

基于层次分析三维整合策略和雷达图的生血宝合剂质量标志物 (Q-Marker) 研究

饶佳兴, 周浩明, 毛 浙, 柴 雲, 孙何怡萱, 徐顶巧, 付瑞嘉, 唐于平*

陕西中医药大学 陕西省中医药管理局中药配伍重点研究室, 陕西 咸阳 712046

摘要: **目的** 应用建立的“有效性-可测性-特异性”三维整合策略, 系统筛选生血宝合剂的潜在质量标志物 (quality marker, Q-Marker), 为完善其质量控制体系提供依据。 **方法** 以有效性、可测性、特异性为核心维度, 采用层次分析法 (analytic hierarchy process, AHP) 确定各维度权重。有效性维度通过文献调研结合网络药理学分析进行赋值, 可测性维度基于 HPLC 和 UPLC-Q-TOF-MS/MS 检测可行性进行评价, 特异性维度通过化合物药材归属溯源分析进行判定。计算各候选成分三维评分及综合得分, 以雷达图回归面积作为 Q-Marker 筛选的量化依据。 **结果** 基于三维整合策略综合评价, 筛选出芍药苷、特女贞苷、红景天苷、绿原酸、芍药内酯苷、2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷共 6 种综合评分领先、兼具明确药效关联性、良好色谱检测性与处方来源特异性的成分, 作为生血宝合剂的潜在 Q-Marker。 **结论** 所应用的“有效性-可测性-特异性”三维整合策略准确可靠, 确定了生血宝合剂中的 6 种潜在 Q-Marker, 为生血宝合剂质量标准的完善与提升提供了关键技术支撑, 同时也为中药复方 Q-Marker 的定量识别与质量控制体系构建提供了方法学参考。

关键词: 生血宝合剂; 质量标志物; 三维整合策略; 有效性; 可测性; 特异性; 层次分析法; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 芍药苷; 特女贞苷; 红景天苷; 绿原酸; 芍药内酯苷; 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷

中图分类号: R283.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)20-8337-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.20.031

Research on quality markers (Q-Marker) of Shengxuebao Mixture based on an analytic hierarchy process-based three-dimensional integration strategy and radar chart

RAO Jiaying, ZHOU Haoming, MAO Xi, CHAI Yun, SUN Heyixuan, XU Dingqiao, FU Ruijia, TANG Yuping

Key Laboratory of Shaanxi Administration of Traditional Chinese Medicine for TCM Compatibility, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

Abstract: Objective By applying the previously established “effectiveness-measurability-specificity” three-dimensional integrated strategy, the potential quality markers (Q-Markers) of the Shengxuebao Mixture (SM, 生血宝合剂) were systematically screened, providing a basis for improving its quality control system. **Methods** With effectiveness, measurability and specificity as the core dimensions, the analytic hierarchy process (AHP) was employed to determine the weights of each dimension. The effectiveness dimension was assigned values through literature research combined with network pharmacology analysis, the measurability dimension was evaluated based on the feasibility of HPLC and UPLC-Q-TOF-MS/MS detection, and the specificity dimension was determined through the traceability analysis of compound medicinal materials. The three-dimensional scores and comprehensive scores of each candidate component were calculated, and the regression area of the radar chart was used as the quantitative basis for Q-Marker screening. **Results** Based on the comprehensive evaluation of the above three-dimensional integration strategy, six components with the highest overall scores, which have clear pharmacological efficacy correlations, good chromatographic detection properties, and specific prescription sources, namely paeoniflorin, specnuezhenide, salidroside, chlorogenic acid, albiflorin, and 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside, were finally selected as potential Q-Markers for the SM. **Conclusion** The three-dimensional integrated strategy of “effectiveness-measurability-specificity” applied was accurate and reliable. It identified six potential Q-Markers

收稿日期: 2026-06-29

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2024SF-ZDCYL-03-16); 陕西省三秦英才特殊支持计划创新创业团队项目 (2023)

作者简介: 饶佳兴 (2002—), 硕士研究生, 研究方向为药物分析。E-mail: jxr2986@163.com

*通信作者: 唐于平 (1970—), 教授, 研究方向为中药复杂功效物质与中药配伍相互作用。E-mail: yupingtang@sntcm.edu.cn

in the SM, providing key technical support for the improvement and enhancement of the quality standards of the SM. At the same time, it also offered methodological references for the quantitative identification and quality control system construction of traditional Chinese medicine compound Q-Markers.

Key words: Shengxuebao Mixture; quality marker; three-dimensional integration strategy; effectiveness; measurability; specificity; analytic hierarchy process; UPLC-Q-TOF-MS/MS; paeoniflorin; specnuezhenide; salidroside; chlorogenic acid; albiflorin; 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside

中医药作为世界传统医学的瑰宝，历经数千年临床验证，在防治疾病方面展现出独特价值。然而其化学成分复杂、作用机制不明、药材来源多样，严重制约了中药质量控制的科学化与现代化进程^[1-2]。现行质量控制方法多依赖单一或少数指标成分的含量测定，常出现指标与药效脱节、检测成分缺乏专属性等现象，难以全面保障中药的安全性与有效性。为解决这一难题，刘昌孝院士^[3]率先提出中药质量标志物（quality marker, Q-Marker）的概念，旨在筛选与临床疗效密切关联、可用于质量控制的特征性成分，从而构建科学、系统的中药质量评价体系。本课题组前期围绕中药 Q-Marker 的量化辨识开展了系统的方法学研究，以有效性为核心，以可测性和特有性为条件，结合复方配伍关系，建立了基于层次分析法（analytic hierarchy process, AHP）-熵权法的中药复方 Q-Marker 量化辨识体系，并已获得相关发明专利授权。该方法的可行性已在单味药的 Q-Marker 研究中得到初步验证^[4]。然而，中药复方制剂的化学成分更为复杂、药效物质基础更为多元，如何将该方法学框架有效拓展应用于复方制剂的 Q-Marker 筛选，尚需结合具体品种开展系统研究。

生血宝合剂是临床上广泛用于治疗贫血、肝肾不足等症的中药复方制剂。全方以制何首乌、女贞子为君，深入滋补肝肾、填精益髓以化生阴血；辅以桑椹滋阴补血，黄芪大补脾肺之气，取气能生血之理，从后天之本促血化生，共为臣药；佐以墨旱莲、白芍助滋补肝肾、养血柔肝，并以狗脊强腰膝、引药达所^[5]。诸药协同，融益气、养血、滋补肝肾三法于一体，其作用机制不局限于单纯补血，而是通过恢复并增强肝、肾、脾脏的生理功能，从源头促进气血生化，共奏扶正补虚之效。该方适用于因精血亏虚、元气不足所致的神疲乏力、腰膝酸软、头晕心悸等一系列证候^[6]。前期研究表明，生血宝合剂含有多种化学成分，包括二苯乙烯苷类、蒽醌类、黄酮类、多酚类、生物碱类等^[7]。然而，生血宝合剂的质量控制研究严重不足，难以保障其临床疗效。

根据《中国药典》2025 年版规定，仅以芍药苷和女贞苷 2 个指标性成分进行含量测定，作为其质量控制依据^[8]。当前的质量控制现状与现代中药质量控制需求之间仍存在显著差距，尚未建立能够全面涵盖上述属性的科学评价体系。

中药 Q-Marker 的确定有 5 个核心原则：溯源与传递、特有性、可测性、有效性和处方配伍^[9-11]。其中，与质量控制直接相关的属性可归纳为 3 个核心维度，即有效性、可测性与特异性^[12]。有效性指成分与药效直接相关，可测性强调能够通过分析手段实现精确定量，特异性则体现为反映处方特色或区别于其他中药^[13]。当前生血宝合剂的质量控制体系尚未系统整合上述 3 个维度，缺乏能够全面表征其 Q-Marker 的科学策略。为此，本研究基于前期建立的中药 Q-Marker 量化辨识方法学体系，进一步将该策略拓展应用于生血宝合剂的 Q-Marker 筛选。本研究的拓展与创新主要体现在以下 2 个方面：其一，首次将三维整合策略应用于生血宝合剂这一由 7 味药材组成的复杂复方制剂的 Q-Marker 系统筛选，进一步验证了该方法在复方制剂中的可迁移性与适用性；其二，在评价指标层面，将雷达图回归面积作为 Q-Marker 综合评分的定量化指标，并结合累积贡献率法确定筛选阈值，实现了 Q-Marker 筛选结果从定性可视化向定量化、标准化评价的方法学提升。具体而言，该策略采用 AHP 确定各维度权重，通过网络药理学、HPLC、UPLC-Q-TOF-MS/MS、文献调研以及成分归属数据库等多种手段，分别获取各化学成分在 3 个维度上的评价价值；最后以雷达图的回归面积作为综合评分指标，实现 Q-Marker 的定量化与可视化筛选^[14]。三维整合策略并非 3 个维度的简单叠加，而是基于中药整体性与药效导向性的有机融合。其中，有效性是 Q-Marker 的内在核心，可测性为实现质量控制的技术保障，特异性则体现中药的道地性与处方特色。3 个维度的权重通过 AHP 确定，彼此制约、互为补充，共同构成中药 Q-Marker 识别的科学基础。本研究不仅为生血宝合剂的质量标准提升提供了切实可行的技术支撑，也

