

基于非靶向代谢组学和生物信息学的参芪肾衰合剂抗肾纤维化质量标志物的筛选与定量分析^Δ

周宇航^{1,2*}, 李玉琪^{1,2}, 高 苗^{1,2}, 阮清锋², 曾晓璇², 王 慧³, 黄传奇^{1,2}, 徐宏峰^{1,2#}[1. 湖北中医药大学药学院, 武汉 430065; 2. 武汉市第一医院药学部, 武汉 430022; 3. 湖北省药品(医疗器械)不良反应监测中心, 武汉 430060]

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)13-1716-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.13.10



摘要 **目的** 筛选并定量分析参芪肾衰合剂(SQSS)中与抗肾纤维化相关的质量标志物(Q-Marker),为SQSS的药效物质分析和新药转化提供参考。**方法** 采用非靶向代谢组学技术对SQSS化学成分进行解析;整合网络药理学、基因表达综合数据库、连接图谱数据库等,筛选SQSS抗肾纤维化的Q-Marker。采用高效液相色谱-串联质谱法定量分析10批SQSS中Q-Marker的含量。**结果** 基于非靶向代谢组学技术从SQSS中共鉴定出1 319种化合物,进一步筛选出具有抗肾纤维化作用的活性成分84个(如芒果花素等)。基于网络药理学、基因表达综合数据库等共筛选出9个抗肾纤维化Q-Marker(分别为小檗碱、槲皮素、和厚朴酚、烟酰胺、大豆苷元、香豆素、山柰酚、芒果花素、苦杏仁苷)。定量分析结果显示,10批SQSS中上述成分(苦杏仁苷除外)的平均含量分别为2.523、1.942、26.848、1.415、0.692、0.171、0.374、7.401 μg/mL。**结论** 本研究筛选出SQSS抗肾纤维化的9个Q-Marker,并对其8个成分进行了含量测定,可为SQSS的药效物质基础解析和新药转化提供参考。

关键词 参芪肾衰合剂;质量标志物;非靶向代谢组学;网络药理学;含量测定

Screening and quantitative analysis of Q-Marker for anti-renal fibrosis of Shenqi shenshuai mixture based on untargeted metabolomics and bioinformatics

ZHOU Yuhang^{1,2}, LI Yuqi^{1,2}, GAO Zhuo^{1,2}, RUAN Qingfeng², ZENG Xiaoxuan², WANG Hui³, HUANG Chuanqi^{1,2}, XU Hongfeng^{1,2}[1. School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2. Dept. of Pharmacy, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan 430022, China; 3. Hubei Center for Adverse Drug (Medical Device) Reaction Monitoring, Wuhan 430060, China]

ABSTRACT **OBJECTIVE** To screen and quantitatively analyze the quality marker (Q-Marker) associated with anti-renal fibrosis in Shenqi shenshuai mixture (SQSS), so as to provide references for the analysis of pharmacodynamic substances and new drug transformation of SQSS. **METHODS** The chemical components of SQSS were characterized by untargeted metabolomics. Combined with network pharmacology, gene expression omnibus (GEO) and connectivity map (CMAP) databases, the anti-renal fibrosis Q-Markers of SQSS were screened. HPLC-MS/MS was applied to determine the contents of Q-Markers in 10 batches of SQSS. **RESULTS** A total of 1 319 compounds were identified from SQSS via untargeted metabolomics, and 84 active ingredients with anti-renal fibrosis activity were further screened out, such as formononetin. Nine anti-renal fibrosis Q-Markers were obtained by network pharmacology and GEO database, including berberine, quercetin, honokiol, nicotinamide, daidzein, coumarin, kaempferol, formononetin and amygdalin. The quantitative results showed that the average contents of the above components (excluding amygdalin) in 10 batches of SQSS were 2.523, 1.942, 26.848, 1.415, 0.692, 0.171, 0.374, 7.401 μg/mL,

respectively. **CONCLUSIONS** Nine anti-renal fibrosis Q-Markers of SQSS were screened in this study, and the contents of eight among them were determined. The results can provide a basis for elucidating the pharmacodynamic material basis and promoting the new drug transformation of SQSS.

