效成分的定量分析与制剂整体化学特征的全面表征,难以全面反映制剂的内在质量和批间一致性。由于该制剂尚未被2020年版《中国药典》收载,本研究参照2020年版《中国药典》(一部)中该组方的君药川芎和丹参的质量标准,选取阿魏酸(ferulic acid,记为“FA”)、丹酚酸B(salvianolic acid B,记为“SAB”)等药典收载成分作为关键含量指标,以保证检测的科学性和规范性;在此基础上通过指纹图谱表征其整体化学组成及批间稳定性,并结合一测多评法(quantitative analysis of multi-components by single-marker, QAMS)实现多个成分的同时含量测定,为优化和提升麝川脑立通颗粒的质量标准提供参考依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有:1260型高效液相色谱(HPLC)仪(美国Agilent公司)、LC-2010 HT型HPLC仪(日本Shimadzu公司)、SQP型十万分之一电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]、XM-P22H型无级调功超声波清洗机[小美超声仪器(昆山)有限公司]。

### 1.2 主要药品与试剂

麝川脑立通颗粒(批号分别为20220701、20220702、20220703、20220704、20220705、20230501、20230502、20230503、20230701、20230702、20241101、20241102、20241103、20241104、20241105,样品编号依次为S1~S15,规格均为每袋5g)由西安中医脑病医院提供;对照品京尼平苷酸(geniposidic acid,记为“GA”;批号O30IB228770)、绿原酸(chlorogenic acid,记为“CA”;批号A22GB158496)、王不留行黄酮苷(vaccarin,记为“VA”;批号G24J11L119380)、FA(批号JB255905)、洋川芎内酯I(senkyunolide I,记为“SI”;批号M21HB178706)、SAB(批号JB298883)、丹参酮II<sub>A</sub>(tanshinone II<sub>A</sub>,记为“TA”;批号JB278528)均购自上海源叶生物科技有限公司,质量分数均不低于98%;乙腈为色谱纯,水为娃哈哈纯净水,其余试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

采用Kromasil 100-5-C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm),以乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B)为流动相进行梯度洗脱(0~7 min, 5%A; 7~12 min, 5%A→10%A; 12~40 min, 10%A→22%A; 40~60 min, 22%A→25%A; 60~80 min, 25%A→45%A; 80~85 min, 45%A→70%A; 85~95 min, 70%A→90%A; 95~100 min, 90%A);流速为1.0 mL/min;检测波长为254 nm(GA)、280 nm(CA、VA、FA、SI、SAB、TA);柱温为25℃;进样量为5 μL。

### 2.2 溶液的制备

#### 2.2.1 混合对照品溶液的制备

分别取GA、CA、VA、FA、SI、SAB、TA对照品适量,精密称定,用70%甲醇溶解制成上述成分质量浓度依次为184.0、172.0、78.2、153.2、178.4、722.0、10.6 μg/mL的混合对照品溶液。

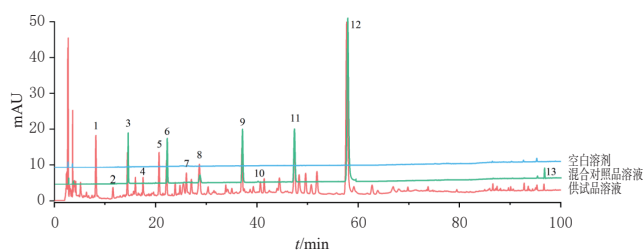
## 2.2.2 供试品溶液的制备

取麝香脑立通颗粒粉末(过四号筛)0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入70%甲醇25 mL,密塞并称定质量,超声30 min,放冷;再次称定质量并补足减失的质量,摇匀滤过,蒸干;残渣加70%甲醇溶解并定容至5 mL容量瓶中,0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,即得。

## 2.3 指纹图谱分析

### 2.3.1 专属性考察

取空白溶剂(70%甲醇)、“2.2.1”项下混合对照品溶液和“2.2.2”项下供试品溶液(编号S11),按“2.1”项下色谱条件进样测定,色谱图见图1。由图1可见,混合对照品溶液及供试品溶液中各待测成分色谱峰与相邻色谱峰间的分离度均大于1.5,理论板数均大于5 000,且空白溶剂对测定无干扰,表明该方法专属性良好。



