

## 基于 HPLC 法结合多维度判别的不同产地夏枯草各部位潜在质量标志物研究

李媛媛<sup>1</sup>, 李天娇<sup>1,2,3</sup>, 王 帅<sup>1,2,3</sup>, 包永睿<sup>1,2,3</sup>, 张铁军<sup>4,5</sup>, 许海玉<sup>1</sup>, 孟宪生<sup>1,2,3\*</sup>

1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600
2. 辽宁省中药多维分析专业创新技术中心, 辽宁 大连 116600
3. 辽宁省现代中药研究工程实验室, 辽宁 大连 116600
4. 天津药物研究院有限公司, 天津 300301
5. 天津市中药质量标志物重点实验室, 天津 300462

**摘要:** **目的** 基于指纹图谱、网络药理学及分子对接技术初步分析夏枯草 *Prunella vulgaris* 4 个部位 (穗、茎、叶、根) 的潜在质量标志物 (quality Markers, Q-Marker) 并测定其含量。**方法** 建立 8 个产地夏枯草的穗、茎、叶和根的指纹图谱, 标定不同部位指纹图谱的共有峰和非共有峰; 采用相似度分析、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、TOPSIS 分析和正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA), 运用网络药理学预测夏枯草 Q-Marker, 同时进行定量分析, 对夏枯草品质进行综合评价。**结果** 8 批夏枯草穗、茎、叶和根分别标定共有峰 17、22、21 和 16 个。指出 5、11、12、13、14、16 和 20 号峰分别为咖啡酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、异迷迭香酸苷、迷迭香酸和木犀草素。其中咖啡酸、迷迭香酸为 4 个部位的共有成分, 同一药用部位相似度均大于 0.97, 不同药用部位指纹图谱有明显差异。网络药理学筛选得到包括 PTGS2、EGFR 等在内的 14 个核心靶点, 对以上靶点进行基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 功能分析可知涉及癌症中的蛋白多糖、新冠肺炎、脂质和动脉粥样硬化等通路, 最后构建“成分-靶点-通路”网络图, 选取 14 个核心靶点与 2 个成分进行分子对接, 结果显示, 成分与蛋白之间具有较好的结合性能。**结论** 所建立的指纹图谱方法准确、可靠, 同时结合网络药理学和分子对接技术预测了夏枯草 4 个部位中 2 个潜在 Q-Marker 的活性, 为综合评价夏枯草的品质和开发研究提供相关理论基础。**关键词:** 夏枯草; 指纹图谱; 咖啡酸; 芦丁; 金丝桃苷; 异槲皮苷; 异迷迭香酸苷; 迷迭香酸; 木犀草素; 主成分分析; TOPSIS 分析; 品质评价

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)05-1864-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.05.023

## Research on quality markers of *Prunella vulgaris* from different origins and parts by HPLC and multi-dimensional discrimination methods

LI Yuanyuan<sup>1</sup>, LI Tianjiao<sup>1,2,3</sup>, WANG Shuai<sup>1,2,3</sup>, BAO Yongrui<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Tiejun<sup>4,5</sup>, XU Haiyu<sup>1</sup>, MENG Xiansheng<sup>1,2,3</sup>

1. School of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China
2. Professional Innovation Technology Center for Multidimensional Analysis of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China
3. Liaoning Province Modern Chinese Medicine Research Engineering Laboratory, Dalian 116600, China
4. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300301, China
5. Tianjin Key Laboratory of Quality Marker of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300462, China

**Abstract: Objective** To initially analyze and determine the levels of potential quality Markers (Q-Markers) in four medicinal parts (spikes, stems, leaves, and roots) of *Prunella vulgaris* based on fingerprinting, network pharmacology, and molecular docking techniques. **Methods** Fingerprint profiles of the spikes, stems, leaves, and roots of *P. vulgaris* were established for eight different origins. The common and non-common peaks in the fingerprints of different parts were identified. To predict Q-Markers of *P.*

收稿日期: 2025-10-03

基金项目: 辽宁省科技厅博士科研启动项目 (2023-BS-138)

作者简介: 李媛媛, 女, 博士研究生, 研究方向为生药药效物质组学及作用机制整合研究。E-mail: 1377589967@qq.com

\*通信作者: 孟宪生, 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为药效物质组学及作用机制整合研究。E-mail: mxsvvv@126.com

*vulgaris*, similarity analysis, principal component analysis (PCA), TOPSIS analysis, and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were employed, utilizing network pharmacology. Additionally, quantitative analysis was conducted to provide a comprehensive quality evaluation. **Results** A total of 17 common peaks were identified in the spikes of eight batches of *P. vulgaris*, 22 in the stems, 21 in the leaves, and 16 in the roots. Peaks 5, 11, 12, 13, 14, 16, and 20 were identified as caffeic acid, rutin, hyperoside, isoquercitrin, salviaflaside, rosmarinic acid, and luteolin, respectively. Caffeic acid and rosmarinic acid were present in all four parts, with similarity values exceeding 0.97 within the same medicinal part, while the fingerprints of different medicinal parts showed significant differences. Network pharmacology screening identified 14 core targets, including PTGS2 and EGFR. Gene ontology (GO) and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis revealed involvement in protein polysaccharides in cancer, COVID-19, lipid metabolism, and atherosclerosis. A “component-target-pathway” network diagram was developed. For molecular docking, 14 core targets and two components were chosen. The results indicated that the components exhibited strong binding properties with the proteins. **Conclusion** The established fingerprinting method is both accurate and reliable. Combined with network pharmacology and molecular docking technology, it predicted the activity of two potential Q-Markers in the four medicinal parts of *P. vulgaris*. This study provides a theoretical foundation for the comprehensive quality evaluation of *P. vulgaris* and the exploration of new medicinal parts.