KEYWORDS Shenqi shenshuai mixture; Q-Marker; untargeted metabolomics; network pharmacology; content determination

^Δ **基金项目** 全国中药特色技术传承人才培养项目(No. 国中医药人教函[2023]96号);湖北省自然科学基金项目(No. 2026AFC1101);湖北省时珍人才工程项目(No. 鄂卫办发[2024]20号);武汉市卫生健康委青年人才资助“晨星计划”(No. 武卫发[2023]28号)

* **第一作者** 硕士研究生。研究方向: 中药质量控制与分析。
E-mail: 2436836041@qq.com

通信作者 主任中药师, 硕士生导师。研究方向: 中药质量控制与新制剂开发。E-mail: 282215830@qq.com

慢性肾脏病(chronic kidney disease,CKD)具有高患病率和高死亡率,是全球公共卫生重大挑战。肾纤维化是CKD进展至终末期肾病的关键环节,一旦形成难以逆转^[1]。临床治疗肾纤维化多采用肾素-血管紧张素系统抑制剂和免疫抑制剂等,然而长期使用这些药物可因血钾升高与肾小球滤过率下降诱发急性肾损伤^[2]。因此,寻找新的抗肾纤维化药物成为CKD领域的重要研究方向。

临床实践表明,中医药在抗肾纤维化、延缓CKD进展方面疗效确切^[3]。参芪肾衰合剂(Shenqi shenshuai mixture, SQSS)是武汉市第一医院的医疗机构制剂(备案号为鄂药制字Z20210209),由黄芪、当归、太子参等15味中药组成,其可有效延缓肾功能减退,改善血肌酐、尿素氮水平,且安全性良好^[4]。然而, SQSS 现行质量标准主要依赖于薄层色谱进行定性,无法实现多成分同步定量,且难以建立成分与药效的关联^[5],这制约了该制剂的标准化和新药转化。因此,解析该制剂化学物质组成、筛选发挥抗肾纤维化药效作用的质量标志物(quality marker, Q-Marker),已成为推动该制剂标准化和新药转化的关键研究方向。

非靶向代谢组学作为一种分析技术,可在化学成分尚不明确时,完整表征生物样本及中药体系内的全部代谢物组成^[6]。基于此,本研究采用非靶向代谢组学全面解析SQSS的化学成分,然后整合网络药理学、基因表达综合(gene expression omnibus, GEO)数据库和连接图谱(connectivity map, CMAP)数据库等,筛选SQSS抗肾纤维化的Q-Marker,并采用高效液相色谱-串联质谱(HPLC-MS/MS)法对10批SQSS中Q-Marker进行含量测定,以期揭示SQSS抗肾纤维化药效物质基础、促进该制剂新药转化提供参考依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有Vanquish Flex型超高效液相色谱仪、Q Exactive HFX型高分辨质谱仪、Heraeus Fresco 17型离心机(美国Thermo Fisher Scientific公司), 5430R型低温高速离心机(德国Eppendorf公司), API 4000型串联四极杆质谱仪(美国AB Sciex公司), LC-20AD型高效液相色谱仪(日本Shimadzu公司), BSA124S-CW型分析天平(德国Sartorius公司)。

1.2 主要药品与试剂

槲皮素、和厚朴酚、烟酰胺、大豆苷元、苦杏仁苷、香豆素、山柰酚、芒柄花素标准品(批号分别为HR24W10、HS193262、HR21242W1、HR14626B1、HR2183B1、HR69624W3、HR22441W9、HR4265W2,纯度均不低于98%)均购自宝鸡辰光生物科技有限公司;盐酸小檗碱标准品(批号110713-202015,纯度85.9%)购自中国食品

药品检定研究院。

黄芪、当归、太子参、丹参、麸炒白术、茯苓、木香、益母草、姜厚朴、生地黄、枸杞子、牛膝、赤芍、大黄、红花饮片(批号分别为20230502、20240901、20240103、20240403、20241104、20241002、20240901、20240301、20241101、20240901、20241001、20240301、20240303、20240201、20241003)均购自湖北天济药业有限公司,由湖北中医药大学药学院李娟教授鉴定为真品。10批(编号S1~S10)SQSS(批号分别为25020801、25060402、25060501、25060502、25070501、25090402、25111201、25111202、25111301、25111302,规格200 mL/瓶)均购自武汉市第一医院;乙腈、甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯,水为屈臣氏蒸馏水。

2 方法与结果

2.1 SQSS的非靶向代谢组学分析

2.1.1 非靶向代谢组学分析的色谱与质谱条件

(1)色谱条件:采用Waters HSS T3色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.8 μm)以0.1%甲酸(A)-乙腈(含0.1%甲酸)溶液(B)作为流动相进行梯度洗脱(0~1 min, 100%A; 1~12 min, 100%A→5%A; 12~13 min, 5%A; 13.1~17 min, 100%A),柱温为40℃,流速为0.3 mL/min,进样量为2 μL。(2)质谱条件:采用Q Exactive HFX型高分辨质谱仪,配备电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI),以Full MS/dd-MS²扫描模式采集数据;喷雾电压在正、负离子模式下分别设定为3.0、-2.8 kV,毛细管温度和离子传输管温度分别为320、350℃,鞘气流速和辅助气流速分别为40、10 arb;正、负离子扫描模式下,一级质谱扫描范围为 m/z 70~1 050,一级质谱分辨率为70 000、二级质谱分辨率为17 500。

