

# 鸡骨草和毛鸡骨草指纹图谱的建立、含量测定及抗肝癌作用机制研究

吴依然<sup>1</sup>, 王宝林<sup>1,2</sup>, 刘雨玲<sup>1</sup>, 杨世林<sup>1,2</sup>, 刘振杰<sup>1</sup>, 潘其明<sup>1</sup>, 郝二伟<sup>1</sup>, 高红伟<sup>1\*</sup>, 姚春<sup>1\*</sup>

1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530020

2. 江西中医药大学, 江西 南昌 330001

**摘要:** 目的 建立鸡骨草 *Abrus cantoniensis* 和毛鸡骨草 *A. mollis* 的 HPLC 指纹图谱, 比较不同批次鸡骨草和毛鸡骨草样品的化学成分差异, 并对维采宁-2 和夏佛塔昔进行定量测定, 结合网络药理学和体外实验验证, 初步探讨鸡骨草和毛鸡骨草的同用合理性及治疗肝癌的潜在作用机制。方法 采用 HPLC 方法, Ultimate<sup>®</sup> AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水溶液, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长 270 nm, 柱温 30 °C。建立 12 批鸡骨草和 6 批毛鸡骨草的指纹图谱并进行相似度评价和特征峰匹配。结合聚类分析 (CA)、主成分分析 (PCA) 及正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA) 确定鸡骨草和毛鸡骨草的差异性特征成分, 并对其中 2 种成分进行定量测定。通过中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP) 筛选鸡骨草活性成分及其潜在靶点, 并利用 GeneCards 数据库筛选肝癌相关靶点, 结合韦恩图分析获取共有靶点。基于共有靶点, 进行基因本体 (GO) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 分析, 揭示鸡骨草治疗肝癌的关键通路。使用 STRING 11.5 数据库构建靶点蛋白质与蛋白质相互作用 (PPI) 网络, 并构建药物-成分-疾病-靶点-通路网络, 确定主要活性成分。采用 MTT 法确定鸡骨草醇提物 (ACEE) 对 HepG2 细胞的最佳用药剂量, 并应用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 实验检测排名前 5 的 mRNA 表达量。结果 建立了 12 批鸡骨草和 6 批毛鸡骨草样品的指纹图谱, 标定 10 个共有峰, 共指认其中 5 个主要特征峰: 峰 1 为相思子碱、峰 2 为刺桐碱、峰 5 为维采宁-2、峰 8 为夏佛塔昔、峰 9 为异夏佛塔昔。通过化学模式识别筛选得到峰 3、峰 5 (维采宁-2)、峰 6、峰 7、峰 8 (夏佛塔昔)、峰 9 (异夏佛塔昔) 所代表的成分是区分不同批次样品的差异性标志物, 其中维采宁-2 和夏佛塔昔的质量分数分别为 0.05~4.36 mg·g<sup>-1</sup>、0.10~4.34 mg·g<sup>-1</sup>, 不同批次间差异较大。网络药理学结合指纹图谱指认共确定 9 个活性成分, 265 个潜在靶点, 与肝癌共有靶点 130 个。KEGG 富集分析共得到 112 条信号通路, 主要涉及癌症通路、脂质与动脉粥样硬化通路等。根据活性成分-靶点-通路网络筛选出 5 个肝癌关键靶点。根据 MTT 结果, 最终选择质量浓度 0.25 mg·mL<sup>-1</sup> 的 ACEE 进行 qRT-PCR 实验, 与对照组比较, 关键靶点 *AKT1*、*PIK3CA*、*STAT3*、*BCL2*、*GSK3B* 的 mRNA 表达水平显著下降 ( $P < 0.001$ )。结论 建立的指纹图谱及含量测定方法简便可行, 网络药理学筛选出的关键靶点经体外实验证明与鸡骨草抗肝癌的作用机制密切相关, 为鸡骨草质量的控制和药效机制的研究提供参考。

**关键词:** 鸡骨草; 毛鸡骨草; 指纹图谱; 网络药理学; 相思子碱; 维采宁-2; 夏佛塔昔; 异夏佛塔昔; 聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘法-判别分析

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2025)07-1893-13

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2025.07.018

## Establishment of fingerprint spectra, content determination, and anti-hepatocellular carcinoma activity mechanism of *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis*

WU Yiran<sup>1</sup>, WANG Baolin<sup>1,2</sup>, LIU Yuling<sup>1</sup>, YANG Shilin<sup>1,2</sup>, LIU Zhenjie<sup>1</sup>, PAN Qiming<sup>1</sup>, HAO Erwei<sup>1</sup>, GAO Hongwei<sup>1</sup>, YAO Chun<sup>1</sup>

1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China

2. Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330001, China

收稿日期: 2024-12-07

基金项目: 国家自然科学基金委区域创新发展联合基金重点支持项目 (U23A20521); 广西科技重大专项研究项目 (桂科 AA22096029)

作者简介: 吴依然 (1999—), 硕士研究生, 研究方向为中药化学和中药分析。E-mail: wyr907899743@163.com

\*通信作者: 高红伟 (1986—), 博士, 研究员, 主要从事中药药理学研究。E-mail: gaohongwei06@126.com

姚春 (1965—), 博士, 教授, 从事“桂十味”道地药材高质量发展关键技术及应用研究。E-mail: yaochun111111@163.com

**Abstract: Objective** To establish high-performance liquid chromatography (HPLC) Fingerprints for *Abrus cantoniensis* and *A. mollis*, comparison of chemical composition differences among different batches of *A. cantoniensis* and *A. mollis* samples, quantitative determination of vicenin-2 and schaftoside, combined with network pharmacology and *in vitro* experiments to preliminarily explore the rationality of co-use of *A. cantoniensis* and *A. mollis* and the potential mechanism of anti-hepatocellular carcinoma. **Methods** The HPLC method was used with an Ultimate® AQ-C<sub>18</sub> column (250 mm×4.6 mm, 5 μm), a mobile phase of methanol-water solution, gradient elution; flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; detection at 270 nm, 30 °C. Fingerprints for 12 batches of *A. cantoniensis* and six batches of *A. mollis* were established and evaluated for similarity and characteristic peak matching. Combined with Cluster Analysis (CA), principal component analysis (PCA), and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA), the differential characteristic components of *A. cantoniensis* and *A. mollis* were determined, and two of these components were quantitatively measured. Active components of *A. cantoniensis* and their potential targets were screened through the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform (TCMSP), and liver cancer-related targets were screened using the GeneCards database, with common targets obtained through venn diagram analysis. Based on common targets, Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analyses were conducted to reveal key pathways of *A. cantoniensis* in treating liver cancer. The STRING 11.5 database was used to construct a protein-protein interaction (PPI) network of target proteins, and an active component-target-pathway network was built to identify main active components. The MTT method was used to determine the optimal dosage of *A. cantoniensis* ethanol extract (ACEE) for HepG2 cells, and real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression levels of the top five mRNA. **Results** Fingerprints for 12 batches of *A. cantoniensis* and 6 batches of *A. mollis* samples were established, with ten common peaks calibrated and five main characteristic peaks identified: peak 1 as abrine, peak 2 as hypaphorine, peak 5 as vicenin-2, peak 8 as schaftoside, and peak 9 as isoschaftoside. Chemical pattern recognition identified components represented by peaks 3, 5 (vicenin-2), 6, 7, 8 (schaftoside), and 9 (isoschaftoside) as differential markers distinguishing different batch samples, with mass fractions of vicenin-2 and schaftoside ranging from 0.05—4.36 mg·g<sup>-1</sup> and 0.10—4.34 mg·g<sup>-1</sup>, respectively, showing significant differences among batches. Network pharmacology combined with fingerprint identification confirmed nine active components and 265 potential targets, with 130 common targets related to liver cancer. KEGG yielded 112 signaling pathways, mainly involving cancer pathways, lipid and atherosclerosis pathways, etc. Five key liver cancer targets were screened based on the active component-target-pathway network. According to MTT results, 0.25 mg·mL<sup>-1</sup> ACEE was selected for qRT-PCR, compared with the control group, the mRNA expression levels of key targets *AKT1*, *PIK3CA*, *STAT3*, *BCL2* and *GSK3B* were significantly decreased ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** The established HPLC fingerprint and content determination method are simple and feasible. The key targets screened by network pharmacology have been verified by *in vitro* experiments to be closely related to the effect of *A. cantoniensis* in the treatment of liver cancer, providing a reference for the quality control and the study of its pharmacological mechanisms.

