

基于 UPLC-Q-TOF-MS 结合网络药理学、指纹图谱的散寒解热口服液质量标志物 (Q-Marker) 筛选及含量测定

李崧琳^{1,2}, 任智勇³, 游小林³, 毕雨晴^{1,2}, 张宇^{1,2}, 吴彤^{1,2}, 欧阳丹薇^{1,2*}

1. 中国医药工业研究总院, 上海 201203

2. 上海医药工业研究院有限公司 先导物成药性研究全国重点实验室, 上海 201203

3. 国药集团宜宾制药有限公司, 四川 宜宾 644100

摘要: **目的** 基于质量标志物 (Q-Marker) “五原则”, 整合超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS)、血清药物化学与网络药理学技术, 筛选散寒解热口服液 Q-Marker, 建立 UPLC 指纹图谱及多指标含量测定方法, 完善其质量评价体系。 **方法** 采用 UPLC-Q-TOF-MS 技术系统解析散寒解热口服液的体外化学成分与入血原型成分; 结合网络药理学与分子对接技术初步筛选与治疗风寒感冒相关的潜在 Q-Marker; 建立 14 批制剂的 UPLC 指纹图谱, 标定共有峰并开展批次相似度评价; 建立多指标 UPLC 定量测定方法。 **结果** 共鉴定得到 151 个体外化学成分与 35 个入血原型成分, 筛选获得 15 个靶向治疗风寒感冒的潜在 Q-Marker。结合“点-线-面-体”综合评价模式与 UPLC 可测性验证, 最终确立 9 个核心 Q-Marker, 包括葛根素、3'-甲氧基葛根素、葛根素芹菜糖苷、芍药苷、葛根素-6"-O-木糖苷、大豆苷、甘草酸、D-苦杏仁苷、肉桂酸; 同时确定葛根素-4'-β-D-葡萄糖苷、3'-羟基葛根素 2 个高含量成分为指示性 Q-Marker。所建 UPLC 指纹图谱共标定 21 个共有峰, 结合对照品指认其中 13 个成分, 14 批样品相似度均大于 0.99, 批次质量一致性良好。多指标定量方法符合药典分析要求, 可用于制剂样品的含量测定。 **结论** 明确了散寒解热口服液治疗风寒感冒的药效物质基础, 建立的 UPLC 指纹图谱及 11 个 Q-Marker 多指标定量检测方法准确、可靠, 可为该制剂的质量标准提升及临床应用提供实验依据。

关键词: 散寒解热口服液; UHPLC-Q-TOF-MS; 血清药物化学; 风寒感冒; 网络药理学; 指纹图谱; 质量标志物; 葛根素; 3'-甲氧基葛根素; 葛根素芹菜糖苷; 芍药苷; 葛根素-6"-O-木糖苷; 大豆苷; 甘草酸; D-苦杏仁苷; 肉桂酸

中图分类号: R286.0; R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2026)09-3143-14

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2026.09.015

Screening and quantification of quality markers (Q-Marker) in Sanhan Jiere Oral Liquid using UPLC-Q-TOF-MS combined with network pharmacology and fingerprint analysis

LI Qinlin^{1,2}, REN Zhiyong³, YOU Xiaolin³, BI Yuqing^{1,2}, ZHANG Yu^{1,2}, WU Tong^{1,2}, OUYANG Danwei^{1,2}

1. China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203, China

2. National Key Laboratory of Lead Druggability Research, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Co., Ltd., Shanghai 201203, China

3. Sinopharm Yibin Pharmaceutical Co., Ltd., Yibin 644100, China

Abstract: Objective To identify quality markers (Q-Marker) of Sanhan Jiere Oral Liquid based on the “five principles” of Q-Marker, integrating ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UPLC-Q-TOF-MS), serum pharmacochimistry, and network pharmacology techniques; to establish a UPLC fingerprint profile and a multi-component quantitative analysis method, thereby improving its quality evaluation system. **Methods** The *in vitro* chemical constituents and blood-borne parent compounds of Sanhan Jiere Oral Liquid were systematically analyzed using UPLC-Q-TOF-MS. Potential Q-Marker related to the treatment of wind-cold common cold were preliminarily screened by combining network pharmacology with molecular docking. A UPLC fingerprint profile was established for 14 batches of samples, common peaks were identified, and batch-to-batch similarity was

收稿日期: 2026-04-09

作者简介: 李崧琳, 硕士研究生, 主要从事中药质量控制研究。E-mail: lqlilyan@163.com

*通信作者: 欧阳丹薇, 研究员, 主要从事中药药效物质基础与中药质量控制研究。E-mail: ouyangdanwei@163.com

evaluated. A multi-component UPLC quantitative method was also developed. **Results** A total of 151 *in vitro* chemical components and 35 blood-borne parent compounds were identified, from which 15 potential Q-Marker targeting wind-cold common cold treatment were selected. Based on an integrated evaluation model of “point-line-surface-body” and UPLC detectability verification, nine core Q-Marker were finally confirmed: puerarin, 3'-methoxy puerarin, puerarin apioside, paeoniflorin, puerarin-6"-*O*-xyloside, daidzin, glycyrrhizic acid, *D*-amygdalin, and cinnamic acid. Additionally, two high-abundance components—puerarin-4'- β -*D*-glucoside and 3'-hydroxy puerarin—were identified as indicator Q-Marker. The established UPLC fingerprint profile revealed 21 common peaks, among which 13 were tentatively identified using reference standards. Similarity values for all 14 batches exceeded 0.99, indicating excellent consistency across batches. The multi-component quantitative method met pharmacopoeia analytical requirements and can be applied to content determination of the formulation. **Conclusion** The study clarified the material basis for the therapeutic effects of Sanhan Jiere Oral Liquid in treating wind-cold common cold. The established UPLC fingerprint profile and the multi-component quantitative method involving 11 Q-Marker are accurate and reliable, providing experimental support for enhancing the quality standard and clinical application of this preparation.

Key words: Sanhan Jiere Oral Liquid; UPLC-Q-TOF-MS; serum pharmacochimistry; wind-cold type common cold; network pharmacology; fingerprint; quality marker; puerarin; 3'-methoxy puerarin; puerarin apioside; paeoniflorin; puerarin-6"-*O*-xyloside; daidzin; glycyrrhizic acid; *D*-amygdalin; cinnamic acid

感冒是临床最为常见的急性上呼吸道感染性疾病之一^[1-2]。在中医辨证体系中,感冒主要分为风寒感冒、风热感冒等证型,其中中药复方制剂在风寒感冒的临床治疗中具备独特优势,且拥有扎实的临床应用基础^[3]。散寒解热口服液是依托仲景六经辨证学术思想研发的中药复方制剂(国药准字 Z20010062),组方包含葛根、麻黄、桂枝、白芍、苦杏仁、生姜、大枣、甘草 8 味中药材,具有散寒解表、宣肺止咳的功效,临床可用于风寒感冒的治疗。该制剂上市应用多年,疗效确切,且暂无不良反应相关报道^[4]。但目前其现行质量标准仅针对君药葛根中的葛根素进行单一指标含量测定,无法全面反映复方的整体质量特征,与中药复方多成分、多效应的复杂质量体系不相适配,难以保障制剂质量均一性与临床疗效稳定性。

网络药理学可构建中药“多成分-多靶点-多通路”的整体调控网络,与中医整体辨证、整体施治的核心思想高度契合,为阐释中药复方的药效物质基础与作用机制提供了新型研究技术体系^[5-7]。中药质量是保障临床用药安全有效的核心前提,但现阶段中药质量控制研究普遍存在碎片化问题,存在质控指标与药效关联性弱、专属性不足等缺陷,难以真实、全面地反映中药复杂体系的质量属性。对此,刘昌孝院士提出中药质量标志物(Q-Marker)创新概念,明确了传递与溯源、特有性、有效性、配伍环境、可测性五大核心原则,精准阐释了中药质量的科学本质,为现代中药质量控制体系的构建提供了全新理论支撑^[8-9]。

本研究严格遵循《中药质量标志物研究技术指南》^[8]的规范研究思路开展实验。首先,采用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)技术系统解析散寒解热口服液体外化学成分与入血原型成分,明确其治疗风寒感冒的体内暴露组分与核心药效物质基础,契合 Q-Marker 传递与溯源原则。其次,以筛选得到的入血活性成分为研究对象,结合网络药理学与分子对接技术,挖掘制剂治疗风寒感冒的核心靶点与信号通路,验证成分的有效性。在此基础上,建立散寒解热口服液 UPLC 指纹图谱,完整表征复方化学成分,通过相似度评价实现样品质量差异的直观判别;同时依托 Q-Marker 可测性原则,结合“点-线-面-体”多元质量评价模式,建立同时测定核心与指示性 Q-Marker 的 UPLC 多指标定量检测方法。本研究筛选确定的 Q-Marker 均可溯源至组方各单味药材,能够充分体现方剂“君臣佐使”的配伍特点,契合 Q-Marker 特有性与配伍环境核心要求。综上,本研究旨在为散寒解热口服液构建科学、全面、专属的整体质量控制体系,为该制剂的临床合理用药、疗效稳定发挥提供坚实的物质基础与理论依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

XevoG2-XSQTof 高分辨质谱仪、AcquityI-Class 超高效液相色谱仪,美国 Waters 公司; BuchiLyovaporTM L-200 冷冻干燥机,瑞士 Buchi 公司; H1850R 台式高速冷冻离心机,长沙湘仪离心机仪器有限公司; MS105DU 电子天平,瑞士梅特

勒-托利多公司; Milli-Q 超纯水机, 美国 Millipore 公司; SB-5200DTD 超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; Vanquish™ UHPLC 超高效液相色谱仪, 美国赛默飞公司。