2.1.2 SQSS样本溶液的制备

称取SQSS处方中各药材饮片适量(因该处方处于专利申请期,故本文未给出具体用量),加入6倍量蒸馏水浸泡30 min,煎煮2 h,过滤;滤渣再加入等量蒸馏水煎煮1.5 h,过滤;合并2次滤液,置于冷冻干燥机中持续冻干96 h,即得SQSS冻干粉(得率为32.2%)。

临用时,取SQSS冻干粉50 mg,加入1 mL水-乙腈-异丙醇(体积比为1:1:1)混合液,涡旋振荡60 s,低温超声30 min;于4℃条件下以15 000 r/min离心10 min,取上清液于-20℃条件下静置1 h促使蛋白析出,再次同等条件离心;取上清液置于真空离心浓缩仪中浓缩至干燥,残留物用200 μL 50%乙腈复溶,涡旋60 s后于4℃条件下以15 000 r/min离心15 min,取上清液即得SQSS样本溶液。

2.1.3 SQSS的成分分析

取“2.1.2”项下SQSS样本溶液适量,按“2.1.1”项下色谱与质谱条件进样分析,然后在正、负离子模式下采

集总离子流图;采用 MassLynx V4.2 采集的原始数据经 Progenesis QI 软件预处理后,结合北京百迈客生物科技有限公司自建的中草药二级质谱数据库及相关裂解规律^[7],以二级碎片匹配得分 >0.5 为阈值进行化合物鉴定^[8]。结果显示,SQSS 中共鉴定出 1 319 种化合物,包括脂质类化合物(占比 21.91%)、苯丙素和聚酮类化合物(占比 18.95%)、有机氧化合物(占比 10.92%)、有机杂环化合物(占比 9.55%)、苯类化合物(占比 6.67%)、有机酸及其衍生物(占比 4.17%)、核苷酸及其类似物(占比 1.52%)、生物碱及其衍生物(占比 1.44%)、木脂素及相关化合物(占比 1.44%)、有机含氮化合物(占比 0.53%)、烃类及其衍生物(占比 0.23%)和其他类化合物(占比 22.67%)。SQSS 的总离子流图见图 1。

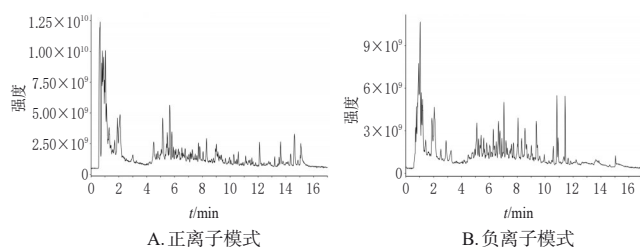


图1 SQSS 的总离子流图

2.2 SQSS 抗肾纤维化的 Q-Marker 筛选

2.2.1 SQSS 活性成分筛选与作用靶点预测

为了筛选 SQSS 的活性成分,笔者设定筛选条件为脂水分配系数 ≤ 5 、质量误差 ≤ 5 及二级质谱匹配得分 ≥ 70 ^[9],且经 SwissADME 平台(<https://swissadme.ch/>)评估成分的胃肠道吸收情况(须满足 5 项类药性规则中的至少 2 项),并结合相关文献对活性成分进行补充^[10-12]。根据筛选的活性成分,利用 Swiss Target Prediction 平台(<http://www.swisstargetprediction.ch/>)预测其作用靶点。结果显示,SQSS 中共获得 84 个活性成分,如芒柄花素、芒柄花苷、厚朴酚等(具体信息请扫描本文首页二维码,进入“增强出版”页面查看附表 1);经合并去重后共得到 876 个成分作用靶点,如 ALB(白蛋白,albumin)、ESR1(雌激素受体 1,estrogen receptor 1)、MMP2(基质金属蛋白酶 2,matrix metalloproteinase 2)等。

2.2.2 肾纤维化相关疾病靶点的获取

以“renal fibrosis”为关键词,从 GeneCards(<https://www.genecards.org/>)、OMIM(<https://omim.org/>)和 TTD(<http://db.idrblab.net/ttd/>)数据库中获取肾纤维化相关疾病靶点;从 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)下载 GSE66494 数据集(含 8 例正常肾组织与 53 例 CKD 肾组织),利用 GEO2R 在线分析工具对数据进行预处理以确保可比性,再以 $|\log_2$ 差异倍数 $|\geq 1.5$ 且 $P<0.05$ 筛选差异表达基因。结果显示,共获得肾纤维化相关靶点 4 571 个,差异表达基因 2 367 个(上调 856 个、下调