为其他中药复方 Q-Marker 的系统发现提供了方法学参考,有望推动中药质量控制从指标性成分测定向药效导向性 Q-Marker 的范式转变。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters Alliance 2695 型高效液相色谱仪,配备 2998 型光电二极管阵列检测器,美国 Waters 公司; Waters SunFire C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 美国 Waters 公司; Milli-Q IQ7000 型超纯水系统,德国默克密理博公司; 梅特勒 ME204T/02 型万分之一电子天平,上海梅特勒-托利多仪器有限公司; Acquity UPLC 系统,美国 Waters 公司; SYNAPT G2-Si Q-TOF 高分辨率飞行时间质谱仪,美国 Waters 公司; Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm), 美国 Waters 公司; KQ-500DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

1.2 药品与试剂

生血宝合剂,批号 JX240501,购自清华德人西安幸福制药有限公司;对照品矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷 (cyanidin-3-*O*-glucoside, CG, 批号 Yz082323)、原儿茶酸 (批号 Yz081423)、绿原酸 (批号 Yz071122)、咖啡酸 (批号 Yz012423)、芍药内酯苷 (批号 Yz051424)、TG (批号 Yz021521)、芍药苷 (批号 Yz052725)、特女贞苷 (批号 Yz081824)、伞形酮 (批号 Yz051715)、芒柄花苷 (批号 Yz051321)、黄芪甲苷 (批号 Yz081319)、黄芪皂苷 I (批号 Yz021622)、毛蕊异黄酮 (批号 Yz081117)、红景天苷 (批号 Yz012313)、表儿茶素 (批号 Yz0613128)、齐墩果酸 (批号 Yz0227113) 和蟛蜞菊内酯 (批号 Yz0729223) 均购自南京源植生物科技有限公司,质量分数均≥98.0%; 乙腈,色谱纯,购自 Honeywell Burdick&Jackson 公司; 甲醇、甲酸,色谱纯,购自德国默克公司。

1.3 数据库及软件

为全面获取生血宝合剂的化学成分信息并开展网络药理学分析,本研究使用以下数据库及软件工具。化学成分检索与筛选,依托中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP 数据库, <https://www.tcmsp-e.com/tcmspsearch/>)、中医药证候关联数据库 (SYMMAP, <https://www.symmap.org/>)、Herb 数据库 (<http://herb.ac.cn/v2/>)、CNKI (<https://kns.cnki.net/>)、Pubmed (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 及 Pharm Mapper 数据库 (<https://lilab-ecust.cn/pharmmapper/>

<index.html>) ; 活性成分靶点预测使用 Genecards (<https://www.genecards.org/>) 及 SwissTargetPrediction database (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) ; 网络构建与可视化,采用 Cytoscape 软件 (3.11.0 版) ; UPLC-Q-TOF-MS/MS 数据分析采用 MassLynx V4.2 软件。

2 方法与结果

2.1 三维整合策略的建立与维度权重确定

2.1.1 三维整合策略的 Q-Marker 识别系统的建立 本研究选取有效性、可测性、特异性作为 Q-Marker 的 3 大核心属性,建立依托三维雷达图的 Q-Marker 筛选体系。以雷达图 3 条坐标轴分别对应 3 项评价指标,借助 AHP 测算各维度权重^[4]。综合运用网络药理学、HPLC 和 UPLC-Q-TOF-MS/MS 定量测定、文献调研及化合物归属检索等手段获取相应评价数据,进而将权重与评价数据整合为各成分在雷达图中的轴值,并通过计算回归区域实现量化评估,回归面积越大,表明该成分越适用于生血宝合剂的质量控制。

2.1.2 AHP 计算 3 个维度的权重 为评估有效性、可测性与特异性在 Q-Marker 鉴定中的相对重要性,本研究邀请 5 名相关领域专家参与评分。专家构成如下:中药质量评价研究方向教授 2 名,均具有 15 年以上中药质量控制研究经验;中药药理学研究方向副教授 1 名,具有 8 年以上中药药效评价经验;中药分析研究方向副教授 1 名,具有 10 年以上中药分析检测经验;药物分析研究方向讲师 1 名,具有 5 年以上药物分析检测经验。

首先,依据专业人士对 3 项属性相对重要性的评判构建判断矩阵,依据 AHP 的 1-9 标度法则,对 3 个维度的相对重要程度进行两两比较与赋值,构建 3 阶判断矩阵 $(A) = (a_{ij})_{n \times n}$ 。其中,矩阵元素 a_{ij} 表示第 i 个维度相对于第 j 个维度的重要性比值,满足互反性规则 $a_{ji} = 1/a_{ij}$,对角线元素 (维度自身比较) 取值为 1。

计算判断矩阵每行所有元素的几何平均值,得到各维度的初始权重 ($\bar{w}_i$),对初始权重进行归一化处理,得到各维度的最终权重系数 (w_i),计算公式为 $w_i = \bar{w}_i / \sum_{j=1}^n \bar{w}_j$, $\bar{w}_i = (\prod_{j=1}^n a_{ij})^{1/n}$ (a 、 i 、 j 分别为判断矩阵的元素、行和阶数, $\bar{w}_i$ 、 w_i 分别为各核心属性的初始权重和归一化权重)。

最后,为验证各核心属性权重的正确性,进行一致性检验分析。一致性比率 (consistency ratio, CR,

CR=CI/RI)值,通过一致性指标[consistency index, CI, $CI=(\lambda_{\max}-n)/(n-1)$, $\lambda_{\max}=\sum_{i=1}^n (Aw)_i/nw_i$, Aw 表示权重乘以判断矩阵, $\lambda_{\max}$ 是最大特征值]以及随机一致性值(random index, RI)得出, RI 值由 Saaty 通过大量随机判断矩阵模拟统计得出,当 $n=3$ 时, $RI=0.52$ 。若 $CR<0.1$,则表示计算过程无逻辑错误,结果可靠^[15-16]。

2.1.3 有效性、可测性、特异性三维指标权重结果以 3 个辐射轴由中心向外构建三维雷达图,分别代表有效性、可测性与特异性 3 个核心维度。采用 AHP 对各维度权重进行评估,通过构建判断矩阵,依据相关领域专家对 3 个维度相对重要性的评分,计算每行元素的乘积与几何平均值(初始权重 w_i)得到有效性行、可测性行和特异性行的初始权重值分别为 2.240 7、1.169 6 和 0.381 6。

归一化计算最终权重得到有效性、可测性和特异性的相对权重分别为 59.09%、30.85%和 10.06%,具体分配结果见表 1。在获得各维度权重的基础上,构建三维雷达图对各候选成分进行综合评分。雷达图以 3 个坐标轴分别代表有效性(X_E)、可测性(X_T)和特异性(X_S),结果如图 1 所示,各成分的轴值由对应维度的权重与评价价值相乘得到。CR 为 0.025 0 ($CR=0.013\ 0/0.52$),小于 0.1,证明权重结果可靠。从权重分布结果可见,有效性占比最高,是 Q-Marker 筛选的首要参考要素,可测性次之,特异性权重最低,与 Q-Marker 药效优先、兼顾可控与专属特征的遴选原则保持一致。

表 1 三维核心属性判断矩阵、特征向量及权重分配结果
Table 1 Results of judgment matrix for three-dimensional core attributes, eigenvectors and weight allocation

维度	有效性	可测性	特异性	特征向量	权重/%
有效性	1	9/4	5	2.240 7	59.09
可测性	4/9	1	18/5	1.169 6	30.85
特异性	1/5	5/18	1	0.381 6	10.06

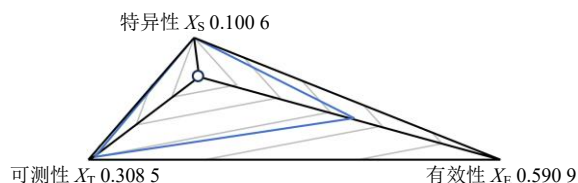


图 1 基于三维整合策略的生血宝合剂候选成分综合评分雷达图

Fig. 1 Radar chart of comprehensive scoring of candidate components for Shengxuebao Mixture (SM) based on three-dimensional integration strategy