1.2 药品与试剂

14 批散寒解热口服液, 批号 221003、221203、221218、240801、250202、250301、250302、250601、250603、260101、260102、260201、260202、260203, 依次编号 S1~S14, 由宜宾制药有限公司提供, 规格为每支 10 mL。对照品葛根素 (批号 12542-S241001, 质量分数 97.5%)、大豆苷 (批号 21432-S251001, 质量分数 96.5%)、*D*-苦杏仁苷 (批号 17910, 质量分数 93.9%)、甘草酸铵 (批号 18692-S250301, 质量分数 92.3%)、芍药苷 (批号 18857, 质量分数 95.9%)、苯甲酰芍药苷 (批号 13193, 质量分数 98.0%)、没食子酰芍药苷 (批号 13999, 质量分数 98.0%)、氧化芍药苷 (批号 12793, 质量分数 98.0%)、芍药苷亚硫酸酯 (批号 15002, 质量分数 98.0%)、芍药内酯苷 (批号 9606, 质量分数 98.0%)、苯甲酰氧化芍药苷 (批号 10072, 质量分数 98.0%)、芒柄花苷 (批号 19518-P250502, 质量分数 95.8%)、鸟苷 (批号 3877, 质量分数 98.0%), 上海诗丹德标准技术服务有限公司; 3'-甲氧基葛根素 (批号 PS012331, 质量分数 98.0%)、葛根素芹菜糖苷 (批号 PS012345, 质量分数 98.0%), 普思生物科技公司; 腺苷 (批号 AF9030405, 质量分数 98.0%) 购自成都挨法生物科技有限公司; 3'-羟基葛根素 (批号 CFS202501, 质量分数 98.0%)、葛根素-6"-*O*-木糖苷 (批号 CFS202402, 质量分数 98.0%)、杜荆素 (批号 CFS202402, 质量分数 98.0%)、刺槐素 (批号 CFS202402, 质量分数 98.0%), 武汉天植生物技术有限公司; 葛根素-4'- β -*D*-葡萄糖苷 (批号 A11HB190340, 质量分数 98.0%), 上海源叶生物科技有限公司; 肉桂酸 (批号 180009-202504, 质量分数 98.0%), 上海鸿永生物科技有限公司; 盐酸麻黄碱 (批号 171241-201809, 质量分数 100.0%)、盐酸伪麻黄碱 (批号 171237-201510, 质量分数 99.8%)、果糖 (批号 100231-201807, 质量分数 99.6%)、蔗糖 (批号 111507-201704, 质量分数 100.0%)、苯丙氨酸 (批号 140624-201506, 质量分数 100.0%) 均购自中国食品药品检定研究院。乙腈、甲醇均为色谱纯; 水为蒸馏水 (杭州娃哈哈集团有限公司); 其余试剂均为分析纯。

1.3 动物

健康雄性 SPF 级 SD 大鼠 15 只, 体质量 (200 $\pm$ 20) g, 由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供, 动物生产许可证号 SCXK (沪) 2022-0004, 在温度 (25 $\pm$ 1) °C、相对湿度 (50 $\pm$ 20) % 的自然光照环境下, 饲养于上海医药工业研究院药理评价研究中心实验动物中心, 经实验动物中心伦理委员会审查, 伦理审批号 A-2025-06-01。

2 方法与结果

2.1 散寒解热口服液化学成分及体内暴露成分解析

2.1.1 供试品溶液的制备 精密量取散寒解热口服液 (S3) 1 mL 于 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度线, 经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过, 即得。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取葛根素、盐酸麻黄碱、盐酸伪麻黄碱、鸟苷、蔗糖、腺苷、果糖、苯丙氨酸、甘草酸铵、甘草苷、肉桂酸、葛根素-4'- β -*D*-葡萄糖苷、3'-羟基葛根素、杜荆素、刺槐素、葛根素-6"-*O*-木糖苷、大豆苷、*D*-苦杏仁苷、大豆苷元、芒柄花苷、3'-甲氧基葛根素、葛根素芹菜糖苷、没食子酰芍药苷、苯甲酰芍药苷、芍药苷、苯甲酰氧化芍药苷、芍药苷内酯、氧化芍药苷、芍药苷氧化亚硫酸酯对照品适量, 溶解于甲醇中, 配制成质量浓度为 25 μ g $\cdot$ mL⁻¹ 对照品溶液。分别取上述对照品溶液适量, 经 0.22 μ m 微孔滤膜滤过备用。

2.1.3 血清样品的制备与处理 选取 15 只健康雄性 SPF 级 SD 大鼠, 适应性饲养 4 d, 期间自由摄食饮水。随机分为空白组 (3 只) 与给药组 (12 只), 其中给药组 12 只大鼠平均分为 4 批, 对应 4 个采血时间点, 每个时间点 3 只大鼠。所有大鼠给药前禁食 12 h、正常饮水。给药组大鼠按 31.5 mL $\cdot$ kg⁻¹ 剂量 (10 倍临床等效剂量) 单次 ig 给药, 空白组大鼠给予等体积蒸馏水。分别于给药后 0.5、1.0、2.0、4.0 h 对对应批次给药大鼠行心脏采血, 空白组大鼠于给药后 2.0 h 同法行单次心脏采血。所有血液样品于 4 °C 条件下静置 1 h, 经 3 000 r $\cdot$ min⁻¹ 离心 10 min, 分离获取上层血清。为消除大鼠个体差异, 将同一时间点 3 只给药大鼠的血清样品合并混匀。精密吸取各时间点合并血清 300 μ L, 加入 900 μ L 甲醇-乙腈 (1:1) 混合溶液, 涡旋振荡 3 min, 静置 30 s 后, 于 4 °C、12 000 r $\cdot$ min⁻¹ 离心 20 min。吸取上清液置于 EP 管中低温旋干, 残渣加入 200 μ L 甲醇复溶, 涡旋振荡 3 min, 再次于 4 °C、12 000 r $\cdot$ min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液, 即得待测血清样品。

2.1.4 色谱条件 采用 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱; 流动相 0.1% 甲酸水溶液 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱 0→5 min, 5% B; 5→17 min, 5%~10% B; 17→35 min, 10%~20% B; 35→42 min, 20%~40% B; 42→52 min, 40%~90% B; 52→57 min, 90% B; 体积流量 0.3 mL·min⁻¹; 柱温 30 °C; 进样量 2 μL, 检测波长 245 nm。

2.1.5 质谱条件 采用电喷雾电离源 (ESI), 正、负离子扫描模式, 质量扫描范围 m/z 50~1 500; 脱溶剂气和锥孔气均为氮气, 体积流量分别为 500、100 L·h⁻¹, 温度 400 °C, 电压设置 40 eV; 电离源温度 120 °C; 毛细管电压 3 500 eV。选用 MS^E 方法进行 MS/MS 分析, 碰撞气为氩气, 设置双能量扫描条件: 低碰撞能为 6 eV, 高碰撞能范围为 25~60 eV。采用甲酸钠和亮氨酸-脑啡肽溶液作为标准溶液实时校正, 体积流量 5 μL·min⁻¹, 正离子模式下生成的参比校正离子为 m/z 556.277 1 [M+H]⁺, 负离子模式下为 m/z 554.261 5 [M-H]⁻。

2.1.6 散寒解热口服液成分数据库建立与数据分析 通过中药系统药理学数据库 (TCMSP, <http://lsp.nwsuaf.edu.cn/tcmsp.php>)、PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)、ChemicalBook (<https://www.chemicalbook.com/ProductIndex.aspx>)、ETCM (<http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/Home/Index/index.html>) 等数据库, 检索并收集散寒解热口服液

8 味药材的化合物信息, 建立散寒解热口服液成分信息库。将所建立的成分信息库导入 Waters UNIFI™ 天然产物解析平台, 设置色谱分析时间为 0~59 min, 质量偏差 ≤0.01。将 UPLC-Q-TOF-MS 采集的原始数据导入 UNIFI 平台, 进行峰提取、峰匹配及去卷积处理。经解析平台匹配分析, 并结合对照品及文献报道, 对散寒解热口服液化学成分及体内暴露成分进行鉴定。

从散寒解热口服液样品中共鉴定出 151 个化合物, 包括黄酮及其苷类 78 个、三萜皂苷及萜类 41 个、生物碱类 9 个、酚酸类 6 个、木脂素类 3 个、核苷类 3 个、氰苷类 3 个及其他类 8 个。含药血清样本中共鉴定出 35 个入血原型成分, 包括黄酮及其苷类 12 个、萜类 9 个、生物碱类 7 个及其他类 7 个, 主要来源于葛根、麻黄、白芍等^[10]。散寒解热口服液基峰离子流图见图 1, 给药后 0.5 h 血清样本基峰离子流图见图 2。35 个入血原型成分依次编号为 R1~R35, 在 0.5、1.0、2.0、4.0 h 的具体出现情况见表 1。

2.2 网络药理学研究

2.2.1 散寒解热口服液治疗风寒感冒潜在作用靶点预测 通过 SciFinder 平台 (<https://scifinder.cas.org/>) 获取 35 个入血成分的 SMILE 结构, 导入 Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 预测潜在靶点, 经 UniProt 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 进行靶点基因名