1 511 个)。进一步将 2 367 个差异表达基因与“2.2.1”项下 876 个成分作用靶点取交集,获得 76 个交集靶点(32 个上调、44 个下调)。

2.2.3 SQSS 活性成分抗肾纤维化核心靶点筛选

将“2.2.2”项下 76 个交集靶点导入 STRING 数据库(<https://string-db.org/>),通过 Centiscape 2.2 插件计算网络节点的度中心性、介数中心性和接近中心性等拓扑参数,并依据度值设定节点大小。结果显示,度值排名前 9 位的核心靶点分别为 ALB、ESR1、MMP2、PTGS2(前列腺素内过氧化物合酶 2,prostaglandin-endoperoxide synthase 2)、FGF2(成纤维细胞生长因子 2, fibroblast growth factor 2)、VCAM1(血管细胞黏附分子 1,vascular cell adhesion molecule 1)、PLG(纤溶酶原,plasminogen)、SERPINE1(丝氨酸蛋白酶抑制剂 E 家族成员 1,serpin family E member 1)、MMP3。

2.2.4 Q-Marker 的筛选

基于“2.2.2”项下获得的 76 个交集靶点,利用 CMAP 数据库(<https://clue.io/>)进行抗肾纤维化成分预测,并与“2.2.1”项下获得的 84 个活性成分取交集,即得 SQSS 抗肾纤维化的 Q-Marker。结果显示,共获得 9 个 Q-Marker,分别为盐酸小檗碱、槲皮素、和厚朴酚、烟酰胺、大豆苷元、香豆素、山柰酚、芒柄花素、苦杏仁苷。

2.2.5 Q-Marker 与核心靶点的分子对接

选取“2.2.3”项下度值排名前 9 位的核心靶点与“2.2.4”项下 9 个 Q-Marker 进行分子对接。结果显示,9 个 Q-Marker 与各核心靶点的结合能为 $-10.5\sim-4$ kcal/mol(具体信息请扫描本文首页二维码,进入“增强出版”页面查看附表 2),这提示 9 个 Q-Marker 与肾纤维化核心靶点均具有较好的结合活性。

2.3 SQSS 中 8 个 Q-Marker 的含量测定

笔者在前期预实验中发现,苦杏仁苷的响应值低于其检测限,无法进行定量分析,故后续研究主要对其余 8 个 Q-Marker(小檗碱、槲皮素、和厚朴酚、烟酰胺、大豆苷元、香豆素、山柰酚、芒柄花素)进行考察。

2.3.1 含量测定的色谱与质谱条件

(1)色谱条件:采用 Waters Atlantis T3 色谱柱(50 mm $\times$ 2.1 mm,3 μ m)以 0.1% 甲酸(A)-乙腈(B)作为流动相进行梯度洗脱(0~1.5 min,5%B;1.5~2.5 min,5%B $\rightarrow$ 40%B;2.5~7.0 min,40%B $\rightarrow$ 75%B;7.0~8.0 min,75%B $\rightarrow$ 100%B;8.0~9.5 min,100%B;9.5~10.0 min,100%B $\rightarrow$ 5%B;10.0~11.5 min,5%B),柱温为 35 $^{\circ}$ C,流速为 0.2 mL/min,进样量为 1 μ L。(2)质谱条件:采用 API 4000 型串联四极杆质谱仪,配备 ESI,在正、负离子模式下进行检测;喷雾电压为 $-5\ 500$ V,辅助气加热温度为 550 $^{\circ}$ C。各 Q-Marker 的质谱参数见表 1。

表1 8个Q-Marker的质谱参数

成分	保留时间/min	离子模式	离子对 m/z	去簇电压/V	裂解电压/V
小檗碱	5.20	ESI ⁺	336.3→320.3	112	36
槲皮素	5.66	ESI ⁺	301.2→151.1	-90	-29
和厚朴酚	7.68	ESI ⁺	265.3→223.9	-100	-35
烟酰胺	1.02	ESI ⁺	123.1→80.2	78	27
大豆苷元	5.45	ESI ⁺	253.2→91.0	-106	-51
香豆素	5.79	ESI ⁺	147.2→91.0	78	35
山柰酚	5.97	ESI ⁺	285.2→93.1	-110	-49
芒柄花素	6.39	ESI ⁺	267.2→252.0	-91	-28

2.3.2 对照品溶液的制备

分别精密称取盐酸小檗碱、槲皮素、和厚朴酚、烟酰胺、大豆苷元、香豆素、山柰酚、芒柄花素对照品适量,加60%甲醇溶解制得上述成分质量浓度分别为1 035.095、906.500、975.100、1 264.200、1 244.600、1 205.400、1 127.000、984.900 $\mu\text{g/mL}$ 的单一对照品储备液。精密吸取上述单一对照品储备液各1 mL,置于同一10 mL容量瓶中,加入60%甲醇定容,即得混合对照品溶液。