**Key words:** *Prunella vulgaris* L.; fingerprinting; caffeic acid; rutin; hyperoside; isoquercitrin; salviaflaside; rosmarinic acid; luteolin; principal component analysis; TOPSIS; quality evaluation

夏枯草是唇形科植物夏枯草 *Prunella vulgaris* L.的干燥果穗，味苦辛，性寒，归肝、胆经，具有清肝明目、散结消肿之功效，常用于目赤肿痛、头痛眩晕及瘰疬癭瘤等症<sup>[1]</sup>。作为药食同源的中药，夏枯草广泛用于饮料和凉茶制作，其质量标准随用量增加而不断提高<sup>[2]</sup>。该药主要含酚酸类、黄酮类及三萜类成分<sup>[3-4]</sup>，现代药理研究表明夏枯草及其活性成分具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化、免疫调节、降血糖及抗菌等多种药理活性<sup>[5-6]</sup>，能够有效抑制甲状腺癌、乳腺癌等多种肿瘤细胞的增殖、分化、迁移，并诱导其凋亡<sup>[7]</sup>，临床多用于治疗甲状腺肿大、淋巴结核、乳腺增生、高血压等疾病<sup>[8]</sup>。其中，水溶性强的酚酸类成分是其抗氧化作用的重要物质基础<sup>[9]</sup>。

夏枯草具有穗、茎、叶和根等多个部位，其中茎、叶的生物量远大于果穗。目前仅采收果穗而大量丢弃茎、叶，造成了资源浪费<sup>[10]</sup>。通过比较茎、叶、根与果穗的化学成分差异，有助于挖掘其他部位的利用潜力，促进该药材资源的综合利用。此外，不同产地的生长环境和种植条件可能导致夏枯草化学成分及质量波动，进而影响其疗效与安全性。因此，建立科学有效的质量评价方法，系统评估不同产地及各部位的质量，对保障夏枯草药材质量和临床效果具有重要意义。

刘昌孝院士<sup>[11]</sup>提出的中药质量标志物（quality Markers, Q-Marker）概念，以“溯源与传递、特异性、可测性、有效性及处方配伍”五原则为核心，

将药效与质量管控相结合，为中药质量控制提供了科学依据。中药指纹图谱通过色谱技术宏观展现化学成分及其质量变化，结合化学计量学方法整合数据，精准呈现关键特征成分，客观反映中药的整体性与差异性<sup>[12]</sup>。网络药理学则从整体角度构建药物-靶点-通路网络，预测作用机制，对 Q-Marker 的发现具有重要价值。本研究基于 Q-Marker 理论，整合 HPLC 指纹图谱结合化学模式识别技术及网络药理学方法，深入探究多产地夏枯草不同部位潜在的 Q-Marker，为夏枯草质量把控及药用价值挖掘提供坚实的理论支撑。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

Agilent-1260 型高效液相色谱仪（美国安捷伦科技有限公司）；ME55 型电子分析天平（梅特勒-托利多仪器有限公司）；Milli-Q 型超纯水处理装置（美国 Millipore 公司）。

### 1.2 试剂

夏枯草药材信息见表 1，经辽宁中医药大学张慧教授鉴定为唇形科植物夏枯草 *P. vulgaris* L.；对照品咖啡酸（批号 WP23082413）、（批号 WKQ21020402）、金丝桃苷（批号 WP2306108）、异槲皮苷（批号 WP25032611）、异迷迭香酸苷（批号 WP25030510）、迷迭香酸（批号 WP25010606）、木犀草素（批号 WKQ19031213）均由四川省维克奇生物科技有限公司提供，质量分数均 $\geq 98\%$ ；乙腈（质谱级，德国 Merck 公司）；纯净水（杭州娃哈哈集团有限公司）。

表1 夏枯草样品来源

Table 1 Source of *P. vulgaris* samples

编号	部位	来源									
S1	穗	河南驻马店	J1	茎	河南驻马店	Y1	叶	河南驻马店	G1	根	河南驻马店
S2	穗	河南南阳	J2	茎	河南南阳	Y2	叶	河南南阳	G2	根	河南南阳
S3	穗	江西赣州	J3	茎	江西赣州	Y3	叶	江西赣州	G3	根	江西赣州
S4	穗	四川巴中	J4	茎	四川巴中	Y4	叶	四川巴中	G4	根	四川巴中
S5	穗	福建龙岩	J5	茎	福建龙岩	Y5	叶	福建龙岩	G5	根	福建龙岩
S6	穗	湖北十堰	J6	茎	湖北十堰	Y6	叶	湖北十堰	G6	根	湖北十堰
S7	穗	云南保山	J7	茎	云南保山	Y7	叶	云南保山	G7	根	云南保山
S8	穗	四川广安	J8	茎	四川广安	Y8	叶	四川广安	G8	根	四川广安

