

基于指纹图谱、多成分定量及网络药理学的玉叶解毒颗粒 质量标志物分析及质量评价

李鹏辉¹, 胡 坤¹, 冯小龙¹,
李熠心¹, 陈 俊², 刘佳琴¹, 彭艳梅¹, 蔡 媛^{1*}

¹湖南省中医药研究院, 长沙 410013; ² 三金集团湖南三金制药有限责任公司, 常德 415000

摘要: 基于指纹图谱、化学模式识别、多成分定量和网络药理学, 分析预测玉叶解毒颗粒 (Yuye Jiedu Granule, YJG) 潜在的质量标志物 (quality marker, Q-Marker), 为其质量评价提供参考。采用 HPLC 指纹图谱结合模式识别分析 YJG 潜在 Q-Marker, 并进行含量测定。通过网络药理学构建“复方-成分-靶点-疾病”网络, 进一步分析预测与 YJG 药效关联的 Q-Marker, 并对潜在的 Q-Marker 和核心靶点进行分子对接验证。YJG 指纹图谱方法考察结果符合测定要求, 标记 19 个共有峰, 并对共有峰进行归属, 通过对照品比对指出 12 个色谱峰, 30 批样品相似度大于 0.90; 主成分分析显示无异常批次, 表明批间一致性良好, Hotelling's T^2 和 DModX 的控制上限分别为 22.36 和 1.55; 正交偏最小二乘判别分析得出共性中起到主要差异的成分为新绿原酸、山梔苷甲酯、绿原酸、隐绿原酸、马钱苷、断氧马钱子苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、木犀草素、蒙花苷, 同时测定这 12 个成分的含量, 方法学考察结果良好, 平均加样回收率为 97.33% ~ 104.7%, RSD 为 0.52% ~ 1.8%, 30 批样品中这 12 个成分的质量分数分别为 0.428 4 ~ 1.213 0, 0.014 7 ~ 0.182 6, 0.425 8 ~ 1.029 5, 0.463 9 ~ 1.216 8, 0.024 8 ~ 0.166 5, 0.127 6 ~ 0.378 3, 0.097 1 ~ 0.187 3, 0.466 8 ~ 1.216 4, 0.182 6 ~ 0.517 2, 0.391 5 ~ 1.024 9, 0.004 0 ~ 0.013 1, 0.288 4 ~ 0.753 7 mg/g。网络药理学预测分析表明, YJG 干预上呼吸道感染 (upper respiratory tract infection, URTI) 可能通过调控肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17) 及磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K-AKT) 等炎症免疫相关信号通路发挥作用; 木犀草素、异绿原酸 B、异绿原酸 C 作为“复方-成分-靶点-疾病”网络中的核心节点, 可能是 YJG 发挥药效的主要物质基础及潜在的 Q-Marker; 分子对接结果进一步表明, 3 个成分与核心靶点之间均具有良好的结合活性。建立 YJG 的 HPLC 指纹图谱, 结合化学模式识别、多成分定量分析、网络药理学和分子对接, 可筛选出主要药效物质及潜在的 Q-Marker, 为 YJG 质量控制指标的选择和综合评价提供依据。

关键词: 玉叶解毒颗粒; 指纹图谱; 多成分定量分析; 网络药理学; 质量标志物; 质量评价

中图分类号: R961.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-6880(2026)9-1925-15

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2026.9.006

CSTR: 32307.14.1001-6880.2026.9.006

Analysis of quality marker and quality evaluation of Yuye Jiedu Granule based on fingerprint, multicomponent quantitative analysis, and network pharmacology

LI Peng-hui¹, HU Kun¹, FENG Xiao-long¹,
LI Yi-xin¹, CHEN Jun², LIU Jia-qin¹, PENG Yan mei¹, CAI Yuan^{1*}

¹Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410013, China;

²Sanjin Group Hunan Sanjin Pharmaceutical Co., Ltd., Changde 415000, China

Abstract: This study aims to analyze and predict the potential quality marker (Q-Marker) of Yuye Jiedu Granule (YJG)

收稿日期: 2026-03-23 接受日期: 2026-05-28

基金项目: 湖南省自然科学基金(2025JJ80175); 湖南省自然科学基金(2023JJ60459); 芙蓉实验室科技攻关项目(2023SK2097); 国家中管局中药改良创新和智能制造技术示范中心建设项目(2025474)

* 通信作者 Tel: 86-013319590207; E-mail: tcmyuanyuan@163.com

based on fingerprint, chemical pattern recognition, multi-component quantification and network pharmacology, providing a scientific basis for its quality evaluation. HPLC fingerprints combined with pattern recognition were used to identify potential Q-Marker in YJG, followed by quantitative determination. A "formula-component-target-disease" network was constructed via network pharmacology to analyze Q-Marker associated with the efficacy of YJG. Molecular docking was further employed to verify the binding affinity between potential Q-Marker and core targets. The HPLC fingerprinting method met all analytical requirements, identifying 19 common peaks. Through reference standard comparison, 12 peaks were assigned, and the similarity of 30 batches of samples was greater than 0.90. Principal component analysis showed no abnormal batches, indicating good inter-batch consistency, with the upper control limits for Hotelling's T^2 and DModX at 22.36 and 1.55, respectively. Orthogonal partial least squares discriminant analysis identified the primary differential components as neochlorogenic acid, shanzhiside methyl ester, chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid, loganin, secoxyloganin, luteolin-7-*O*-glucoside, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid C, luteolin, and linarin. The quantitative analysis of these 12 components showed good methodological results, with average recoveries ranging from 97.33%-104.7% (RSD 0.52%-1.8%). The mass fractions of these 12 components in 30 batches were 0.428 4-1.213 0, 0.014 7-0.182 6, 0.425 8-1.029 5, 0.463 9-1.216 8, 0.024 8-0.166 5, 0.127 6-0.378 3, 0.097 1-0.187 3, 0.466 8-1.216 4, 0.182 6-0.517 2, 0.391 5-1.024 9, 0.004 0-0.013 1, and 0.288 4-0.753 7 mg/g, respectively. Network pharmacology analysis suggested that YJG may intervene in upper respiratory tract infection (URTI) by regulating inflammation-and immune-related signaling pathways such as tumor necrosis factor (TNF), interleukin-17 (IL-17), and phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B (PI3K-AKT) signaling pathways. Luteolin, isochlorogenic acid B, and isochlorogenic acid C were identified as core nodes in the network, representing the primary material basis and potential Q-Marker. Molecular docking confirmed strong binding activities between these three components and core targets. The established HPLC fingerprint, combined with chemical pattern recognition, multi-component quantification, network pharmacology, and molecular docking, effectively screens the main bioactive substances and potential Q-Marker. This study provides a robust basis for the selection of quality control indicators and the comprehensive evaluation of YJG.

Key words: Yuye Jiedu Granule; fingerprint; multicomponent quantitative analysis; network pharmacology; quality marker; quality evaluation

玉叶解毒颗粒(Yuye Jiedu Granule, YJG)是三金集团湖南三金制药有限责任公司的独家品种,于1985年上市销售,该品种由玉叶金花、岗梅、山银花、山芝麻、菊花、积雪草、野菊花7味中药组成。具有清热解毒、辛凉解表、清暑利湿、生津利咽之功效,适用于风热外邪引起的上呼吸道感染(upper respiratory tract infection, URTI)而导致的感冒咳嗽、咽喉炎、口干、咽喉肿痛、小便短赤等症状,临床应用多年,疗效确切^[1]。YJG在2020年新冠疫情防控中,被列入湖南省、常德市重点防疫保障物资,并被广西壮族自治区中医药管理局发布的《新型冠状病毒肺炎中医药治疗方案(试行第三版)》纳入作为防治药物,对“医学观察期,临床表现乏力伴发热”、“临床治疗期(确诊病例)轻型或普通型湿热蕴肺证”,均具有较好的临床疗效^[2]。目前该品种收载于《卫生部药品标准》中药成方制剂第十八册中,现行质量标准仅收载了积雪草薄层鉴别和醋酸乙酯浸出物进行评价,尚无有效、整体评价本品质量的方法。有关YJG的文献报道主要为药理及作用机制研究^[2-4]、临

床观察研究^[5]、单一指标的定量分析研究^[6,7],尚未有对YJG的整体性质量评价方面的研究,因此,建立科学、准确、全面的质量评价方法对于保障YJG的质量稳定和临床用药安全具有重要意义。

本研究以YJG为研究对象,通过HPLC指纹图谱对YJG主要化学成分进行宏观整体表征,运用化学模式识别技术对指纹数据进行整合分析,筛选YJG共性中的差异变量,并测定其中新绿原酸、山梔苷甲酯、绿原酸、隐绿原酸、马钱苷、断氧马钱子苷、木犀草苷、异绿原酸B、异绿原酸A、异绿原酸C、木犀草素、蒙花苷等12个差异变量的含量。进一步结合网络药理学和分子对接,筛选出YJG主要药效物质及潜在的Q-Marker,从而更加系统、完整地对YJG质量进行评价,为质量控制指标的选择和整体质量评价提供方法依据和研究数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