2.3.3 供试品溶液的制备

精密量取SQSS 1 mL置于10 mL容量瓶中,加入60%甲醇定容,摇匀;以15 000 r/min离心15 min,取上清液,用0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.3.4 专属性考察

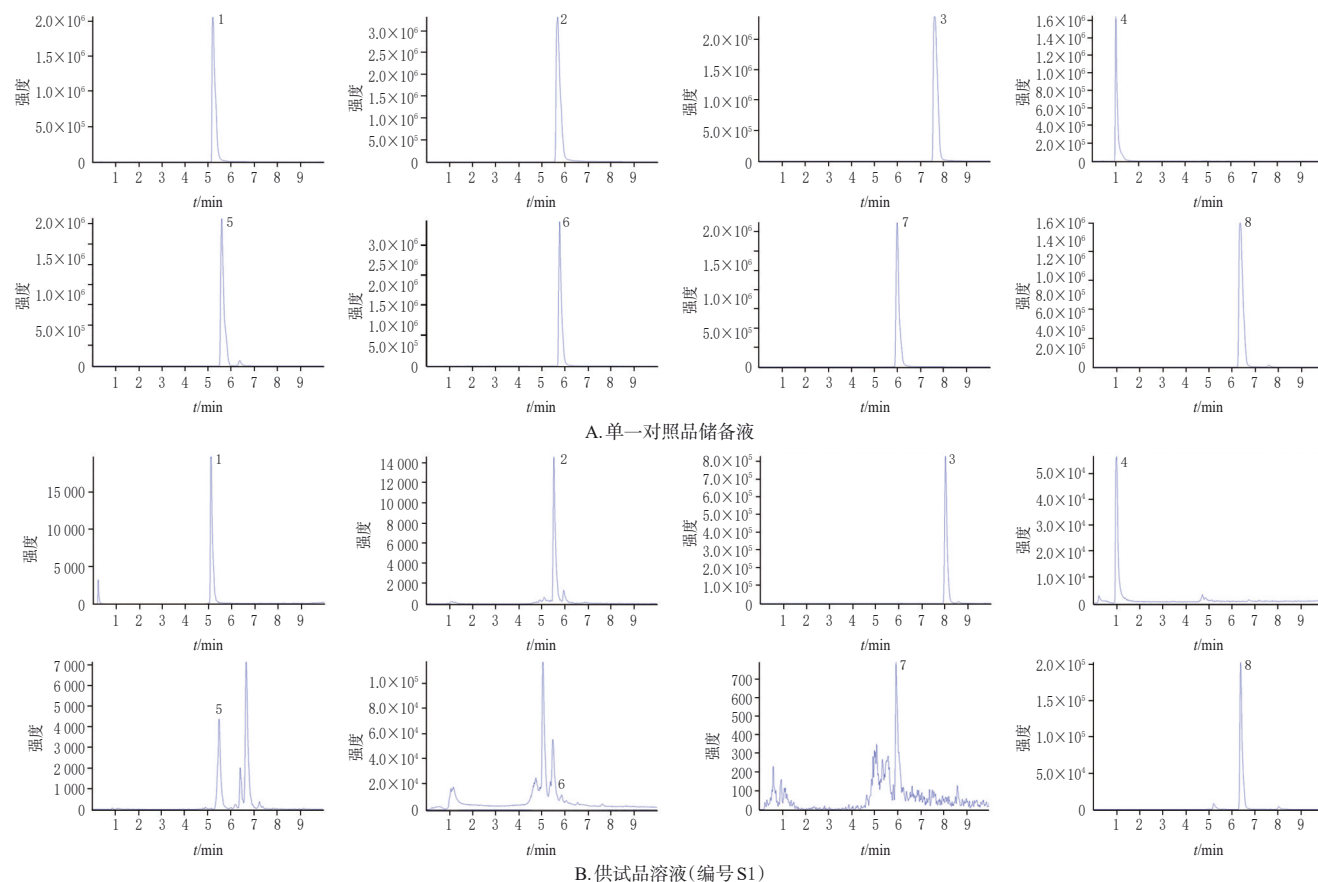
精密吸取“2.3.2”“2.3.3”项下单一对照品储备液、供试品溶液(编号S1)以及空白试剂(60%甲醇)适量,按“2.3.1”项下色谱与质谱条件进样分析,记录色谱图。结果显示,各色谱峰与相邻峰的分离度均大于1.5,且空白试剂在8个检测成分出峰时间处均未出现干扰峰,结果见图2(空白试剂图略)。

2.3.5 线性关系考察

精密量取“2.3.2”项下混合对照品溶液适量,以60%甲醇进行梯度稀释,得到系列工作液;再按“2.3.1”项下色谱与质谱条件进样分析,记录峰面积。以成分质量浓度为横坐标($X, \text{ng/mL}$)、峰面积为纵坐标(Y)进行线性拟合,再按信噪比 ≥ 3 和信噪比 ≥ 10 分别计算检测限和定量限,结果见表2。