3:GA;6:CA;8:VA;9:FA;11:SI;12:SAB;13:TA。

图1 空白溶剂、混合对照品溶液和供试品溶液的色谱图

### 2.3.2 精密度考察

取“2.2.2”项下供试品溶液(编号S11),按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,以峰12为参照峰,计算得各共有峰相对保留时间(relative retention time, RRT)的 $\text{RSD} \leq 1.61\%$ 、相对峰面积(relative peak area, RPA)的 $\text{RSD} \leq 2.82\%$  ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.3.3 重复性考察

取麝香脑立通颗粒(编号S11)粉末6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以峰12为参照峰,计算得各共有峰RRT的 $\text{RSD} \leq 1.32\%$ 、RPA的 $\text{RSD} \leq 3.47\%$  ( $n=6$ ),表明该方法重复性良好。

### 2.3.4 稳定性考察

取“2.2.2”项下供试品溶液(编号S11),分别于制备后0、2、4、8、12、24 h按“2.1”项下色谱条件进样测定,以峰12为参照峰,计算得各共有峰RRT的 $\text{RSD} \leq 1.61\%$ 、RPA的 $\text{RSD} \leq 2.82\%$  ( $n=6$ ),表明该供试品溶液在制备后24 h内稳定性良好。

### 2.3.5 指纹图谱的建立及相似度评价

取15批麝香脑立通颗粒样品(编号S1~S15)的供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析,将色谱信息导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》,以编号S11的样品色谱图为参照图谱,设置时间窗宽度为

0.1 min,经多点校正后进行Mark峰匹配,生成15批样品的指纹图谱,并采用中位数法生成对照图谱R。结果(图2)显示,在15批样品中共确定13个共有峰。经与混合对照品溶液图谱(图1)比对,指认了其中7个共有峰,分别为GA(峰3)、CA(峰6)、VA(峰8)、FA(峰9)、SI(峰11)、SAB(峰12)、TA(峰13)。以对照图谱R为参照,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012版)》计算15批样品图谱的相似度。结果显示,15批样品图谱与对照图谱R的相似度在0.961~1.000范围内,各批次样品共有峰峰面积的 $\text{RSD}$ 为7.7%~47.5% ( $n=15$ )。这提示不同批次样品的质量整体较为稳定,但样品中各成分含量仍存在差异。

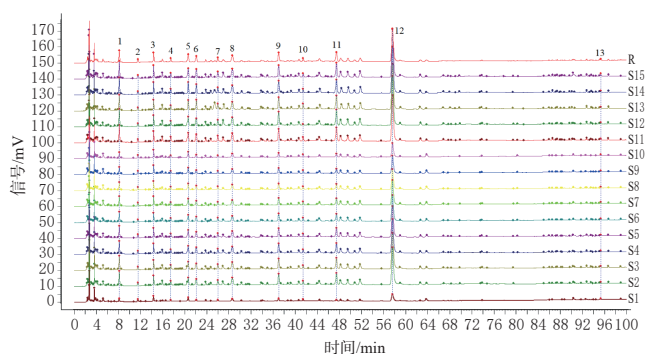


图2 15批麝香脑立通颗粒的HPLC指纹图谱及对照图谱R

### 2.3.6 不同批次麝香脑立通颗粒的质量差异评价

将15批麝香脑立通颗粒样品的13个共有峰的峰面积导入SIMCA 14.1软件进行正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)。结果显示,模型对 $X$ 和 $Y$ 矩阵的解释率( $R^2X$ 、 $R^2Y$ )及模型预测有效性指标( $Q^2$ )分别为0.969、0.722、0.535,均大于0.5,提示该模型可用于不同批次麝香脑立通颗粒的有监督判别分析。OPLS-DA得分图(图3A)显示,编号S1、S6~S10的样品聚为一类,编号S2~S5的样品聚为一类,编号S11~S15的样品聚为一类。对建立的OPLS-DA模型进行200次置换检验,结果显示,截距 $R^2=0.093$ 、 $Q^2=-0.456$ ,且 $R^2$ 和 $Q^2$ 的回归线斜率为正,提示该模型无过拟合现象,可用于进一步的数据分析<sup>[5-6]</sup>。变量投影重要性(variable importance in projection, VIP)是影响组间差异的重要指标,通常以 $\text{VIP} > 1$ 为标准筛选不同批次药物的质量差异性成分<sup>[7]</sup>,结果(图3B)显示,峰12、5、11的VIP均大于1,可能为15批样品潜在的质量差异性成分,其中峰11、12经对照品指认分别为SI和SAB。