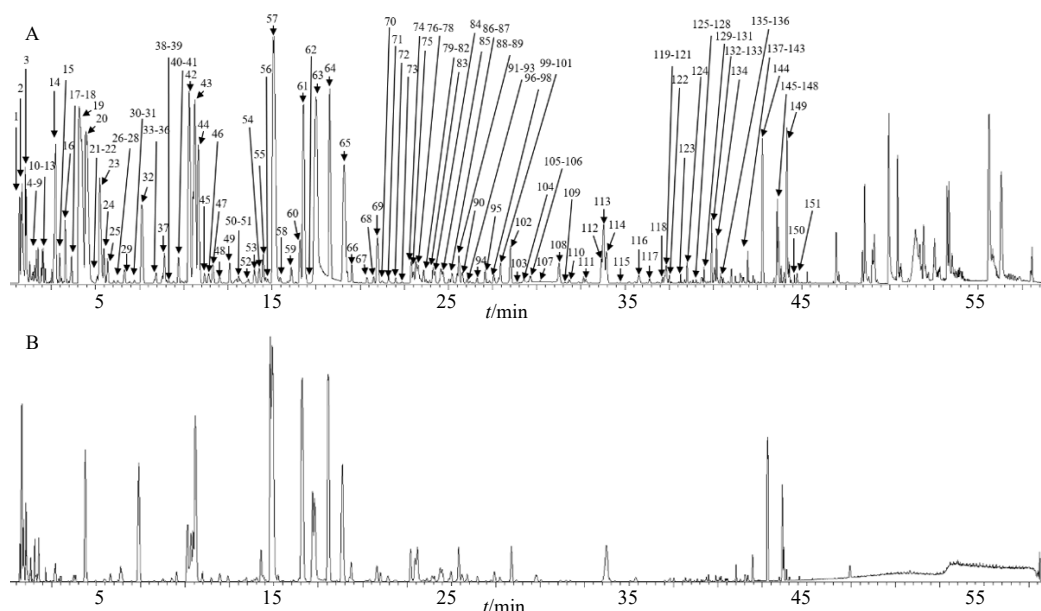


图 1 正离子 (A)、负离子 (B) 模式散寒解热口服液基峰离子流图

Fig. 1 Base peak ion chromatogram of Sanhan Jierye Oral Liquid in positive (A) and negative (B) ion mode

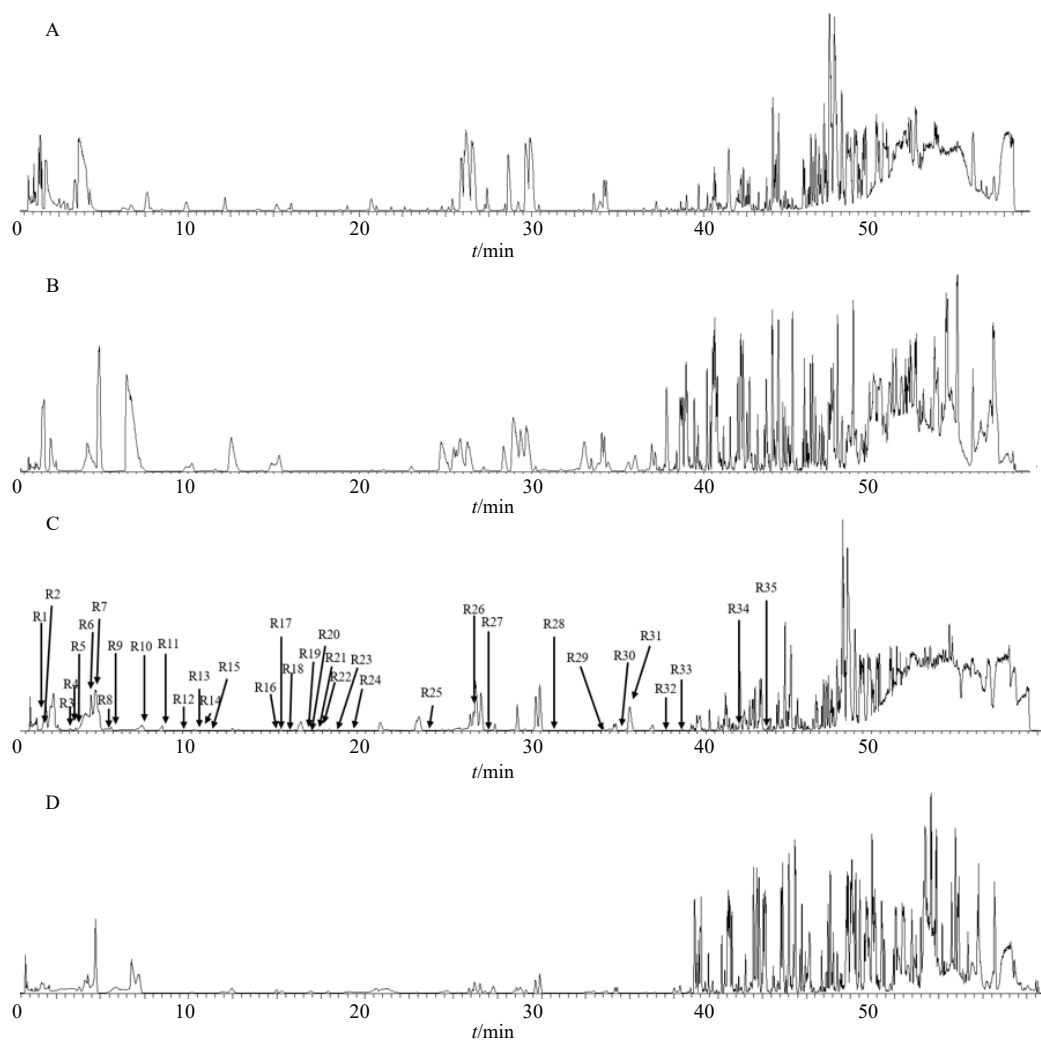


图 2 空白血清正 (A)、负 (B) 离子模式及给药 0.5 h 血清正 (C)、负 (D) 离子模式的基峰离子流图

Fig. 2 Base peak ion chromatogram of blank serum in positive (A) and negative (B) ion modes, and serum after drug administration at 0.5 h in positive (C) and negative (D) ion modes

标准化转换并去重, 共获得 315 个作用靶点。以“common cold”和“flu”为关键词, 在 GeneCards (<https://www.genecards.org>) 和 OMIM 数据库 (<https://www.omim.org/>) 中检索风寒感冒相关靶点, 以 $\text{score} \geq$ 中位数 (4.103 9) 为筛选标准, 合并去重后获得 3 264 个疾病相关靶点。将入血成分靶点与疾病靶点导入 Venny 2.1.0 平台 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>) 进行交集分析, 获得 178 个散寒解热口服液治疗风寒感冒的潜在作用靶点。

2.2.2 核心靶点筛选 将潜在作用靶点导入 STRING 数据库 (<https://cn.string-db.org/>) 进行蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建, 将得到的蛋白相互作用数据以 TSV 格式导入 Cytoscape

3.10.3 软件构建网络分析图, 见图 3。根据度值 (degree) 和接近中心性值 (closeness) 进行筛选, 结果共有 58 个节点, 195 条边, 节点颜色越深, 表示度值越大, 蛋白之间相互作用越多。以上述参数进行筛选, 排名前 6 的作为核心靶点, 分别为原癌基因酪氨酸蛋白激酶 (SRC)、肿瘤蛋白 p53 (TP53)、表皮生长因子受体 (EGFR)、热休克蛋白 90 α 家族 A 类成员 1 (HSP90AA1)、信号转导及转录激活因子 3 (STAT3)、雌激素受体 1 (ESR1)。

2.2.3 潜在 Q-Marker 筛选 将相互关联的散寒解热口服液、风寒感冒、入血成分及潜在作用靶点导入 Cytoscape 3.10.3 软件, 构建“药物-入血成分-靶点-疾病”相互作用网络图 (图 4)。网络图中, 紫色