## 2 方法与结果

### 2.1 夏枯草 HPLC 指纹图谱的建立及分析

**2.1.1 色谱条件** 采用 Agilent Aq-C<sub>18</sub> 色谱柱 (100 mm×4.6 mm, 2.7 μm); 流动相为 0.1% 甲酸水 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~3 min, 5%~8% B; 3~5 min, 8% B; 5~7 min, 8%~12% B; 7~10 min, 12% B; 10~15 min, 12%~18% B; 15~20 min, 18% B; 20~32 min, 18%~25% B; 32~40 min, 25%~30% B; 40~50 min, 30%~60% B; 50~60 min, 60%~100% B; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 °C; DAD 检测器波长 290 nm; 进样量 5 μL。

**2.1.2 对照品溶液的制备** 精密称取咖啡酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、异迷迭香酸苷、迷迭香酸和木犀草素对照品适量, 置于 5 mL 量瓶中, 分别加甲醇溶解并定容, 精密移取对照品溶液各 1 mL, 加甲醇制成制成质量浓度分别为 0.019 4、0.100 4、0.110 0、0.099 2、0.081 2、0.234 8、0.093 2 mg/mL 的对照品溶液, 混合对照品溶液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 备用。

**2.1.3 供试品溶液制备** 精密称取夏枯草各样品药材粉末约 0.5 g, 置 50 mL 锥形瓶中, 精密加入 50% 乙醇 25 mL, 称定质量, 超声处理 (300 W、40 kHz) 30 min, 取出, 放冷, 精密称质量, 用 50% 乙醇补足减失质量, 摇匀。吸取提取液, 用 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 作为供试品溶液。

**2.1.4 阴性对照溶液制备** 以 50% 乙醇作为阴性对照溶液, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得。

**2.1.5 专属性试验** 分别取供试品溶液 (穗、茎、叶、根)、混合对照品溶液和阴性对照溶液按照 “2.1.1” 项下色谱条件测定, 得到特征峰, 供试品溶液与杂质分离良好, 无干扰。供试品溶液、对照品

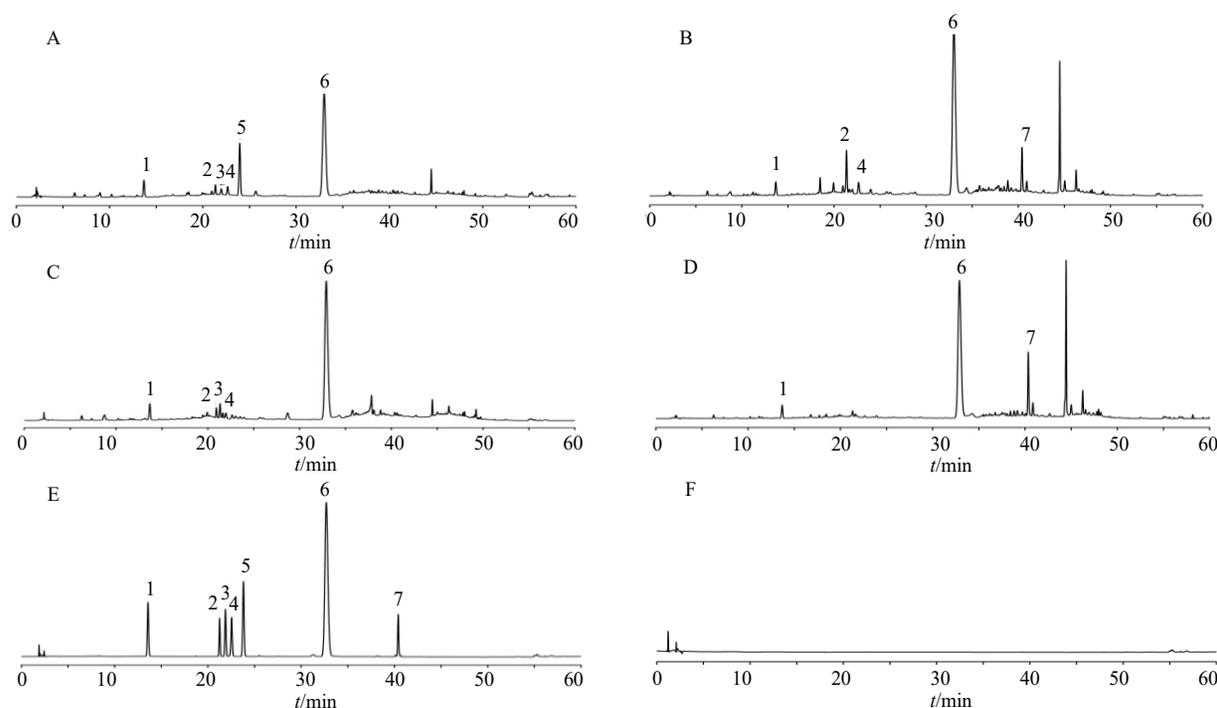
溶液及阴性对照溶液色谱图见图 1。

**2.1.6 精密度试验** 吸取供试液 (S3) 适量, 按 “2.1.1” 项色谱条件, 进样, 采集其 HPLC 图谱。以迷迭香酸为参照峰 (S), 计算其各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果显示各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 1.1%。

**2.1.7 重复性试验** 取夏枯草穗 (S3) 6 份各 0.5 g, 精密称定, 按 “2.1.3” 项下建立的制备方法制备供试液, 按 “2.1.1” 项下确定的色谱条件下, 进样, 采集其 HPLC 图谱。以迷迭香酸为参照峰 (S), 计算其各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果显示各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 0.90%。

**2.1.8 稳定性试验** 吸取供试液 (S3) 适量, 按 “2.1.1” 项下色谱条件, 分别在 0、2、4、8、12、24 h 进样测定, 以迷迭香酸为参照峰 (S), 计算其各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD。结果显示各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 1.3%。