## 2.4 6种成分的QAMS含量测定

### 2.4.1 线性关系考察

精密吸取“2.2.1”项下混合对照品溶液0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mL,用70%甲醇定容至5 mL容量瓶中,摇匀,即

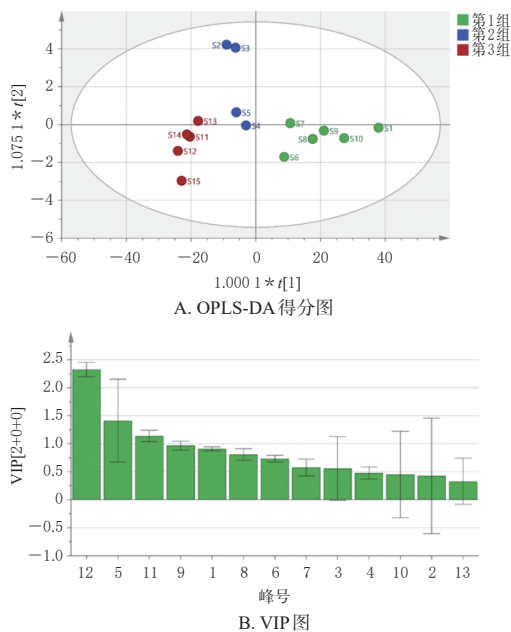


图3 15批麝川脑立通颗粒样品的OPLS-DA得分图和VIP图

得系列质量浓度的混合对照品溶液。分别取上述系列混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析,以各成分的进样质量浓度为横坐标( $X$ )、峰面积为纵坐标( $Y$ )绘制标准曲线,得到的线性回归方程见表1。由表1可见,在进样质量浓度范围内,各成分峰面积与其质量浓度线性关系良好。

表1 麝川脑立通颗粒中6种成分的线性关系考察结果

成分	回归方程	$R^2$	线性范围( $\mu\text{g/mL}$ )
GA	$Y=3\,532.6X-0.200\,0$	0.999\,9	3.680~73.600
CA	$Y=6\,268.1X-0.165\,6$	0.999\,9	3.440~68.800
VA	$Y=5\,773.3X+0.042\,6$	0.999\,9	1.564~31.280
FA	$Y=10\,790.X+0.806\,4$	1.000\,0	3.064~61.280
SI	$Y=14\,094.X+0.886\,4$	1.000\,0	3.568~71.360
SAB	$Y=3\,766.5X-6.561\,2$	1.000\,0	14.440~288.800

#### 2.4.2 精密度考察

取“2.2.2”项下供试品溶液(编号S11),按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,记录GA、CA、VA、FA、SI、SAB的峰面积,计算得各成分峰面积的RSD均不大于2.08%( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

#### 2.4.3 重复性考察

取麝川脑立通颗粒(编号S11)粉末6份,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录GA、CA、VA、FA、SI、SAB的峰面积,按标准曲线法计算各成分含量。结果,各成分含量的RSD均不大于3.29%( $n=6$ ),表明方法重复性良好。

#### 2.4.4 稳定性考察

取“2.2.2”项下供试品溶液(编号S11),分别于制备后0、2、4、8、12、24 h按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录GA、CA、VA、FA、SI、SAB的峰面积,计算得各成分峰

面积的RSD均不大于2.08%( $n=6$ ),表明该供试品溶液在制备后24 h内稳定性良好。

#### 2.4.5 加样回收率考察

取已知含量的麝川脑立通颗粒(编号S11)粉末0.25 g,共6份,分别精密加入含GA 38.64  $\mu\text{g}$ 、CA 27.52  $\mu\text{g}$ 、VA 44.574  $\mu\text{g}$ 、FA 22.98  $\mu\text{g}$ 、SI 24.976  $\mu\text{g}$ 、SAB 447.64  $\mu\text{g}$ 的70%甲醇溶液25 mL,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。经计算,GA、CA、VA、FA、SI、SAB的平均加样回收率分别为93.1%、94.0%、99.0%、93.7%、99.5%、100.5%,RSD分别为2.49%、2.07%、0.46%、1.59%、1.15%、1.04%( $n=6$ ),表明该分析方法准确度良好。