表 1 散寒解热口服液入血化学成分信息

Table 1 Information on chemical components in blood of Sanhan Jiere Oral Liquid

编号	t/min	化合物	分子式	离子模式	m/z		误差 ($\times 10^{-6}$)	归 属	检测情况			
					实测值	理论值			0.5h	1.0h	2.0h	4.0h
R1	1.55	2-甲基-3-(2-丙烯基)苯酚	C ₁₀ H ₁₂ O	[M+NH ₄] ⁺	166.122 1	148.088 8	-3.2	GR	+	+	+	+
R2	1.75	原儿茶酸 4-O-β-葡萄糖苷	C ₁₃ H ₁₆ O ₉	[M+Na] ⁺	339.068 7	316.079 5	0.2	PR	+	+	+	+
R3	2.75	扁桃酰胺	C ₂₀ H ₂₉ NO ₁₂	[M+Na] ⁺	498.160 0	475.169 0	3.6	SA	+	+	+	+
R4	2.97	去甲基麻黄碱	C ₉ H ₁₃ NO	[M+H] ⁺	152.106 5	151.099 7	-3.2	EH	+	-	-	-
R5	3.28	去甲基伪麻黄碱	C ₉ H ₁₃ NO	[M+H] ⁺	152.106 5	151.099 7	-3.2	EH	+	-	-	-
R6*	4.10	麻黄碱	C ₁₀ H ₁₅ NO	[M+H] ⁺	166.121 8	165.115 4	-3.5	EH	+	+	+	+
R7*	4.45	伪麻黄碱	C ₁₀ H ₁₅ NO	[M+H] ⁺	166.121 8	165.115 4	-3.5	EH	+	+	+	+
R8	5.11	甲基麻黄碱	C ₁₁ H ₁₇ NO	[M+H] ⁺	180.137 8	179.131 0	-2.7	EH	+	+	+	+
R9	5.25	甲基伪麻黄碱	C ₁₁ H ₁₇ NO	[M+H] ⁺	180.137 8	179.131 0	-2.7	EH	+	+	+	+
R10*	7.66	葛根素-4'-O-β-D-葡萄糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	[M+H] ⁺	579.170 9	578.163 6	0.3	PL	+	+	-	-
R11	8.33	刺槐素异构体	C ₃₃ H ₄₀ O ₁₉	[M+Na] ⁺	763.204 7	740.215 8	-0.4	PL	+	+	+	+
R12*	9.22	氧化芍药苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₂	[M+Na] ⁺	519.147 4	496.158 1	0.3	PR	+	-	-	-
R13	10.30	L-苦杏仁苷	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁	[M+Na] ⁺	480.153 8	457.158 3	-0.2	SA	+	+	+	+
R14*	10.63	D-苦杏仁苷	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁	[M+Na] ⁺	480.153 8	457.158 3	-0.2	SA	+	+	+	+
R15*	10.83	3'-羟基葛根素	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₀	[M+Na] ⁺	433.113 0	432.105 6	-0.2	PL	+	-	-	-
R16*	14.99	芍药内酯苷	C ₂₃ H ₂₇ O ₁₁	[M+Na] ⁺	503.152 3	480.163 2	-0.1	PR	+	+	+	+
R17*	15.11	葛根素	C ₂₁ H ₂₆ O ₉	[M+H] ⁺	417.118 1	416.110 7	-0.2	PL	+	+	+	+
R18	15.47	3'-甲氧基葛根素木糖苷	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₄	[M+H] ⁺	579.171 0	578.163 6	0.3	PL	+	+	-	-
R19	16.60	隐绿原酸	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	[M+H] ⁺	355.172 6	354.095 1	-4.6	EH	+	+	+	-
R20*	16.80	3'-甲氧基葛根素	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+H] ⁺	447.128 5	446.121 2	-0.2	PL	+	+	+	-
R21*	17.21	葛根素-6'-O-木糖苷	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	[M+H] ⁺	549.160 6	548.152 9	0.6	PL	+	+	+	-
R22*	17.49	芍药苷	C ₂₃ H ₂₇ O ₁₁	[M+Na] ⁺	503.156 3	480.163 2	-0.1	PR	+	+	+	-
R23*	18.12	葛根素芹菜糖苷	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₃	[M+H] ⁺	549.159 9	548.152 9	7.8	PL	+	+	+	-
R24*	19.09	大豆苷	C ₂₁ H ₂₆ O ₉	[M+H] ⁺	417.118 1	416.110 7	-1.0	PL	+	+	+	-
R25*	23.76	牡荆素	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₀	[M+H] ⁺	471.088 2	432.105 6	-3.4	EH	+	-	-	-
R26*	25.77	没食子酰芍药苷	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₅	[M+H] ⁺	633.180 4	632.174 1	-1.6	PR	+	+	+	-
R27	26.62	3-甲氧基新葛根素A	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	[M+Na] ⁺	469.111 1	446.121 2	1.2	PL	+	-	-	-
R28	30.19	没食子酰芍药苷异构体	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₅	[M+Na] ⁺	655.163 0	632.174 1	0.2	PR	+	-	-	-
R29*	33.90	大豆苷元	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	[M+H] ⁺	255.065 1	254.057 9	-0.4	PL	+	+	+	+
R30*	34.56	肉桂酸	C ₉ H ₈ O ₂	[M+H] ⁺	149.059 1	148.052 4	-3.8	CR	+	+	+	-
R31	35.79	杜鹃醇葡萄糖苷	C ₁₆ H ₂₄ O ₇	[M+Na] ⁺	351.124 0	328.152 2	-2.5	EH	+	-	-	-
R32*	37.30	苯甲酰氧化芍药苷	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₃	[M+Na] ⁺	623.172 2	600.184 3	-2.4	PR	+	-	-	-
R33	38.16	甘草皂苷 L ₃	C ₄₉ H ₇₄ O ₂₂	[M+NH ₄] ⁺	1032.501 5	1014.467 2	0.5	GR	+	-	-	-
R34	41.02	甘草皂苷 G	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₇	[M+H] ⁺	861.387 7	838.398 5	-0.2	GR	+	-	-	-
R35*	43.63	甘草酸	C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆	[M+H] ⁺	823.423 7	822.403 8	0.9	GR	+	+	+	-

*表示与对照品比对确定的化合物; +可被检测; -未被检测; PL-葛根; EH-麻黄; CR-桂枝; PR-白芍; SA-苦杏仁; ZR-生姜; JF-大枣; GR-甘草。

* indicates compounds identified by comparison with the reference substance; +can be detected; -not detected; PL-Puerariae Lobatae Radix; EH-Ephedrae Herba; CR-Cinnamomi Ramulus; PR-Paeoniae Radix Alba; SA-Armeniacae Semen Amarum; ZR-Zingiberis Rhizoma Recens; JF-Jujubae Fructus; GR-Glycyrrhizae Radix et Rhizoma.

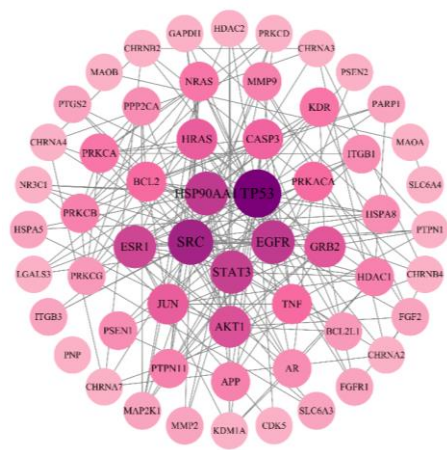


图 3 PPI 网络

Fig. 3 PPI network

节点代表 35 个入血原型成分，黄色节点代表散寒解热口服液，蓝色节点代表风寒感冒疾病，绿色节点代表 178 个交集靶点。以度值为拓扑参数，筛选出排名前 15 的入血成分作为潜在 Q-Marker，分别为葛根素、3'-甲氧基葛根素、芍药内酯苷、葛根素芹菜糖苷、芍药苷、葛根素-6"-O-木糖苷、大豆苷、苯甲酰氧化芍药苷、甘草酸、D-苦杏仁苷、甲基伪麻黄碱、甲基麻黄碱、氧化芍药苷、去甲基麻黄碱、肉桂酸。

2.2.4 基因本体 (GO) 分析与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 为阐明散寒解热口服液治疗风寒感冒的分子机制，通过 David 数据库 (<https://davidbioinformatics.nih.gov/>), 对 178 个交集靶

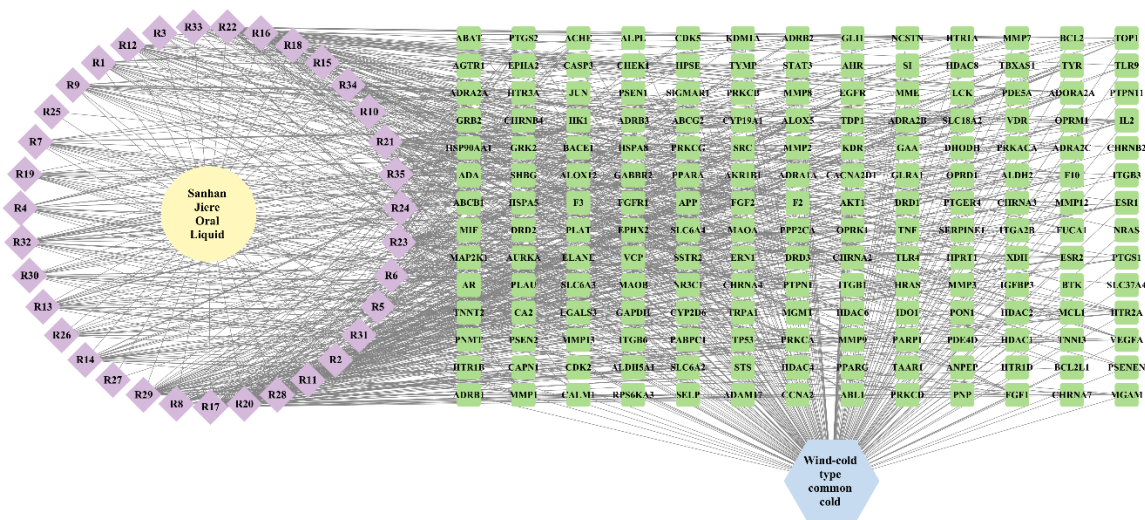


图 4 “药物-入血成分-作用靶点-疾病”网络图

Fig. 4 Drug-blood component-target-disease network diagram

点进行 GO 功能注释和 KEGG 通路富集分析 ($P < 0.05$)。

GO 分析共获得 489 个条目，包括生物过程 (BP) 321 个、细胞组成 (CC) 68 个、分子功能 (MF) 100 个。选取 P 值排序前 15 个条目进行可视化分析，见图 5。其中 BP 主要涉及对外源刺激的反应、细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/ERK2) 和丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 级联的正调控、磷脂酰肌醇 3-激酶-蛋白激酶 B (PI3K-Akt) 信号通路调控等；CC 富集于质膜、突触后膜等区域；MF 涉及肾上腺素能受体活性、蛋白激酶结合等。

KEGG 富集分析共获得 160 条通路，按富集倍数^[11]筛选出 27 条与风寒感冒治疗直接相关的通路，

按功能分为 5 类：风寒类^[12] (4 条，如炎症介质对 TRP 通道的调控通路^[13])、神经调节类 (6 条，如催产素信号通路^[14])、抗病毒类 (5 条，如 Toll 样受体信号通路^[15])、炎症反应类 (6 条，如 TNF、IL-17、NF- κ B 信号通路) 及免疫调节类 (6 条，如 T 细胞受体信号通路、Th17 细胞分化通路)。

为进一步揭示“多成分-多靶点-多通路”的调控关系，本研究构建“潜在 Q-Marker-作用靶点-信号通路”桑基图 (图 6)。桑基图通过连线宽度直观展示各节点间的关联强度^[16]，从图中可见，葛根素、3'-甲氧基葛根素、葛根素芹菜糖苷、葛根素-6"-O-木糖苷、芍药苷等 15 个潜在 Q-Marker 不仅具有体内可转运、可暴露的特征，还能通过多靶点结合、多