**Key words:** *Abrus cantoniensis* Hance; *Abrus mollis* Hance; fingerprint; network pharmacology; abrine; vicenin-2; schaftoside; isoschaftoside; cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares-discriminant analysis

鸡骨草为豆科相思子属植物广州相思子 *Abrus cantoniensis* Hance 的干燥全株, 主要分布于广东、广西等地, 为广西“桂十味”道地药材之一。《岭南草药志》记载: “清郁热, 舒肝, 和脾, 续折伤。” 其性凉, 味甘, 具有利湿退黄、清热解毒、疏肝止痛的功效, 常用于湿热黄疸、肋肋不舒、胃脘胀痛、乳痈肿痛<sup>[1-2]</sup>。作为一种药食两用的中药, 鸡骨草可在春夏季用来煲汤作食疗及制作凉茶等<sup>[3]</sup>。现代研究表明, 鸡骨草中主要含有黄酮类、三萜类、生物碱类成分, 具有抗肿瘤、抗炎镇痛、调脂保肝等药理作用<sup>[4]</sup>。除广州相思子作鸡骨草入药外, 广东、广西地区也将同属植物毛相思子 *A. mollis* Hance 的全株作毛鸡骨草使用<sup>[4]</sup>。《中国药典》2020 年版仅将广州相思子列

为其基原植物, 但两种药材常被混淆使用。本研究通过对鸡骨草和毛鸡骨草指纹图谱进行比较分析, 并筛选其特征成分进行定量测定, 为研究这 2 种同属植物化学成分异同及替代可行性提供参考。

癌症严重威胁人类健康, 肝癌是中国第四大常见癌症, 也是癌症死亡的第二大原因。传统中医认为, 肝癌的形成主要是由于肝气郁结、肝郁化火、痰浊凝结、瘀血阻络所致。根据肝癌的临床表现, 古代医书典籍如《黄帝内经》《金匱要略》等, 将其归为“肝积”“积聚”“黄疸”等。鸡骨草在两广地区常作药膳, 如鸡骨草饮, 适用于肝胆湿热瘀结者, 对利湿退黄、改善肝脏健康有一定功效。然而, 目前, 鸡骨草治疗肝癌的作用机制尚未明确。网络药

理学通过计算中药成分作用靶点的网络参数筛选潜在靶点和通路,从而预测中药治疗疾病的生物过程,在中药研究中受到广泛应用<sup>[6]</sup>。本研究结合指纹图谱和网络药理学探索鸡骨草治疗肝癌的潜在作用机制,并通过体外实验对预测结果进行验证,为后续药理作用机制的研究提供理论参考,助力肝癌治疗领域的新药开发。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Waters e2695 高效液相色谱仪、PDA 检测器和 Empower 工作站,美国 Waters 公司;SQP 型百万分之一型电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;ME204E 型万分之一电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;202-3A 型电热恒温干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司;SB-800 型超声波清洗器,宁波新芝生物科技股份有限公司;Milli-Q IQ7000 型超纯水仪,美国 Millipore 公司;AG-22331 型低温高速离心机,德国 Eppendorf 公司;371 型 CO<sub>2</sub> 恒温培养箱,美国 Thermo Fisher 公司;KL02A 型台式低速离心机,湖南凯达科学仪器有限公司;QuantStudio 5 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 仪,美国 Thermo Fisher 公司。

### 1.2 材料

**1.2.1 试剂** 对照品相思子碱(批号 111808-202003)、刺桐碱(批号 112058-202001)质量分数均≥98%,均购自中国食品药品检定研究院,维采宁-2(批号 MUST-23032901)、夏佛塔昔(批号 MUST-22111209)、异夏佛塔昔(批号 MUST-22111014)质量分数均≥98%,均购自成都曼斯特生物科技有限公司;色谱纯甲醇(美国 Thermo Fisher 科技有限公司);DMEM 细胞培养基、胎牛血清、磷酸缓冲盐溶液, Gibco 公司;MTT 试剂,美国 Sigma 公司。

**1.2.2 药材** 共收集到 18 批样品,编号为 S1~S18,其中 S1~S12 为鸡骨草样品, S13~S18 为毛鸡骨草样品。经广西中医药大学高红伟研究员鉴定为豆科相思子属广州相思子 *A. cantoniensis* Hance 和毛相思子 *A. mollis* Hance 的干燥全株,样品信息见表 1。

**1.2.3 细胞** 人肝癌细胞株 HepG2, 购自美国 ATCC 细胞库。

## 2 方法与结果

### 2.1 供试品溶液的制备

取 12 批鸡骨草和 6 批毛鸡骨草样品, 50 °C 干

表 1 样品信息

Table 1 Sample information

序号	种类	品名	产地	来源
S1	广州相思子	鸡骨草	广西玉林	购买
S2	广州相思子	鸡骨草	广东佛山	购买
S3	广州相思子	鸡骨草	广西玉林	采集
S4	广州相思子	鸡骨草	广东清远	采集
S5	广州相思子	鸡骨草	广东清远	采集
S6	广州相思子	鸡骨草	广西南宁	采集
S7	广州相思子	鸡骨草	广东清远	采集
S8	广州相思子	鸡骨草	广西玉林	采集
S9	广州相思子	鸡骨草	广东梅州	采集
S10	广州相思子	鸡骨草	广东河源	采集
S11	广州相思子	鸡骨草	广东化州	购买
S12	广州相思子	鸡骨草	广东佛山	购买
S13	毛相思子	毛鸡骨草	广东揭阳	购买
S14	毛相思子	毛鸡骨草	广西南宁	采集
S15	毛相思子	毛鸡骨草	广东化州	购买
S16	毛相思子	毛鸡骨草	广东化州	购买
S17	毛相思子	毛鸡骨草	广东广州	购买
S18	毛相思子	毛鸡骨草	广西玉林	采集

燥 5 h 后粉碎,过三号筛。精密称取各粉末 1.0 g 于 50 mL 具塞锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 20 mL, 密塞,称定质量,超声处理 30 min,放冷,再次称质量,用 80% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,经 0.22 μm 滤膜,即得供试品溶液。

### 2.2 混合对照品溶液的制备

分别取相思子碱、刺桐碱、维采宁-2、夏佛塔昔、异夏佛塔昔 5 种对照品 0.90、1.83、1.05、1.15、2.10 mg,精密称定,置 5 mL 量瓶中,用 80% 甲醇溶解并稀释至刻度,配制成质量浓度分别为 0.18、0.37、0.21、0.23、0.42 mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品储备溶液。分别精密移取上述储备溶液 1 mL 于 10 mL 量瓶中,加入 80% 甲醇定容至刻度,摇匀,配制成相思子碱、刺桐碱、维采宁-2、夏佛塔昔、异夏佛塔昔质量分数分别为 18、37、21、23、42 μg·mL<sup>-1</sup> 的混合对照品溶液。

### 2.3 色谱条件

色谱柱为 Ultimate<sup>®</sup> AQ-C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇 (A) -水 (B) 溶液,洗脱梯度: 0~10 min, 10% A; 10~12 min, 10%~25% A; 12~20 min, 25%~35% A; 20~40 min, 35%~50% A; 40~70 min, 50%~90% A; 体积流量 1.0 mL·min<sup>-1</sup>; 检测波长 270 nm; 柱温 30 °C; 进样量 20 μL。

## 2.4 方法学考察

**2.4.1 精密度试验** 取同一供试品(S12)溶液,按“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次,记录色谱图。采用国家药典委员会中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)(以下简称相似度评价系统),对所得色谱图进行分析。结果显示,所得色谱图相似度均大于 0.99,表明仪器精密度良好。

**2.4.2 重复性试验** 取同一样品(S12),按“2.1.1”项下平行制备 6 份供试品溶液,按“2.3”项下色谱条件连续进样,记录色谱图。采用相似度评价系统对所得色谱图进行分析。结果显示,所得色谱图相似度均大于 0.99,表明方法重复性良好。

**2.4.3 稳定性试验** 取同一供试品(S12)溶液,按“2.3”项下色谱条件,分别于 0、2、4、8、

12、24 h 进行测定,记录色谱图。采用相似度评价系统对所得色谱图进行分析。所得色谱图相似度均大于 0.99,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