#### 2.4.6 相对校正因子的测定

取“2.4.1”项下5个质量浓度的混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以SAB为内参物,分别计算SAB与GA、CA、VA、FA、SI的相对校正因子( $f_{ci}$ )<sup>[8]</sup>。结果显示,GA、CA、VA、FA、SI的 $f_{ci}$ 分别为1.058 4、0.594 3、0.643 3、0.342 7、0.262 8,RSD均小于1.12%( $n=5$ )。

#### 2.4.7 耐用性考察

取“2.2.1”项下混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,分别考察2种不同HPLC仪(型号分别为1260、LC-2010 HT)、3种不同色谱柱[Kromasil 100-5- $C_{18}$ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、Agilent Zorbax SB-Aq  $C_{18}$ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )、Welch Ultimate LP- $C_{18}$ (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )]对各成分 $f_{ci}$ 的影响,结果见表2。采用1260型HPLC仪、Kromasil 100-5- $C_{18}$ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )考察不同柱温、流速对 $f_{ci}$ 稳定性的影响,结果见表3。由表2、表3可见,不同条件下各成分 $f_{ci}$ 的RSD均不大于2.59%( $n=4$ 或 $n=3$ ),表明该方法耐用性较好。

表2 不同HPLC仪和色谱柱对 $f_{ci}$ 的影响

仪器	色谱柱	$f_{SABGA}$	$f_{SABCA}$	$f_{SABVA}$	$f_{SABFA}$	$f_{SABSI}$
1260型HPLC仪	Kromasil 100-5- $C_{18}$	1.058 4	0.594 3	0.643 3	0.342 7	0.262 8
	Agilent Zorbax SB-Aq $C_{18}$	1.043 2	0.587 1	0.641 9	0.332 6	0.251 9
	Welch Ultimate LP- $C_{18}$	1.050 9	0.589 4	0.632 7	0.341 8	0.267 8
LC-2010 HT型HPLC仪	Kromasil 100-5- $C_{18}$	1.041 2	0.586 6	0.649 3	0.349 6	0.263 4
均值		1.048 4	0.589 4	0.641 8	0.341 7	0.261 5
RSD/%		0.75	0.60	1.07	2.04	2.59

表3 不同色谱柱柱温、流速对 $f_{ci}$ 的影响

色谱条件	具体参数	$f_{SABGA}$	$f_{SABCA}$	$f_{SABVA}$	$f_{SABFA}$	$f_{SABSI}$
柱温/ $^{\circ}\text{C}$	20	1.047 6	0.589 6	0.623 3	0.336 9	0.259 4
	25	1.058 4	0.594 3	0.643 3	0.342 7	0.262 8
	30	1.059 6	0.576 4	0.647 6	0.345 1	0.269 1
流速/(mL/min)	0.8	1.042 1	0.591 0	0.637 1	0.336 1	0.261 7
	1.0	1.058 4	0.594 3	0.643 3	0.342 7	0.262 8
	1.2	1.049 7	0.583 2	0.640 9	0.341 9	0.260 4
均值		1.052 6	0.588 1	0.639 3	0.340 9	0.262 7
RSD/%		0.68	1.20	1.34	1.05	1.30

### 2.4.8 色谱峰定位

取“2.4.1”项下5个质量浓度的混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定,以SAB为内参物,采用相对保留时间( $t_{ic}$ )法进行5种成分的色谱峰定位<sup>[9]</sup>,分别计算GA、CA、VA、FA、SI与内参物SAB的 $t_{ic}$ 。结果显示,GA、CA、VA、FA、SI与内参物SAB的 $t_{ic}$ 分别为0.250、0.383、0.496、0.642、0.823, RSD $\leq$ 1.32% ( $n=5$ ),表明通过 $t_{ic}$ 定位各色谱峰具有可行性。