30批玉叶解毒颗粒样品由三金集团湖南三金制药有限公司提供,批号分别为221204、

230114、230211、230506、230524、230703、230704、230705、230706、230707、230708、230918、231102、231110、231115、231116、231201、240102、240103、240104、240106、240107、240108、240110、240313、240317、240406、240605、240902、240906,依次编号S1~S30。

标准品山梔苷甲酯(批号:111873-202004,质量分数96.6%)、绿原酸(批号:110753-202119,质量分数96.3%)、马钱苷(批号:111640-202309,质量分数99.2%)、木犀草苷(批号:111720-202312,质量分数98.1%)、蒙花苷(批号:111528-202213,质量分数94.6%)、木犀草素(批号:111520-202107,质量分数96.3%)(中国食品药品检定研究院);对照药材玉叶金花(批号:121404-201803)、岗梅(批号:121152-202205)、山银花(批号:121595-202103)、山芝麻(批号:121088-202104)、菊花(批号:121384-201805)、积雪草(批号:121077-202304)、野菊花(批号:120995-201707),(中国食品药品检定研究院);标准品新绿原酸(批号:240008-202110)、隐绿原酸(批号:250031-202309)、断氧马钱子苷(批号:040107-202207)、异绿原酸A(批号:150005-202310)、异绿原酸B(批号:250035-202104)、异绿原酸C(批号:250036-202310)(质量分数均 $\geq 98\%$,上海鸿永生物科技有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯,美国Sigma公司);磷酸(色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司);水为怡宝纯净水;其他试剂均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器

Thermo Ultimate 3000 型高效液相色谱仪,包括四元泵、柱温箱、自动进样器、DAD 检测器和变色龙工作站(美国赛默飞世尔科技有限公司);XPE-105 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多公司);Quintix224-1CN 万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司);YP-B5002 百分之一电子天平(上海光正医疗仪器设备有限公司);SB-5200D 超声波清洗机(宁波新芝生物科技有限公司)。

1.3 YJG 指纹图谱研究

1.3.1 色谱条件

采用 YMC Meteoric Core C₁₈ (4.6 mm × 150 mm, 2.7 μm) 色谱柱,以乙腈(A)-0.05% 磷酸水溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0~3 min, 3% A; 3~25 min, 3% A→16% A; 25~30 min, 16% A; 30~50 min,

16% A→20% A; 50~60 min, 20% A→25% A; 60~70 min, 25% A→35% A),检测波长 254 nm,体积流量 1.0 mL/min,柱温 30 ℃,进样体积 10 μL。

1.3.2 供试品溶液的制备

取 YJG 粉末 2.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 25 mL,称定重量,超声处理 10 min,放冷,再称定重量,用 50% 甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

1.3.3 对照品溶液的制备

取新绿原酸、山梔苷甲酯、绿原酸、隐绿原酸、马钱苷、断氧马钱子苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、木犀草素、蒙花苷对照品适量,精密称定,置量瓶中,加甲醇分别制成浓度为 197.96、204.41、199.53、204.23、220.62、193.26、216.21、209.33、203.45、221.09、201.84、80.98 μg/mL 的对照品储备液。分别吸取以上 12 种对照品储备液适量,加 50% 甲醇制成质量浓度分别为 83.14、20.44、83.80、93.95、15.44、32.85、17.30、83.73、32.55、68.54、2.02、44.54 μg/mL 的混合对照品溶液。

1.3.4 单味药材供试品溶液的制备

按 YJG 处方比例分别称取玉叶金花、岗梅、山银花、山芝麻、菊花、积雪草、野菊花对照药材粉末,加水煎煮 30 min,滤过,滤液蒸干,按“1.3.2”项下方法分别制备单味药材供试品溶液。

1.4 网络药理学对 YJG 质量标志物的预测分析

1.4.1 成分靶点预测

利用 TCMSP (<https://www.91tcmisp.com/>)、HERB2.0 (<https://www.herb.ac.cn/v2/>) 数据库收集 12 个成分的靶点,利用 PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取 12 个成分的 SMILES 号,并上传至 SwissTargetPrediction (<https://swisstargetprediction.ch/>) 平台,选择“Homo sapiens”预测,选取“probability > 0”的靶点作为成分的作用靶点。合并上述靶点后去除重复项,得到成分作用靶点。

1.4.2 疾病靶点筛选

从 GeneCards (<https://www.genecards.org/>)、OMIM (<https://www.omim.org/>)、PharmGkb (<https://www.clinpgx.org/>)、TTD (<https://ttd.idrblab.cn/>)、DrugBank (<https://go.drugbank.com/>) 等疾病数据库中检索“Upper Respiratory Tract Infection”或“URTI”,进行疾病相关基因靶点的筛选,最终通过去重整合得到密切相关疾病靶点。

1.4.3 “复方-成分-靶点-疾病”网络的构建

利用 R4.5.2 获得化学成分与疾病基因的交集靶点,获得交集韦恩图,并将化学成分与靶点的一一对应关系导入到 Cytoscape 3.10.1 软件,构建复方-成分-靶点-疾病网络图,节点分别代表化合物和靶点,边代表化合物与靶点的相互作用关系。

1.4.4 蛋白-蛋白相互作用网络构建及关键靶筛选

为获取 YJG 作用于 URTI 的核心靶点,将交集靶点导入 STRING (<https://cn.string-db.org/>) 数据库对其进行蛋白互作 (protein-protein interaction, PPI) 分析,将“Organisms”类型设置为“Homo sapiens”,构建 PPI 网络,并将其导入 Cytoscape 3.10.1 软件,删除无交集的孤立靶点,依据节点度 (degree)、紧密中心性 (closeness) 和介数中心性 (betweenness) 等拓扑参数设置相应阈值筛选核心靶点。

1.4.5 候选 Q-Marker 相关靶点的富集分析

利用 R 语言的 clusterProfiler 包和人类基因注释数据库 org.Hs.eg.db 包对交集靶点进行 GO 功能富集分析,包括生物过程 (biological process, BP)、细胞组分 (cellular component, CC)、分子功能 (molecular function, MF),以及 KEGG 通路富集分析。

1.4.6 分子对接

在“复方-成分-靶点-疾病”网络图中将 degree > 15 的核心成分作为分子对接中的小分子部分,将 PPI 网络中度值 > 40 的核心靶点作为分子对接中的大分子部分。在 PubChem 数据库中下载相应小分子的 SDF 格式文件,通过 PDB (<https://www.rcsb.org/>) 数据库下载大分子“PDB”格式文件,然后将文件导入 CB-Dock2 在线平台进行分子对接,以评估小分子与大分子的结合活性。

2 结果与分析

2.1 YJG 指纹图谱研究

2.1.1 精密度考察

取 YJG (S1) 样品,按“1.3.2”项下方法制备 1 份供试品溶液,按“1.3.1”项下色谱条件进行测定,连续进样 6 次,记录各共有峰的保留时间和峰面积,以异绿原酸 B 为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 分别小于 0.070% 和 1.6%,表明仪器精密度良好。

2.1.2 重复性考察

取 YJG (S1) 样品,按“1.3.2”项下方法平行制

备 6 份供试品溶液,按“1.3.1”项下色谱条件分别进行测定,记录各共有峰的保留时间和峰面积,以异绿原酸 B 为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。19 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别小于 0.090% 和 2.4%,表明该方法重复性良好。

2.1.3 稳定性考察

取 YJG (S1) 样品,按“1.3.2”项下方法制备 1 份供试品溶液,按“1.3.1”项下色谱条件,在制备后于 0、10、20、40、50 h 进样检测,记录各共有峰的保留时间和峰面积,以异绿原酸 B 为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间和相对峰面积。19 个共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 分别小于 0.17% 和 3.5%,表明供试品溶液在 50 h 内稳定性良好。

2.1.4 指纹图谱的建立及相似度分析

取 30 批 YJG 样品 (S1 ~ S30),按“1.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“1.3.1”项下色谱条件分别进行测定,获得 30 批次样品的 HPLC 指纹图谱。所得图谱以《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》2012 年版进行处理分析,设置 S1 为参照图谱,时间宽度设定为 0.10 min,采用中位数法和多点校正法,对 30 批 YJG 样品 (S1 ~ S30) 的指纹图谱进行拟合生成对照指纹图谱 (R) (见图 1)。根据 Mark 峰匹配共标识出 19 个共有峰,其中 11 号峰 (异绿原酸 B) 保留时间适中,具有良好的峰分离度、峰对称度及稳定性,故选择该色谱峰为参照峰 (S)。以对照指纹图谱为对照,计算各批次样品相似度结果在 0.992 ~ 0.999,结果见表 1。

2.1.5 共有峰的归属及指认

取“1.3.2”“1.3.3”“1.3.4”项下供试品溶液、混合对照品溶液、单味药材供试品溶液,按“1.3.1”项下色谱条件分别进样分析,通过比较各色谱峰的保留时间、紫外吸收光谱和单个药味色谱图,确定 YJG 中 19 个共有峰在 7 味药材中的归属,结果见图 2、图 3、表 2。结果发现,1 号、5 号峰来自玉叶金花、岗梅、山银花、菊花、野菊花,2 号峰来自山芝麻、菊花、积雪草、野菊花,3 号峰来自玉叶金花,4 号峰为 7 个药味共有,6 号峰来自玉叶金花、山银花,7 号峰来自山银花、菊花、积雪草、野菊花,8 号峰来自山银花、岗梅,9 号峰来自菊花、积雪草、野菊花,10 号、13 号、17 号、19 号峰来自菊花、野菊花,11 号、12 号、14 号峰来自玉叶金花、岗梅、山银花、菊花、积雪草、野