2.2 生血宝合剂化学成分的有效性评估

在中药 Q-Marker 筛选体系中,有效性是其筛选的首要核心指标。现代药理研究证明,生血宝合剂可改善贫血体虚、白细胞减少等症,其中许多化学成分兼具抗炎、抗氧化、抗肿瘤等多种药理活性^[4]。本研究通过文献调研与网络药理学相结合的方法,对生血宝合剂中化学成分的有效性进行系统评估与量化赋值。

2.2.1 文献检索生血宝合剂中抗炎、抗氧化和抗肿瘤的活性成分为系统筛选生血宝合剂中具有抗炎、抗氧化及抗肿瘤活性的潜在有效成分,采用数据库检索与文献挖掘技术开展化学成分筛查^[17]。首先,通过 TCMSP、PharmMapper 以及 PubMed、CNKI 等中英文科学文献数据库,全面搜集生血宝合剂中各味药材已报道的化学成分。进而通过化学成分检索其近 20 年抗氧化活性、抗炎作用及抗肿瘤活性的文献并统计各成分在 3 种药理活性方面的文献报道数量,以此作为各成分有效性评分的初始依据。

2.2.2 网络药理学方法寻找生血宝合剂治疗相关疾病的活性成分为系统筛选其药效成分,本研究采用网络药理学方法,构建了生血宝合剂治疗相关疾病的化学成分库^[18]。通过 CNKI、PubMed、TCMSP 和 Herb 数据库收集了生血宝合剂中 7 味组方药材的化学成分,并根据口服生物利用度(oral biological activity, OB) $\geq 30\%$ 和类药性 ≥ 0.18 的条件筛选出了潜在的有效成分。继而利用 Genecards、TCMSP 及 SwissTargetPrediction 等在线数据库,预测上述活性成分治疗贫血、乏力及白细胞减少症的潜在作用靶点。基于筛选所得活性成分与靶点信息,使用 Cytoscape 3.11.0 软件构建“活性成分-潜在靶点-疾病”网络。以节点度值(degree)作为评价成分有效性的量化指标,度值越高表明该成分在网络中发挥越关键的调控作用。

2.2.3 有效性评价数据的归一化处理有效性评价采用文献调研与网络药理学 2 种独立方法,2 种方法覆盖的成分不同、数据来源不同,各自独立评价,分别获得各成分的有效性评分。文献调研获得的成分以文献数量经最大值归一化公式 $X/X_{\max}$ 计算评价价值;网络药理学筛选获得的成分以节点度值经相同公式计算评价价值。其中 X 为某一成分的原始值, $X_{\max}$ 为该指标下的最大值,归一化后各值均介于 0~1。2 种方法互不交叉、互不合并,各自呈现评分结果。表 1 中“评价价值”为各成分在各自方法下经归一化

处理后的无量纲分值,“有效值”为各成分在有效性维度的最终评分结果。文献调研部分以芍药苷为例,该成分在抗炎、抗氧化及抗肿瘤方面的文献报道平均值为 129 篇,经最大值归一化公式计算,其评价价值 $V=129/349=0.369\ 6$,有效值即为 0.369 6。网络药理学部分以山柰酚为例,该成分在互作网络中的度值为 56,在所有网络药理学成分中度值最高 ($X_{\max}=56$),经归一化后 $V=56/56=1.000$,有效值即为 1.000。

2.2.4 有效性评价结果 通过系统检索 CNKI、PubMed 等数据库中生血宝合剂相关化学成分的研究文献,汇总目前已报道的化学成分共 52 个。针对上述成分,逐一统计其在抗炎、抗氧化及抗肿瘤方面的研究文献数量,以此作为有效性量化赋值的依据。选取评分排名前 20 的化合物纳入统计分析,结果见表 2 前 20 个成分。

依托 TCMSP、SYMMAP 及 Herb 等数据库,对生血宝合剂处方中 7 味药材的化学成分进行系统检索与活性筛选,以 $OB\geq 30\%$ 且类药性 ≥ 0.18 为筛选阈值,共筛选出黄酮类、香豆素类、吲哚类及单萜类等潜在活性成分 178 个。通过 Genecards、SwissTargetPrediction 等数据库预测上述成分治疗贫血、乏力及白细胞减少症的潜在靶点,共获得 127 个疾病相关靶点。采用 Cytoscape 3.11.0 构建“活性成分-潜在靶点-疾病”互作网络(图 2),以节点度值作为评价各成分有效性的量化指标,选取度值排名前 20 的活性成分,结果见表 2 后 20 个成分。

2.3 生血宝合剂化学成分的可测性评估

可测性是中药 Q-Marker 筛选的基本前提,取决于成分的含量高低及分析方法的可操作性。本研究通过文献调研与 HPLC、UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析相结合的方式,对生血宝合剂中主要化学成分进行定量测定,以各成分的平均百分含量作为可测性维度的评价指标。

2.3.1 文献检索化学成分的可测性 以“生血宝合剂”及“含量测定”为关键词,检索 CNKI、PubMed 等数据库,收集生血宝合剂全方及组方各单味药材中目标化学成分含量测定的相关文献报道^[5,19]。为降低不同研究间样品批次、产地、采收时间及测定方法差异对统计结果的影响,对检索所得文献设定以下纳入标准:仅纳入采用 HPLC 或 UPLC 法定量、且方法学验证完整的研究;排除仅以单一批次样品为对象的研究;同一研究团队发表的重复数据

仅纳入最新一次。经筛选后,提取各成分的含量数据,计算同一成分在不同文献中的算术平均值,作为其文献报道平均百分含量。该文献调研数据与本研究 HPLC 实测数据相互印证、综合判断,共同构成可测性评价的依据。

2.3.2 HPLC 分析生血宝合剂中化学成分的可测性

(1) 色谱条件:采用 Waters SunFire C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液,梯度洗脱条件:0~10 min, 5%~10%乙腈;10~15 min, 10%~15%乙腈;15~25 min, 15%~20%乙腈;25~35 min, 20%~25%乙腈;35~45 min, 25%~30%乙腈;45~55 min, 30%~35%乙腈;55~60 min, 35%~45%乙腈;60~62 min, 45%~95%乙腈;62~64 min, 95%~5%乙腈;体积流量 1.0 mL/min;柱温 30 ℃;检测波长 240 nm;进样量 10 μL。

(2) 对照品溶液的制备:原儿茶酸、CG、绿原酸、咖啡酸、芍药内酯苷、芍药苷、TG、特女贞苷和蟛蜞菊内酯对照品适量,置于量瓶中,加甲醇制成各成分质量浓度均为 1 mg/mL 的对照品溶液,分别取适量各稀释后的对照品溶液,以 0.22 μm 有机滤膜滤过,滤液即为混合对照品溶液。

(3) 供试品溶液的制备:精密量取生血宝合剂 2 mL,置于具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 26.7 mL,室温下超声(功率 500 W、频率 40 kHz)处理 30 min,用甲醇补足减失的质量,摇匀,静止,取上清液,经 0.22 μm 的微孔滤膜滤过,取续滤液,即得供试品溶液。

(4) 含量测定:将制备好的对照品溶液和供试品溶液进样,记录各色谱峰的保留时间及峰面积,采用外标法计算供试品溶液中各成分的含量。每个样品平行测定 6 次,取平均值作为该成分在生血宝合剂中的实测含量。

2.3.3 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析生血宝合剂化学成分的可测性

(1) 色谱条件:使用 Waters Acquity BEH C₁₈ 色谱柱 (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm);流动相为 0.1%甲酸水溶液-乙腈,梯度洗脱:0~2 min, 5%~10%乙腈;2~6 min, 10%~20%乙腈;6~13 min, 20%~40%乙腈;13~20 min, 40%~56%乙腈;20~23 min, 56%~80%乙腈;23~25 min, 80%~95%乙腈;25~27 min, 95%~5%乙腈;27~29 min, 5%乙腈;进样量为 1 μL;体积流量为 0.3 mL/min;柱