**2.1.9 指纹图谱的建立** 在 “2.1.1” 项色谱条件下, 将 8 批夏枯草穗、茎、叶和根的供试液, 依次进样检测, 记录其色谱图。将其色谱图用 “中药色谱指纹图谱相似度评价系统” 软件 (2012 年 130723 版), 以夏枯草 (S1) 的色谱图为参照图谱, 经多点校正、全谱峰匹配生成 8 批夏枯草穗、茎、叶和根的指纹图谱叠加图谱及对照图谱叠加图谱, 8 批夏枯草穗中标定了共有峰为 17 个, 茎中标定了共有峰为 22 个, 叶中标定了共有峰为 21 个, 根中标定了共有峰 16 个, 见图 2。通过与对照品图谱对比, 确定 5、11、12、13、14、16 和 20 号峰分别为咖啡酸、芦丁、金丝桃苷、异槲皮苷、异迷迭香酸苷、迷迭香酸和木犀草素。



1-咖啡酸; 2-芦丁; 3-金丝桃苷; 4-异槲皮苷; 5-异迷迭香酸苷; 6-迷迭香酸; 7-木犀草素。

1-caffeic acid; 2-rutin; 3-hyperoside; 4-isoquercitrin; 5-salviaflaside; 6-rosmarinic acid; 7-luteolin.

图1 夏枯草穗 (A)、茎 (B)、叶 (C)、根 (D)、混合对照 (E) 及阴性对照 (F) 的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of spikes (A), stems (B), leaves (C), roots (D) of *P. vulgaris* and mixed reference (E) and negative control (F)

**2.1.10 相似度评价** 分别对夏枯草穗、茎、叶和根样品的指纹图谱与对照指纹图谱进行相似度评价 (表 2), 结果显示, 8 批夏枯草穗、茎、叶和根的 HPLC 指纹图谱相似度系数与同部位对照图谱相比, 相似度均在 0.85 之上, 说明各产地夏枯草质量相对稳定。

## 2.2 化学模式识别分析

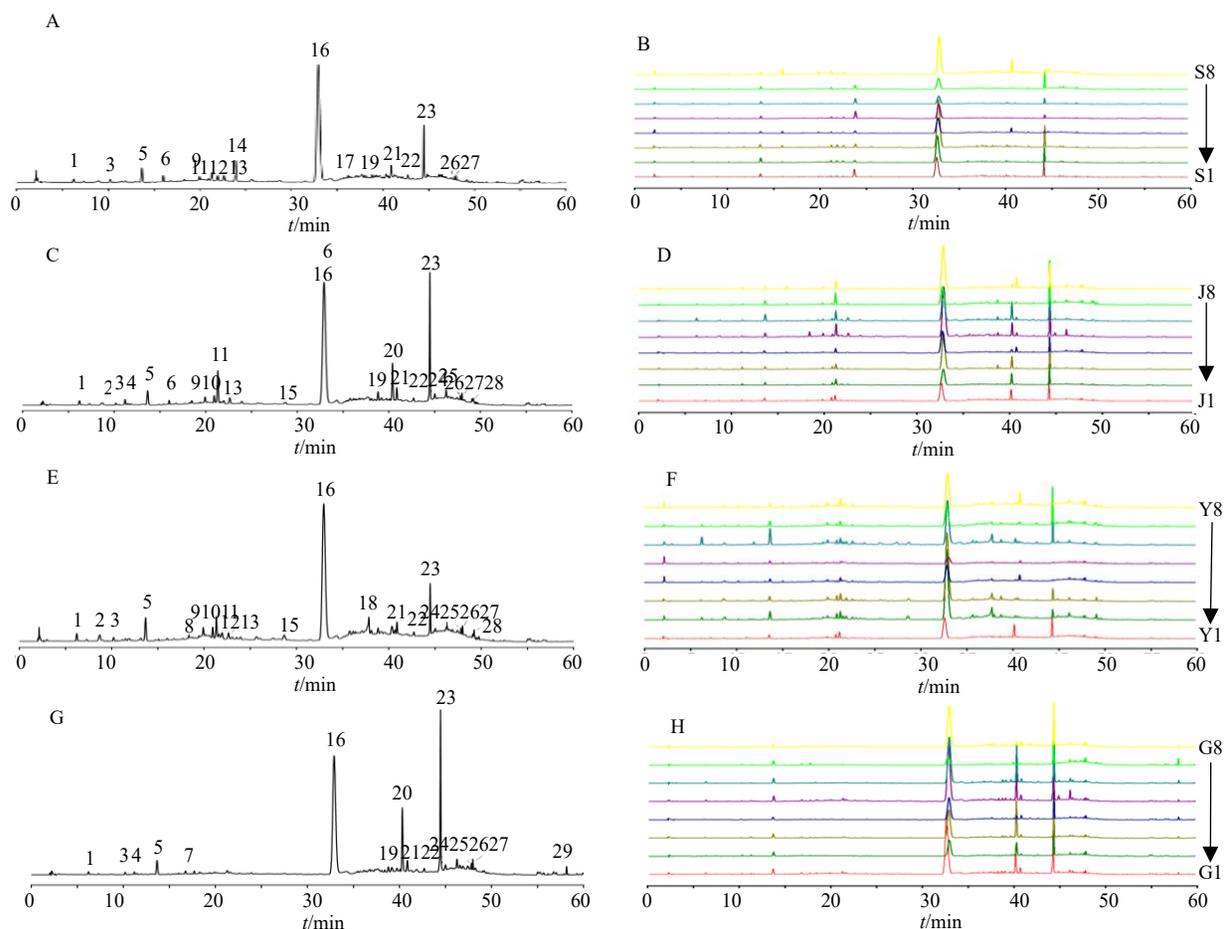
**2.2.1 PCA** 采用 SIMCA 14.1 软件对 8 批夏枯草不同部位共有峰的单位峰面积 (缺失色谱峰峰面积以 0 计) 采用非监督模式识别方法建立 PCA 模型。提取 5 个主成分, 结果见表 3, 得到模型累积解释率,  $R^2_X$  为 0.803, 累积预测率  $Q^2$  为 0.49, 说明模型的拟合度及预测能力较良好<sup>[13]</sup>。以前 2 个主成分得分值为 X、Y 轴, 生成 PCA 得分图 (图 3)。夏枯草的穗、茎、叶和根分别单独聚为一类, 不同批次样品分布相对较分散, 表明不同产地、批次间存在一定差异。