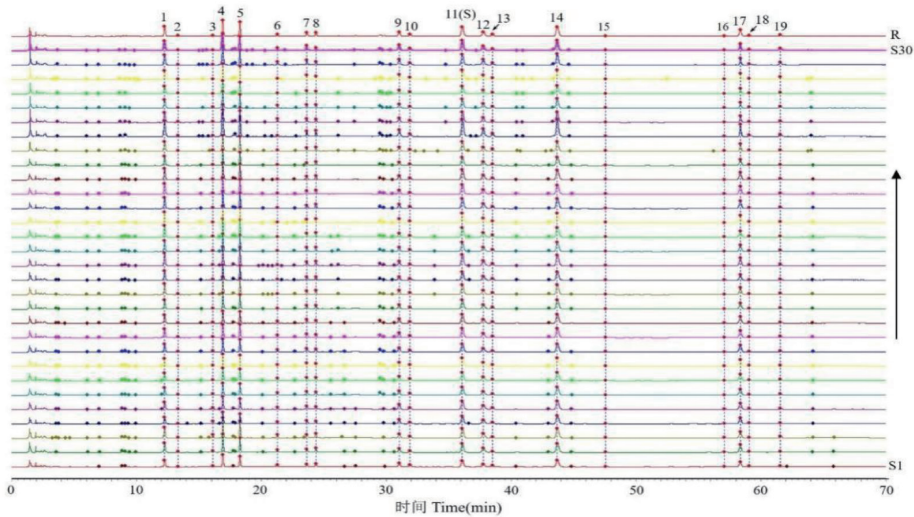


图1 30批YJG(S1~S30)的HPLC指纹图谱和对照指纹图谱(R)

Fig.1 HPLC fingerprints for 30 batches of YJG samples (S1-S30) and reference chromatogram (R)

表1 30批YJG指纹图谱相似度评价结果

Table 1 Calculation results of similarity in fingerprint of 30 batches of YJG

编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity	编号 No.	相似度 Similarity
S1	0.997	S11	0.996	S21	0.999
S2	0.997	S12	0.999	S22	0.999
S3	0.994	S13	0.999	S23	0.999
S4	0.992	S14	0.998	S24	0.999
S5	0.994	S15	0.999	S25	0.998
S6	0.997	S16	0.998	S26	0.997
S7	0.996	S17	0.997	S27	0.999
S8	0.996	S18	0.999	S28	0.997
S9	0.997	S19	0.999	S29	0.996
S10	0.996	S20	0.999	S30	0.997

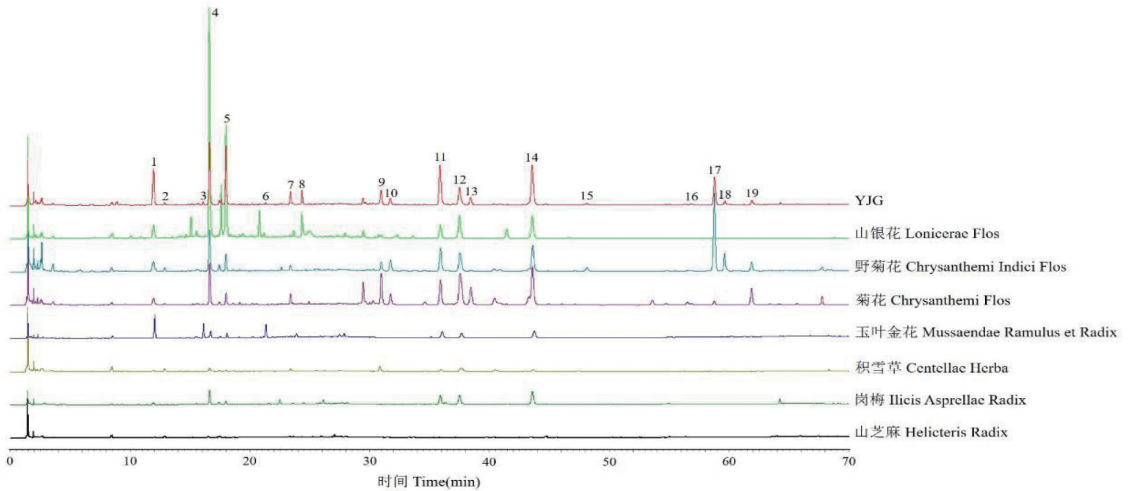


图2 指纹图谱色谱峰归属图

Fig.2 Chromatographic peak attribution of fingerprints

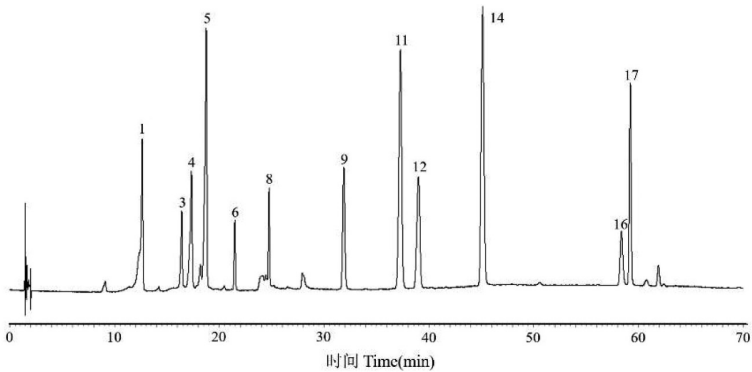


图 3 混合对照品溶液的 HPLC 图

Fig. 3 HPLC of mixed reference substances solution

注:峰 1:新绿原酸;峰 3:山柰苷甲酯;峰 4:绿原酸;峰 5:隐绿原酸;峰 6:马钱苷;峰 8:断氧马钱子苷;峰 9:木犀草苷;峰 11:异绿原酸 B;峰 12:异绿原酸 A;峰 14:异绿原酸 C;峰 16:木犀草素;峰 17:蒙花苷。Note:Peak 1:Neochlorogenic acid;Peak 3:Shanzhiside methyl ester;Peak 4:Chlorogenic acid;Peak 5:Cryptochlorogenic acid;Peak 6:Loganin;Peak 8:Secoxyloganin;Peak 9:Luteolin-7-O-glucoside;Peak 11:Isochlorogenic acid B;Peak 12:Isochlorogenic acid A;Peak 14:Isochlorogenic acid C;Peak 16:Luteolin;Peak 17:Linarin.

表 2 指纹图谱共有峰药材归属

Table 2 Fingerprints of common peaks of medicinal materials attributed

峰号 Peak No.	化合物 Compound	来源 Source
1	新绿原酸 Neochlorogenic acid	玉叶金花、岗梅、山银花、菊花、野菊花
2	未知	山芝麻、菊花、积雪草、野菊花
3	山柰苷甲酯 Shanzhiside methyl ester	玉叶金花
4	绿原酸 Chlorogenic acid	玉叶金花、岗梅、山银花、山芝麻、菊花、积雪草、野菊花
5	隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	玉叶金花、岗梅、山银花、菊花、野菊花
6	马钱苷 Loganin	玉叶金花、山银花
7	未知	山银花、菊花、积雪草、野菊花
8	断氧马钱子苷 Secoxyloganin	山银花、岗梅
9	木犀草苷 Luteolin-7-O-glucoside	菊花、积雪草、野菊花
10	未知	菊花、野菊花
11	异绿原酸 B Isochlorogenic acid B	玉叶金花、岗梅、山银花、菊花、积雪草、野菊花
12	异绿原酸 A Isochlorogenic acid A	玉叶金花、岗梅、山银花、菊花、积雪草、野菊花
13	未知	菊花、野菊花
14	异绿原酸 C Isochlorogenic acid C	玉叶金花、岗梅、山银花、菊花、积雪草、野菊花
15	未知	野菊花
16	木犀草素 Luteolin	菊花
17	蒙花苷 Linarin	菊花、野菊花
18	未知	野菊花
19	未知	菊花、野菊花

菊花,15 号、18 号峰来自野菊花,16 号峰来自菊花。通过对照品指认了其中的 12 个成分,分别为新绿原酸(1 号峰)、山柰苷甲酯(3 号峰)、绿原酸(4 号峰)、隐绿原酸(5 号峰)、马钱苷(6 号峰)、断氧马钱

子苷(8号峰)、木犀草苷(9号峰)、异绿原酸B(11号峰)、异绿原酸A(12号峰)、异绿原酸C(14号峰)、木犀草素(16号峰)、蒙花苷(17号峰)。

2.1.6 主成分分析

采用变量统计分析软件SIMAC14.1,将30批样品中19个共有峰的相对峰面积组成30×19的原始数据矩阵,数据预处理方式采用Unit Variance Scaling,进行主成分分析(principal component analysis, PCA),以主成分特征值和方差累计贡献率对主成分进行筛选,然后运用Hotelling’s T^2 和DModX两个统