## 2.5 指纹图谱的构建

取 18 批样品,根据“2.1”项方法制备供试品溶液,根据“2.3”项下色谱条件进样测定,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)》软件,设置 S1 样品作参照图谱、时间窗宽度 0.5 min、平均数法生成对照图谱。采用 mark 峰匹配,标定出 10 个共有峰。共有模式显示样品共有峰较为集中,分布于 15~32 min,该区域不同批次样品间色谱峰数目较为一致,见图 1。相似度评价见表 2。

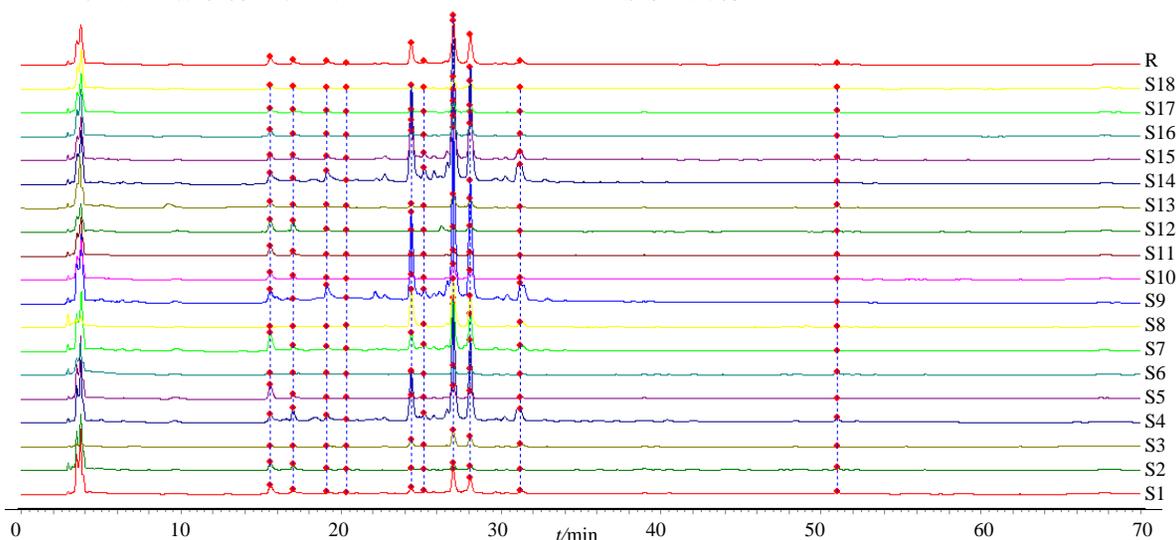


图 1 18 批样品 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprints of 18 batches of samples

表 2 18 批样品相似度

Table 2 Similarity of 18 batches of samples

编号	相似度	编号	相似度
S1	0.973	S10	0.958
S2	0.738	S11	0.601
S3	0.988	S12	0.626
S4	0.996	S13	0.955
S5	0.803	S14	0.994
S6	0.954	S15	0.991
S7	0.987	S16	0.982
S8	0.968	S17	0.971
S9	0.995	S18	0.967

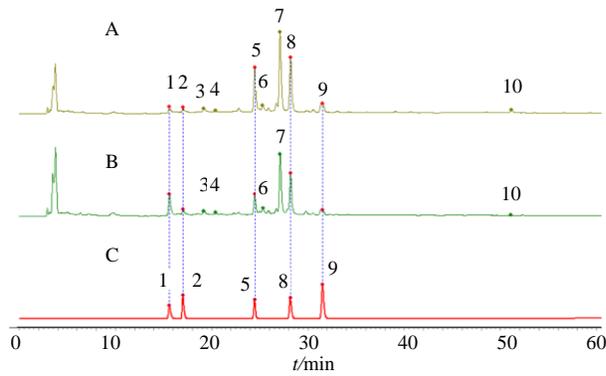
18 批样品指纹图谱共有峰 10 个,经与混合对照品色谱峰比对,共指认其中 5 个主要特征

峰:峰 1 为相思子碱、峰 2 为刺桐碱、峰 5 为维采宁-2、峰 8 为夏佛塔昔、峰 9 为异夏佛塔昔,见图 2。

## 2.6 化学识别模式识别研究

**2.6.1 聚类分析(CA)** 将 18 批样品标定的 10 个共有峰面积导入 SPSS 25.0 软件,以平方欧氏距离为测度,进行基于 Ward 方法的聚类分析<sup>[7]</sup>。结果显示,在类间距为 10 时,18 份样品被分为 2 类。S4、S9、S14 号样品聚为一类,其他 15 份样品聚为一类。在类间距为 5 时,18 份样品被分为 3 类。S4 号样品为一类,S14 和 S9 号样品聚为一类,其他 15 份样品聚为一类,具体见图 3。

**2.6.2 主成分分析(PCA)** 将 18 批样品的 10 个共有峰面积数据导入 SPSS 25.0 软件,进行 PCA,



1-相思子碱; 2-刺桐碱; 5-维采宁-2; 8-夏佛塔昔; 9-异夏佛塔昔。  
1-abrine; 2-erythrine; 5-vicenin-2; 8-schaftoside; 9-isoschaftoside.

图 2 毛鸡骨草样品 (A)、鸡骨草样品 (B) 和混合对照品溶液 (C) HPLC 图

Fig. 2 HPLC chromatograms of *A. mollis* sample (A), *A. cantoniensis* sample (B), and mixed reference substances (C)

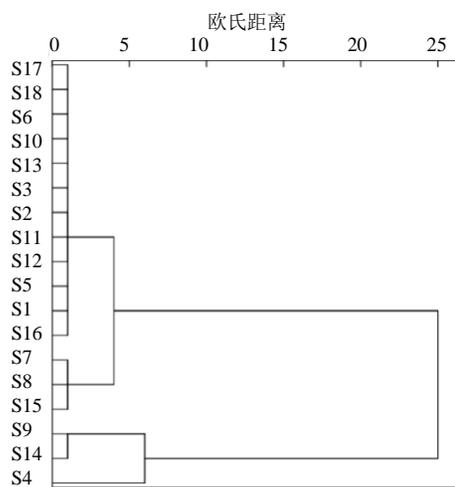


图 3 18 批样品聚类分析谱系图

Fig. 3 Cluster analysis pedigree diagram of 18 batches of samples

由表 3 和碎石图 (图 4) 可知, 以主成分特征值  $>1$  为提取标准, 可提取出 2 个主成分, 其累积方差贡献率为 83.916%, 表明 2 个主成分可代表样品指纹图谱中 10 个共有峰的 83.916% 的信息量, 对解释变量的贡献最大<sup>[8]</sup>。

通过正交旋转, 得到 10 个共有峰数据在 2 个主成分中的旋转成分矩阵 (表 4)。结果表明, 影响药材质量差异的成分不是单一成分, 而是多成分协同作用的结果<sup>[9]</sup>。其中, 第 1 主成分信息主要来自峰 3、5、6、7、8、9; 第 2 主成分的信息主要来自峰 10。

表 3 主成分方差分析

Table 3 Variance analysis of principal component

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	7.091	70.908	70.908
2	1.301	13.008	83.916

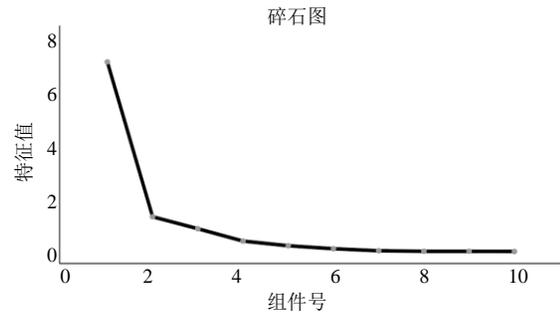


图 4 主成分分析碎石图

Fig. 4 Principal component analysis gravel diagram

表 4 样品成分矩阵

Table 4 Component matrix of samples

峰号	主成分 1	主成分 2
1	0.706	0.081
2	0.585	0.613
3	0.953	0.047
4	0.795	-0.203
5	0.958	0.124
6	0.960	0.175
7	0.956	0.182
8	0.956	0.190
9	0.960	-0.049
10	-0.104	0.932