**2.2.2 OPLS-DA** 采用 SIMCA 14.1 软件对 8 批夏枯草不同部位共有峰的单位峰面积 (缺失色谱峰峰面积以 0 计) 进行 OPLS-DA 处理, 结果如图 4 所示。模型参数显示, 数据矩阵的模型解释率  $R^2_X=$

0.962,  $R^2_Y=0.893$ , 模型预测参数  $Q^2=0.784$ , 均大于 0.50,  $R^2_Y$  与  $Q^2$  值差距小且接近 1, 表明模型性能良好。经 200 次置换验证 (图 5),  $R^2$  和  $Q^2$  的回归线斜率均大于 0, 回归线截距为 0.390 和 -0.828, 右侧点高于左侧, 且  $Q^2$  点的回归线与纵轴相交于原点以下, 说明模型未过拟合, 模型可靠<sup>[14]</sup>。

8 批夏枯草不同部位的样品明显聚为 4 类, 表明不同部位间差异显著。进一步根据模型中各化学成分的变量重要性投影 (VIP) 值 > 1 筛选差异性化合物, 结果见图 6。确定迷迭香酸 (峰 16)、芦丁 (峰 11)、木犀草素 (峰 20)、异迷迭香酸苷 (峰 14) 及峰 23 和峰 18 为夏枯草不同部位的主要差异成分。

**2.2.3 熵权 TOPSIS 法分析** 采用熵权 TOPSIS 法对 8 批夏枯草不同部位 HPLC 指纹图谱的共有峰峰面积 (缺失色谱峰峰面积以 0 计) 进行分析<sup>[15]</sup>。通过构建初始和标准化决策矩阵, 计算得到 29 个指标的熵值 ( $E_j$ ) 与权重 ( $w_j$ ), 并确定最优方案 ( $Z_{j+}$ ) 及最劣方案 ( $Z_{j-}$  均为 0)。进一步计算各样品与最优、最劣方案的距离 ( $D^+$ 、 $D^-$ ) 及贴近度 ( $C_i$ )。  $C_i$  值越大, 表明样品质量越优。由表 4 结果显示, 夏枯草叶、穗、根、茎的  $C_i$  均值分别为 0.273、0.241、0.222 和 0.203, 质量优劣



A-夏枯草穗对照图谱; B-夏枯草穗叠加图; C-夏枯草茎对照图谱; D-夏枯草茎叠加图; E-夏枯草叶对照图谱; F-夏枯草叶叠加图; G-夏枯草根对照图谱; H-夏枯草根叠加图。

A- reference chromatogram of *P. vulgaris* spikes; B- overlaid chromatograms of *P. vulgaris* spikes; C- reference chromatogram of *P. vulgaris* stems; D- overlaid chromatograms of *P. vulgaris* stems; E- reference chromatogram of *P. vulgaris* leaves; F- overlaid chromatograms of *P. vulgaris* leaves; G- reference chromatogram of *P. vulgaris* roots; H- overlaid chromatograms of *P. vulgaris* roots.

图 2 8 批夏枯草指纹图谱共有模式

Fig. 2 Fingerprint common mode of eight batches of *P. vulgaris*

表 2 8 批夏枯草及其不同部位的 HPLC 指纹图谱相似度结果

Table 2 HPLC fingerprints similarity results of eight batches of *P. vulgaris* and its different parts

编号	与同部位对照图谱相比				穗与茎	穗与叶	穗与根	茎与叶	叶与根	根与茎
	穗	茎	叶	根						
1	0.990	0.937	0.968	0.997	0.985	0.971	0.988	0.999	0.985	0.997
2	0.998	0.915	0.997	0.991	0.969	0.996	0.949	0.973	0.944	0.999
3	0.998	0.952	0.997	0.973	0.995	0.997	0.958	0.975	0.952	0.989
4	0.994	0.956	0.992	0.991	0.996	0.989	0.985	0.969	0.981	0.985
5	0.988	0.957	0.981	0.999	0.994	0.977	0.983	0.961	0.978	0.990
6	0.972	0.891	0.993	0.995	0.947	0.992	0.955	0.983	0.949	0.994
7	0.973	0.850	0.955	0.903	0.906	0.959	0.811	0.989	0.803	0.982
8	0.991	0.959	0.991	0.987	0.998	0.988	0.990	0.968	0.987	0.979