计量对30批YJG质量进行监测。

模型自动拟合后,前5个成分的特征值和方差累计贡献率见表3,其中主成分1~5的特征值大于1,累计方差贡献率84.8%,说明前5个成分可以较好地表征原始数据信息,因此该PCA分析模型较准确。PCA得分图(见图4)显示所有样品无规律地分布在95%的置信区间内,同时又呈现分成3类的区分趋势,其中30批次样品沿着PC1轴方向具有明显的区分趋势,PC1轴右侧样品沿着PC2轴方向也呈现区分趋势。

表3 主成分特征值与方差贡献率

Table 3 Eigenvalue and variance contribution rate of principal components

主成分 Principal component	特征值 Eigenvalue	方差贡献率 Variance contribution rate (%)	累积方差贡献率 Cumulative variance contribution rate (%)
1	5.59	0.311	0.311
2	3.52	0.195	0.506
3	2.59	0.144	0.650
4	1.93	0.107	0.757
5	1.64	0.0914	0.848

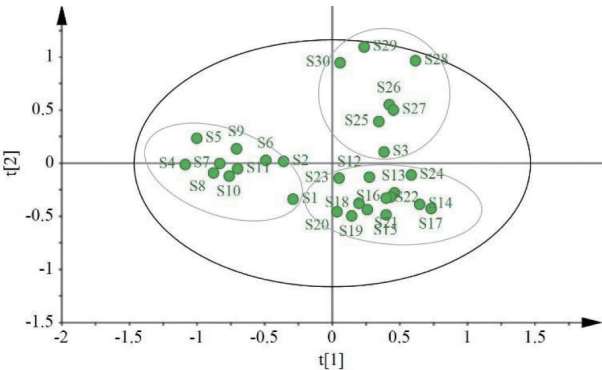


图4 30批YJG样品的PCA得分图

Fig. 4 PCA score plot of 30 batches of YJG

2.1.7 Hotelling’s T^2 和DModX控制限的建立

Hotelling’s T^2 和DModX的控制图见图5A、5B,图中的 T^2_{crit} (99%)和 D_{crit} (0.05)为控制线,其控制上限分别为22.36和1.55; T^2_{crit} (95%)为警戒线,上限为15.10,结果显示这30批样品均在控制限下,均为正常批次样品,在2张控制图上处于受控状态,这也证明所建立的PCA模型可较好地表征样品的正常波动。

2.1.8 正交偏最小二乘-判别分析

为了更好地分析上述不同批次YJG样品之间

的差异,进一步筛选共性中的主要差异变量,在PCA分组的基础上,采用有监督分析的正交偏最小二乘-判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)对数据进一步进行分析。根据PCA分类趋势,将S1~S2、S4~S11样品设置为第1组,S3、S25~S30样品设置为第2组,S12~S24样品设置为第3组,进行OPLS-DA分析,得到模型结果图6A显示,3组样品呈现较好区分,且模型累计解释能力参数 $R^2X(\text{cum})=0.618$, $R^2Y(\text{cum})=0.901$,预测能力参数 $Q^2(\text{cum})=0.788$,均

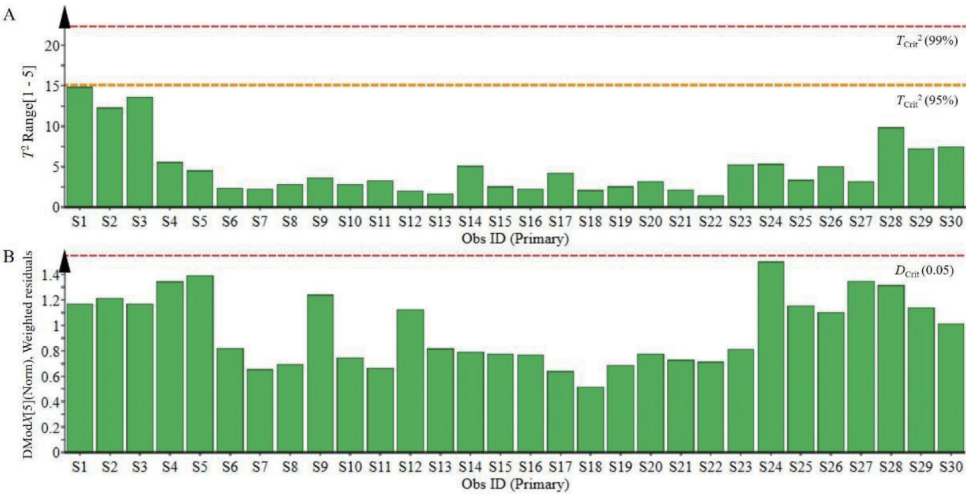


图5 30批YJG样品的 Hotelling’s T^2 控制图(A)和 DModX 控制图(B)

Fig. 5 Hotelling’s T^2 control chart (A) and DModX control chart (B) of 30 batches of YJG

大于0.5,表明建立的模型稳定可靠且预测能力较强^[8]。为防止该模型过拟合而出现假阳性结果,将已知测定数据变量X对预测变量Y进行200次迭代分析,得到置换检验(permutation test)图6B, R^2 、 Q^2 拟合直线在Y轴上的截距分别为0.169(小于

0.2)、-0.468(小于0.05),右上角 R^2 和 Q^2 纵坐标的值高于最左边的 R^2 和 Q^2 ,斜率为正值, Q^2 点的蓝色回归线与纵轴(左侧)相交点低于0点,说明该模型未出现过拟合^[9],可用于共性中差异变量的筛选。

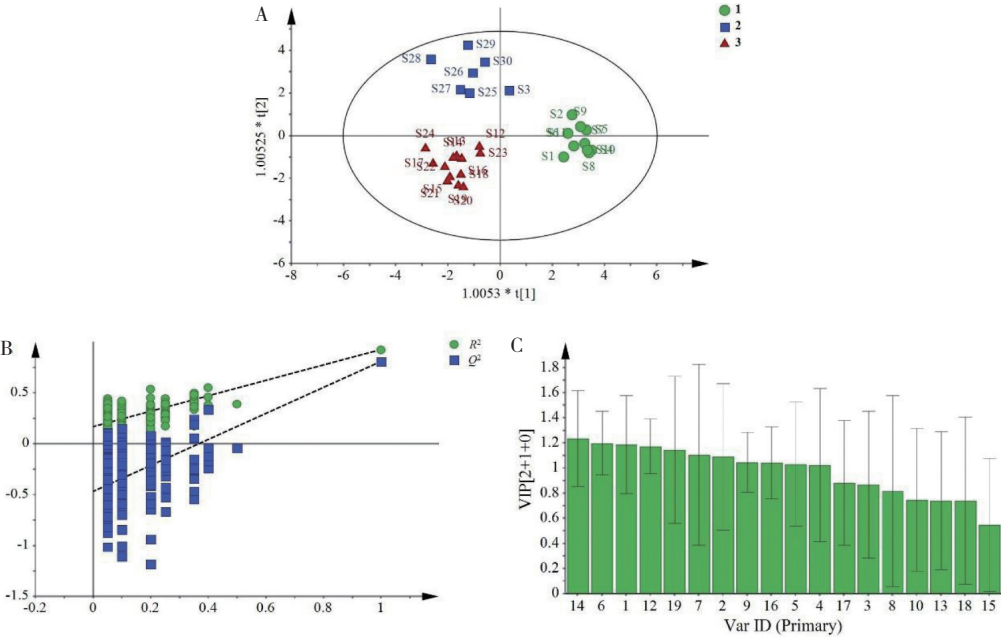


图6 30批YJG样品的 OPLS-DA 得分图(A)、置换检验图(B)和 VIP 值图(C)

Fig. 6 OPLS-DA score plot (A), permutation test plot (B) and VIP value plot (C) of 30 batches of YJG

将各成分的变量重要性投影值(variable importance for the projection, VIP)进行排序(见图6C)。从图中可知,VIP值的排序为14号峰(异绿原酸C)>6号峰(马钱苷)>1号峰(新绿原酸)>12号峰

(异绿原酸A)>19号峰>7号峰>2号峰>9号峰(木犀草苷)>16号峰(木犀草素)>5号峰(隐绿原酸)>4号峰(绿原酸)>17号峰(蒙花苷)>3号峰(山栀苷甲酯)>8号峰(断氧马钱子苷)>10号峰

>13 号峰>18 号峰>15 号峰,其中 14、6、1、12、19、7、2、9、16、5、4 号峰的 VIP 值大于 1.0,说明这些成分 是共性中起到主要差异的变量,对分类模型起到 主要作用,贡献最大;17、3、8 号峰的 VIP 值在 0.8 ~ 1.0,说明这些成分是具有中等或者潜在重要性的变 量,对分类模型起到次要作用;10、13、18、15 号峰的 VIP 值小于 0.8,说明这些成分对分类模型的贡献相 对最小。11 号峰(异绿原酸 B)为参照峰,在 30 批 YJG 样品中相对峰面积均为 1, VIP 值为 0,因此未 显示在图 6C 中,但其峰面积相对较大且稳定存在 在各批样品中,因此以新绿原酸、山梔苷甲酯、绿原酸、

隐绿原酸、马钱苷、断氧马钱子苷、木犀草苷、异绿原 酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、木犀草素、蒙花苷 12 个指标性成分为候选成分,进行定量分析。