使用 2 个主成分对不同批次样品进行综合评价。先将数据标准化, 将特征向量与标准化数据相乘, 得到主成分表达式。以 PCA 所得的贡献率为权重得到主成分综合模型, 由主成分综合模型计算主成分得分和综合得分<sup>[10]</sup>。

18 批样品的综合得分在  $-1.48 \sim 5.27$ , 说明各批次之间化学成分差异相对较大。样品中综合得分最高是 S14 (5.27), 最低是 S3 (-1.48), 具体结果见表 5。

**2.6.3 正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA)** 为进一步确定鸡骨草质量差异的标志性成分, 在 PCA 的基础上进一步采用 SIMCA 14.1 软件对 18 批样品进行分析。将 18 批样品 10 个共有峰峰面积的标准化处理数据导入软件, 进行 OPLS-DA (图 5), 得分图表明, 18 批样品可聚为 2 类, 其中 S4、S7、

表 5 各成分得分及综合得分

编号	主成分 1	主成分 2	综合得分
S14	7.53	-0.50	5.27
S9	5.46	-0.82	3.76
S4	2.49	3.40	2.21
S15	0.76	0.61	0.62
S7	1.04	-1.18	0.59
S12	-0.61	0.25	-0.40
S1	-0.69	0.31	-0.45
S8	-0.35	-1.53	-0.45
S13	-1.07	0.58	-0.69
S5	-1.24	-0.36	-0.93
S16	-1.22	-1.18	-1.02
S2	-1.63	0.98	-1.03
S10	-1.45	-0.29	-1.06
S11	-1.56	-0.18	-1.13
S18	-1.73	-0.06	-1.24
S6	-2.01	1.14	-1.28
S17	-1.81	-0.10	-1.30
S3	-1.90	-1.06	-1.48

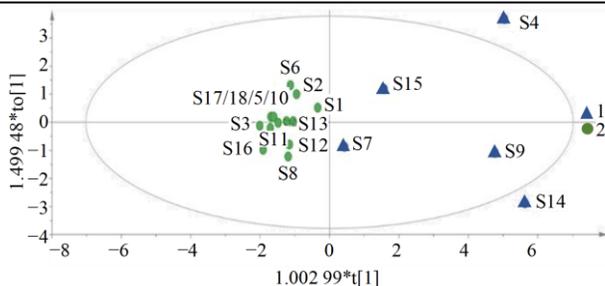


图 5 样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA scores plot of samples

S9、S14、S15 聚为一类，S1、S2、S5、S6、S8、S10~S13、S16~S18 聚为一类，其中 S4、S9、S14 被有效区分开，与 CA 结果一致。该模型的累积解释率  $R_x^2$ 、 $R_y^2$  和累积预测率  $Q^2$  分别为 0.823、0.777 和 0.685，均大于 0.5，表明该模型具有良好的解释和预测能力。为验证模型的稳健性，本实验还进行了 200 次随机置换检验，结果显示， $R^2$  回归线的 Y 轴截距为 0.169， $Q^2$  回归线的 Y 轴截距为 -0.436，均低于原始值，证实了模型没有过拟合，适合用于区分 18 批样品间的差异。

OPLS-DA 中的变量重要性投影值 (VIP 值) 可直观反映出具有统计学意义的差异物<sup>[11]</sup>。由图 6 可知，以  $VIP > 1$  为标准筛选出的色谱峰依次为峰 8 (夏佛塔昔)、峰 7、峰 6、峰 5 (维采宁-2)、峰 3、峰 9 (异夏佛塔昔)，说明 3、5、6、7、8、9 号峰

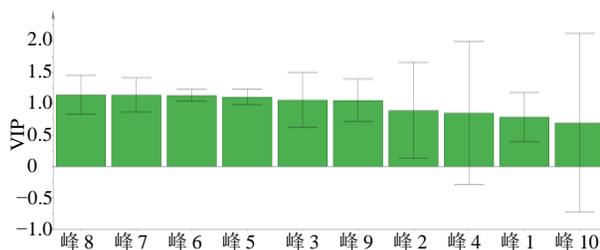


图 6 样品 VIP 图

Fig. 6 VIP diagram of samples

代表的化学成分是不同批次样品的差异性标志物。

## 2.7 特征成分的含量测定

通过已建立的指纹图谱和 OPLS-DA 分析结果可知，峰 5 (维采宁-2) 和峰 8 (夏佛塔昔) 是鸡骨草和毛鸡骨草的差异性特征成分，且含量较高。并且二者化学结构含有相同芹菜素母核，在相同位置有糖作取代基。因此本实验选择维采宁-2 和夏佛塔昔作为鸡骨草和毛鸡骨草质量标准控制的特征指标进行定量分析。

### 2.7.1 供试品溶液的制备 制备方法同“2.1”。

2.7.2 对照品溶液的制备 分别取维采宁-2 和夏佛塔昔 5.20、4.91 mg，精密称定，置 10 mL 量瓶中，用 80% 甲醇溶解并稀释至刻度，配制成质量浓度为 0.52、0.49  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  的混合对照品溶液。以 80% 甲醇作为阴性对照溶液。

2.7.3 色谱条件 采用 Ultimate<sup>®</sup> AQ-C<sub>18</sub> 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ )，流动相甲醇-150  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  甲酸铵溶液 (26:74)；体积流量 1.0  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ；检测波长 270 nm；柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ；进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

### 2.7.4 方法学考察

(1) 专属性考察：取上述混合对照品溶液、供试品溶液，按“2.7.3”项下色谱条件进样，空白溶剂在各对照品成分的出峰位置上无吸收，溶剂对色谱峰无影响，混合对照品溶液及供试品溶液中各对照品成分色谱峰的分度良好 (图 7)，该方法专属性良好。

(2) 精密度试验：取“2.7.2”项下混合对照品溶液，按“2.7.3”项下色谱条件连续进样 6 次，维采宁-2 和夏佛塔昔的峰面积 RSD 分别为 0.47% 和 0.60%，表明仪器精密度良好。

(3) 重复性试验：分别精密称取同一批样品 (S4) 6 份，按“2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.7.3”项下色谱条件连续进样，维采宁-2 和夏佛塔昔的峰面积 RSD 分别为 1.86% 和 0.76%，表明方法

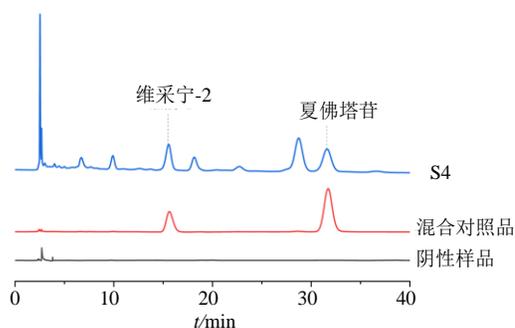


图 7 S4、混合对照品、阴性样品的 HPLC 图

Fig. 7 HPLC diagram of S4, mixed reference substances, and negative sample

重复性良好。

(4) 稳定性试验：取同一供试品溶液 (S4)，按“2.7.3”项下色谱条件，分别于 0、2、4、8、12、24 h 进行测定，维采宁-2 和夏佛塔昔的峰面积 RSD 分别为 2.84% 和 1.71%，表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

(5) 线性关系考察：分别精密吸取“2.7.2”项下混合对照品溶液 0.2、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 mL 于 10 mL 量瓶中，加 80% 甲醇水定容至刻度。按“2.7.3”项下色谱条件进样测定，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。得回归方程分别为维采宁-2  $Y=26\ 275.31 X-26\ 768.38$ ,  $r=0.999\ 5$ , 线性范围 10.4~130.0 ng; 夏佛塔昔  $Y=32\ 159.19 X-93\ 906.46$ ,  $r=0.999\ 6$ , 线性范围 9.8~122.5 ng。

(6) 加样回收率考察：精密称取已知维采宁-2 和夏佛塔昔含量的样品 (S4) 0.5 g 共 6 份，精密加入维采宁-2 和夏佛塔昔质量浓度分别为 2.20 mg·mL<sup>-1</sup> 和 2.36 mg·mL<sup>-1</sup> 的对照品溶液各 1 mL，精密加入 80% 甲醇 19 mL，按“2.1”项下方法平行制备供试品溶液 6 份，按“2.7.3”项下色谱条件进样测定，维采宁-2、夏佛塔昔的平均回收率分别为 99.52%、101.01%，RSD 分别为 2.49%、2.20%。表明该分析方法准确度良好。