### 2.4.9 样品含量测定及比较

取15批麝川脑立通颗粒样品,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液并按“2.1”项下色谱条件进样测定,以SAB为内参物,采用QAMS计算GA、CA、VA、FA、SI含量,并与外标法(external standard method, ESM)测得结果比较,计算相对误差(relative error, RE)。每批样品平行测定2次,结果以平均值呈现。结果(表4)显示,采用ESM与QAMS测得的各成分的含量差异较小,除编号S1样品中的SI外,其余各批次样品中各成分的RE均在 $\pm 5\%$ 内。采用SPSS 25.0软件中的两独立样本 $t$ 检验对2种方法所测各成分含量进行统计分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。结果显示,2种方法所测各成分的含量差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),表明所建立的QAMS的测定结果准确度良好。

## 3 讨论

### 3.1 样品提取方法及色谱条件的优化

本研究对样品的提取溶剂(甲醇和30%、50%、70%甲醇)及提取时间(15、30、45 min)进行了优化比较。结果表明,使用70%甲醇超声提取30 min时,色谱峰响应良好且杂质干扰较少,适宜作为样品的提取条件。通过对样品进行200~400 nm全波长扫描发现,280 nm波长处色谱峰数量最多,指纹图谱特征最为明显,且CA、

VA、FA、SI、SAB在该波长下均有较强吸收,但GA响应较低,因此本研究最终采用280、254 nm双波长同步测定上述6种成分的含量。在流动相体系的选择中,本研究分别考察了甲醇-水、乙腈-水、乙腈-0.1%磷酸、甲醇-0.1%磷酸及乙腈-0.2%磷酸体系,结果显示,以乙腈-0.1%磷酸为流动相体系时分离效果最佳、峰形良好,可用于后续分析。

### 3.2 指标成分的选择

《黄帝内经》有云“瘀血不去,新血难安”,提示活血化瘀在治疗“瘀阻脑窍”型化脓性脑膜炎中的重要作用<sup>[10]</sup>。麝川脑立通颗粒组方中丹参、川芎为君药,活血化瘀开窍;炒王不留行、路路通、车前子为臣药,通络利水;全蝎、水蛭为佐药,破瘀通络;人工麝香为使药,引诸药归于脑窍。诸药合用,共奏开脑窍、通筋络、化瘀血、消积水的功效。现代药理作用研究表明,GA可通过抑制核因子 $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、白细胞介素1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等炎症信号通路,减轻脑膜炎引起的炎症级联反应<sup>[11]</sup>;CA可以减轻蛛网膜下腔出血大鼠的脑水肿和神经行为障碍,发挥神经保护作用<sup>[12]</sup>;VA能减少IL-6、TNF- $\alpha$ 等炎症因子的分泌,抑制神经炎症<sup>[13]</sup>;FA通过抑制神经胶质纤维酸性蛋白的表达,保护神经系统,减轻认知功能损害<sup>[14]</sup>;SI通过抑制促分裂原活化的蛋白质激酶/NF- $\kappa$ B信号通路,减少促炎细胞因子释放,并改善脑部微循环,减少脑水肿<sup>[15]</sup>;SAB则能有效抑制金黄色葡萄球菌感染所致肺炎幼鼠小胶质细胞的激活和NF- $\kappa$ B信号通路,减轻脑组织炎症反应<sup>[16]</sup>;TA被证实对细菌性脑膜炎大鼠海马损伤有保护作用,其机制可能与抑制NF- $\kappa$ B信号通路相关<sup>[17]</sup>。在实验过程中笔者发现,TA虽在分析时间约96 min处检出,但含量低于0.1%,低于检

表4 15批麝川脑立通颗粒样品各成分的QAMS与ESM含量测定结果(mg/g,  $n=2$ )