2.2 YJG 中 12 个成分含量测定

2.2.1 线性考察

精密吸取“1.3.3”项下的 12 个对照品储备液 适量,分别用 50% 甲醇配制成 5 个质量浓度系列的 对照品溶液,按“1.3.1”项下色谱条件进行测定。 以对照品质量浓度为横坐标(*X*),峰面积为纵坐标 (*Y*),绘制标准曲线并得到相关系数和线性范围(见 表 4)。

表 4 12 个成分的回归方程及线性关系

Table 4 Regression equation and linear range of 12 components

成分 Component	标准曲线 Standard curve	相关系数 Correlation coefficient (<i>r</i>)	线性范围 Linear range (μg/mL)
新绿原酸 Neochlorogenic acid	$Y=0.142\ 3X+0.079\ 3$	0.999 7	19.796 ~ 158.368
山梔苷甲酯 Shanzhiside methyl ester	$Y=0.148\ 2X-0.000\ 2$	1.000 0	0.817 6 ~ 40.881 1
绿原酸 Chlorogenic acid	$Y=0.221\ 7X+0.063\ 8$	0.999 7	19.953 4 ~ 159.626 9
隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	$Y=0.171\ 2X-0.513\ 3$	0.999 8	20.423 2 ~ 163.385 6
马钱苷 Loganin	$Y=0.166\ 7X-0.003\ 2$	1.000 0	0.882 5 ~ 44.124 2
断氧马钱子苷 Secoxyloganin	$Y=0.129\ 8X+0.091\ 8$	0.999 9	5.797 7 ~ 57.976 8
木犀草苷 Luteolin-7- <i>O</i> -glucoside	$Y=0.414\ 7X-0.000\ 6$	1.000 0	0.864 8 ~ 43.242 5
异绿原酸 B Isochlorogenic acid B	$Y=0.206\ 5X+0.029\ 6$	0.999 8	20.932 8 ~ 167.462 4
异绿原酸 A Isochlorogenic acid A	$Y=0.291\ 4X-0.414\ 1$	1.000 0	8.137 9 ~ 81.379 2
异绿原酸 C Isochlorogenic acid C	$Y=0.296\ 5X-0.077\ 9$	0.999 9	11.054 4 ~ 154.761 6
木犀草素 Luteolin	$Y=0.641\ 3X-0.046\ 1$	1.000 0	0.201 8 ~ 20.184 5
蒙花苷 Linarin	$Y=0.190\ 6X+0.068$	0.999 8	8.097 8 ~ 80.977 6

2.2.2 精密度考察

取 YJG(S1) 样品,按“1.3.2”项下方法制备 1 份供试品溶液,按“1.3.1”项下色谱条件连续进样 6 次,记录峰面积,计算 RSD。结果显示 12 个待测成 分峰面积 RSD 在 0.090% ~ 1.4%,表明仪器精密度 良好。

2.2.3 重复性考察

取 YJG(S1) 样品,按“1.3.2”项下方法制备 6 份供试品溶液,按“1.3.1”项下色谱条件进行测定, 记录峰面积,计算 12 个成分的质量分数与 RSD 值。 结果显示 12 个成分质量分数 RSD 在 0.53% ~ 2.7%,表明该方法重复性较好。

2.2.4 稳定性考察

取 YJG(S1) 样品,按“1.3.2”制备 1 份供试品 溶液,按“1.3.1”项下色谱条件分别于 0、6、12、18、

24、30、36、42 进样测定,记录 12 个待测成分峰面 积。结果显示 12 个待测成分峰面积 RSD 在 0.14% ~ 1.5%,表明供试品溶液在 42 h 内稳定性良好。

2.2.5 准确性考察

按与样品中 12 个待测成分相同含量,分别加入 “1.3.3”项下 12 种对照品储备液适量,置具塞锥形 瓶中,50 ~ 60 ℃ 低温水浴蒸干,共计 6 份。精密称 取 6 份 YJG(S1) 样品,每份约 1.25 g,依次加入,按 “1.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“1.3.1”项下 色谱条件进行测定,计算加样回收率及 RSD 值。新 绿原酸、山梔苷甲酯、绿原酸、隐绿原酸、马钱苷、断 氧马钱子苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异 绿原酸 C、木犀草素、蒙花苷的加样回收率分别为 103.8%、97.81%、102.7%、101.6%、99.31%、 101.0%、97.33%、102.5%、104.7%、103.0%、

98.75%、103.7%，RSD 分别为 0.97%、1.1%、1.2%、0.52%、0.89%、1.5%、0.95%、0.82%、0.84%、0.84%、1.8%、0.99%，表明所建立的含量测定方法准确性良好。

2.2.6 样品含量测定

取 30 批 YJG 样品,按“1.3.2”制备供试品溶液,按“1.3.1”项下色谱条件进行测定,结果见表 5。结果显示 30 批 YJG 样品中,新绿原酸、山梔苷甲酯、绿原酸、隐绿原酸、马钱苷、断氧马钱子苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、木犀草素、蒙花苷的含量变化范围分别为 0.428 4~1.213 0 mg/g、0.014 7~0.182 6 mg/g、0.425 8~1.029 5

表 5 30 批次 YJG 中 12 个成分含量测定
Table 5 Content determination results of 12 components in 30 batches

编号 No.	含量 Content (mg/g)											
	新绿原酸 Neochlorogenic acid	山梔苷 Shanzhiside methyl ester	绿原酸 Chlorogenic acid	隐绿原酸 Cryptochlorogenic acid	马钱苷 Loganin	断氧马钱子苷 Secoxylloganin	木犀草苷 Luteolin-7-O-glucoside	异绿原酸 B Isochlorogenic acid B	异绿原酸 A Isochlorogenic acid A	异绿原酸 C Isochlorogenic acid C	木犀草素 Luteolin	蒙花苷 Linarin
S1	0.432 7	0.034 8	0.446 6	0.480 8	0.087 4	0.171 3	0.106 2	0.466 8	0.182 6	0.391 5	0.007 2	0.288 4
S2	0.596 1	0.064 1	0.659 5	0.674 2	0.121 1	0.223 6	0.115 6	0.642 4	0.278 7	0.564 4	0.013 1	0.460 0
S3	0.712 9	0.182 6	0.741 9	0.799 6	0.134 9	0.254 5	0.132 9	0.704 3	0.290 5	0.610 3	0.011 7	0.367 8
S4	0.428 4	0.114 6	0.425 8	0.463 9	0.092 7	0.129 4	0.139 6	0.593 8	0.248 1	0.497 6	0.008 5	0.384 3
S5	0.492 8	0.077 0	0.483 9	0.513 9	0.104 9	0.127 6	0.161 9	0.633 6	0.283 0	0.533 1	0.012 2	0.394 1
S6	0.513 7	0.044 9	0.436 4	0.548 6	0.097 7	0.156 6	0.130 0	0.600 2	0.233 8	0.490 0	0.009 2	0.353 2
S7	0.508 6	0.048 2	0.468 9	0.543 7	0.104 6	0.153 3	0.132 8	0.626 3	0.249 3	0.522 8	0.010 7	0.416 8
S8	0.517 5	0.057 1	0.447 7	0.542 4	0.082 6	0.153 3	0.135 8	0.636 5	0.250 3	0.518 4	0.010 3	0.418 8
S9	0.528 7	0.051 1	0.473 1	0.578 6	0.114 0	0.168 7	0.137 3	0.606 1	0.237 9	0.502 6	0.009 8	0.415 9
S10	0.556 4	0.055 5	0.485 0	0.613 4	0.120 6	0.174 4	0.147 7	0.692 4	0.273 1	0.552 5	0.012 1	0.429 5
S11	0.531 7	0.052 4	0.458 2	0.554 2	0.099 9	0.156 2	0.135 1	0.655 0	0.266 3	0.523 9	0.010 3	0.394 4
S12	0.599 7	0.024 2	0.570 5	0.655 4	0.027 1	0.183 3	0.121 9	0.651 0	0.271 2	0.537 9	0.010 2	0.353 9
S13	0.711 3	0.040 8	0.659 1	0.761 8	0.034 0	0.214 7	0.126 2	0.714 0	0.295 4	0.582 0	0.008 5	0.412 2
S14	0.639 8	0.039 8	0.551 8	0.688 8	0.036 2	0.185 2	0.103 1	0.635 1	0.252 5	0.512 4	0.006 9	0.327 8
S15	0.868 4	0.064 1	0.704 8	0.897 5	0.051 5	0.254 3	0.155 6	0.868 5	0.346 3	0.674 9	0.009 1	0.474 9
S16	0.729 1	0.053 0	0.646 7	0.801 3	0.036 9	0.215 3	0.133 3	0.713 9	0.276 1	0.582 1	0.007 6	0.407 2
S17	0.788 4	0.051 0	0.679 7	0.833 5	0.032 9	0.225 2	0.128 3	0.749 4	0.292 6	0.602 2	0.008 0	0.376 1
S18	0.709 4	0.049 0	0.627 9	0.743 7	0.026 8	0.222 7	0.132 0	0.741 5	0.307 0	0.593 4	0.008 3	0.460 7
S19	0.730 9	0.055 7	0.630 7	0.745 6	0.030 8	0.228 5	0.136 6	0.756 6	0.317 5	0.601 0	0.009 0	0.467 6
S20	0.714 0	0.051 4	0.600 4	0.710 5	0.031 6	0.209 9	0.131 7	0.722 9	0.302 5	0.576 8	0.009 2	0.471 8
S21	0.765 3	0.043 7	0.641 4	0.771 9	0.036 5	0.235 8	0.140 3	0.774 7	0.326 0	0.612 5	0.009 6	0.461 3
S22	0.621 7	0.040 4	0.566 6	0.648 8	0.026 1	0.191 9	0.112 6	0.628 3	0.263 7	0.517 5	0.006 7	0.364 2
S23	0.665 2	0.036 6	0.594 2	0.689 1	0.052 4	0.204 1	0.130 5	0.648 6	0.260 0	0.533 2	0.008 4	0.426 1
S24	1.213 0	0.055 8	1.029 5	1.216 8	0.040 5	0.378 3	0.187 3	1.216 4	0.517 2	1.024 9	0.011 5	0.753 7
S25	0.712 7	0.043 1	0.667 9	0.691 3	0.166 5	0.195 3	0.118 5	0.707 9	0.320 4	0.596 3	0.007 2	0.394 9
S26	0.612 9	0.044 6	0.634 7	0.614 4	0.124 7	0.182 3	0.105 4	0.616 6	0.291 2	0.543 1	0.005 6	0.341 7
S27	0.537 2	0.021 9	0.485 6	0.515 9	0.024 8	0.146 4	0.097 1	0.508 6	0.221 6	0.447 9	0.004 0	0.309 9
S28	0.637 4	0.014 7	0.575 0	0.606 5	0.030 2	0.166 0	0.137 2	0.654 0	0.305 4	0.582 1	0.005 6	0.366 7
S29	0.721 1	0.024 1	0.736 7	0.679 2	0.151 4	0.201 2	0.163 5	0.724 4	0.351 3	0.658 5	0.011 7	0.401 0
S30	0.712 4	0.023 0	0.631 0	0.661 5	0.129 3	0.175 0	0.160 1	0.689 7	0.326 4	0.584 5	0.010 2	0.401 1