**2.7.5 样品含量测定** 分别精密称取 18 批次的样品按“2.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.7.3”项下色谱条件进样进行含量测定，结果见表 6。维采宁-2、夏佛塔昔质量分数分别为 0.05~4.36、0.10~4.34 mg·g<sup>-1</sup>。不同批次间二者质量分数差异较大，可能与采收时间、储存条件等有关。另外在样品前处理过程中发现，S4、S7、S9、S14 含叶较多，这可能也是导致质量分数偏高的原因。

表 6 18 批样品含量测定结果

Table 6 Content determination results of 18 batches of samples

批次	质量分数/(mg·g <sup>-1</sup> )	
	维采宁-2	夏佛塔昔
S1	0.26	0.46
S2	0.07	0.11
S3	0.38	0.37
S4	3.84	4.06
S5	0.18	0.27
S6	0.07	0.10
S7	4.36	4.34
S8	1.20	0.82
S9	2.96	3.24
S10	0.18	0.31
S11	0.05	0.10
S12	0.11	0.22
S13	0.12	0.21
S14	3.80	3.57
S15	2.11	2.06
S16	0.22	0.37
S17	0.13	0.26
S18	0.15	0.28

## 2.8 基于网络药理学鸡骨草抗肝癌活性机制预测

**2.8.1 活性成分筛选与相关靶点收集** 通过检索中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP, <https://tcmsp-e.com/tcmsp.php>) 筛选鸡骨草中口服生物利用度 (OB) ≥ 30% 和类药性 (DL) ≥ 0.18 的化学成分，再补充“2.4.3”项下指纹图谱指认特征峰得到的 5 个化学成分，共筛选出 9 个主要成分。检索 herb 数据库 (<http://herb.ac.cn>) 整理 9 个主要成分的 SMILES 号，利用 Swiss Target Prediction (<http://swisstargetprediction.ch/>) 在线预测各成分的靶点基因，并筛选 Probability > 0 的基因，去除重复值，最终得到与 9 个化合物相关的 264 个靶点。

**2.8.2 肝癌相关靶点预测及药物-疾病共同靶点的获取** 以“liver cancer”为关键词在 Gene Cards 数据库 (<https://www.genecards.org/>) 搜索肝癌的疾病基因及靶点信息。由于搜索结果过多，增加筛选条件 Relevance score > 3，最后得到 3 618 个肝癌的相关靶点。使用微生信平台创建韦恩图 (图 8)。鸡骨草中化学成分 264 个作用靶点与肝癌 3 618 个相关基因存在的 130 个交集靶点为鸡骨草治疗肝癌的重要靶点。

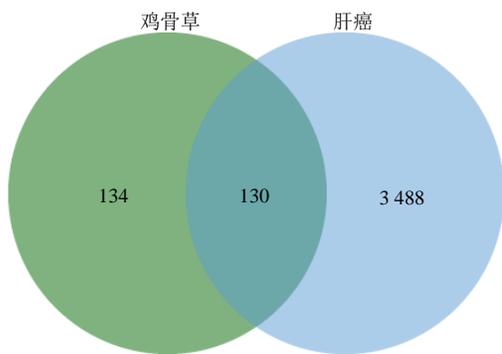


图 8 鸡骨草活性成分与肝癌靶点的韦恩图

Fig. 8 Venn diagram of target of active ingredients in *A. cantoniensis* and liver cancer

**2.8.3 靶点蛋白质与蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建** 将 130 个共有靶点导入 STRING 11.5 在线分析数据库 (<https://stringdb.org>), 设置最低交互得分 0.700, 构建 PPI 网络并进行可视化, 得到 87 个节点, 282 条边。每个节点代表由单个蛋白质编码基因位点产生的所有蛋白质, 边代表各蛋白质之间具有相关性。将结果以 TSV 格式导入 Cytoscape 3.9.1 软件, 利用 Network Analyzer 对各靶点度值进行分析, 如图 9 所示, 图中颜色越深、圆圈越大, 说明度值越大, 该节点对应的蛋白质与更多的其他蛋白质有直接相互作用, 比如排名较前的 AKT1、CTNNB1、SRC、STAT3、BCL2 等参与多种生物过程或信号通路, 并且对网络稳定性影响较大。

**2.8.4 富集分析结果** 使用 DAVID 数据库 (<https://david.ncifcrf.gov/>) 对 130 个共有靶点进行基因本体(GO)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)富集分析。GO 富集共计得出 544 条结果, 其中生物过程 (BP) 430 条, 细胞组成 (CC) 57 条, 分子功能 (MF) 57 条, 各筛选前 10 名分析, 结果见图 10。KEGG 通路富集分析结果共得出 112 条相关通路, 筛选 *P* 值最小的前 20 条通路进行可视化分析<sup>[12]</sup>, 包括癌症通路、脂质与动脉粥样硬化通路等, 见图 11, 上述通路可能与鸡骨草治疗肝癌的作用相关。

**2.8.5 活性成分-靶点-通路网络构建** 将筛选出的 9 个化学成分, 130 个作用靶点、20 条通路, 利用 Cytoscape 3.9.1 软件构建“活性成分-靶点-通路”网络。使用 CytoNCA 插件进行蛋白相互作用网络集中性分析和评估, 根据介数中心性优化网络结构并

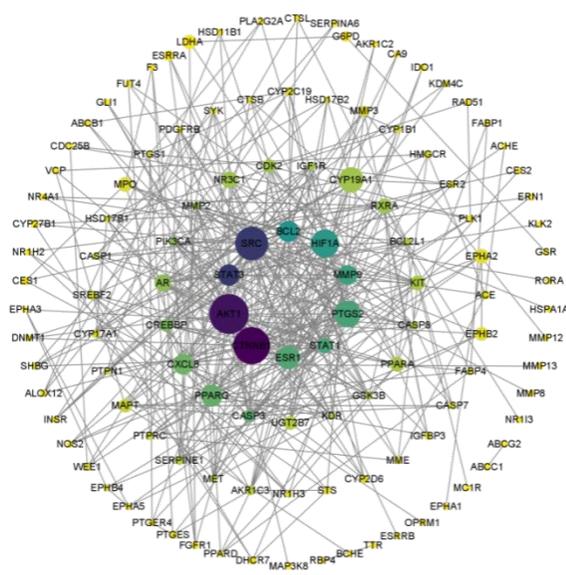


图 9 交集靶点 PPI 网络

Fig. 9 PPI network of intersection target

调整节点大小, 见图 12。

对靶点网络进行拓扑属性分析, 选取接近中心性、介数中心性和度值 3 个重要参数均大于其平均数的靶点作为关键靶点<sup>[13]</sup>。经筛选得到 14 个关键作用靶点, 见表 7。如丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (AKT1) 和磷脂酰肌醇-3-激酶催化亚基 (PIK3CA) 能够激活磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3K/Akt) 信号通路, 从而对细胞凋亡和氧化应激产生影响, 与相关文献报道一致<sup>[14]</sup>。网络中 1 个成分对应多个靶点, 每条通路由多个靶点调控, 表明鸡骨草通过“多成分-多靶标-多途径”发挥治疗肝癌的药效。

**2.9 体外实验验证**

**2.9.1 细胞培养与药物制备** 人肝癌细胞株 HepG2 细胞在含有 10%胎牛血清 (FBS) 和 1%青霉素-链霉素的 DMEM 培养基中培养, 培养条件为 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的恒温培养箱。随后每隔 24 h 更换液体, 收集对数生长期细胞进行后续实验。

鸡骨草样品 (S4) 按“2.1”方法制备供试品溶液, 50 °C 水浴 3 h, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min, 取上清液旋蒸、冻干, 制得鸡骨草醇提物 (ACEE)。根据实验设置将 ACEE 用二甲基亚砜 (DMSO) 稀释为对应的质量浓度 (0.031 25、0.062 50、0.125 00、0.250 00、0.500 00、1.000 00 mg·mL<sup>-1</sup>)。