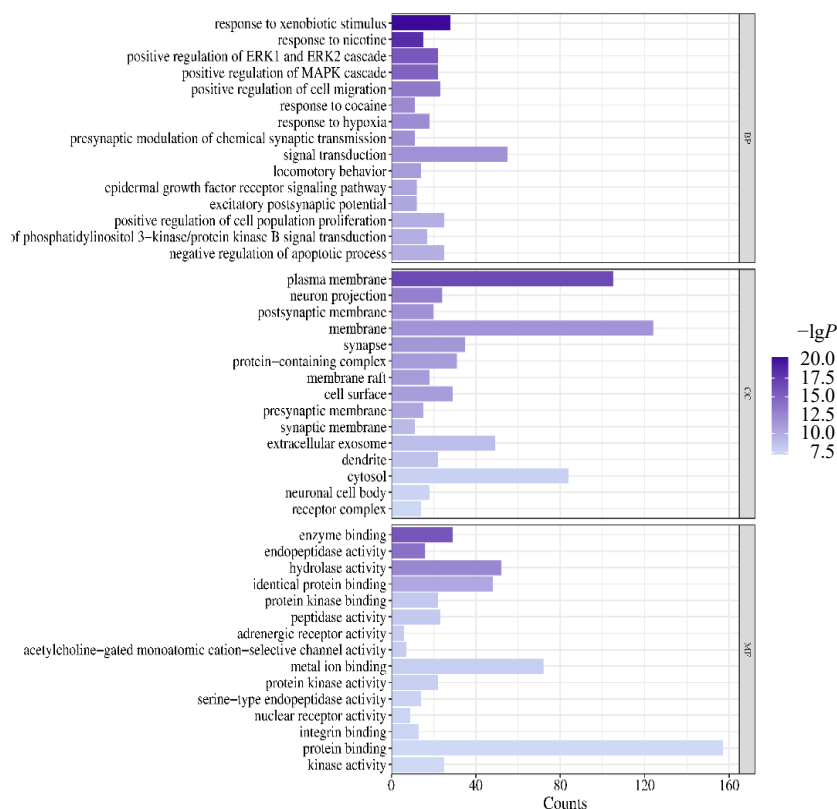


图 5 GO 功能富集分析

Fig. 5 GO function enrichment analysis

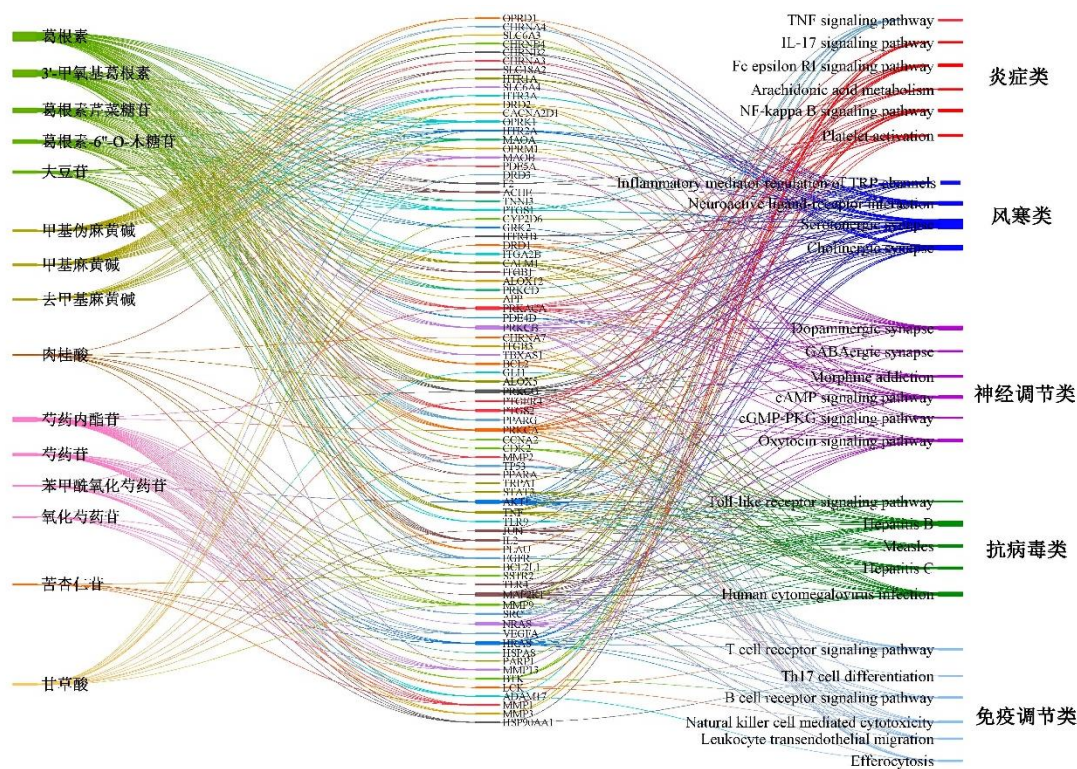


图 6 “潜在 Q-Marker-作用靶点-通路” 桑基图

Fig. 6 Sankey diagram of potential Q-Marker-targets-pathways

通路协同调控形成完整药效网络,共同支撑散寒解热口服液治疗风寒感冒的药效作用,为从功能层面筛选并确定核心 Q-Marker 提供科学依据。

2.2.5 分子对接验证 选取度值排名前 10 的潜在 Q-Marker (葛根素、3'-甲氧基葛根素、芍药内酯苷、葛根素芹菜糖苷、芍药苷、葛根素-6"-O-木糖苷、大豆苷、苯甲酰氧化芍药苷、甘草酸、D-苦杏仁苷)与 6 个核心靶点进行分子对接。结果显示,所有对接组合的结合能均 $\leq -20.9\text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,整体结合活性良好,部分潜在 Q-Marker 与核心靶点的对接模式见图 7。其中,葛根素、葛根素-6"-O-木糖苷、甘草酸与多个核心靶点均具有较强亲和力;SRC、EGFR 和 HSP90AA1 是与多数潜在 Q-Marker 结合能力最强的靶点。上述结果从分子层面验证了潜在 Q-Marker 与核心靶点的结合能力,为 Q-Marker 的确定提供了依据。

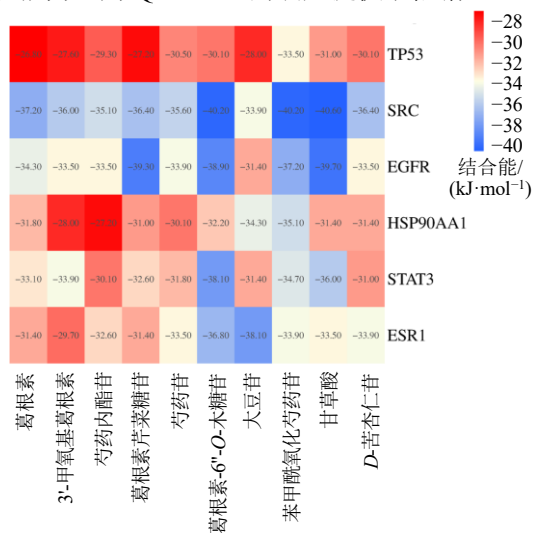


图 7 潜在 Q-Marker 与核心靶点分子对接结果

Fig. 7 Docking results of potential Q-Markers with core target molecules

2.3 散寒解热口服液 Q-Marker 的确定

本研究基于 Q-Marker 发现与确立的“五原则”,即传递与溯源性、有效性、特有性、配伍环境适配性及可测性,对散寒解热口服液的 Q-Marker 进行系统性筛选与确定,构建科学完善的制剂质量评价指标体系。

在传递与溯源性层面,采用 UHPLC-Q-TOF-MS 技术,系统解析散寒解热口服液的体外化学成分及大鼠入血原型成分,共鉴定得到 35 个入血成分,明确目标成分“药材-制剂-体内入血”的完整传递过程,为后续 Q-Marker 的筛选确立提供了体内物质基础依据。

在有效性层面,以已鉴定的入血活性成分为研究对象,开展网络药理学分析,成功构建“药物-入血成分-靶点-疾病”多维调控网络,筛选得到 15 个药效关联度最高的核心入血成分,作为散寒解热口服液的潜在 Q-Marker。通过 GO 功能富集与 KEGG 通路富集分析,初步揭示上述核心成分的药效作用机制;同时结合分子对接技术,在分子水平验证核心成分与疾病关键靶点的稳定结合活性,进一步佐证其药效相关性。

在可测性层面,基于 UPLC 多指标定量检测方法,对 15 个潜在 Q-Marker 的色谱分离效果、峰响应强度及定量可行性进行系统考察。结果表明,9 个潜在 Q-Marker (葛根素、3'-甲氧基葛根素、葛根素芹菜糖苷、芍药苷、葛根素-6"-O-木糖苷、大豆苷、甘草酸、D-苦杏仁苷、肉桂酸)峰形对称、色谱响应灵敏、相邻峰分离度良好,且样品含量满足定量检测限值要求,可作为制剂核心定量质控指标。剩余 6 个潜在 Q-Marker (芍药内酯苷、苯甲酰氧化芍药苷、甲基伪麻黄碱、甲基麻黄碱、去甲基麻黄碱、氧化芍药苷)因体内含量偏低、色谱响应微弱或存在基质干扰,无法建立稳定、精准的定量检测方法,故暂不纳入含量测定质控指标。此外,葛根素-4'-β-D-葡萄糖苷、3'-羟基葛根素 2 个入血原型成分,虽未纳入网络药理学核心靶点调控网络,但具备药材含量高、色谱峰形稳定、检测响应良好的优势。基于 Q-Marker 可测性核心要求,结合中药复方“点-线-面-体”多元质控理念中“核心指标成分+辅助指示成分”相结合的质控原则,将上述 2 种成分补充纳入质控体系,定义为指示性 Q-Marker。