2.3.6 精密度考察

取“2.3.2”项下混合对照品溶液适量,按“2.3.1”项下色谱与质谱条件连续进样测定6次,计算得小檗碱、槲皮素、和厚朴酚、烟酰胺、大豆苷元、香豆素、山柰酚、芒柄花素峰面积的RSD均小于4.64%($n=6$),表明仪器精密度良好。



1:小檗碱;2:槲皮素;3:和厚朴酚;4:烟酰胺;5:大豆苷元;6:香豆素;7:山柰酚;8:芒柄花素。

图2 8个Q-Marker的专属性考察结果

表2 8个Q-Marker的线性关系考察结果

成分	线性回归方程	r^2	线性范围/(ng/mL)	检测限/(ng/mL)	定量限/(ng/mL)
小檗碱	$Y=1\,909.30X+41\,384.10$	0.999 1	11.40~729.42	1.839	6.131
槲皮素	$Y=1\,445.54X-145\,036.00$	0.999 3	88.53~5\,665.63	2.766	9.221
和厚朴酚	$Y=1\,571.15X+167\,975.00$	0.999 2	47.61~6\,094.38	0.372	1.240
烟酰胺	$Y=2\,529.00X+2\,273.30$	0.999 7	7.72~246.91	2.086	6.955
大豆苷元	$Y=711.83X-759.78$	0.999 8	7.59~243.09	1.035	3.452
香豆素	$Y=4\,574.17X+1\,386.59$	0.999 8	7.36~235.43	0.920	3.060
山柰酚	$Y=139.70X+977.33$	0.999 7	13.76~880.47	3.476	11.587
芒柄花素	$Y=1\,795.64X+89\,834.80$	0.999 7	96.18~3\,077.81	1.288	4.293

2.3.7 重复性考察

取SQSS(编号S1)按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,按“2.3.1”项下色谱与质谱条件进样分析,记录峰面积,并采用外标法计算样品中8个成分的含量。结果显示,小檗碱、槲皮素、和厚朴酚、烟酰胺、大豆苷元、香豆素、山柰酚、芒柄花素的平均含量分别为6.531、1.726、39.334、1.493、0.604、0.145、0.364、8.002 $\mu\text{g/mL}$, RSD分别为0.57%、1.70%、1.11%、1.13%、1.78%、3.34%、4.87%、0.97%($n=6$),表明该方法重复性良好。

2.3.8 稳定性考察

取“2.3.3”项下供试品溶液(编号S1)适量,于室温放置0、2、4、6、8、12、24、48 h时,按“2.3.1”项下色谱与质谱条件进样分析,记录峰面积。结果显示,小檗碱、槲皮素、和厚朴酚、烟酰胺、大豆苷元、香豆素、山柰酚、芒柄花素峰面积的RSD分别为0.86%、2.83%、1.13%、3.76%、2.61%、4.01%、4.61%、2.87%($n=8$),表明该方法稳定性良好。

2.3.9 加样回收率考察

取SQSS(编号S1)按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液,共6份,每份分别加入适量对照品,用0.22 μm 微孔滤膜滤过;取续滤液,按“2.3.1”项下色谱与质谱条件进样分析,记录峰面积。结果显示,上述8个成分的平均加样回收率分别为96.44%、95.21%、101.14%、104.54%、102.80%、96.49%、92.19%、104.63%,RSD分别为1.08%、3.22%、2.87%、3.81%、4.04%、3.22%、2.40%、4.05%($n=6$),表明该方法准确度良好。

表3 10批SQSS样品中8个Q-Marker的含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=3, \mu\text{g/mL}$)