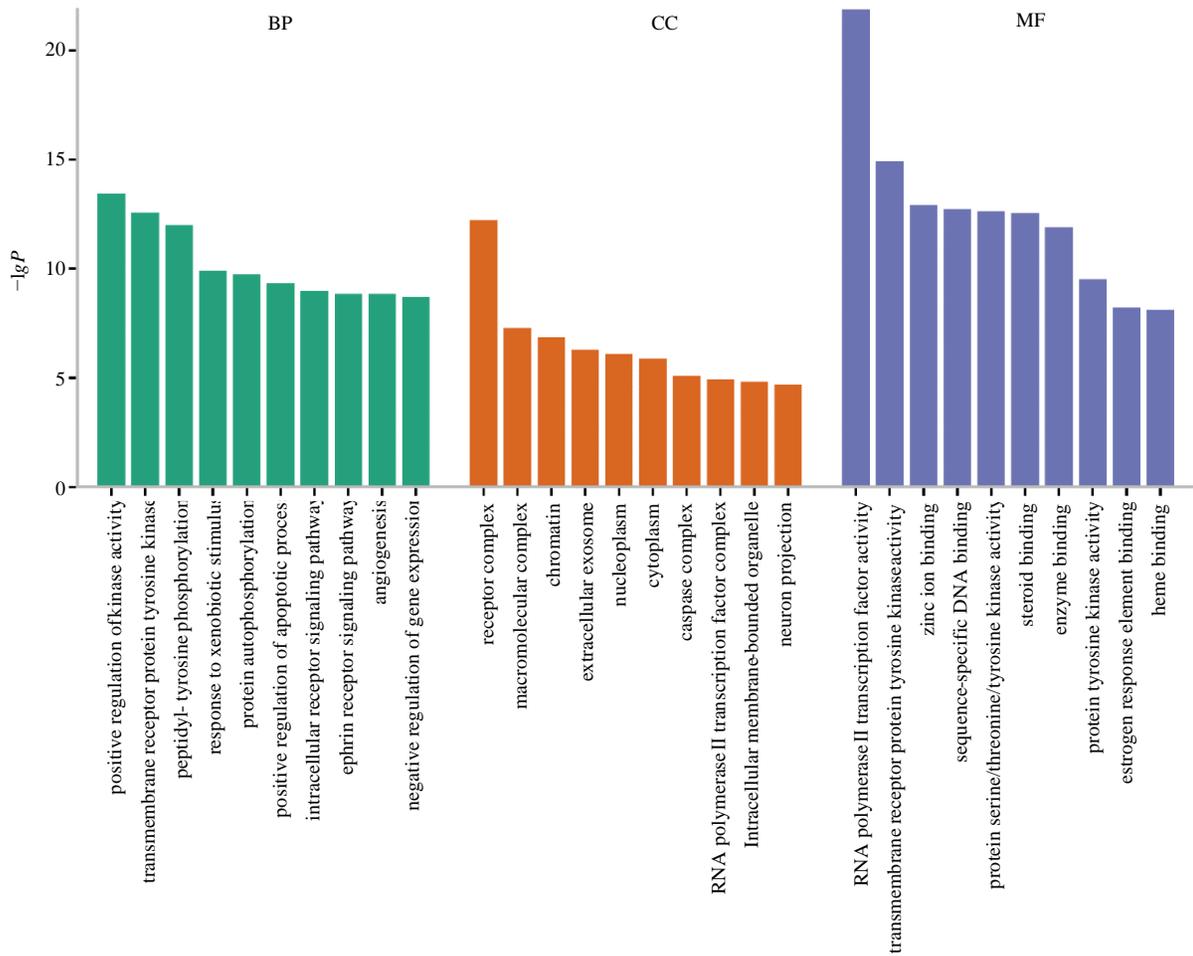


图 10 GO 富集分析结果

Fig. 10 GO enrichment analysis results

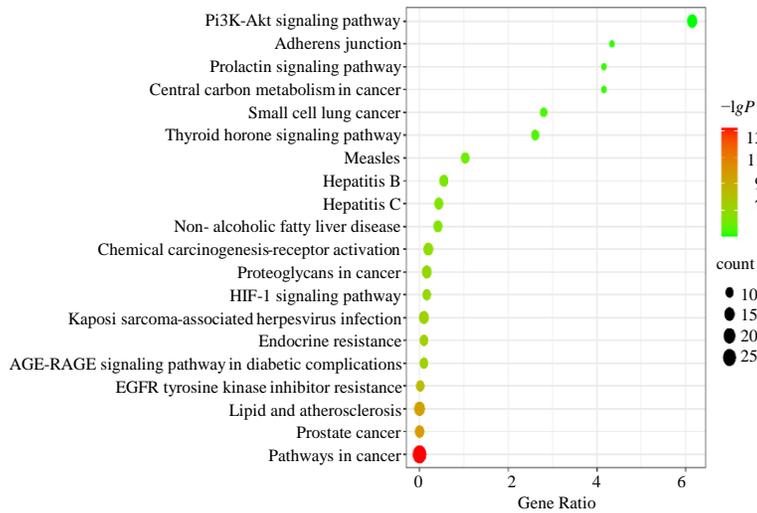


图 11 KEGG 通路富集分析结果

Fig. 11 KEGG enrichment analysis results

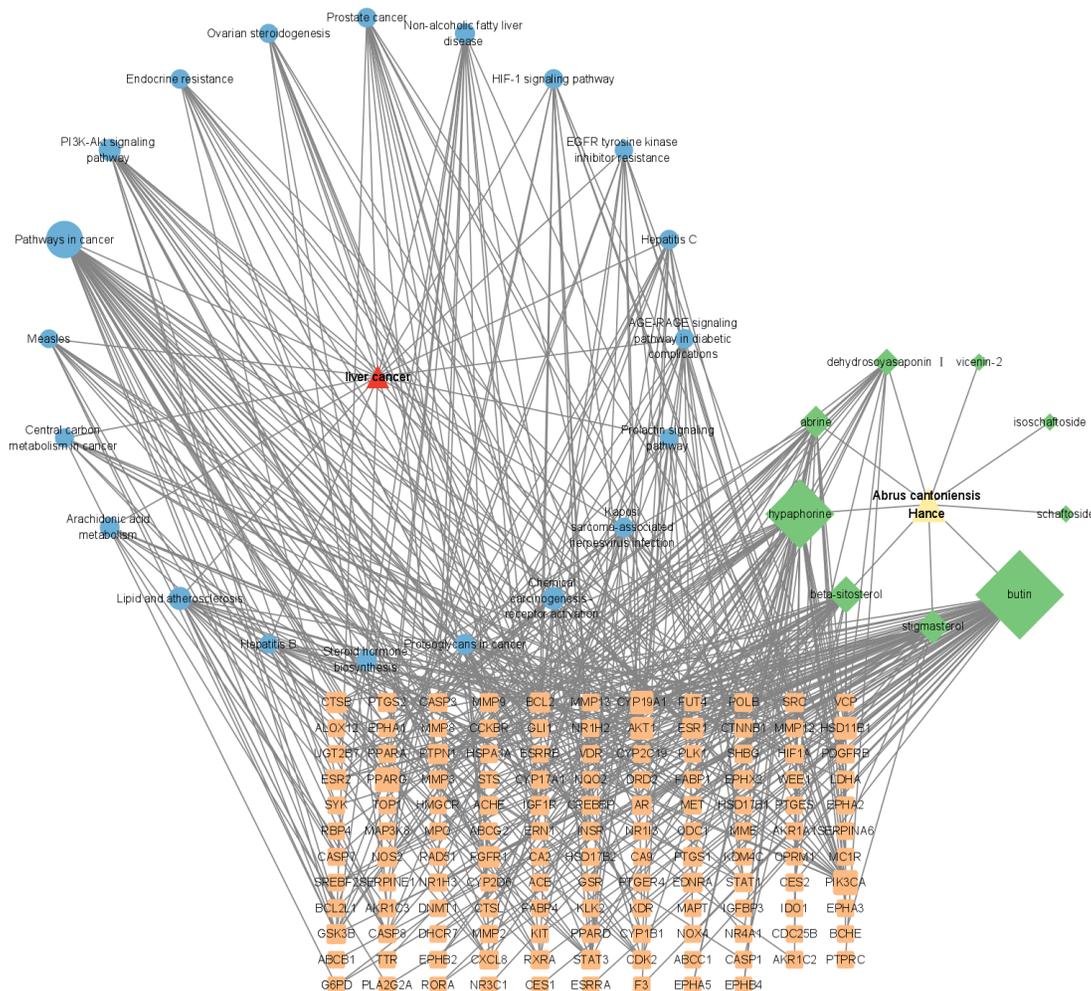


图 12 “活性成分-靶点-通路”网络

Fig. 12 Network of “active component- target-pathway”