表 2 生血宝合剂潜在活性成分的有效性评价

Table 2 Evaluation of effectiveness of potential active ingredients of SM

序号	化学成分	分子式	文献数量				度值	有效值
			抗炎	抗氧化	抗肿瘤	平均值		
1	绿原酸 (chlorogenic acid)	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	540	218	290	349	—	1.000 0
2	咖啡酸 (caffeic acid)	C ₉ H ₈ O ₄	440	246	289	325	—	0.931 2
3	白藜芦醇 (resveratrol)	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	319	291	237	282	—	0.808 0
4	芒柄花素 (formononetin)	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	188	220	274	227	—	0.650 4
5	熊果酸 (ursolic acid)	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	204	45	275	175	—	0.501 4
6	大黄酸 (rhein)	C ₁₅ H ₈ O ₆	238	30	253	174	—	0.498 6
7	齐墩果酸 (oleanolic acid)	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	210	50	210	157	—	0.455 6
8	芍药苷 (paeoniflorin)	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	146	125	116	129	—	0.369 6
9	矢车菊素-3- <i>O</i> -葡萄糖苷 (cyanidin-3- <i>O</i> -glucoside)	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	192	80	88	120	—	0.343 8
10	特女贞苷 (specnuezhenide)	C ₃₁ H ₄₂ O ₁₇	57	48	214	106	—	0.303 7
11	毛蕊异黄酮 (calycosin)	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	88	100	125	104	—	0.298 0
12	红景天苷 (salidroside)	C ₁₄ H ₂₀ O ₇	164	25	105	98	—	0.280 8
13	原儿茶酸 (protocatechuic acid)	C ₇ H ₆ O ₄	141	64	78	94	—	0.269 3
14	木犀草苷 (luteolin-7- <i>O</i> -glucoside)	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	54	133	61	83	—	0.237 9
15	蟛蜞菊内酯 (weddelolactone)	C ₁₆ H ₁₀ O ₇	39	33	45	39	—	0.111 7
16	黄芪甲苷 (astragaloside IV)	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	28	57	27	37	—	0.106 0
17	2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷 (2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucoside, TG)	C ₂₀ H ₂₂ O ₉	35	50	21	35	—	0.100 3
18	芍药内酯苷 (albiflorin)	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	40	39	20	33	—	0.094 6
19	大黄素甲醚 (physcion)	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	30	7	42	26	—	0.074 5
20	旱莲苷 A (ecliptasaponin A)	C ₃₆ H ₅₈ O ₉	3	2	1	2	—	0.005 7
21	山柰酚 (kaempferol)	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	—	—	—	—	56	1.000 0
22	槲皮素 (quercetin)	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	—	—	—	—	45	0.803 6
23	伞形花内酯 (umbelliferone)	C ₉ H ₆ O ₃	—	—	—	—	26	0.464 3
24	<i>N</i> -(4-氯苯甲酰基)褪黑素 [<i>N</i> -(4-chlorobenzoyl)-melatonin]	C ₂₄ H ₂₃ ClN ₂ O ₃	—	—	—	—	21	0.375 0
25	芍药内酯 C (paeonilactone C)	C ₁₇ H ₁₈ O ₆	—	—	—	—	19	0.339 3
26	绵马酚 (aspidinol)	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	—	—	—	—	17	0.303 6
27	麦黄酮 (tricin)	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	—	—	—	—	17	0.303 6
28	3'- <i>O</i> -甲基奥罗波醇 (3'- <i>O</i> -methylobol)	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	—	—	—	—	16	0.285 7
29	外西亭 (exoticin)	C ₂₃ H ₂₆ O ₁₀	—	—	—	—	16	0.285 7
30	东莨菪内酯 (scopoletin)	C ₁₀ H ₈ O ₄	—	—	—	—	16	0.285 7
31	(1 <i>E</i>)-1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-7-苯基-1-庚烯-3-酮 [(1 <i>E</i>)-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-7-phenyl-1-hepten-3-one]	C ₂₀ H ₂₂ O ₃	—	—	—	—	16	0.285 7
32	松柏醇 (coniferyl alcohol)	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	—	—	—	—	16	0.285 7
33	环(酪氨酸-苯丙氨酸) [cyclo(Tyr-Phe)]	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₃	—	—	—	—	16	0.285 7
34	香草醇 (vanillyl alcohol)	C ₈ H ₁₀ O ₃	—	—	—	—	16	0.285 7
35	紫花前胡素 (nodakenetin)	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	—	—	—	—	15	0.267 9
36	(+)-氧化前胡素 [(+)-oxypeucedanin]	C ₁₆ H ₁₄ O ₅	—	—	—	—	15	0.267 9
37	(6-羟基-6-甲基-2,5-二氧代-3a,4,7,7a-四氢-3 <i>H</i> -1-苯并呋喃-3-基)甲基苯甲酸酯 [(6-hydroxy-6-methyl-2,5-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahydro-3 <i>H</i> -1-benzofuran-3-yl)methyl benzoate]	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	—	—	—	—	15	0.267 9
38	3,7-二羟基-2-(4-羟基-2-甲氧基苯基)-5-甲氧基色原烯-4-酮 [3,7-dihydroxy-2-(4-hydroxy-2-methoxyphenyl)-5-methoxychromen-4-one]	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	—	—	—	—	15	0.267 9
39	乙酸1-甲基辛酯 (1-methyloctyl acetate)	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	—	—	—	—	15	0.267 9
40	金合欢素 (acacetin)	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	—	—	—	—	15	0.267 9

“—”表示该成分在另一方法下无对应数据。

“—” means that there is no corresponding data for this component under another method.

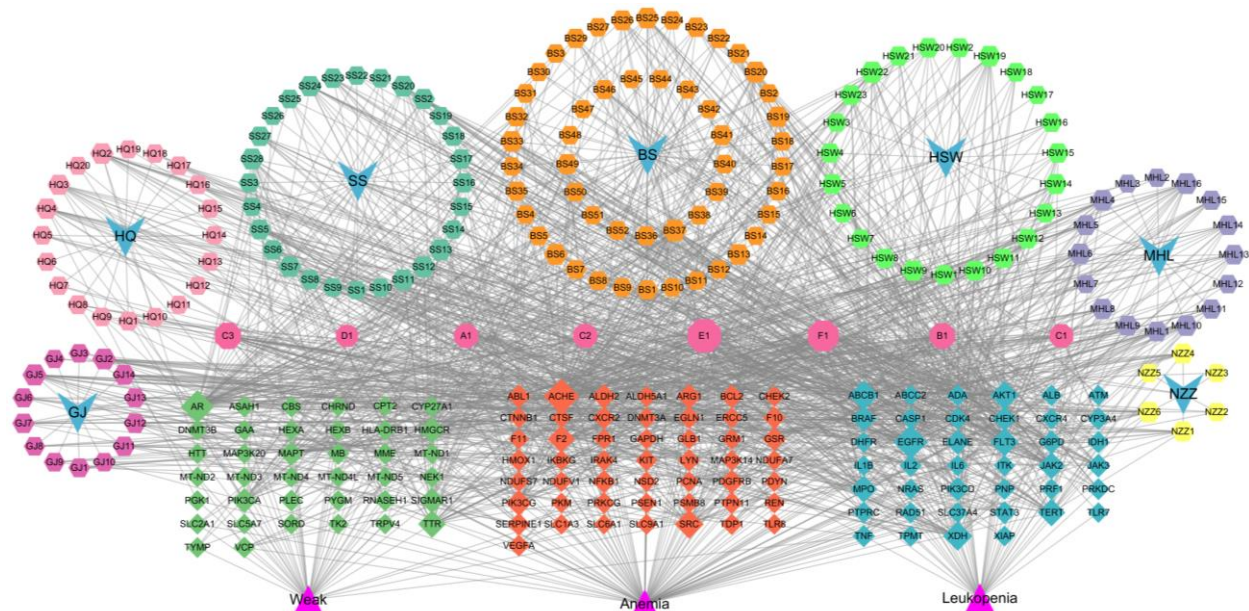


图 2 生血宝合剂的“活性成分-潜在靶点-疾病”网络

Fig. 2 “Active ingredient-potential target-disease” network of SM

温为 35 ℃。

(2) 质谱条件：正离子模式下，源条件：毛细管电压为 3.0 kV，样品锥电压为 55 V，离子源温度为 100 ℃，去溶剂气体温度为 350 ℃，锥气体体积流量为 50 L/h，去溶剂气体 (N₂) 体积流量为 800 L/h，雾化气压力为 650 kPa (6.5 bar)。该模式下的数据采集覆盖 m/z 50~1 200 的质谱范围。负离子模式下，源条件：毛细管电压为 2.5 kV，样品锥电压为 40 V，离子源温度为 120 ℃，去溶剂气体温度为 280 ℃，锥气体体积流量为 50 L/h，去溶剂气体 (N₂) 体积流量为 600 L/h，雾化气压力为 650 kPa (6.5 bar)。该模式的数据采集覆盖质荷比 m/z 50~1 200 的质谱范围。通过使用 Waters MassLynx V4.2 软件进行数据采集和分析的控制。