顺序为叶>穗>根>茎。不同产地样品质量存在明显差异,其中穗以S1、S3、S2较优,茎以J5、J8、J6较优,叶以Y2、Y6、Y8较优,根以G7、G5、G1较优,该结果可为优良药材资源的筛选与开发提供参考。

### 2.3 基于网络药理学对夏枯草不同部位潜在 Q-Marker 预测分析

2.3.1 候选活性成分靶点筛选 基于夏枯草不同部位指纹图谱的可测性与可溯性,本研究选取穗、

表 3 不同部位夏枯草样品 PCA 特征值及方差贡献率

Table 3 PCA eigenvalues and variance contribution rates of *P. vulgaris* samples from different parts

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	8.281	28.554	28.554
2	6.287	21.680	50.235
3	3.799	13.100	63.335
4	2.565	8.845	72.179
5	2.356	8.124	80.303

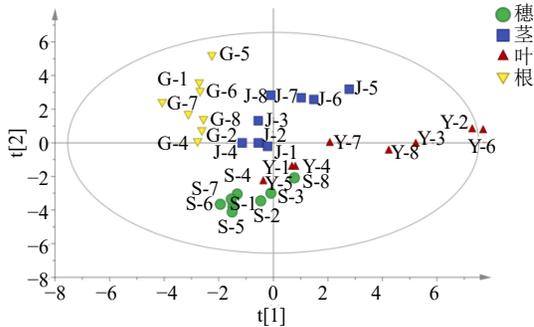


图 3 不同部位夏枯草样品 PCA 得分图

Fig. 3 PCA score plot of *P. vulgaris* samples from different parts

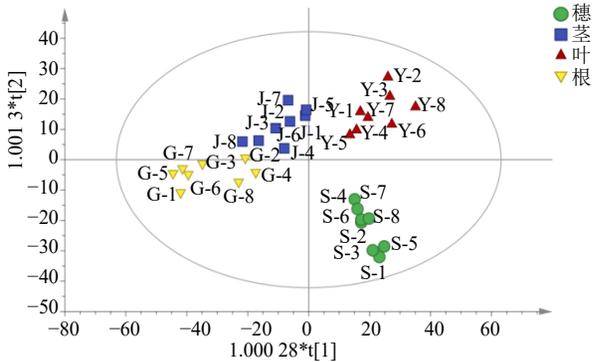


图 4 不同部位夏枯草样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 4 OPLS-DA score plot of *P. vulgaris* samples from different parts

表 4 8 批夏枯草穗、茎、叶和根的 TOPSIS 分析结果

Table 4 TOPSIS analysis results of eight batches of spikes, stems, leaves and roots of *P. vulgaris*

编号	D <sup>+</sup>	D <sup>-</sup>	C <sub>i</sub>	排名	编号	D <sup>+</sup>	D <sup>-</sup>	C <sub>i</sub>	排名	编号	D <sup>+</sup>	D <sup>-</sup>	C <sub>i</sub>	排名
S1	0.192	0.078	0.289	1	J1	0.200	0.041	0.171	6	Y1	0.198	0.040	0.167	7
S2	0.195	0.073	0.273	3	J2	0.200	0.040	0.167	7	Y2	0.164	0.125	0.432	1
S3	0.191	0.073	0.276	2	J3	0.197	0.054	0.215	5	Y3	0.175	0.093	0.348	4
S4	0.202	0.032	0.135	8	J4	0.204	0.028	0.122	8	Y4	0.194	0.041	0.176	6
S5	0.195	0.070	0.263	4	J5	0.192	0.065	0.253	1	Y5	0.202	0.026	0.114	8
S6	0.199	0.052	0.206	7	J6	0.192	0.058	0.232	3	Y6	0.163	0.111	0.405	2
S7	0.195	0.057	0.225	6	J7	0.197	0.058	0.228	4	Y7	0.194	0.046	0.191	5
S8	0.197	0.069	0.260	5	J8	0.195	0.059	0.232	2	Y8	0.178	0.096	0.350	3
										G1	0.188	0.061	0.244	3
										G2	0.200	0.037	0.155	6
										G3	0.194	0.057	0.228	5
										G4	0.199	0.036	0.152	7
										G5	0.188	0.065	0.257	2
										G6	0.193	0.062	0.243	4
										G7	0.186	0.100	0.350	1
										G8	0.200	0.034	0.146	8

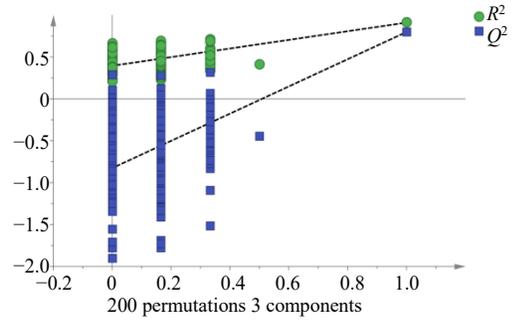


图 5 OPLS-DA 模型置换验证图

Fig. 5 Permutation validation plot of OPLS-DA model

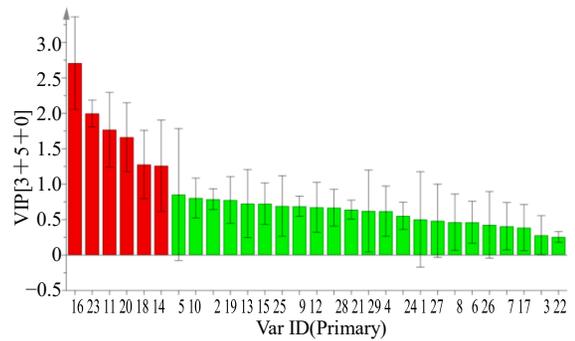


图 6 夏枯草不同部位样品 OPLS-DA VIP 值图

Fig. 6 OPLS-DA VIP plot of *P. vulgaris* samples from different parts

茎、叶、根中的 2 个共有成分，开展网络药理学分析。利用 TCMSP 和 Swiss Target Prediction 数据库筛选目标化合物靶点，经去重后获得 101 个相关靶点蛋白。借助 Cytoscape 3.10.3 软件构建“成分-靶点”网络（图 7），以初步探索夏枯草药效物质基础。