表 7 关键靶点的筛选结果

Table 7 Screening results of key targets

靶点	接近中心性	介数中心性	度值
AKT1	0.409 2	0.027 2	18
PIK3CA	0.399 0	0.039 8	18
STAT3	0.345 6	0.010 9	13
BCL2	0.389 3	0.015 2	12
GSK3B	0.380 0	0.012 7	11
IGF1R	0.374 7	0.009 5	9
SRC	0.373 0	0.008 6	9
ESR1	0.401 0	0.019 3	8
STAT1	0.367 8	0.007 9	8
PPARG	0.461 1	0.038 4	7
FGFR1	0.419 9	0.020 4	7
ESR2	0.397 0	0.016 1	7
RXRA	0.378 3	0.008 2	7
CXCL8	0.364 5	0.010 5	7

2.9.2 MTT 检测细胞活力 取对数生长期的 HepG2 细胞, 接种在 96 孔板中, 细胞密度为每孔  $5 \times 10^3$  个, 细胞接种 12 h 后给药。加入不同质量

浓度 0 (对照)、0.031 25、0.062 50、0.125 00、0.250 00、0.500 00、1.000 00  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 ACEE, 培养 24 h 后弃去培养液, 在每孔加入 100  $\mu\text{L}$  的含 10% MTT 检测试剂的培养液, 放于  $\text{CO}_2$  培养箱  $37^\circ\text{C}$  避光孵育 4 h 后, 在每孔中加入 100  $\mu\text{L}$  DMSO, 使用酶标仪检测 570 nm 波长下各孔的吸光度 ( $A$ ) 值, 计算每组细胞存活率。数据采集用  $\bar{x} \pm s$  表示, 统计结果采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行绘图与统计分析, 组间比较采用  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。如图 13 结果显示, 与对照组相比, 0.250 00、0.500 00、1.000 00  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 ACEE 作用 HepG2 细胞 24 h 后, HepG2 细胞的存活率显著降低 ( $P < 0.001$ )。选择质量浓度为 0.25  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的 ACEE 进行 qRT-PCR 实验。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

2.9.3 qRT-PCR 检测核心靶点的 mRNA 表达水平 取对数生长期的 HepG2 细胞接种在 96 孔板中,

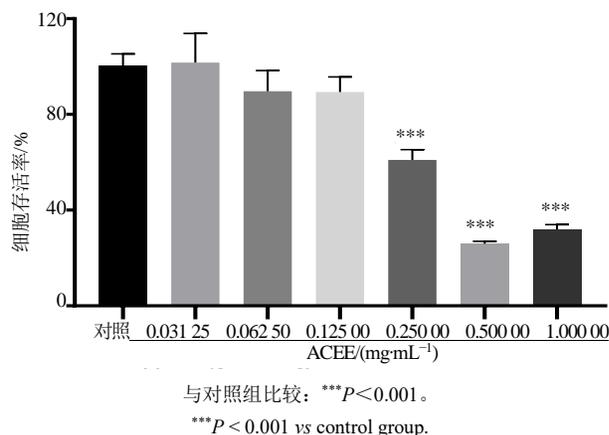


图 13 ACEE 对 HepG2 细胞活力的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Fig. 13 Effect of ACEE on viability of HepG2 cells  
( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

细胞密度为每孔  $1.6 \times 10^5$  个, 设置对照组和 ACEE 组 ( $0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 在给药 4 h 后各孔加入  $1000 \mu\text{L}$  Trizol 裂解后提取总 RNA, 再逆转录成 cDNA 进行 PCR 扩增。反应条件为:  $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 、10 s,  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 、30 s,

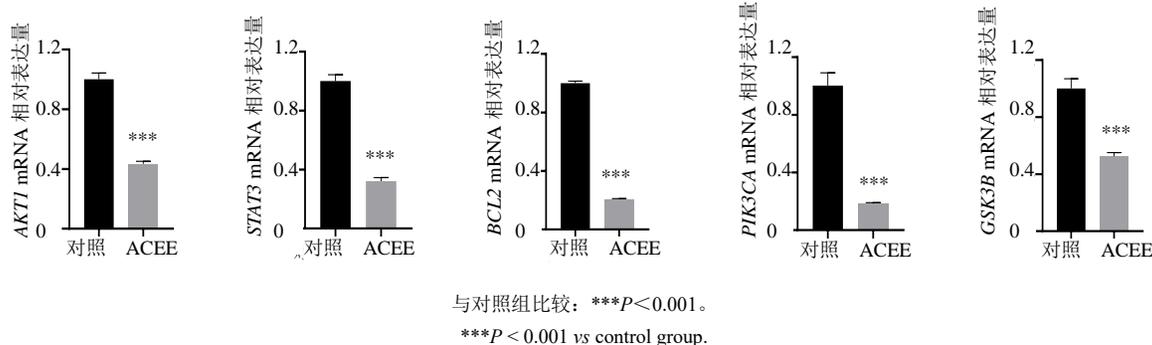


图 14 ACEE 对 HepG2 细胞核心基因 mRNA 表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Fig. 14 Effect of ACEE on mRNA expression level of core genes in HepG2 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 3 讨论

本实验通过单因素实验考察了不同提取溶剂 (50%甲醇、80%甲醇、甲醇、50%乙醇、80%乙醇、乙醇)、提取方式 (超声、回流)、提取时间 (15、30、45 min)、溶剂量 (10、20、30 mL) 对指纹图谱的影响, 最终确定提取条件为  $20 \text{ mL}$  80%甲醇超声提取 30 min。

为更全面地反映鸡骨草的化学成分信息, 指纹图谱采用梯度洗脱方式, 考察了甲醇-水、乙腈-水、甲醇-0.1%三氟乙酸水溶液 3 个流动相体系, 结果表明甲醇-水系统色谱峰出峰时间合适、基线较平稳, 综合考虑选择甲醇-水作为流动相。本实验使用紫外检测器全波长检测, 检测结果显示在  $270 \text{ nm}$  处各峰响应值均较高且基线平稳。因此, 选定检测波长

重复 40 个循环, 引物序列见表 8。

qPCR 结果使用相对定量法  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  值, 组间比较采用  $t$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。结果如图 14 所示, 与对照组相比, ACEE 组细胞内 *AKT1*、*STAT3*、*BCL2*、*PIK3CA*、*GSK3B* 的 mRNA 表达水平显著降低 ( $P < 0.001$ )。

表 8 引物序列

Table 8 Primer sequences

基因	序列(5'→3')
<i>AKT1</i>	F-CCTGAGCTGAATGAGGACCA
	R-GCCACCAATGAAGTCCTACC
<i>STAT3</i>	F-CAGCAGCTTGACACACGGTA
	R-CATGGCTGTTGATGTTCTCC
<i>BCL2</i>	F-ATGTGTGTGGAGAGCGTCAACC
	R-CAGAGACAGCCAGGAGAAATCAA
<i>PIK3CA</i>	F-AAGAGCCCCGAGCGTTTCT
	R-GATGATGGTCGTGGAGGCAT
<i>GSK3B</i>	F-CCTGGGAACTCCAACAAGGG
	R-CGGGGTCGGAAGACCTTAGT

为  $270 \text{ nm}$ 。另外还考察了柱温  $25$ 、 $30$ 、 $35 \text{ }^\circ\text{C}$  对峰形的影响。结果表明不同柱温对出峰的影响不大。由于实验期间正值夏季, 气温较高, 故选择室温  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  为柱温。含量测定考察了甲醇-水、甲醇-0.1%乙酸等体系, 发现目标成分的分离度和峰型对 pH 敏感, 最终选择甲醇- $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  甲酸铵溶液等度洗脱作为色谱条件。

在《中国药典》2020 年版中, 鸡骨草仅规定为广州相思子的干燥全株, 并且尚未收录毛鸡骨草的相关内容<sup>[1]</sup>。在《广西壮族自治区壮药质量标准》第一卷 (2008 年版) 和第二卷 (2011 年版) 中分别规定鸡骨草为广州相思子的干燥全株、毛鸡骨草为毛相思子的干燥全株<sup>[15]</sup>。但是《广东省中药材标准》第二册 (2011 年版) 对相思子属的品种情况作了相