(3) 供试品溶液的制备：精密量取生血宝合剂 1 mL，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 10.0 mL，称定质量，室温下超声（功率 500 W、频率 40 kHz）处理 30 min，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，静置。分析前，将样品稀释至 1 mg/mL，取上清液经 0.22 μm 的微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

(4) 数据处理和结果分析：采用 MassLynx V4.2 软件对数据进行处理，根据正、负离子模式下各化学成分保留时间和二级质谱碎片，与 UNIFI 数据库和相关文献数据对比，进行化学成分确认。

2.3.4 可测性评价数据的归一化处理与定量成分

选择依据 可测性评估的数据来源分为 2 类：HPLC 实测的 9 种化合物采用本研究中统一批次样品的实测含量数据进行归一化；其余未进行 HPLC 定量的成分，采用文献报道含量的归一化值。两类数据均采用最大值归一化公式 $X/X_{\max}$ 进行标准化处理，其中， X 为某一成分的含量值， $X_{\max}$ 为同类数据来源中的最大含量值。

需要说明的是，UPLC-Q-TOF-MS/MS 所鉴定出的 32 种成分中，仅上述 9 种成分纳入了 HPLC 定量分析，其余 23 种成分未纳入定量分析，主要原因包括：部分成分缺乏市售或实验室自制的对照品，无法建立准确的定量方法；部分成分在供试品中响应值较低，低于方法定量限，难以获得可靠的含量数据；另有部分成分存在同分异构体或结构类似物，在现有色谱条件下难以实现基线分离。纳入定量分析的 9 种成分的选择遵循以下原则：成分应来源于生血宝合剂中不同组方药材，涵盖二苯乙烯苷类、环烯醚萜苷类、单萜苷类、黄酮类及酚酸类等多种结构类型，同时满足对照品可获得、色谱分离度良好、响应强度满足定量要求等基本条件。上述 9 种成分能够代表生血宝合剂中主要的可测性成分群，为可测性综合评分的计算提供数据基础。

2.3.5 可测性评价结果 以“生血宝合剂”“化学成分”“含量测定”为主题词检索 CNKI 及 PubMed 等数据库，汇总生血宝合剂中化学成分已报道的平均含量，作为可测性评价的文献依据。在此基础上，

采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术对生血宝合剂的化学成分进行定性分析, 分别在电喷雾离子源负离子和正离子模式下采集基峰离子强度 (base peak

intensity, BPI) 色谱图, 结果如图 3 所示, 依据“2.3.3”项下方法共鉴定出 32 个化学成分 (表 3), 为后续定量分析提供了物质基础。进一步采用 “2.3.2” 项

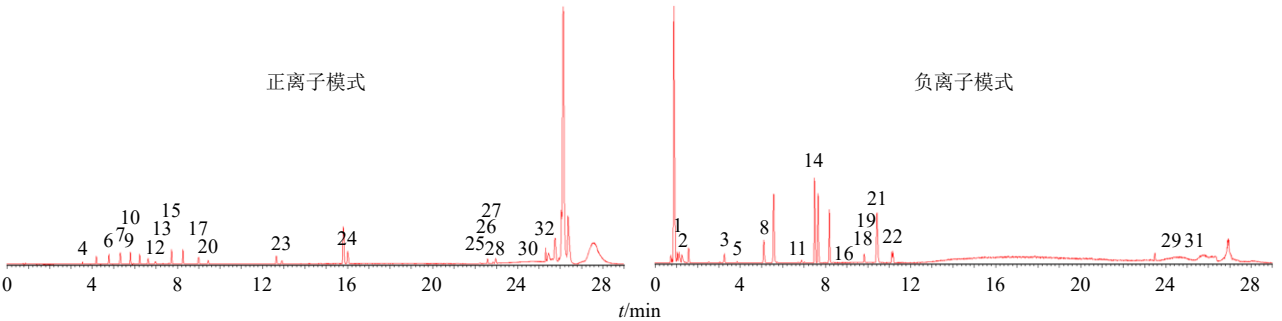


图 3 正、负离子模式下生血宝合剂的 BPI 色谱图

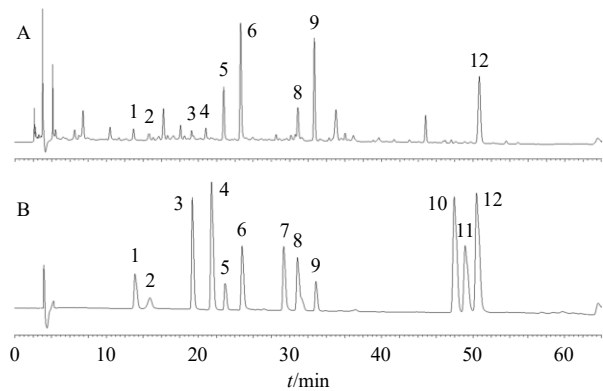
Fig. 3 BPI chromatogram of SM under positive and negative ion modes

表 3 生血宝合剂中化学成分的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定结果

Table 3 UPLC-Q-TOF-MS/MS identification results of chemical components in SM

序号	<i>t</i> _R / min	化合物名称	分子式	<i>m/z</i>		误差 (×10 ⁻⁶)	加合离子	二级碎片离子	归属
				理论值	实测值				
1	1.04	<i>L</i> -(+)-苹果酸	C ₄ H ₆ O ₅	133.013 7	133.014 2	3.8	[M-H] ⁻	115.003 2	桑椹
2	1.25	柠檬酸	C ₆ H ₈ O ₇	191.019 1	191.017 9	-6.8	[M-H] ⁻	173.008 2, 111.009 3	桑椹
3	3.26	没食子酸	C ₇ H ₆ O ₅	169.013 7	169.014 2	3.0	[M-H] ⁻	125.023 3, 81.033 4	白芍、桑椹、墨旱莲
4	3.68	伞形酮	C ₉ H ₆ O ₃	163.039 5	163.040 9	8.6	[M+H] ⁺	145.028 9	女贞子、墨旱莲
5	3.85	原儿茶酸	C ₇ H ₆ O ₄	153.018 8	153.019 3	3.4	[M-H] ⁻	109.028 4, 91.017 6	狗脊、白芍、桑椹
6	5.17	芍药苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	481.171 0	481.175 3	8.9	[M+H] ⁺	449.145 3, 327.108 2, 165.054 9	白芍
7	5.31	刺囊酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₄	473.363 1	473.364 7	3.4	[M+H] ⁺	455.352 5, 437.341 9	女贞子
8	5.46	毛蕊花糖苷	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.197 6	623.194 3	-5.3	[M-H] ⁻	461.134 4, 315.090 0	何首乌
9	5.67	松柏醛	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	179.070 8	179.070 3	-2.8	[M+H] ⁺	161.060 2	女贞子、墨旱莲
10	5.78	金毛狗脊苷A	C ₂₇ H ₃₈ O ₆	459.274 7	459.271 4	7.2	[M+H] ⁺	441.264 0	狗脊
11	6.23	芍药内酯苷	C ₂₃ H ₂₈ O ₁₁	479.155 9	479.154 2	-3.5	[M-H] ⁻	447.123 8, 431.128 9, 357.090 1	白芍
12	6.96	苯甲酰芍药苷	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₂	607.179 1	607.180 5	2.3	[M+Na] ⁺	479.155 8, 327.108 0, 121.028 5	白芍
13	7.31	旱莲苷D	C ₃₆ H ₅₈ O ₉	657.397 9	657.398 5	1.0	[M+Na] ⁺	635.385 4, 473.362 8, 423.362 5	墨旱莲
14	7.44	TG	C ₂₀ H ₂₂ O ₉	405.118 6	405.117 8	-1.9	[M-H] ⁻	243.066 0, 225.055 3	何首乌
15	7.59	特女贞苷	C ₃₁ H ₄₂ O ₁₇	704.276 0	704.273 3	-3.8	[M+NH ₄] ⁺	507.200 6, 165.084 6	女贞子
16	8.80	橄榄苦苷	C ₂₅ H ₃₂ O ₁₃	539.176 5	539.173 7	-5.2	[M-H] ⁻	377.123 0, 307.080 0, 223.060 7	女贞子
17	9.18	芒柄花苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₉	453.116 2	453.116 0	0.3	[M+Na] ⁺	431.132 8, 269.081 0	黄芪
18	9.96	毛蕊异黄酮-7- <i>O</i> -β- <i>D</i> -葡萄糖苷	C ₂₂ H ₂₂ O ₁₀	491.119 6	491.119 9	0.9	[M+HCOO] ⁻	283.062 2, 268.039 3	黄芪
19	10.15	松果菊苷	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	785.250 5	785.252 1	1.6	[M-H] ⁻	623.221 0	墨旱莲
20	10.26	蟛蜞菊内酯	C ₁₆ H ₁₀ O ₇	315.050 5	315.049 9	-1.9	[M+H] ⁺	287.055 6, 259.060 1	墨旱莲
21	10.42	丹皮酚	C ₉ H ₁₀ O ₃	165.055 2	165.056 2	6.1	[M-H] ⁻	136.016 0	白芍
22	11.21	新女贞苷	C ₃₁ H ₄₂ O ₁₈	701.229 3	701.227 0	-3.3	[M-H] ⁻	539.176 6, 521.166 0	女贞子
23	13.54	黄芪甲苷	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₄	785.468 7	785.467 0	-2.2	[M+H] ⁺	627.411 2, 473.362 8	黄芪
24	16.99	黄芪皂苷I	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	869.489 8	869.483 3	-7.5	[M+H] ⁺	851.472 3	黄芪
25	22.44	毛蕊异黄酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	285.075 7	285.074 2	-5.3	[M+H] ⁺	270.050 4, 253.047 1	黄芪
26	22.56	大黄素	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	271.060 7	271.060 1	-2.0	[M+H] ⁺	225.055 0, 197.059 7	何首乌
27	22.83	对二甲氨基苯甲醛	C ₉ H ₁₁ NO	150.091 8	150.092 5	4.1	[M+H] ⁺	132.081 3, 121.065 1	狗脊
28	22.97	红景天苷	C ₁₄ H ₂₀ O ₇	301.128 7	301.128 2	-1.8	[M+H] ⁺	147.065 1, 119.049 7	女贞子
29	24.50	甜菊糖苷	C ₃₈ H ₆₀ O ₁₈	803.370 1	803.374 0	4.9	[M-H] ⁻	641.310 0, 479.250 8	女贞子
30	24.82	齐墩果酸	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	457.368 2	457.364 7	-7.7	[M+H] ⁺	439.381 2, 411.391 2	女贞子、狗脊
31	25.46	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	279.232 4	279.231 6	-2.9	[M-H] ⁻	261.221 8	何首乌
32	25.62	表儿茶素	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	313.068 8	313.066 5	-7.4	[M+Na] ⁺	295.058 2, 277.047 6	何首乌、女贞子