在特有性与配伍环境层面,本研究最终筛选的所有 Q-Marker 均可精准溯源至复方对应的单味药材,充分体现制剂成分的专属特征与复方配伍特点。其中,葛根素、3'-甲氧基葛根素、葛根素芹菜糖苷、葛根素-6"-O-木糖苷、大豆苷、葛根素-4'-β-D-葡萄糖苷、3'-羟基葛根素 7 种异黄酮类成分,为君药葛根的专属特征成分;芍药苷为臣药白芍的特征性单萜苷类成分;D-苦杏仁苷为臣药苦杏仁的特征氰苷类成分;肉桂酸来源于臣药桂枝;甘草酸为使药甘草的标志性三萜皂苷类成分,全面覆盖复方君臣佐使核心药味,高度契合方剂配伍组方规律。

综上,本研究最终确立散寒解热口服液 11 个 Q-Marker,包含 9 个核心 Q-Marker 与 2 个指示性 Q-Marker。所筛选的 Q-Marker 全面契合传递溯源、

药效相关、专属特异、配伍适配、精准可测五大核心标准,既保障了质控指标与制剂临床疗效、复方配伍理论的高度关联,又兼顾了实际生产中方法开发的可行性,确保了质量评价体系的科学性与全面性。

2.4 指纹图谱建立

2.4.1 对照品溶液的制备 分别取葛根素、*D*-苦杏仁苷、肉桂酸、大豆苷元、甘草酸、芍药苷、葛根素-4'- β -*D*-葡萄糖苷、3'-羟基葛根素、3'-甲氧基葛根素、葛根素-6"-*O*-木糖苷、葛根素芹菜糖苷、大豆苷对照品适量,精密称定,加甲醇分别配制成质量浓度为 7.508、2.321、1.100、1.266、1.292、3.871、2.048、2.811、3.405、1.203、3.885、1.430 mg·mL⁻¹ 的对照品储备液。精密吸取上述对照品储备液适量,混合均匀制成质量浓度分别为 0.751、0.116、0.011、0.026、0.064、0.194、0.205、0.141、0.170、0.060、0.194、0.286 mg·mL⁻¹ 的混合对照品溶液。另取盐酸麻黄碱对照品适量,精密称定,加甲醇制成质量浓度为 0.271 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液。

2.4.2 供试品溶液的制备 精密量取散寒解热口服液(S3) 1 mL,置 20 mL 量瓶中,加 50%甲醇适量,超声处理 15 min,放置至室温,加 50%甲醇稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μ m 微孔滤膜滤过,即得。

2.4.3 色谱条件 采用 Waters ACQUITY UPLC HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μ m) 色谱柱;流动相 0.2%磷酸水溶液(A)-乙腈(B),梯度洗脱 0→11 min, 5%~8% B; 11→15 min, 8%~9% B; 15→19 min, 9%~10% B; 19→22 min, 10%~11% B; 22→27 min, 11% B; 27→30 min, 11%~12% B; 30→45 min, 12%~60% B; 45→50 min, 60%~80% B; 50→55 min, 80%~90% B; 55→60 min, 90% B; 60.1→70.0 min, 5% B; 体积流量 0.3 mL·min⁻¹; 检测波长 0~16 min, 210 nm; 16~30 min, 245 nm; 30~42 min, 280 nm; 42~70 min, 245 nm; 进样体积 1 μ L; 柱温 35 $^{\circ}$ C。

2.4.4 精密度考察 取散寒解热口服液(S3)按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件连续进样 6 次,以葛根素(峰 11)为参照峰(S),计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积,21 个共有峰的相对保留时间 RSD 为 0~0.63%,相对峰面积 RSD 为 0~2.70%,表明仪器精密度良好。

2.4.5 重复性考察 取散寒解热口服液(S3),按“2.4.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按

“2.4.3”项下色谱条件进样检测,以葛根素(峰 11)为参照峰(S),计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间 RSD 为 0~0.16%,相对峰面积 RSD 为 0~4.01%,表明该方法重复性良好。

2.4.6 稳定性考察 取散寒解热口服液(S3)供试品溶液,分别于 0、4、8、12、24、48、72 h 按“2.4.3”项下色谱条件进样检测,以葛根素(峰 11)为参照峰(S),计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。结果显示,各共有峰相对保留时间 RSD 为 0~0.65%,相对峰面积 RSD 为 0~4.10%,表明供试品溶液在 72 h 内稳定性良好。

2.4.7 指纹图谱的建立及相似度评价 取 14 批散寒解热口服液(S1~S14),按“2.4.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.4.3”项下色谱条件进样检测,记录色谱图。将数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”,以 S3 为参照图谱,采用中位数法,时间窗为 0.1 min,经多点校正后生成叠加图谱及对照图谱,共标定 21 个共有峰,结果见图 8。14 批样品色谱图与对照图谱的相似度分别为 0.998、0.994、0.997、0.999、0.999、0.999、1.000、1.000、0.999、0.999、0.999、0.999、0.999、0.999,均高于 0.99,表明 14 批散寒解热口服液的质量一致性良好。

通过与对照品比对,共指认出 13 个共有峰,分别为麻黄碱(峰 5)、葛根素-4'- β -*D*-葡萄糖苷(峰 6)、*D*-苦杏仁苷(峰 8)、3'-羟基葛根素(峰 9)、葛根素(峰 11)、芍药苷(峰 12)、3'-甲氧基葛根素(峰 13)、葛根素-6"-*O*-木糖苷(峰 14)、葛根素芹菜糖苷(峰 15)、大豆苷(峰 16)、大豆苷元(峰 19)、肉桂酸(峰 20)、甘草酸(峰 21),结果见图 9。大豆苷元响应值较低,且稳定性易受溶剂等因素影响,麻黄碱色谱峰存在一定拖尾现象且对照品受管制获取困难,上述 2 个成分仅用于指纹图谱共有峰定性指认。

本部分指纹图谱共指认出 13 个色谱共有峰,其中包含“2.3”项下确立的全部 11 个 Q-Marker,证实上述质控成分在本 UPLC 色谱体系下可稳定检出、分离度良好,验证了前期 Q-Marker 筛选时提出的可测性判断;而麻黄碱、大豆苷元仅可定性指认,不满足定量检测要求。在上述指纹图谱研究基础上,进一步建立多指标成分含量测定方法,对 11 个 Q-Marker 进行定量分析。

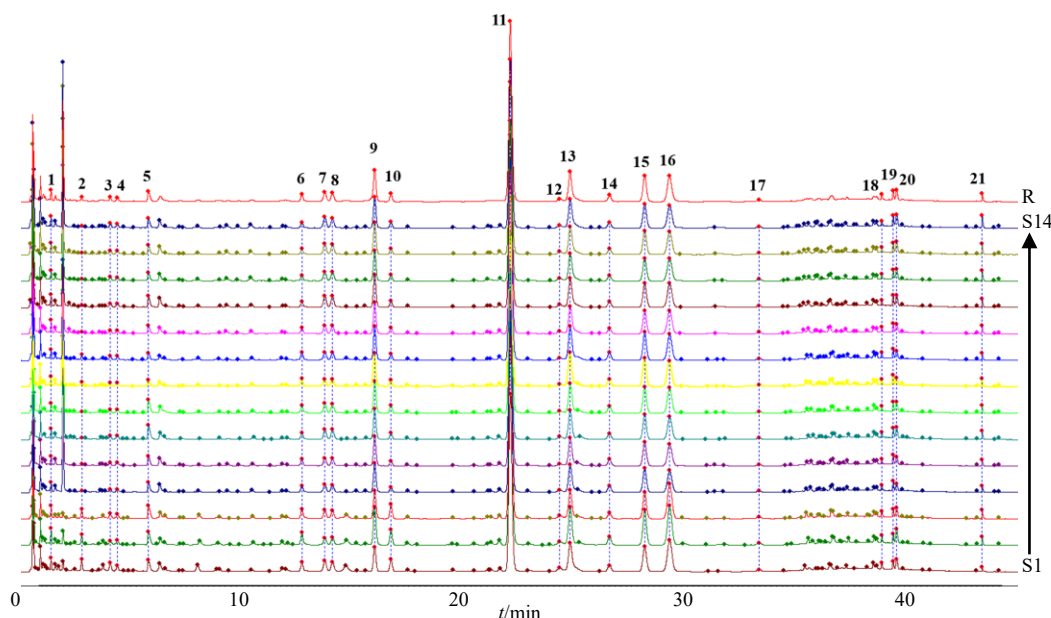
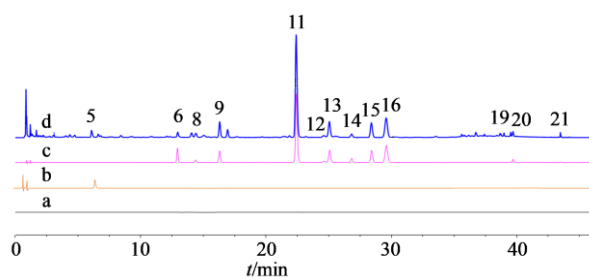


图 8 14 批散寒解热口服液的指纹图谱及对照图谱 (R)

Fig. 8 Fingerprint chromatograms of 14 batches of Sanhan Jiere Oral Liquid and reference chromatogram (R)



5-麻黄碱; 6-葛根素-4'- β -D-葡萄糖苷; 8-D-苦杏仁苷; 9-3'-羟基葛根素; 11-葛根素; 12-芍药苷; 13-3'-甲氧基葛根素; 14-葛根素-6"-O-木糖苷; 15-葛根素芹菜糖苷; 16-大豆苷; 19-大豆苷元; 20-肉桂酸; 21-甘草酸。

5-ephedrine; 6-puerarin-4'- β -D-glucoside; 8-amygdalin; 9-3'-hydroxy puerarin; 11-puerarin; 12-paoniflorin; 13-3'-methoxypuerarin; 14-puerarin-6"-O-xyloside; 15-puerarin apigenin; 16-daizhin; 19-daizhein; 20-cinnamic acid; 21-glycyrrhizic acid.