关说明, 广西玉林、梧州地区会将鸡骨草和毛鸡骨草混杂使用并且以毛鸡骨草为多<sup>[16]</sup>。另外在 1990 年版《广西中药材标准》中广州相思子和毛相思子均可作为鸡骨草的基原植物<sup>[17]</sup>。说明毛鸡骨草替代鸡骨草存在可追溯性。本研究对 12 批鸡骨草和 6 批毛鸡骨草样品的指纹图谱进行了相似度评价, 结果显示 6 批毛鸡骨草样品相似度均大于 0.9, 说明毛鸡骨草在化学成分方面替代鸡骨草的可行性较大。

2016 年, 刘昌孝院士<sup>[18]</sup>首次提出“Q-marker”的概念, 为我国传统中药的质量控制研究提供了新的思路。鸡骨草作为相思子属植物, 《中国药典》2020 版中使用相思子碱作为其薄层鉴别的指标成分, 并且暂未收录含量测定项。本研究通过建立指纹图谱, 与混合对照溶液对比指认了相思子碱、刺桐碱、维采宁-2、夏佛塔昔、异夏佛塔昔 5 个特征峰。另外 OPLS-DA 分析结果结合含量测定结果可知, 峰 8 (夏佛塔昔) 是不同批次鸡骨草样品的差异性标志物且含量较高。结合研究结果, 初步预测相思子碱和夏佛塔昔是鸡骨草潜在的 Q-marker。

细胞毒性实验结果显示, 鸡骨草对 HepG2 肝癌细胞的生长具有抑制作用。同时 qRT-PCR 实验显示, HepG2 细胞经过鸡骨草处理后核心基因 *AKT1*、*STAT3*、*BCL2*、*PIK3CA*、*GSK3B* 的相对表达量会发生显著性下降, 进一步证明鸡骨草可能通过靶向这些基因产生抗肝癌作用。本研究通过网络药理学的方法, 预测了鸡骨草的抗肝癌作用及其可能的作用机制, 通过实验验证了鸡骨草对肝癌细胞具有抑制作用并使核心基因在肝癌细胞中的表达情况改变, 可为后续进一步研究提供参考。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.

[2] 黄志琼, 韩珊, 王琴琴, 等. 毛鸡骨草中 1 个新的二氢查耳酮 [J]. 中草药, 2024, 55(12): 3935-3942. Huang Z Q, Han S, Wang Q Q, et al. A new dihydrochalcone from *Abrus mollis*. 2024, 55(12): 3935-3942

[3] 李常伟, 李兵, 卢汝梅, 等. 复方依山红组方药材的化学成分研究进展 [J]. 广西中医药, 2014, 37(5): 6-8. Li C W, Li B, Lu R M, et al. Research progress on chemical constituents of compound Yishanhong prescription [J]. Guangxi J Tradit Chin Med, 2014, 37(5): 6-8.

[4] 李庭树, 黄锁义. 鸡骨草的化学成分、药理作用及临床应用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(10): 226-234. Li T S, Huang S Y. Chemical components and clinical application of abri herba [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2019, 25(10): 226-234.

[5] 肖晓, 许重远, 郑承剑, 等. 鸡骨草及毛鸡骨草的资源调查与生药鉴定 [A] // 中国植物学会八十五周年学术年会论文摘要汇编 (1993—2018) [C]. 昆明: 中国植物学会, 2018. Xiao X, Xu C Y, Zheng C J, et al. Resource Investigation and Pharmacognostic Identification of *Abrus cantoniensis* and *Abrus mollis* [A] // Compilation of Abstracts for the 85th Anniversary Academic Annual Meeting of the Botanical Society of China (1993—2018) [C]. Kunming: Botanical society of China, 2018.

[6] 李太平, 吴芳芳, 孙晖, 等. 基于网络药理学和分子对接探究壮药鸡骨草治疗乙型肝炎的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2022, 37(1): 33-41. Li T P, Wu F F, Sun H, et al. Exploring the mechanism of the *Abrus cantoniensis* in the treatment of hepatitis B based on network pharmacology and molecular docking [J]. Drugs Clin, 2022, 37(1): 33-41.

[7] 彭警, 樊箫雨, 王迪磊, 等. 基于成分定量和指纹图谱的化学模式识别法评价胆木不同部位的差异性 [J]. 中草药, 2023, 54(10): 3281-3291. Peng J, Fan X Y, Wang D L, et al. Differences of *Nauclea officinalis* in different parts based on quantitative analysis of components and fingerprint by chemical pattern recognition [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(10): 3281-3291.

[8] 周雯雯, 史银基, 何江, 等. HPLC 指纹图谱和多成分定量结合化学模式识别法评价不同生长期刺山柑果质量 [J]. 中草药, 2023, 54(7): 2235-2242. Zhou W W, Shi Y J, He J, et al. HPLC fingerprint and multi-components determination combined with chemical pattern recognition to evaluate quality of fruits of *Capparis spinosa* at different growth stages [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2023, 54(7): 2235-2242.

[9] 王宝林, 丘海芯, 甘金月, 等. 基于指纹图谱结合化学模式识别及多成分定量的千斤拔质量评价研究 [J]. 药物评价研究, 2022, 45(12): 2464-2472. Wang B L, Qiu H X, Gan J Y, et al. Determination of multi-components of *Moghania Radix* based on fingerprints and chemical pattern recognition [J]. Drug Eval Res, 2022, 45(12): 2464-2472.

[10] 聂韡, 朱培林, 房海灵, 等. HPLC 指纹图谱结合化学计量学评价不同产地广东紫珠药材的质量 [J]. 中草

- 药, 2017, 48(1): 185-191.
- Nie W, Zhu P L, Fang H L, et al. Quality evaluation of *Callicarpa kwangtungensis* from different origins by HPLC coupled with chemometrics [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(1): 185-191.
- [11] 刘天亮, 杨林林, 董诚明, 等. 基于化学模式识别的不同产地金银花 HPLC 指纹图谱研究 [J]. 中草药, 2022, 53(15): 4833-4843.
- Liu T L, Yang L L, Dong C M, et al. Study on HPLC fingerprint of *Lonicera Japonica Flos* from different areas based on chemical pattern recognition [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(15): 4833-4843.
- [12] Yuan C, Wang M H, Wang F, et al. Network pharmacology and molecular docking reveal the mechanism of Scopoletin against non-small cell lung cancer [J]. Life Sci, 2021, 270: 119105.
- [13] 丘海芯, 甘金月, 王宝林, 等. 仲景名方白头翁汤的指纹图谱及功效关联物质预测分析 [J]. 中草药, 2022, 53(6): 1740-1750.
- Qiu H X, Gan J Y, Wang B L, et al. Predictive analysis of fingerprints and efficacy related substances of Zhongjing famous prescription Baitouweng Decoction [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2022, 53(6): 1740-1750.
- [14] 范碧玥, 王萌, 潘阳阳, 等. 连翘叶酶-醇提取物抗药物性肝损伤作用研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2022, 50(10): 23-33.
- Fan B Y, Wang M, Pan Y Y, et al. Protective mechanism of *Forsythia suspense* leaves extract against drug-induced liver injury [J]. J Northwest A F Univ Nat Sci Ed, 2022, 50(10): 23-33.
- [15] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准(第二卷) [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2011: 161
- Guangxi Zhuang Autonomous Region Food and Drug Administration. *Quality standards of Zhuang medicines of Guangxi Zhuang Autonomous Region (Volume II)* [M]. Nanning: Guangxi Science and Technology Press, 2011: 161
- [16] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准(第二册) [M]. 广州: 广东科技出版社, 2011: 81
- Guangdong Provincial Food and Drug Administration. *Standards for Chinese Medicinal Materials of Guangdong Province. (Volume II)* [M]. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press, 2011: 81
- [17] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 1992: 58
- Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region. *Standards for Chinese Medicinal Materials of Guangxi* [M]. Nanning: Guangxi Science and Technology Press, 1992:58
- [18] 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.
- Liu C X, Chen S L, Xiao X H, et al. A new concept on quality marker of Chinese materia Medica: Quality control for Chinese medicinal products [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(9): 1443-1457.

[责任编辑 孙英杰]