下建立的 HPLC 方法,通过混合对照品溶液与供试品溶液色谱图的保留时间比对,指认并定量了 9 个目标化学成分, HPLC 图如图 4 所示。在设定的质



1-原儿茶酸; 2-CG; 3-绿原酸; 4-咖啡酸; 5-芍药内酯苷; 6-芍药苷; 7-木犀草苷; 8-TG; 9-特女贞苷; 10-槲皮素; 11-毛蕊异黄酮; 12-蟛蜞菊内酯。
1-protocatechuic acid; 2-CG; 3-chlorogenic acid; 4-caffeic acid; 5-albiflorin; 6-paeoniflorin; 7-luteolin-7-O-glucoside; 8-TG; 9-specnuezhenide; 10-quercetin; 11-calycosin; 12-wedelolactone.

图 4 生血宝合剂 (A) 和混合对照品 (B) 的 HPLC 图
Fig. 4 HPLC chromatograms of SM (A) and mixed reference substances (B)

量浓度范围内绘制标准曲线,各成分回归方程相关系数均大于 0.999,满足定量分析要求。方法学验证参照《中国药典》2025 年版四部通则 9101 进行:精密密度试验取同一供试品溶液连续进样 6 次;重复性试验取同一批样品 6 份,分别制备供试品溶液并测定;稳定性试验取同一供试品溶液于 0、2、4、8、12、24 h 进样测定;加样回收率试验取已知含量的样品 6 份,精密加入等量对照品,按供试品制备方法处理后测定。

结果见表 4, 9 种成分峰面积的精密密度 RSD 小于 2.87%,重复性 RSD 小于 2.94%,稳定性 RSD 小于 2.56%,加样回收率平均值在 97.29%至 107.99%之间, RSD 小于 3.9%,表明所建方法精密密度、重复性及稳定性良好,符合定量分析要求。依据上述测定结果,计算各成分在生血宝合剂中的平均百分含量,作为可测性评估的量化指标,结果见表 5。

2.4 生血宝合剂化学成分的特异性评估

特异性是中药 Q-Marker 筛选的核心评价指标之一,具有良好特异性的化学成分既可体现目标复方的固有化学特征,又能实现与其他药材及复方的

表 4 9 种化合物的方法学考察
Table 4 Methodological investigation of nine compounds

成分	线性回归方程	<i>r</i>	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	RSD/%			加样回收率/%	
				精密密度	重复性	稳定性	平均值	RSD
原儿茶酸	$Y=17\,657.0\,X+595\,901.0$	0.999 4	31.250~1 000.000	2.04	0.80	1.48	99.23	1.77
CG	$Y=8\,941.6\,X+133\,867.0$	0.999 6	31.250~1 000.000	1.79	2.94	1.59	103.54	1.67
绿原酸	$Y=32\,737.0\,X-377\,922.0$	0.999 4	15.625~1 000.000	1.22	1.27	1.30	103.55	3.90
咖啡酸	$Y=50\,195.0\,X-434\,713.0$	0.999 4	15.625~1 000.000	2.87	0.79	2.56	97.29	2.00
芍药内酯苷	$Y=9\,321.3\,X-339\,034.0$	0.999 3	31.250~1 000.000	2.02	1.89	0.87	101.77	2.61
芍药苷	$Y=9\,832.0\,X-169\,146.0$	0.999 3	31.250~1 000.000	2.26	1.02	1.13	103.50	3.39
TG	$Y=8\,239.2\,X+3\,722.1$	0.999 2	31.250~1 000.000	1.95	1.25	0.93	103.69	2.62
特女贞苷	$Y=11\,403.0\,X-347\,944.0$	0.999 6	31.250~1 000.000	1.28	1.92	1.26	107.99	2.24
蟛蜞菊内酯	$Y=26\,045.0\,X+64\,532.0$	0.999 6	31.250~1 000.000	0.78	0.86	1.39	102.59	1.76

表 5 生血宝合剂中 9 种化学成分的质量分数测定结果
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Mass fraction determination results of nine chemical components in SM ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

成分	质量分数/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	成分	质量分数/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
芍药苷	2.348 ± 0.050	原儿茶酸	0.309 ± 0.003
特女贞苷	1.665 ± 0.019	绿原酸	0.120 ± 0.001
芍药内酯苷	1.204 ± 0.021	CG	0.105 ± 0.002
TG	1.048 ± 0.020	咖啡酸	0.101 ± 0.002
蟛蜞菊内酯	0.746 ± 0.006		

有效区分。本研究通过数据库检索与逆向归一化相结合的方法,对生血宝合剂中化学成分的特异性进行系统评估与量化赋值。

2.4.1 特异性评价方法 本研究依托 TCMSP、SYMMAP、Herb 等权威中药信息数据库,对候选化学成分进行基原归属检索,统计各化合物在已报道中药材中的分布物种数。某一化学成分分布的药用植物种类越多,其在生血宝合剂中的处方专属性越弱,特异性越低。基于上述分布频次,采用逆向归一化公式 $(X_{\text{max}} - X)/(X_{\text{max}} - X_{\text{Min}})$ 计算各成分的特异

性评分, 其中 X 为某一成分的分布物种数, $X_{\max}$ 和 $X_{\min}$ 分别为所有候选成分中的最大和最小分布物种数。由公式可知, 成分分布物种越少, 特异性评分越高; 反之, 分布物种越多, 特异性评分越低。

2.4.2 特异性评价结果 基于上述方法计算各候选成分的特异性评分, 结果见表 6。从化合物分布特征来看, 部分成分在药用植物中分布较为广泛, 如芍药苷、特女贞苷和芍药内酯苷分别在 17 种、4 种和 8 种中药中被检索到, 其专属指向性相对有限。而 TG 主要分布于蓼科植物(如何首乌、大黄), 黄芪甲苷则仅见于豆科黄芪属植物, 此类成分的药用植物分布范围狭窄, 对生血宝合剂的处方指向性强, 具有更高的特异性, 更适于作为反映生血宝合剂质量特征的特征性标志物。

表 6 生血宝合剂潜在活性成分的可测性和特异性评价
Table 6 Evaluation values of measurability and specificity of potential active components in SM