图 9 空白溶液 (a)、麻黄碱对照品溶液 (b)、混合对照品溶液 (c)、供试品溶液 (d) UPLC 图

Fig. 9 UPLC chromatograms of blank solution (a), ephedrine reference standard solution (b), mixed reference standard solution (c), and sample solution (d)

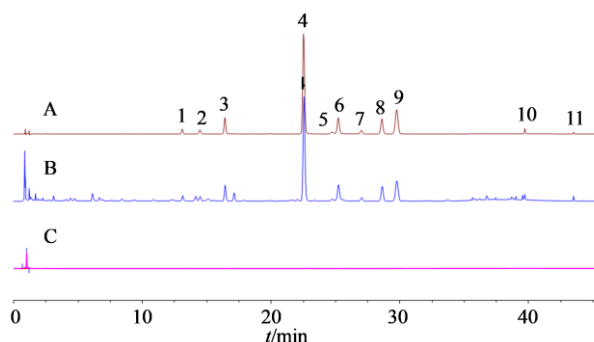
2.5 Q-Marker 含量测定方法的建立

2.5.1 对照品溶液的制备 同“2.4.1”项。

2.5.2 供试品溶液的制备 同“2.4.2”项。

2.5.3 色谱条件 色谱条件同“2.4.3”项。

2.5.4 专属性考察 取甲醇空白溶液、混合对照品溶液、供试品溶液, 按照“2.5.3”项下方法进样分析, 记录色谱图。结果如图 10 所示, 空白溶液对样品待测物质检测无干扰, 样品中各待测峰与相邻峰



1-葛根素-4'- β -D-葡萄糖苷; 2-D-苦杏仁苷; 3-3'-羟基葛根素; 4-葛根素; 5-芍药苷; 6-3'-甲氧基葛根素; 7-葛根素-6"-O-木糖苷; 8-葛根素芹菜糖苷; 9-大豆苷; 10-肉桂酸; 11-甘草酸。

1-puerarin-4'- β -D-glucoside; 2-D-amygdalin; 3-3'-hydroxy puerarin; 4-puerarin; 5-paoniflorin; 6-3'-methoxypuerarin; 7-puerarin-6"-O-xyloside; 8-puerarin apigenin; 9-daizhin; 10-cinnamic acid; 11-glycyrrhizic acid.

图 10 混合对照品溶液 (A)、供试品溶液 (B)、和空白溶液 (C) 的 UPLC 图

Fig. 10 UPLC spectrograms of mixed reference substance solution (A), sample solution (B), and blank solvent (C)

之间的分离度均大于 1.5, 表明该方法专属性良好。

2.5.5 线性关系考察 精密吸取“2.5.1”项下的对照品储备液, 用甲醇稀释, 得到不同质量浓度的混合对照品溶液。按照“2.5.3”项下的色谱条件进样, 以对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 计算线性回归方程。检测限 (LOD) 为信噪比 (S/N) ≥ 3 时的化合物的质量浓

度, 定量限 (LOQ) 为 $S/N \geq 10$ 时的化合物的质量浓度, 结果见表 2。

2.5.6 精密度考察 取混合对照品溶液, 按照“2.5.3”项下的色谱条件连续进样 6 次, 分别计算各对照品峰面积的 RSD。结果表明, 11 个成分峰面积的 RSD 均小于 2.0%, 表明仪器精密度良好。

2.5.7 稳定性考察 取散寒解热口服液 (S3), 按照“2.5.2”项下的方法制备供试品溶液, 按照“2.5.3”项下色谱条件进样, 分别于 0、4、8、12、24、48、72 h 进样检测, 计算各成分含量的 RSD。结果表明, 11 个成分含量的 RSD 均小于 1.3%, 表明该方法制备的供试品溶液在 72 h 内稳定性良好。

2.5.8 重复性考察 取散寒解热口服液 (S3), 按照“2.5.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液, 按照“2.5.3”项下的色谱条件进样, 分别计算各成分含量的 RSD。结果表明, 11 个成分含量的 RSD 均小于 1.7%, 表明该方法重复性良好。

2.5.9 加样回收率考察 取同一批次已测定 11 种成分含量的样品 (S3) 6 份, 每份 0.5 mL, 精密移取, 分别加入 20 mL 量瓶中, 加入适量混合对照品溶液, 配制成约相当于供试品中待测成分量 100% 的溶液, 按照“2.5.3”项下的色谱条件进样, 计算各成分回收率和 RSD。各个成分平均回收率为 100.46%~105.45%, RSD 为 0.33%~2.55%, 表明

表 2 线性关系考察结果

Table 2 Results of linear relationship examination

成分	回归方程	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	r	LOD/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	LOQ/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$
葛根素-4'- β -D-葡萄糖苷	$Y=119.54 X+0.160 9$	10.24~204.82	0.999 8	0.205	0.512
D-苦杏仁苷	$Y=49.535 X+0.031 2$	5.80~116.06	0.999 8	0.290	1.161
3'-羟基葛根素	$Y=183.68 X+0.171 8$	7.03~140.53	0.999 8	0.056	0.351
葛根素	$Y=228.43 X+1.294$	37.54~750.75	0.999 8	0.075	0.225
芍药苷	$Y=14.177 X+0.022 3$	9.68~193.53	0.999 8	0.968	4.838
3'-甲氧基葛根素	$Y=180.61 X+0.221 6$	8.51~170.23	0.999 8	0.085	0.340
葛根素-6"-O-木糖苷	$Y=174.62 X+0.072$	3.01~60.17	0.999 8	0.090	0.301
葛根素芹菜糖苷	$Y=171.93 X+0.208 9$	9.71~194.24	0.999 8	0.097	0.388
大豆苷	$Y=177.73 X+0.315 9$	14.30~286.03	0.999 8	0.143	0.429
肉桂酸	$Y=390.16 X+0.044 6$	0.55~11.00	0.999 8	0.044	0.110
甘草酸	$Y=43.471 X-0.284 4$	15.82~316.48	1.000 0	0.316	0.792

该方法准确度良好。

2.5.10 不同批次散寒解热口服液 Q-Marker 含量测定 取 S1~S14 散寒解热口服液, 按“2.5.2”制备供试品溶液, 按“2.5.3”项下色谱条件进样测定, 分别计算各成分质量浓度。结果见表 3, 散寒解热口服液中葛根素-4'- β -D-葡萄糖苷、D-苦杏仁苷、3'-羟基葛根素、葛根素、芍药苷、3'-甲氧基葛根素、葛根素-6"-O-木糖苷、葛根素芹菜糖苷、大豆苷、肉桂酸、甘草酸的含量分别为 0.429~0.898、1.457~2.388、1.430~2.030、9.102~13.036、1.664~3.025、1.932~2.726、0.484~0.738、1.924~2.935、2.236~4.046、0.111~0.227、0.524~1.411 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 其中葛根素的含量相对较高, 肉桂酸和葛根素-6"-O-木糖苷的含量相对较低。

3 讨论

散寒解热口服液源于《伤寒杂病论》中的葛根

汤和麻黄汤, 临床研究证实其治疗外感高热风寒证有效率较高, 且未见明显不良反应^[17-18]。但该制剂的药效物质基础尚不十分明确, 目前质量控制仅依赖单一指标, 难以全面反映复方整体质量。本研究在 Q-Marker 理念指导下, 采用 UPLC-Q-TOF-MS、血清药物化学及网络药理学方法, 对该制剂的化学成分及入血成分进行解析, 并在此基础上筛选 Q-Marker, 建立了该制剂的 UPLC 指纹图谱及多指标定量测定方法, 为其质量标准的提升提供依据。

研究确定的 11 个 Q-Marker 均源自 35 个入血原型成分, 其中 7 个异黄酮类成分源于君药葛根, 芍药苷源于臣药白芍, D-苦杏仁苷源于臣药苦杏仁, 肉桂酸源于臣药桂枝, 甘草酸源于使药甘草, 覆盖了方中“君臣佐使”的主要药味。网络药理学和分子对接分析为上述成分的有效性提供了药效层面的证据。GO 和 KEGG 富集分析显示, 其靶点显著

表 3 14 批散寒解热口服液 Q-Marker 含量测定结果

Table 3 Content determination results of Q-Marker in 14 batches of Sanhan Jierye Oral Liquid

批次	质量浓度/(mg·mL ⁻¹)										
	葛根素-4'-β-D-葡萄糖苷	D-苦杏仁苷	3'-羟基葛根素	葛根素	芍药苷	3'-甲氧基葛根素	葛根素-6"-O-木糖苷	葛根素片菜糖苷	大豆苷	肉桂酸	甘草酸
S1	0.763	2.003	1.430	10.076	3.025	2.620	0.541	2.134	3.318	0.173	0.524
S2	0.898	1.457	2.030	13.036	2.954	2.726	0.738	2.935	4.046	0.227	0.900
S3	0.723	1.742	1.687	10.145	2.856	2.031	0.488	2.198	3.654	0.146	0.959
S4	0.431	1.468	1.588	9.525	1.739	1.932	0.546	1.995	2.236	0.114	0.675
S5	0.446	1.481	1.590	9.568	1.750	1.932	0.548	2.006	2.241	0.113	0.677
S6	0.509	2.127	1.654	9.436	2.340	2.049	0.524	2.055	2.332	0.160	0.928
S7	0.460	1.899	1.750	10.236	1.664	2.073	0.594	2.170	2.658	0.156	0.833
S8	0.515	1.487	1.841	11.133	1.798	2.454	0.615	2.363	2.726	0.111	0.873
S9	0.517	1.508	1.876	11.344	1.983	2.428	0.640	2.323	2.734	0.117	0.809
S10	0.452	1.662	1.854	9.198	2.271	2.438	0.492	1.972	2.442	0.132	0.949
S11	0.452	2.388	1.953	9.728	2.400	2.559	0.513	2.040	2.554	0.177	0.985
S12	0.429	1.878	1.820	9.102	2.283	2.404	0.484	1.924	2.375	0.157	1.179
S13	0.446	2.203	1.913	9.709	2.535	2.518	0.513	2.017	2.465	0.183	1.254
S14	0.444	2.044	1.853	9.459	2.092	2.582	0.497	2.016	2.353	0.186	1.411