编号	SAB	GA			CA			VA			FA			SI		
		ESM	QAMS	RE/%	ESM	QAMS	RE/%	ESM	QAMS	RE/%	ESM	QAMS	RE/%	ESM	QAMS	RE/%
S1	0.301 7	0.093 6	0.093 9	0.32	0.028 7	0.028 6	-0.35	0.053 6	0.053 8	0.37	0.020 1	0.020 8	3.48	0.009 2	0.009 8	6.52
S2	1.540 5	0.133 3	0.133 9	0.45	0.100 0	0.100 3	0.30	0.162 0	0.162 5	0.31	0.085 3	0.085 9	0.70	0.089 0	0.089 6	0.67
S3	1.443 8	0.138 8	0.139 6	0.58	0.095 0	0.095 3	0.32	0.155 9	0.156 4	0.32	0.079 8	0.080 5	0.88	0.083 2	0.083 8	0.72
S4	1.349 7	0.166 1	0.167 1	0.60	0.088 8	0.089 0	0.23	0.144 7	0.145 2	0.35	0.074 2	0.074 8	0.81	0.076 3	0.077 0	0.92
S5	1.233 9	0.165 9	0.166 9	0.60	0.081 8	0.082 0	0.24	0.134 5	0.135 0	0.37	0.067 8	0.068 4	0.88	0.068 7	0.069 3	0.87
S6	1.022 4	0.161 6	0.162 6	0.62	0.070 3	0.070 4	0.14	0.116 6	0.117 0	0.34	0.058 1	0.058 7	1.03	0.055 4	0.056 0	1.08
S7	0.968 9	0.175 8	0.176 9	0.63	0.068 4	0.068 5	0.15	0.115 1	0.115 4	0.26	0.055 1	0.055 7	1.09	0.050 2	0.050 8	1.20
S8	0.806 6	0.173 2	0.174 2	0.58	0.059 1	0.059 1	0	0.101 6	0.101 9	0.30	0.046 6	0.047 3	1.50	0.040 8	0.041 4	1.47
S9	0.702 3	0.182 5	0.183 6	0.60	0.054 4	0.054 5	0.18	0.095 5	0.095 8	0.31	0.042 1	0.042 8	1.66	0.033 8	0.034 4	1.78
S10	0.548 9	0.178 6	0.179 7	0.62	0.045 9	0.045 9	0	0.081 9	0.082 2	0.37	0.034 2	0.034 9	2.05	0.024 6	0.025 2	2.44
S11	1.808 6	0.162 6	0.163 5	0.55	0.115 0	0.115 4	0.35	0.182 3	0.182 8	0.27	0.096 8	0.097 4	0.62	0.104 4	0.105 1	0.67
S12	1.913 9	0.070 1	0.070 2	0.14	0.117 3	0.117 7	0.34	0.206 4	0.207 0	0.29	0.109 7	0.110 3	0.55	0.119 6	0.120 2	0.50
S13	1.751 0	0.189 8	0.191 0	0.63	0.109 1	0.109 5	0.37	0.165 9	0.166 4	0.30	0.097 8	0.098 4	0.61	0.110 6	0.111 2	0.54
S14	1.834 1	0.162 3	0.163 3	0.62	0.119 6	0.120 0	0.33	0.188 0	0.188 6	0.32	0.107 6	0.108 2	0.56	0.105 7	0.106 4	0.66
S15	1.918 2	0.158 2	0.159 1	0.57	0.123 7	0.124 1	0.32	0.193 5	0.194 1	0.31	0.092 3	0.092 8	0.54	0.109 3	0.109 9	0.55
均值	1.276 3	0.154 2	0.155 0	0.57	0.085 1	0.085 4	0.25	0.139 8	0.140 3	0.31	0.071 2	0.071 8	0.88	0.072 1	0.072 7	0.86

测的定量限,笔者推测这可能与颗粒剂水煎煮提取导致脂溶性成分提取效率较低有关。因此,本研究仅对GA、CA、VA、FA、SI、SAB共6种成分进行定量分析。

### 3.3 质量差异评价结果分析

指纹图谱相似度分析结果显示,各批次样品与对照图谱R的相似度在0.961~1.000之间,提示制剂整体质量较为一致,然而各共有峰峰面积的RSD为7.7%~47.5%,表明不同批次样品间成分含量仍存在差异。通过OPLS-DA对15批样品进行分类。结果显示,编号S1、S6~S10的样品聚为一类,编号S2~S5的样品聚为一类,编号S11~S15的样品聚为一类。VIP分析初步筛选出SI、SAB及另一个尚未明确的标志物(峰5)为批间差异的潜在贡献成分。上述结果说明,尽管制剂整体质量较为稳定,但关键成分含量可能受制于原料或工艺因素而仍存在差异。采用ESM和QAMS对15批麝川脑立通颗粒进行6种成分的定量比较,结果显示,2种方法所测结果差异无统计学意义,表明QAMS可实现准确、可靠的多指标含量测定。