**2.3.2 PPI 网络分析** 将 101 个靶点导入 STRING 12.0 数据库构建 PPI 网络并进行可视化分析（图 8）。图中靶点颜色越深、尺寸越大，表示其拓扑参数越高。从中筛选出度中心性、中介中心性和接近中心

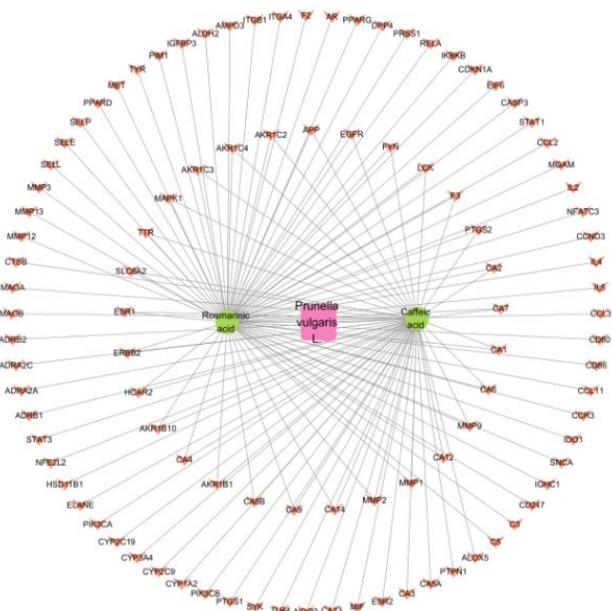


图7 “成分-靶点”网络图

Fig. 7 “Component-target” network diagram

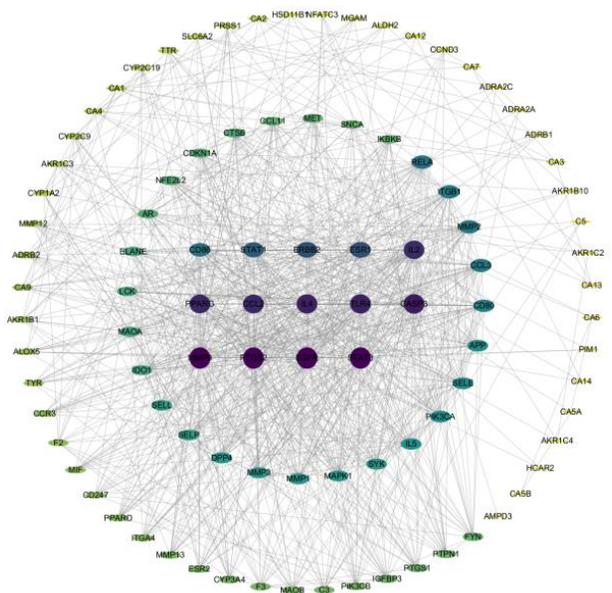


图8 蛋白-蛋白互作网络可视化图

Fig. 8 Visualization of protein-protein interaction network

性均高于中位数且度值大于 18 的靶点作为核心靶点，最终确定 14 个核心靶点（表 5）。

**2.3.3 GO 和 KEGG 功能富集分析** 对 14 个核心靶点进行 GO 和 KEGG 富集分析，得到 GO 分析柱状图（图 9）和 KEGG 分析气泡图（图 10）。GO 分析共获得 170 个条目，涵盖 111 个生物过程、47 个分子功能和 12 个细胞组分。选取各类别前 10 项条目绘制柱状图，结果显示，生物过程主要富集于基因表

达正调控、RNA 聚合酶II对转录的正调控及信号传导；分子功能主要富集于核受体活性、酶结合和信号受体结合；细胞组分主要富集于受体复合物、含蛋白质复合物和细胞质核周区。KEGG 富集分析共获得 44 条通路，选取前 20 条主要通路进行展示，主要包括癌症通路、癌症中的蛋白聚糖、IL-17 信号通路、脂质与动脉粥样硬化等。结果表明，这 14 个靶点可能通过调控上述通路参与相关疾病的干预。

表 5 14 个核心靶点的节点度值  
Table 5 Node degree of 14 core targets

序号	靶点	度值
1	PTGS2	54
2	EGFR	54
3	MMP9	54
4	STAT3	54
5	CASP3	49
6	IL4	48
7	TLR4	48
8	PPARG	47
9	CCL2	47
10	IL2	46
11	ESR1	39
12	ERBB2	39
13	MAOA	23
14	AR	21