mg/g,0.463 9 ~ 1.216 8 mg/g,0.024 8 ~ 0.166 5 mg/g,0.127 6 ~ 0.378 3 mg/g,0.097 1 ~ 0.187 3 mg/g,0.466 8 ~ 1.216 4 mg/g,0.182 6 ~ 0.517 2 mg/g,0.391 5 ~ 1.024 9 mg/g,0.004 0 ~ 0.013 1 mg/g,0.288 4 ~ 0.753 7mg/g。平均含量分别为 0.650 3 mg/g,0.052 0 mg/g,0.592 0 mg/g,0.674 9 mg/g,0.075 0 mg/g,0.196 1 mg/g,0.133 2 mg/g,0.686 0 mg/g,0.287 9 mg/g,0.569 0 mg/g,0.009 1 mg/g,0.409 9 mg/g。

2.3 网络药理学对 YJG 质量标志物的预测分析

2.3.1 成分-疾病交集靶点的获取

通过 TCMSP、HERB2.0、PubChem、SwissTarget-Prediction 数据库筛选共获得 12 个成分去重后的有效靶点 192 个,通过 GeneCards、OMIM、PharmGkb、TTD、DrugBank 数据库获得去重后相关疾病靶点

2210 个,其中二者的交集靶点 64 个(见图 7)。

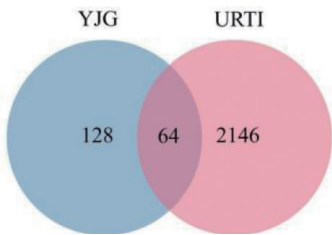


图 7 YJG 活性成分预测靶点与 URTI 疾病靶点的交集韦恩图
Fig.7 Venn diagram of the intersection between YJG active component targets and URTI disease targets

2.3.2 复方-成分-靶点-疾病网络的构建

将筛选得到的交集基因靶点绘制成 network 表格文件导入 Cytoscape 3.10.1 软件绘制复方-成分-靶点-疾病网络(见图 8),体现 YJG 多成分干预 URTI 多靶点的过程。

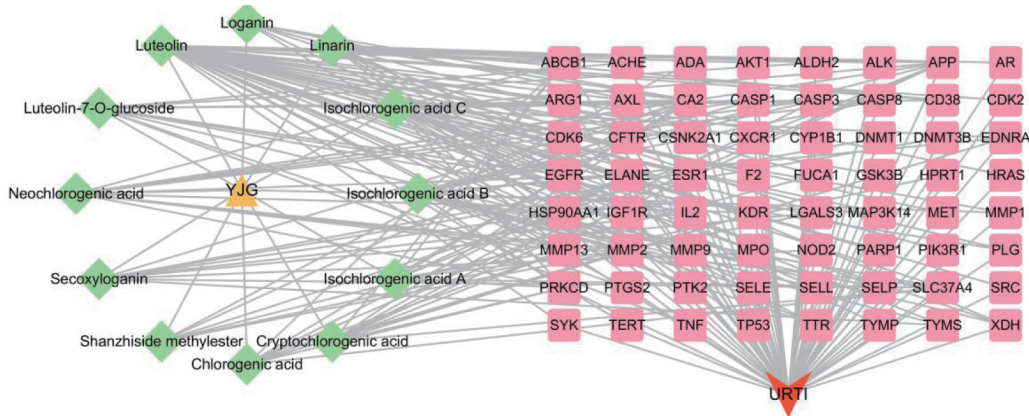


图 8 YJG 治疗 URTI 的复方-成分-靶点-疾病网络

Fig.8 Compound-ingredient-target-disease network of YJG against URTI

注:黄色三角形代表 YJG 复方;绿色菱形代表成分;粉色矩形代表靶点;红色倒三角代表疾病。Note:Yellow triangle represents YJG compound; Green diamond represents components;Pink rectangle represents targets;Red inverted triangle represents diseases.

2.3.3 PPI 网络构建及关键靶筛选

将 64 个交集靶点导入 STRING 网站构建 PPI 网络。筛选之前,网络由 64 个节点,663 条边组成,筛选之后,网络边变为 12 个节点,66 条边组成的核心 PPI 靶点网络。图中的节点颜色和大小根据度值调整,颜色越深,圆圈越大,代表该靶点与其他靶点之间的关联度越高(degree 越大)。其中,肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)、AKT 丝氨酸/苏氨酸激酶 1(AKT serine/threonine kinase 1,AKT1)、肿瘤蛋白 p53(tumor protein p53,TP53)、半胱天冬酶 3(Caspase-3,CASP3)和基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9,MMP9)5 个靶点 degree 均大于 40(见图 9)。

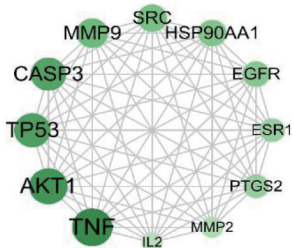


图 9 YJG 治疗 URTI 交集靶点的 PPI 核心网络图

Fig.9 Core PPI network of intersecting targets of YJG against URTI

2.3.4 候选 Q-Marker 相关靶点的 GO 和 KEGG 富集分析

GO 富集分析结果显示,交集靶点主要涉及炎

症反应、氧化应激、白细胞迁移及信号转导等生物学过程(见图 10)。KEGG 富集分析表明,相关靶点主要富集于 TNF、白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17) 及磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K-AKT) 等炎症免疫相关信号通路,同时还涉及部分感染应答相

关通路(见图 11)。上述结果提示,候选成分相关靶点与 URTI 的发生发展及炎症免疫调控过程具有较好的相关性,提示前述研究筛选得到的候选成分不仅具有化学代表性,也具有一定的药效相关性,可为潜在 Q-Marker 的“有效性”判定提供理论依据。

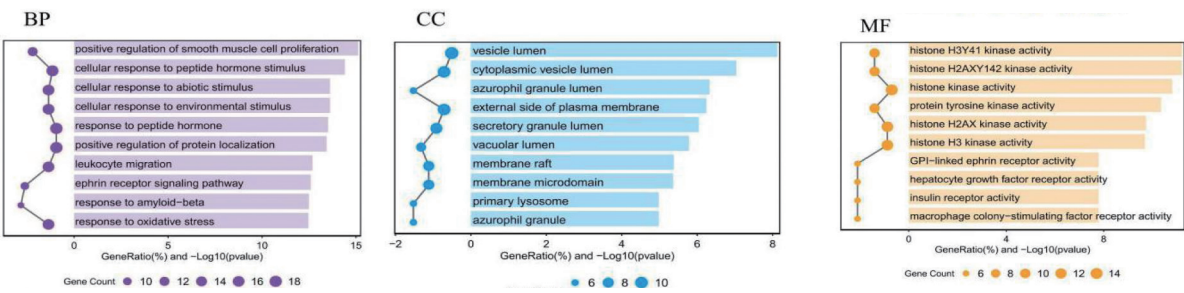


图 10 YJG 治疗 URTI 交集靶点的 GO 功能富集分析

Fig. 10 GO functional enrichment analysis of intersecting targets of YJG against URTI