成分	质量分数/%	可测性值	药材	特异性值
芍药苷	0.234 8	1.000 0	17	0.920 6
特女贞苷	0.166 5	0.709 1	4	0.989 4
芍药内酯苷	0.120 4	0.512 8	8	0.968 3
TG	0.104 8	0.446 3	2	1.000 0
蟾蜍菊内酯	0.074 6	0.325 4	4	0.989 4
红景天苷	0.070 8	0.301 5	31	0.846 6
原儿茶酸	0.030 9	0.131 6	113	0.412 7
黄芪甲苷	0.013 5	0.057 7	2	1.000 0
大黄素	0.013 0	0.055 4	25	0.878 3
绿原酸	0.012 0	0.051 1	104	0.460 3
CG	0.010 5	0.044 7	2	1.000 0
咖啡酸	0.010 1	0.043 0	183	0.042 3
木犀草苷	0.009 9	0.042 2	66	0.661 4
毛蕊异黄酮	0.007 6	0.032 4	18	0.894 2
大黄素甲醚	0.004 3	0.018 3	20	0.904 8
芒柄花素	0.003 8	0.016 2	54	0.724 9
齐墩果酸	0.003 6	0.015 2	191	0.000 0
熊果酸	0.003 5	0.014 9	186	0.026 5

2.5 基于三维综合评分的生血宝合剂 Q-Marker 定量识别与筛选

为从生血宝合剂治疗相关疾病的活性成分中筛选出符合要求的 Q-Marker, 候选成分除有效性外还需同时具备良好的可测性与特异性。本研究构建了以三维雷达图为核心的评价模型, 该模型以 3 个由中心发出的辐射轴分别代表上述 3 项核心属性。在获得各候选成分的有效性、可测性及特异性评价

数据后, 将各属性的权重与其对应评价值相乘, 分别计算出各成分在 3 个维度上的轴值。

2.5.1 三维整合评价模型的构建与 Q-Marker 筛选阈值确定 在获得各候选成分的有效性、可测性及特异性评价数据后, 将各属性的权重与其对应评价值相乘, 分别计算出各成分在 3 个维度上的轴值: 有效性轴值 X_E = 有效性权重 $\times$ 有效性评估值, 可测性轴值 X_T = 可测性权重 $\times$ 可测性评估值, 特异性轴值 X_S = 特异性权重 $\times$ 特异性评估值。计算每种化合物对应的轴值从而为后续基于雷达图面积的 Q-Marker 量化筛选提供计算依据。各成分的综合评分以雷达图回归面积表示, 通过公式 $S = 1/2 \times \sin(360^\circ/3) \times (X_E X_T + X_E X_S + X_T X_S)$ 计算每个潜在 Q-Marker 的回归面积。为进一步确定 Q-Marker 的筛选阈值, 本研究采用累积贡献率法: 将各候选成分按回归面积由大到小排序后, 依次计算前 n 个成分的累积面积占总面积的比例。当累积贡献率达到一定水平且后续成分的单个贡献率显著降低时, 以该累积贡献率对应的成分数量作为筛选截断点。

2.5.2 Q-Marker 筛选结果 根据综合得分由高到低排序, 前 12 名回归区域面积结果和雷达图分别见表 7 和图 5。结果显示, 回归面积范围为 $1.322\ 0 \times 10^{-3} \sim 0.120\ 46$ 。按回归面积由大到小排序后计算累积面积占比, 前 6 种成分的累积面积占比达到 73% 以上, 平均贡献率为 12.2%, 而第 7~11 种成分的平均贡献率仅为 4.5%, 不足前者的二分之一。从第 7 种成分开始, 各成分对整体质量评价的边际贡献

表 7 生血宝合剂潜在活性成分的回归区域面积

Table 7 Regression area of potential active ingredients of SM

化学成分	X_E	X_T	X_S	回归区域面积 ($\times 10^{-3}$)	面积占 比/%
芍药苷	0.218 4	0.308 5	0.092 6	120.460 0	15.4
特女贞苷	0.179 5	0.218 8	0.099 5	82.241 0	14.1
红景天苷	0.165 9	0.093 0	0.085 2	39.215 0	12.8
绿原酸	0.590 9	0.015 8	0.046 3	39.133 0	11.5
芍药内酯苷	0.055 9	0.158 2	0.097 4	31.080 0	10.3
TG	0.059 3	0.137 7	0.100 6	29.277 0	9.0
CG	0.203 2	0.013 8	0.100 6	25.777 0	7.7
蟾蜍菊内酯	0.066 0	0.100 4	0.099 5	24.272 0	6.4
原儿茶酸	0.159 1	0.040 6	0.041 5	15.447 0	5.1
咖啡酸	0.550 2	0.013 3	0.004 3	10.154 0	3.8
黄芪甲苷	0.062 6	0.017 8	0.100 6	9.640 7	2.6
齐墩果酸	0.269 2	0.004 7	0.000 0	1.322 0	1.3

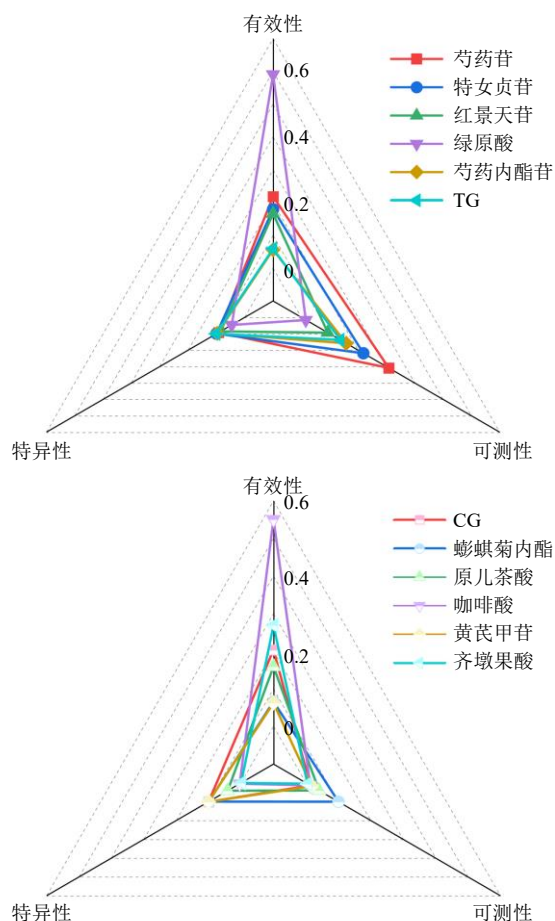


图 5 生血宝合剂 Q-Marker 的回归面积雷达图

Fig. 5 Radar chart of regression area of SM Q-Marker

已显著降低, 继续纳入后续成分对综合评价的改善幅度有限。因此, 选定累积面积占比 73% 作为截断阈值, 筛选出排名前 6 的成分作为生血宝合剂的潜在 Q-Marker。该 6 种成分分别为芍药苷、特女贞苷、红景天苷、绿原酸、芍药内酯苷及 TG, 其在有效性、可测性与特异性 3 个维度上均表现优异, 兼具明确的药理活性、良好的可定量检测能力及较高的处方专属性, 因此被选为生血宝合剂的潜在 Q-Marker, 为后续质量标准提升提供了科学依据。

3 讨论

本研究应用的三维整合策略, 通过将 AHP 与多指标评价体系相结合, 实现了对 Q-Marker 核心属性即有效性、可测性与特异性的定量化整合与可视化呈现^[20]。该策略的基本框架来源于前期建立的中药复方 Q-Marker 量化辨识方法学体系, 本研究在此基础上将其拓展应用于生血宝合剂这一特定复方制剂, 并创新性地引入雷达图回归面积作为 Q-Marker 综合评分的定量化指标, 结合累积贡献率法确定筛选阈值, 实现了从定性可视化向定量化、标

准化筛选的方法学提升。该策略的核心优势在于系统性地涵盖了 Q-Marker 的多重属性, 并依据专家评判科学地赋予各属性差异化权重, 从而确保筛选出的成分能够全面反映中药的整体质量与功效, 标志着中药质量控制研究从单一指标向多维度、与药效关联的精准评价范式转变。

在实践应用层面, 有效性、可测性与特异性 3 个维度的权重分配依次递减, 分别为 59.09%、30.85% 和 10.06%。该权重分配经由 5 名中药质量评价、药理学及分析化学领域专家独立评分后取几何平均值构建判断矩阵, 经一致性检验 ($CR=0.025 < 0.1$), 判断矩阵具有满意的一致性, 权重结果可靠。该权重排序表明, 药效相关属性在 Q-Marker 筛选中占据首要地位, 体现了“药效优先”的核心原则; 可测性作为技术保障维度次之, 确保候选成分可通过现有分析手段实现精确定量; 特异性作为处方专属特征的甄别依据, 权重最低但不可或缺, 三者共同构成了“药效导向、兼顾可控、强调专属”的质量标志物筛选体系。本研究在有效性评价中整合了文献调研与网络药理学 2 种手段, 实现了对生血宝合剂复杂药效物质基础的全面覆盖; 在可测性评价中, 通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 定性分析与 HPLC 定量测定相结合, 保证了候选成分的检测可行性; 在特异性评价中, 基于多数据库的基原归属检索确保了成分专属性判断的客观性。3 个维度的多指标评价体系相互补充、层层递进, 共同构成了 Q-Marker 筛选的系统性评价体系。