样品	小檗碱	槲皮素	和厚朴酚	烟酰胺	大豆苷元	香豆素	山柰酚	芒柄花素
S1	6.552 ± 0.029	1.726 ± 0.003	39.452 ± 0.180	1.499 ± 0.024	0.603 ± 0.008	0.142 ± 0.005	0.362 ± 0.004	7.966 ± 0.064
S2	0.409 ± 0.031	1.764 ± 0.035	35.512 ± 0.924	1.641 ± 0.078	0.748 ± 0.015	0.144 ± 0.003	0.295 ± 0.005	3.775 ± 0.153
S3	0.145 ± 0.002	1.918 ± 0.021	49.881 ± 1.120	1.697 ± 0.071	0.841 ± 0.034	0.187 ± 0.003	0.382 ± 0.004	6.488 ± 0.108
S4	0.297 ± 0.004	1.729 ± 0.024	25.743 ± 0.568	1.541 ± 0.059	0.715 ± 0.020	0.153 ± 0.001	0.258 ± 0.010	5.021 ± 0.120
S5	0.011 ± 0.003	1.888 ± 0.057	31.076 ± 0.779	1.513 ± 0.038	0.795 ± 0.015	0.151 ± 0.003	0.242 ± 0.014	7.671 ± 0.131
S6	0.156 ± 0.004	2.277 ± 0.043	10.742 ± 0.133	0.898 ± 0.036	0.414 ± 0.010	0.141 ± 0.009	0.511 ± 0.022	8.183 ± 0.046
S7	11.544 ± 0.558	1.635 ± 0.040	21.092 ± 0.323	2.197 ± 0.040	0.620 ± 0.016	0.225 ± 0.005	0.469 ± 0.016	9.426 ± 0.022
S8	2.099 ± 0.002	2.033 ± 0.062	16.149 ± 0.382	1.574 ± 0.037	0.745 ± 0.005	0.175 ± 0.003	0.335 ± 0.007	7.553 ± 0.062
S9	3.952 ± 0.059	2.349 ± 0.081	20.158 ± 0.696	1.219 ± 0.020	0.676 ± 0.022	0.213 ± 0.007	0.404 ± 0.020	10.870 ± 0.228
S10	0.074 ± 0.007	2.110 ± 0.039	18.681 ± 0.406	0.378 ± 0.005	0.772 ± 0.015	0.179 ± 0.009	0.486 ± 0.008	7.060 ± 0.049
平均值	2.523	1.942	26.848	1.415	0.692	0.171	0.374	7.401

2.3.10 8个Q-Marker的含量测定结果

取10批SQSS样品,按“2.3.3”项下方法制备供试品溶液(每批样品平行制备3份),再按“2.3.1”项下色谱与质谱条件进样分析,记录峰面积,并采用外标法计算8个Q-Marker的含量。结果见表3。

3 讨论

3.1 SQSS的化学成分解析和Q-Marker筛选

本研究采用非靶向代谢组学技术从SQSS中鉴定出1 319种化合物,主要包括脂质类、苯丙素和聚酮类、有机酸及其衍生物类化合物,由于脂质类化合物多属于初级代谢产物,与SQSS的功效相关性较弱,故后续重点围绕苯丙素和聚酮类(含酚酸类、黄酮类等成分)及有机酸类展开讨论。其中,有机酸类成分被称为天然的抗氧化剂^[13],具有抗炎、调节代谢等作用^[14];酚酸类成分可抑制胶原生成并加速纤维蛋白降解^[15];黄酮类成分可保护足细胞、改善肾小球滤过率,通过抗炎抗氧化发挥抗纤维化作用^[16]。这为SQSS抗肾纤维化作用的发挥提供了物质基础。基于此,笔者进一步通过网络药理学方法从SQSS中筛选了84个活性成分,再整合GEO、CMAP数据库分析,最终确定小檗碱、槲皮素、和厚朴酚、烟酰胺、大豆苷元、香豆素、山柰酚、芒柄花素、苦杏仁苷为SQSS抗肾纤维化的Q-Marker。研究表明,小檗碱可诱导成纤维细胞铁死亡^[17];槲皮素具有保护肾小管上皮细胞、抗氧化等作用^[18];和厚朴酚可抑制肾纤维化^[19];芒柄花素可改善线粒体功能,减轻肾小管损伤及纤维化^[20];苦杏仁苷、烟酰胺、大豆苷元、香豆素、山柰酚亦被报道具有抗炎、抗氧化和抗肾纤维化作用^[21-24]。这表明本研究筛选的Q-Marker是SQSS发挥抗肾纤维化作用的核心药效物质。

3.2 SQSS中Q-Marker的含量分析

10批SQSS样品中Q-Marker的含量测定结果显示,和厚朴酚(26.848 $\mu\text{g/mL}$)和芒柄花素(7.401 $\mu\text{g/mL}$)的平均含量较高,可能为主要药效贡献成分。此外,S7批次样品中小檗碱含量与其他批次存在差异,这可能是因