富集于 TRP 通道调控、神经活性配体-受体相互作用、Toll 样受体信号通路、TNF/IL-17/NF-κB 炎症通路及 T 细胞受体信号通路等功能模块,涵盖风寒感知、神经调控、抗病毒、炎症和免疫调节 5 个关键环节,与风寒感冒“寒邪外束、营卫失调”的病机及恶寒、发热、鼻塞、咳嗽等临床表现高度吻合。分子对接结果进一步表明, SRC、EGFR、HSP90AA1 是与多数 Q-Marker 结合能力最强的核心靶点,3 者分别参与 NF-κB 炎症信号转导^[19]、病毒入侵及呼吸道上皮修复^[20]、冷应激及抗病毒免疫应答^[21],可能共同构成该制剂发挥“散寒解表”功效的关键靶点群,这种基于体内暴露成分解析并结合网络药理学筛选 Q-Marker 的模式,与已有的经典名方药效物质及质量标志物的研究策略一致^[22],印证了本研究所采用方法的科学性与合理性。此外,部分网络药理学预测的 Q-Marker 因含量过低未能纳入定量方法,为此本研究引入了“点-线-面-体”多元评价模式,以 9 个核心 Q-Marker 辅以 2 个高含量指示性 Q-Marker,兼顾了质控指标的有效性与可测性。

综上所述,本研究所建立的 UPLC 指纹图谱 11 个 Q-Marker 多指标含量测定方法,体现了散寒解热口服液从单一指标质控向复方整体质量评价的转变。指纹图谱反映了样品的整体化学组成特征,保证了批次间质量的一致性,多指标含量测定则针

对与药效关联密切的关键成分进行精准控制。上述 Q-Marker 均可在药材-制剂-入血层面完成溯源,但其在复方配伍环境下的含量变化规律及各成分间的协同作用尚不十分明确,后续需结合拆方实验或成分配伍研究加以确证。此外,网络药理学预测的部分活性成分因含量限制未纳入现行质控体系,其在体内的药效贡献仍有待借助 LC-MS/MS 等更灵敏的分析手段或活性代谢产物研究加以明确。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王军. 抗感冒非处方药的用药分析 [J]. 中国药房, 2006, 17(16): 1278-1280.
Wang J. Analysis on the use of OTC drugs for common cold [J]. China Pharm, 2006, 17(16): 1278-1280.
- [2] 张海英, 张黎, 李玉珍. 抗感冒药的临床评价及合理应用 [J]. 中国医院用药评价与分析, 2011, 11(4): 295-298.
Zhang H Y, Zhang L, Li Y Z. Clinical evaluation and rational use of anti-cold drugs [J]. Eval Anal Drug Use Hosp China, 2011, 11(4): 295-298.
- [3] Zhai H L, Chen S M, Lu Y L. Some Chinese folk prescriptions for wind-cold type common cold [J]. J Tradit Complementary Med, 2015, 5(3): 135-137.
- [4] 于白莉, 马天洪. 散寒解热口服液治疗外感高热 (风寒证) 60 例 [J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(1): 68-69.
Yu B L, Ma T H. 60 cases of exopathic high fever (wind

- cold syndrome) treated by oral liquid of dispelling cold and reducing fever [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2005, 12(1): 68-69.
- [5] 李梢, 肖伟. 网络药理学应用于中药新药研发专家共识总论 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(18): 5055-5068.
Li S, Xiao W. General expert consensus on application of network pharmacology in research and development of new traditional Chinese medicine drugs [J]. China J Chin Mater Med, 2024, 49(18): 5055-5068.
- [6] 吴圆圆, 郑琳, 陈秋谷, 等. 基于 HPLC 指纹图谱结合网络药理学与化学计量学研究黄芪-大黄不同配比的内在关系变化 [J]. 中草药, 2025, 56(14): 4979-4990.
Wu Y Y, Zheng L, Chen Q G, et al. Investigating variations in intrinsic relationship between different ratios of *Astragali Radix* and *Rhei Radix et Rhizoma* based on HPLC fingerprint analysis integrated with network pharmacology and chemometrics analysis [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(14): 4979-4990.
- [7] Liu Y S, Li X, Chen C, et al. Exploration of compatibility rules and discovery of active ingredients in TCM formulas by network pharmacology [J]. Chin Herb Med, 2024, 16(4): 572-588.
- [8] 中华中医药学会《中药质量标志物研究技术指南》编写组. 中药质量标志物研究技术指南 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2249-2252.
The Compilation Group of the Technical Guide for Research on Quality Markers of Traditional Chinese Medicine, China Association of Chinese Medicine. Technical guide for research on quality markers of traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(7): 2249-2252.
- [9] 刘昌孝. 中药质量标志物 (Q-Marker) 研究发展的 5 年回顾 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2511-2518.
Liu C X. Five-year review on development of quality markers of traditional Chinese medicine [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(9): 2511-2518.
- [10] 陈美庆, 朱卫丰, 管咏梅, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术分析葛根配方颗粒的化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(19): 176-186.
Chen M Q, Zhu W F, Guan Y M, et al. Analysis of chemical constituents in *Puerariae lobatae Radix* dispensing granules by UPLC-Q-TOF-MS/MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(19): 176-186.
- [11] Zhang J, Wu D, Dai Y Q, et al. Functional relevance for central Cornea thickness-associated genetic variants by using integrative analyses [J]. BioData Min, 2018, 11(1): 19.
- [12] Huang W W, Yang C G, Zheng X H, et al. Impact of airflow stimulation: Mild cold airflow is more sensitive to influenza virus infection [J]. J Thorac Dis, 2025, 17(6): 3643-3657.
- [13] Wu Y Y, Zeng M N, Cao B, et al. Material basis and mechanism of *Ephedra sinica* in interfering with wind-chill cold [J]. Int Immunopharmacol, 2025, 152: 114432.
- [14] Higashida H, Lopatina O. Cyclic ADP-ribose and heat regulate oxytocin release via CD38 and TRPM2 in the hypothalamus [M]. Neurosecretion: Secretory Mechanisms. Cham: Springer International Publishing, 2020: 43-58.
- [15] Qin H Q, Shi S S, Fu Y J, et al. Effects of Gui Zhi ma Huang Ge ban Tang on the TLR7 pathway in influenza virus infected mouse lungs in a cold environment [J]. Evid Based Complementary Altern Med, 2018, 2018: 5939720.
- [16] 李婷, 杨骏, 张彤, 等. 柴胡葛根有效部位对脂多糖诱导家兔发热模型的解热作用研究 [J]. 中成药, 2012, 34(2): 221-225.
Li T, Yang J, Zhang T, et al. Antipyretic effect of *Bupleurum-Pueraria* effective fraction on lipopolysaccharide induced febrile response in rabbits [J]. Chin Tradit Pat Med, 2012, 34(2): 221-225.
- [17] 常静, 陈光远, 张瑞明, 等. 散寒解热口服液与表实感冒冲剂随机对照治疗急性上呼吸道感染 [J]. 华西医学, 2002, 17(3): 335-336.
Chang J, Chen G Y, Zhang R M, et al. Randomized controlled trail in the treatment for acute upper respiratory tract infection with Sanhan Jiere Koufuye and Biaoshi Ganmao chongji [J]. West China Med J, 2002, 17(3): 335-336.
- [18] 伍春蓉, 高堂玲, 廖双武. 散寒解热口服液治疗急性上呼吸道感染 185 例 [J]. 中国中医急症, 2000, 9(5): 197.
Wu C R, Gaotang L, Liao S W. Treating 185 cases of acute upper respiratory tract infection with Sanhan Jiere oral liquid [J]. J Emerg Tradit Chin Med, 2000, 9(5): 197.
- [19] Hong Y H, Kim J H, Cho J Y. Ranunculus bulumei methanol extract exerts anti-inflammatory activity by targeting src/syk in NF- κ B signaling [J]. Biomolecules, 2020, 10(4): 546.
- [20] Zheng K, Kitazato K, Wang Y F. Viruses exploit the function of epidermal growth factor receptor [J]. Rev Med Virol, 2014, 24(4): 274-286.
- [21] Liu C C, Zhao W, Su J, et al. HSP90AA1 interacts with CSFV NS5A protein and regulates CSFV replication via the JAK/STAT and NF- κ B signaling pathway [J]. Front Immunol, 2022, 13: 1031868.
- [22] 程友斌, 吴悦晗笑, 王颖, 等. 基于 UPLC-MS/MS 和网络药理学分析经典名方广枣三味汤治疗冠心病的药效物质和质量标志物 (Q-Marker) [J]. 药物评价研究, 2026, 49(2): 497-511.
Cheng Y B, Wu Y H X, Wang Y, et al. Analysis of pharmacodynamic substances and quality markers of classic formula Guangzao Sanwei Decoction in treating coronary heart disease based on UPLC-MS/MS and network pharmacology [J]. Drug Eval Res, 2026, 49(2): 497-511.