综上所述,本研究建立的指纹图谱和HPLC-QAMS具有操作简便、结果准确的特点,适用于麝川脑立通颗粒的多成分质量评价。该方法可作为指纹图谱协同的定量补充手段,用于不同批次麝川脑立通颗粒的量化比较,为其工艺优化、质量追溯和标准化生产提供了科学依据和数据支撑。

### 参考文献

[1] 巩红霞,黄宁利,冯琴,等.加用麝穿脑立通颗粒治疗成人化脓性脑膜炎50例[J].中国药业,2015,24(20):111-112.

[2] 易鹏飞,万慕媛,朱慧婷.糖皮质激素类药物在江西省儿科神经系统疾病临床应用情况分析[J].药品评价,2024,21(7):902-906.

[3] 田丰铭,王钰莹,莫敏,等.基于“邪伏膜原”论治急性脑膜感染[J].中国中医急症,2021,30(9):1602-1606.

[4] 乔素华,丁敬璞.银翘散加减汤联合美罗培南治疗化脓性脑膜炎临床观察[J].实用中医药杂志,2024,40(7):1376-1378.

[5] 唐飞飞,丁昊玥,方丹纯,等.一测多评法同时测定花椒和竹叶花椒中4个黄酮成分[J].药物分析杂志,2024,44(8):1320-1330.

[6] 段天华,徐荣荣,李蕊,等.基于UPLC特征图谱结合化学计量学与一测多评法的不同基原白芷质量控制方法研究[J].中国中药杂志,2025,50(4):1051-1062.

[7] 郝建威,张玖捌,毛春芹,等.羊脂油炙朝鲜淫羊藿的炮制工艺及特征图谱研究[J].中国药房,2025,36(5):546-551.

[8] 余武,丁婵,彭思源,等.基于HPLC指纹图谱和一测多评法的升麻饮片质量评价[J].中草药,2024,55(22):7828-7836.

[9] 李君,李荣杰,周枫叶,等.蒙药三子散质量评价研究:指纹图谱、化学模式识别和多成分分析[J].中国药房,2025,36(4):414-420.

[10] 罗伟康,唐涛,罗杰坤,等.从瘀论治创伤性脑出血[J].中国中西医结合杂志,2022,42(10):1244-1250.

[11] 周张玖智,侯加卫,任盟乔,等.京尼平苷酸对APP/PS1小鼠学习记忆能力及脑内淀粉样蛋白沉积的影响[J].石河子大学学报(自然科学版),2019,37(3):382-388.

[12] 郝广志,王振,石佐林,等.绿原酸减轻蛛网膜下腔出血大鼠的神经行为障碍和脑损伤[J].神经解剖学杂志,2024,40(5):588-592.

[13] FAN Q W, LIU D, CHU C Q, et al. Vaccarin alleviates renal ischemia-reperfusion injury by inhibiting inflammation and ferroptosis[J]. Int Immunopharmacol, 2025, 153: 114463.

[14] KHALIFA M, FAYED R H, AHMED Y H, et al. Ferulic acid ameliorates bisphenol A (BPA)-induced Alzheimer's disease-like pathology through Akt-ERK crosstalk pathway in male rats[J]. Psychopharmacology (Berl), 2025, 242(3):461-480.

[15] LI Q Q, WAN J B, ZHAO L. Research progress on the pharmacological activities of senkyunolides[J]. Acupunct Herb Med, 2023, 3(3):180-188.

[16] 李建成,冯斌.丹酚酸B对金黄色葡萄球菌肺炎幼年小鼠肺组织修复及脑神经保护作用的观察[J].郑州大学学报(医学版),2021,56(1):102-108.

[17] 李玉美,余资江,罗时鹏,等.丹参酮II<sub>A</sub>对细菌性脑膜炎大鼠海马区损伤的作用及机制[J].贵州医科大学学报,2023,48(11):1343-1349,1356.

(收稿日期:2025-06-06 修回日期:2025-08-25)

(编辑:林静)