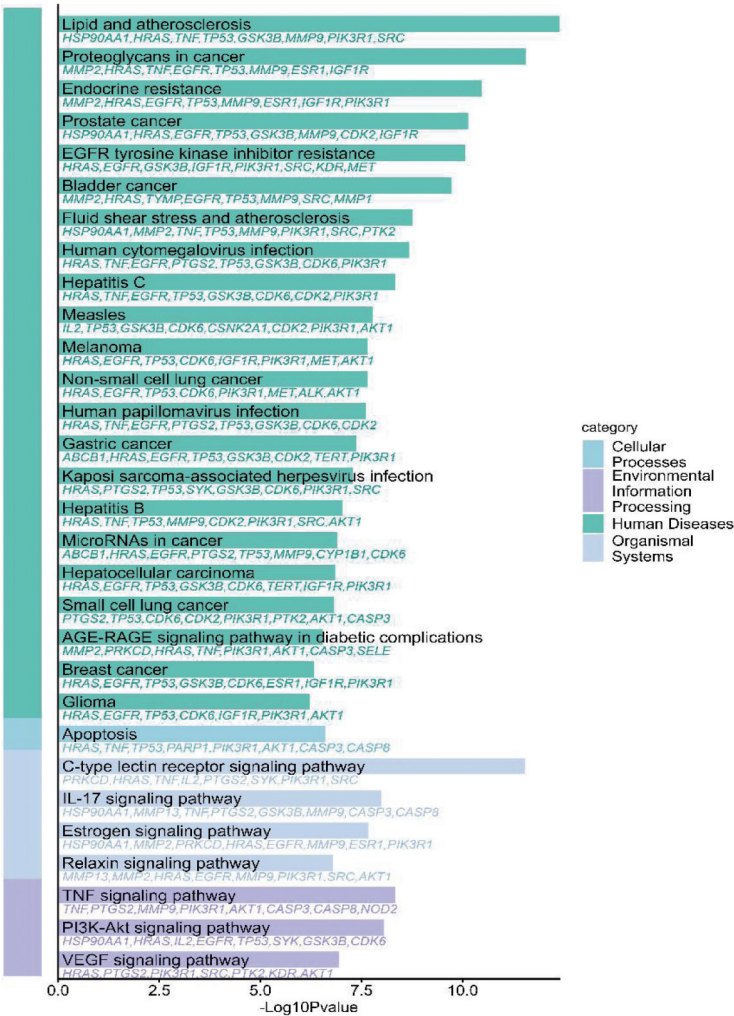


图 11 YJG 治疗 URTI 交集靶点的 KEGG 富集分析

Fig. 11 KEGG enrichment analysis of intersecting targets of YJG against URTI

2.3.5 分子对接

分子对接结果(见表6)进一步表明,3种关键成分(木犀草素、异绿原酸C、异绿原酸B)与5个核心靶点(TNF、AKT1、TP53、CASP3、MMP9)均能形成稳定的构象结合。所有配体-受体复合物的结合能均优于-7.0 kcal/mol,显示出良好的结合亲和力,验证了关键成分具有潜在的生物学活性。图12展示了关键活性成分与核心靶点的对接结合过程。

3 讨论与结论

为建立YJG的指纹图谱,从整体上对其质量进行评价,本研究共考察了乙腈-水、乙腈-0.1%甲酸

表6 YJG 关键活性成分与核心靶点的分子对接结合能
Table 6 Molecular docking binding energies between key active components and core targets of YJG

核心靶点 Core targets	结合能 Binding energy(kcal/mol)		
	木犀草素 Luteolin	异绿原酸C Isochlorogenic acid C	异绿原酸B Isochlorogenic acid B
TNF	-8.9	-8.1	-9.8
AKT1	-9.6	-10.9	-11.0
TP53	-7.1	-7.7	-7.1
CASP3	-7.1	-8.1	-8.9
MMP9	-9.2	-9.2	-9.1

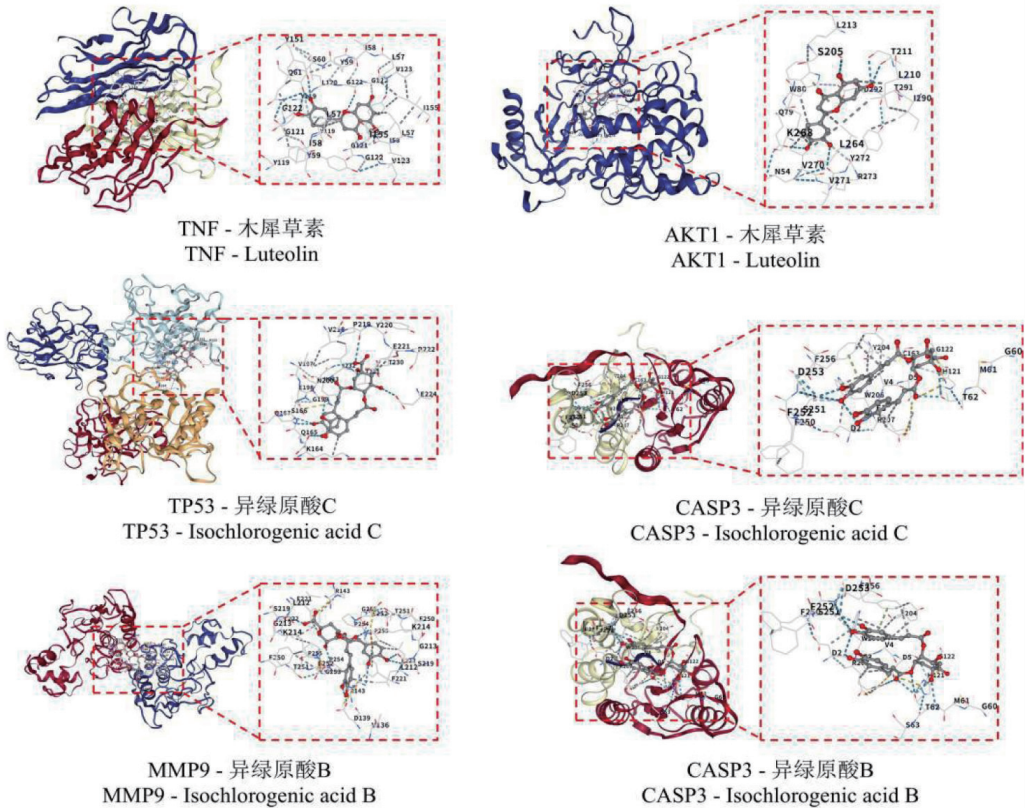


图12 YJG 关键活性成分与核心靶点对接可视化

Fig. 12 Visualization of molecular docking between key active components and core targets of YJG

水溶液、乙腈-0.1%磷酸水溶液、乙腈-0.05%磷酸水溶液,4种不同流动相体系,综合色谱峰数目、出峰时间、峰分离度、拖尾因子及基线平稳情况等因素,确定流动相为乙腈-0.05%磷酸水溶液。利用二极管阵列检测器(DAD)在波长190~400 nm进行全扫描,根据色谱峰数目、峰响应值及其占比、峰型等因素,选择254 nm波长下测定YJG指纹图谱。同时考察了提取方式(超声提取、回流提取)、提取溶剂(70%乙醇、100%乙醇、水、10%甲醇、30%甲

醇、50%甲醇、70%甲醇、90%甲醇、100%甲醇)、提取时间(10、20、30 min)、取样量(2.5、5、10 g)等因素对指纹图谱的影响,最终确定指纹图谱的色谱条件。
本研究基于Q-Marker可测、特有、有效、溯源与传递、处方配伍的“五原则”,首先采用HPLC建立YJG指纹图谱,筛选出19个共有峰,确定了共有峰在处方7个味药味中的归属,并结合化学模式识别中的PCA、OPLS-DA和可测性,筛选出12个候选的Q-Marker,分别为新绿原酸、山柰苷甲酯、绿原酸、隐

绿原酸、马钱苷、断氧马钱子苷、木犀草苷、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C、木犀草素、蒙花苷,并建立 HPLC 含量测定方法。为进一步将 YJG 的化学物质基础与其临床有效性相联系,本研究基于网络药理学方法与分子对接分析发现,木犀草素、异绿原酸 B 和异绿原酸 C 在“复方-成分-靶点-疾病”网络中具有较高拓扑学贡献,且与 TNF、AKT1、TP53、CASP3、MMP9 等核心靶点均表现出良好的结合活性,提示其不仅具有较好的化学代表性,也具有较强的药效相关性。结合共有峰归属结果可见,异绿原酸 B 和异绿原酸 C 来源较广、在处方中分布于多味药材,能够较好反映复方中酚酸类成分的整体特征;木犀草素则为菊花类药材中具有代表性的黄酮类成分,虽然含量相对较低,但生物活性明确,因而三者分别从“广泛存在性”和“高活性代表性”两个方面共同支撑了其作为核心 Q-Marker 的合理性。