为小檗碱为异喹啉类季铵型生物碱,对热、光、碱等条件敏感^[25],但其含量波动仍在方法学验证可接受范围内。

综上所述,本研究筛选出SQSS抗肾纤维化的9个Q-Marker,并对其中8个成分进行了含量测定,可为SQSS的药效物质基础解析和新药转化提供参考。

参考文献

- [1] Nicholas S B, Nobakht N, Alicic R Z. Therapeutic considerations in preventing chronic kidney disease[J]. *Annu Rev Med*, 2026, 77: 347-361.
- [2] Huang R S, Fu P, Ma L. Kidney fibrosis: from mechanisms to therapeutic medicines[J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2023, 8: 129.
- [3] Liu W B, Zhang Y Y, Gu S C, et al. Bupi yishen formula against chronic kidney injury via *Akkermansia muciniphila* mediated group 3 innate lymphoid cells activation to repair intestinal barrier function[J]. *Phytomedicine*, 2025, 148: 157412.
- [4] 毛东东,熊飞,周文祥,等. 参芪肾衰合剂联合结肠透析对慢性肾脏病4期(脾肾虚证)患者的临床疗效观察[J]. *临床肾脏病杂志*, 2022, 22(6): 465-470.
- [5] 李海英,贺琪琚,邓凯文,等. 基于超分子“气析”理论构建中药质量标志物的印迹性新评价体系[J]. *中草药*, 2021, 52(16): 4771-4778.
- [6] Cawley A. Non-targeted screening of drugs[J]. *Drug Test Anal*, 2021, 13(5): 892-893.
- [7] 李依林,左泽平,田颖颖,等. 基于非靶向代谢组学探讨附子理中丸治疗噤呃酮诱导溃疡性结肠炎小鼠的作用机制[J]. *中国中药杂志*, 2026, 51(5): 1294-1302.
- [8] Blaženović I, Kind T, Ji J, et al. Software tools and approaches for compound identification of LC-MS/MS data in metabolomics[J]. *Metabolites*, 2018, 8(2): 31.
- [9] 张甜甜,刘瑞玲,牛犇,等. 五倍子提取物对桔青霉的抑制作用及相关机制研究[J]. *食品工业科技*, 2026, 47(7): 178-185.
- [10] 王文茹,梁莹,陈瑶,等. 地黄活性成分干预急性肾损伤和纤维化的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(21): 289-298.
- [11] 周森,李侃,安海倩,等. 基于网络药理学的“黄芪-当归”药对抗肾纤维化的作用机制研究[J]. *中国现代应用药学*, 2023, 40(2): 179-190.
- [12] 杨丹阳,于欢,吴晓莹,等. 白术化学成分及其生物活性研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(5): 171-182.
- [13] 顾志荣,刘菁,郭燕,等. 中药有机酸类成分的提取与分离纯化研究进展[J]. *中草药*, 2025, 56(8): 2954-2968.
- [14] Li J, Wang S P, Wang Y Q, et al. Comparative metabolism study on chlorogenic acid, cryptochlorogenic acid and neochlorogenic acid using UHPLC-Q-TOF MS coupled with network pharmacology[J]. *Chin J Nat Med*, 2021, 19(3): 212-224.
- [15] 屈媛,王婷,付慧婕,等. 丹参有效成分及药理作用研究进展[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2024, 26(9): 172-176.
- [16] 张施僊,刘海龙,王瑞琼,等. 黄芪化学成分和药理作用及Q-Marker预测分析[J]. *中国新药杂志*, 2023, 32(4): 410-419.
- [17] 刘波,王黎,凌生涛,等. 小檗碱通过激活肌成纤维细胞铁死亡减轻肾脏纤维化[J]. *微循环学杂志*, 2023, 33(4): 21-26.
- [18] Chen Y Q, Chen H Y, Tang Q Q, et al. Protective effect of quercetin on kidney diseases: from chemistry to herbal medicines[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 968226.
- [19] Chiang C K, Sheu M L, Lin Y W, et al. Honokiol ameliorates renal fibrosis by inhibiting extracellular matrix and pro-inflammatory factors *in vivo* and *in vitro*[J]. *Br J Pharmacol*, 2011, 163(3): 586-597.
- [20] Qian L, Xu H, Yuan R Q, et al. Formononetin ameliorates isoproterenol induced cardiac fibrosis through improving mitochondrial dysfunction[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 170: 116000.
- [21] Kumakura S, Sato E, Sekimoto A, et al. Nicotinamide attenuates the progression of renal failure in a mouse model of adenine-induced chronic kidney disease[J]. *Toxins*, 2021, 13(1): 50.
- [22] 李华鑫. 大豆苷元通过SIRT3/FOXO3a信号通路缓解阿霉素诱导的小鼠心力衰竭[D]. 合肥:合肥工业大学, 2023: 48-50.
- [23] 石斌,邱云菊,曹洪红,等. 茵陈有效成分的保肝利胆作用研究进展[J]. *中国药业*, 2025, 34(3): 128.
- [24] Liu Y, Gao L, Guo S, et al. Kaempferol alleviates angiotensin II -induced cardiac dysfunction and interstitial fibrosis in mice[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(6): 2253-2263.
- [25] Mokal R R, Jadhav A P. Forced degradation studies of mangiferin and berberine by high-performance thin-layer chromatography[J]. *JPC*, 2021, 34(6): 543-548.

(收稿日期:2026-03-17 修回日期:2026-06-14)
(本文责编:唐晓莲)