在筛选阈值的确定上, 本研究采用累积贡献率法, 以回归面积为排序依据, 前 6 种成分的累积面积占比达到 73% 以上, 从第 7 种成分起, 各成分的贡献率均不高于 7.7%, 边际贡献有限, 继续增加质控指标对综合评价的增益已十分有限。因此, 依据综合评分排序, 共筛选出 6 种潜在 Q-Marker, 分别为芍药苷、特女贞苷、红景天苷、绿原酸、芍药内酯苷及 TG。上述 6 种成分分别来源于君药何首乌 (TG)、女贞子 (特女贞苷) 及臣药白芍 (芍药苷、芍药内酯苷)、黄芪 (红景天苷、绿原酸), 与生血宝合剂益气、养血、滋补肝肾的功效高度契合。从药效物质基础角度分析, TG 具有显著的抗氧化、抗衰老及改善造血微环境作用^[21]; 特女贞苷可增强免疫功能、促进造血; 芍药苷与芍药内酯苷具有抗炎、镇痛及免疫调节活性; 红景天苷具有抗疲劳、抗缺氧及增强机体适应能力的作用^[22]; 绿原酸则广泛参

与抗氧化及抗炎调控。上述成分在药效上相互协同,共同构成了生血宝合剂的药效物质基础。

与《中国药典》2025 年版仅收载芍药苷和特女贞苷作为含量测定指标相比,本策略筛选的 6 种 Q-Marker 新增了红景天苷、绿原酸、芍药内酯苷及 TG4 种特征性成分。其补充价值主要体现在 3 个层面:首先,君药的质量表征得到显著完善,新增的 TG 为何首乌的代表性活性成分,其纳入使君药何首乌在质量标准中首次获得明确的专属质控指标,弥补了现行标准中君药缺乏代表性成分控制的不足;其次,臣药的药效贡献被有效识别,红景天苷和绿原酸作为臣药黄芪的重要活性成分,其纳入使臣药的药效物质基础在质量标准中得到体现,改变了以往仅以部分药材混合成分作为质控依据的局限;最后,质量评价指标与药效的关联性显著增强,新增成分在抗氧化、抗炎、改善造血功能及免疫调节等方面的药理活性与生血宝合剂益气、养血、滋补肝肾的功效高度契合,使质量评价指标从两项拓宽为六项协同评价,更全面地反映了复方多成分、多靶点的整体药效物质基础。基于上述结果,建议将上述 6 种成分纳入后续生血宝合剂质量标准修订的含量测定项下。

本研究验证了三维整合策略在中药复方 Q-Marker 筛选中的可行性与可靠性,该方法不仅为生血宝合剂质量标准的提升提供了切实可行的技术支撑,也为其他中药复方 Q-Marker 的系统发现提供了方法学参考。同时,本研究也存在一定局限性。在有效性评价方面,主要依赖网络药理学预测与文献报道数据,缺乏系统性的体内外药效学实验验证,后续应针对筛选出的 6 种潜在 Q-Marker 开展靶向药效学研究,建立成分含量与药理活性之间的量效关系。

在可测性评价方面,UPLC-Q-TOF-MS/MS 所鉴定的 32 种成分中尚有 23 种未纳入定量分析,主要受限于对照品可获得性、含量水平及色谱分离条件等因素;文献调研数据受不同研究间样品批次及测定方法差异的影响,也可能引入一定偏差。尽管如此,已定量的 9 种成分已覆盖君、臣药的代表性活性成分,且其回归面积占总和 73%以上,足以支撑 Q-Marker 筛选的核心结论。在特异性评价方面,各数据库收录的化合物-药材归属信息尚不完整,可能对部分成分的特异性评分产生影响,后续可通过扩大数据库检索范围及补充实验数据进行修正。

此外,本研究采用的累积贡献率法所确定的 73%筛选阈值系基于单次实验数据,其稳健性尚需进一步验证。未来研究可进一步结合药代动力学与临床研究,建立 Q-Marker 与临床疗效的直接关联,探索其在体内吸收、分布、代谢及排泄过程中的传递规律^[23-24]。该策略的标准化、可量化方法论框架可为中药复方及其他单味药的 Q-Marker 研究提供可推广的范式,对推动中药质量标准的现代化与国际化具有重要价值。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李天娇,包永睿,王帅,等. 中药质量控制与评价创新方法研究进展及应用 [J]. 中草药, 2022, 53(20): 6319-6327.
- [2] 唐焱嫣,刘晓凤,雷燕莉,等. 活血类中药质量控制的生物活性评价研究 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2025, 44(1): 15-21.
- [3] 刘昌孝,陈士林,肖小河,等. 中药质量标志物(Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.
- [4] Zeng X T, Chen Y Y, Yue S J, *et al.* A three-dimensional integration strategy for Q-Markers identification: Taken *Euphorbia Pekinensis Radix* as an example [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2023, 224: 115170.
- [5] 陈晓峰,张一妙,朱丽红. 生血宝合剂的临床应用进展 [J]. 中成药, 2024, 46(5): 1589-1593.
- [6] 高莹,唐志书,宋忠兴,等. 生血宝合剂高效液相色谱特征图谱建立及多组分含量测定 [J]. 化学分析计量, 2025, 34(6): 110-117.
- [7] 李世雄,赵思宇,李源,等. 中药复方配伍理论下生血宝复方化学成分溶出规律研究 [J]. 中草药, 2022, 53(14): 4298-4306.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 856.
- [9] 彭任,陆兔林,胡立宏,等. 中药饮片质量标志物 (Q-Marker) 研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2603-2610.
- [10] Zhang T, Bai G, Liu C. Innovation theory, technical methods and industrial application of quality marker of traditional Chinese medicine [J]. *Chin Herb Med*, 2025, 17(1): 84-86.
- [11] Liu C X, Liu L, Guo D A. Quality marker of TCMs: Concept and applications [J]. *Phytomedicine*, 2018, 44: 85-86.
- [12] 张铁军,白钢,刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法 [J]. 药学报, 2019, 54(2): 187-196.
- [13] 王云龙,陈盛虎,陈诗,等. 层次分析联合熵权法的艾

- 叶挥发油质量标志物研究 [J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(5): 743-753.
- [14] 唐于平, 尚尔鑫, 陈艳琰, 等. 中药质量标志物分级辨识与传递变化规律研究思路与方法 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(14): 3116-3122.
- [15] 黄露, 徐顶巧, 乐世俊, 等. 基于层次分析-熵权法和网络药理学的野马追质量标志物研究 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(21): 5545-5554.
- [16] Feng L, Gao M T, Zhai Y Y, *et al.* A novel strategy based on targeted cellular metabolomics for quantitatively evaluating anti-aging effect and screening effective extracts of Erzhi Wan [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2021, 1178: 122857.
- [17] 张燕, 张明秀, 郑美华, 等. 基于现代文献分析汗证证治及用药规律 [J]. 现代中医药, 2025, 45(4): 35-42.
- [18] 张颖哲, 罗雅之, 卢敏. 基于网络药理学探讨半枝莲活性成分调节非小细胞肺癌免疫疗效的潜在作用机制 [J]. 现代中医药, 2026, 46(3): 149-160.
- [19] 潘坚扬, 周紫楣, 瞿海斌, 等. 生血宝合剂浓缩液质量快速分析方法研究 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(9): 2115-2121.
- [20] 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.
- [21] 王宏杨, 迟继铭, 姜雪, 等. 何首乌提取物二苯乙烯苷药理及临床研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(10): 2464-2469.
- [22] 王笑妍, 李玫, 沈志纲, 等. 红景天苷药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2022, 44(12): 3932-3935.
- [23] 王曼茹, 毕钰桢. 中药质量控制方法与技术现代研究进展 [J]. 当代医药论丛, 2025, 23(29): 23-25.
- [24] 刘雪, 李遇伯, 刘雪珂, 等. 从体外到体内: 人工智能驱动的中药质量标志物发现与质量控制研究进展 [J]. 分析测试学报, 2026, 45(6): 1188-1195.

[责任编辑 郑礼胜]