现代药理学研究表明,木犀草素在呼吸系统炎症相关模型中可显著降低 TNF- α 、IL-17A、IL-6 等炎症因子水平,并通过活化 B 细胞的核因子 κ 轻链增强子(nuclear factor kappa B, NF- κ B)、PI3K-AKT、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等信号通路减轻炎症损伤^[10-12];此外,在肺损伤及呼吸道感染相关模型中,木犀草素还表现出对 IL-17A/NF- κ B 相关炎症轴的抑制作用^[13,14],从而减轻炎症反应和组织损伤。异绿原酸 B 作为二咖啡酰奎宁酸类代表成分,已被报道具有抗炎、抗氧化作用,并可通过调节 NF- κ B/MAPK 等炎症相关信号通路减轻炎症反应^[15-17];另有研究提示,其与奎宁酸联用时可进一步抑制炎症反应及焦亡过程^[18]。异绿原酸 C 同样属于该类酚酸成分,已有研究表明,其具有较好的抗炎活性,在过敏性哮喘模型中可减轻气道炎症并降低 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 等炎症因子水平^[19];此外,异绿原酸 C 还可调控 NF- κ B 相关炎症反应^[20],并在 EV71 感染模型中表现出明确的抗病毒活性^[21]。上述研究表明,这 3 个成分能够有效干预 URTI 中炎症与免疫异常这一关键病理过程。

因此,木犀草素所代表的黄酮类成分与异绿原酸 B、C 所代表的二咖啡酰奎宁酸类成分,较好体现了 YJG“清热解毒、辛凉解表”功效的现代生物学内涵,即通过抑制感染相关炎症介质释放、调节异常免疫应答并兼顾抗氧化和抗病毒作用,从而协同发挥干预 URTI 的效应。此外,这 3 个成分既具有较好的化学可测性、来源代表性和处方关联性,又具备明确的药效相关性和文献药理支撑,因此更适合作为

评价 YJG 整体质量的核心 Q-Marker;而其余候选成分则可作为辅助性或候选性 Q-Marker,共同构成 YJG 质量评价的多成分指标体系。

综上所述,本研究首次对 YJG 采用指纹图谱结合化学模式识别分析,联合多成分定量分析、网络药理学的方法,筛选可作为质控指标的 Q-Marker,从而实现较为系统、整体的分析与评价,同时也为 YJG 质量控制指标的选择提供了一种新的思路。

数据可用性声明: 本篇论文的关联数据可在 ScienceDB 数据库 (<https://doi.org/10.57760/sciencedb.nprd.00147>) 中访问获取。

参考文献

- 1 Yang L. The Experimental study of Yuye detoxification particle anti-respiratory virus *in vitro* and anti-influenza A virus *in vivo* [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine (广州中医药大学), 2010.
- 2 Feng XL, Li PH, Long HP, et al. Study on the mechanism of Yuye detoxification particle in the treatment of upper respiratory infection based on UPLC-Q-TOF-MS and network pharmacology [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2025, 37: 707-722.
- 3 Yang L, Zou JM, Liu N, et al. Anti-influenza A virus effect of Yuye detoxification particles [J]. Chin J Hosp Pharm (中国医院药学杂志), 2011, 31: 59-62.
- 4 Liu LJ, Liu N, Shi CX, et al. Experimental study on the effect of Yuye detoxification particle against several respiratory viruses *in vitro* [J]. Chin J Trop Med (中国热带医学), 2010, 10: 806-807.
- 5 Guo SX, Zhang MY, Hu SY, et al. Clinical observation on the treatment of influenza in children with Yuye Jiedu granules [J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med (天津中医药大学学报), 2025, 44: 303-308.
- 6 Chen YR, Ma LY, Ma SC, et al. HPLC Determination of linarin in Yuye Jiedu granules [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2005, 25: 727-728.
- 7 Luo JN, Li JY, Chen J, et al. Study on the quality standard for Yuye Jiedu granules [J]. Chin Pharm (中国药师), 2019, 22: 1344-1345.
- 8 Zhao MX, Yao XL, Yang M, et al. Quality evaluation of Angelicae Sinensis Radix before and after wine processing based on HPLC fingerprints combined with chemical pattern recognition and multi-component quantification [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2026, 57: 64-72.
- 9 A JY, He J, Sun RB. Multivariate statistical analysis for metabolomic data: the key points in principal component analysis [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2018, 53: 929-

937.

10 Li YC, Yeh CH, Yang ML, et al. Luteolin suppresses inflammatory mediator expression by blocking the Akt/NFκB pathway in acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice [J]. Evid-based Complement Altern Med, 2012, 2012: 383608.

11 Lee JP, Li YC, Chen HY, et al. Protective effects of luteolin against lipopolysaccharide-induced acute lung injury involves inhibition of MEK/ERK and PI3K/Akt pathways in neutrophils [J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31: 831-838.

12 Kuo MY, Liao MF, Chen FL, et al. Luteolin attenuates the pulmonary inflammatory response involves abilities of antioxidant and inhibition of MAPK and NFκB pathways in mice with endotoxin-induced acute lung injury [J]. Food Chem Toxicol, 2011, 49: 2660-2666.

13 Xie K, Chai YS, Lin SH, et al. Luteolin regulates the differentiation of regulatory t cells and activates IL-10-dependent macrophage polarization against acute lung injury [J]. J Immunol Res, 2021, 2021: 8883962.

14 Wang TF, Jiang GY, Lv S, et al. Avian safety guardian: luteolin restores *Mycoplasma gallisepticum*-induced immunocompromise to improve production performance via inhibiting the IL-17/NF-κB pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2023, 124: 110946.

15 Liu X, Huang K, Niu ZR, et al. Protective effect of isochlorogenic acid B on liver fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis of mice [J]. Basic Clin Pharmacol, 2019, 124: 144-153.

16 Shi JX, Cheng C, Ruan HN, et al. Isochlorogenic acid B alleviates lead-induced anxiety, depression and neuroinflammation in mice by the BDNF pathway [J]. Neurotoxicology, 2023, 98: 1-8.

17 Lv X, Xie ZH, Wang HL, et al. In vivo and in vitro anti-inflammation of Rhapontici Radix extract on mastitis via TMEM59 and GPR161 [J]. J Ethnopharmacol, 2024, 333: 118462.

18 Lv X, Long Q, Kang YC, et al. Combined effects of quinic acid and isochlorogenic acid B on LPS-induced inflammation and pyroptosis in MAC-T cells and mouse mammary glands [J]. Front Vet Sci, 2025, 12: 1476302.

19 Xu JY, Rong XJ, Shen Z, et al. Isochlorogenic acid C alleviates allergic asthma via interactions between its bioactive form and the gut microbiome [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26: 4864.

20 Zheng LY, Lin GY, Li RY, et al. Isochlorogenic acid C alleviates high-fat diet-induced hyperlipemia by promoting cholesterol reverse transport [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 881078.

21 Cao Z, Ding Y, Cao L, et al. Isochlorogenic acid C prevents enterovirus 71 infection via modulating redox homeostasis of glutathione [J]. Sci Rep, 2017, 7: 16278.

(上接第 2020 页)

18 Mai GN, Li M, Pan ZF, et al. Effects of naringenin on ferroptosis in osteoarthritis cells based on network pharmacology and cell experiments [J]. Chin Tradit Patent Med (中成药), 2026, 48: 302-309.

19 Hou SY, Luo DD, Gao XY, et al. Traditional Chinese medicine against insomnia by regulating PI3K/Akt signaling pathway: a review [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae (中国实验方剂学杂志), 2026, 32: 284-293.

20 Song TL, Tang L, Wang YM, et al. Effects of *Panax japonicus* polysaccharide on acute liver injury rats via PI3K/AKT/NF-κB signaling pathway [J]. Fine Chem (精细化工), 2023, 40: 2472-2479, 2534.

21 Bhandari A, Sharma P, Bhandari P, et al. Examining the influence of inflammatory bowel disease medications on sleep quality [J]. JGH Open, 2023, 7: 190-196.

22 Li L, Liu R, He J, et al. Effects of Wendan Decoction on oxidative stress and inflammatory response in sleep deprived mice [J]. Chin J Immunol (中国免疫学杂志), 2022, 38: 308-312.

23 Li L, Liu R, He J, et al. Exploration of potential targets and experimental verification of Wendan Decoction in treating insomnia based on network pharmacology [J]. Mod Tradit Chin Med Mater Med World Sci Technol (世界科学技术-中医药现代化), 2023, 25: 2450-2464.

24 Tsolakidou A, Sidiropoulos A, Vakalopoulos A, et al. AKT inhibition in the central nervous system induces signaling defects resulting in psychiatric symptomatology [J]. Cell Biosci, 2022, 12: 56.

25 Bove J, Sharma P, Mancuso R, et al. Microglia-specific overexpression of α-synuclein leads to severe dopaminergic neurodegeneration by phagocytic exhaustion and oxidative toxicity [J]. Nat Commun, 2021, 12: 6237.

26 Yang ZW, Yuan L, Li WW, et al. Exploring the mechanism of astrocyte activation inducing depression-like behavior in chronic inflammatory pain mice [J]. J Hainan Med Univ (海南医学院学报), 2026, 32: 161-168.

27 Pei YQ, Cao GD, Cui T, et al. Research progress on neurobiological mechanisms of insomnia [J]. Chin J Med Guide (中国医药导刊), 2020, 22: 794-799.

28 Yin LY, Ran R, Liu YH, et al. Relationship of serum GABA and 5-HT levels with sleep quality and cognitive function in patients with chronic insomnia [J]. Lab Med Clin (检验医学与临床), 2025, 22: 2362-2367.