2.3.4 “成分-靶点-通路”网络构建 使用 Cytoscape 3.10.3 构建“成分-靶点-通路”网络 (图 11), 涵盖 2 个成分、14 个核心靶点及前 20 条 KEGG 通路。网络连接度分析显示, 咖啡酸 (degree=6) 和迷迭香酸 (degree=11) 可能为夏枯草的主要活性成分; 关键靶点包括 EGFR (degree=16)、STAT3 (degree=15)、ERBB2 (degree=12) 和 MMP9 (degree=12); 主要通路涉及癌症信号 (degree=

11)、癌症蛋白聚糖 (degree=7)、癌症微小 RNA (degree=6) 及脂质与动脉粥样硬化 (degree=6)。结果表明, 夏枯草通过多靶点、多通路协同发挥治疗作用。

2.3.5 分子对接 对筛选出的 2 个活性成分与 14 个核心靶点进行分子对接, 结合能结果见表 6。结合能最优的对接构象如图 12 所示, 其中咖啡酸与 MMP9 (PDB: 6ESM) 结合能为-7.9 kcal/mol, 通过 ALA-189、GLN-227 等残基形成 5 个氢键; 迷迭香酸与 MMP9(PDB: 6ESM) 结合能为-9.4 kcal/mol, 与 HIS-236、HIS-230 等形成 7 个氢键, 二者均表现出较强的结合稳定性。

2.4 夏枯草不同部位潜在的 Q-Marker 含量测定

指纹图谱与模式识别分析表明, 5 号峰 (咖啡酸) 和 16 号峰 (迷迭香酸) 为夏枯草不同部位的共有峰, 具有良好的代表性及差异性, 符合 Q-Marker 的可测性与溯源性原则。网络药理学结果显示, 二者与癌症、心血管疾病及炎症等治疗相关, 与夏枯草药效一致, 体现了有效性。因此, 咖啡酸和迷迭香酸可作为夏枯草潜在的 Q-Marker, 并已进行含量测定。

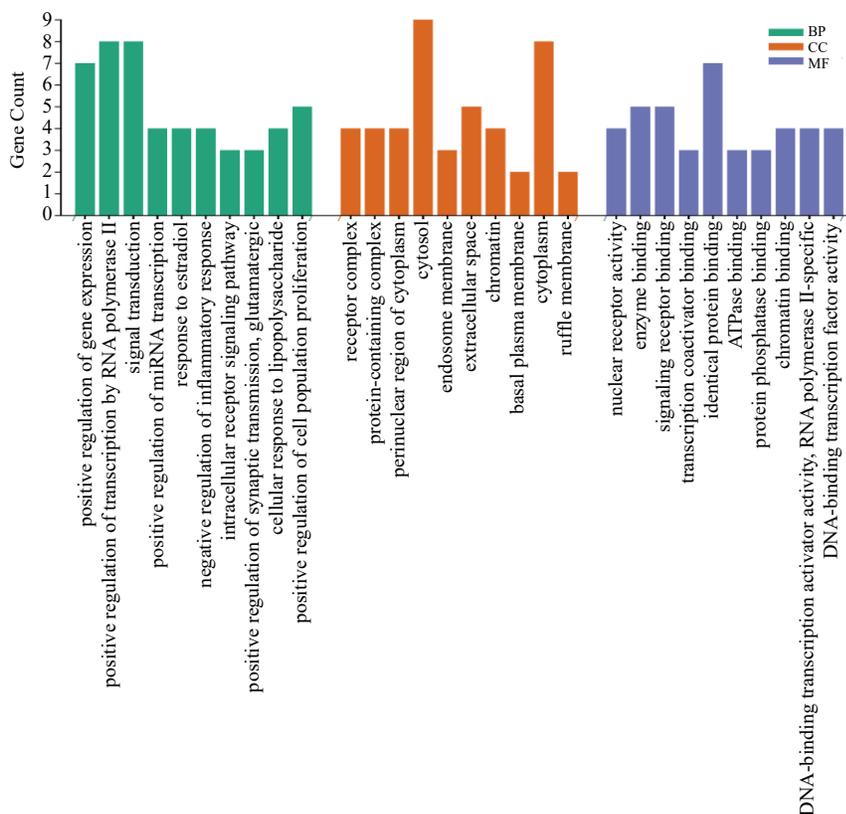


图 9 GO 富集分析结果

Fig. 9 Results of GO enrichment analysis

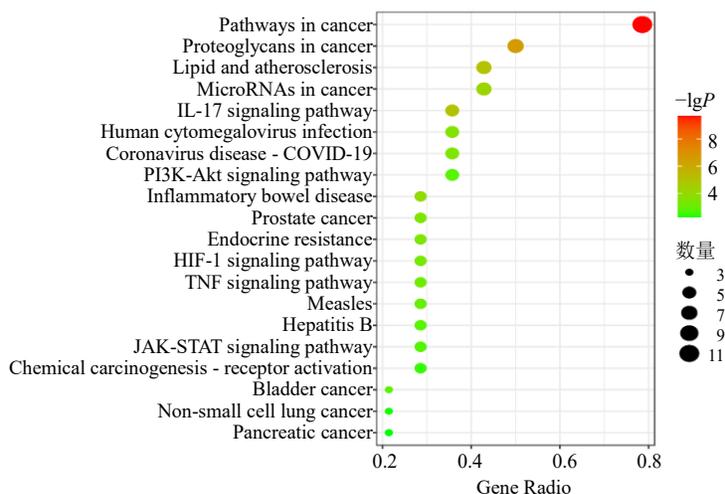


图 10 KEGG 通路富集分析结果

Fig. 10 Diagram of enrichment analysis results of KEGG pathway

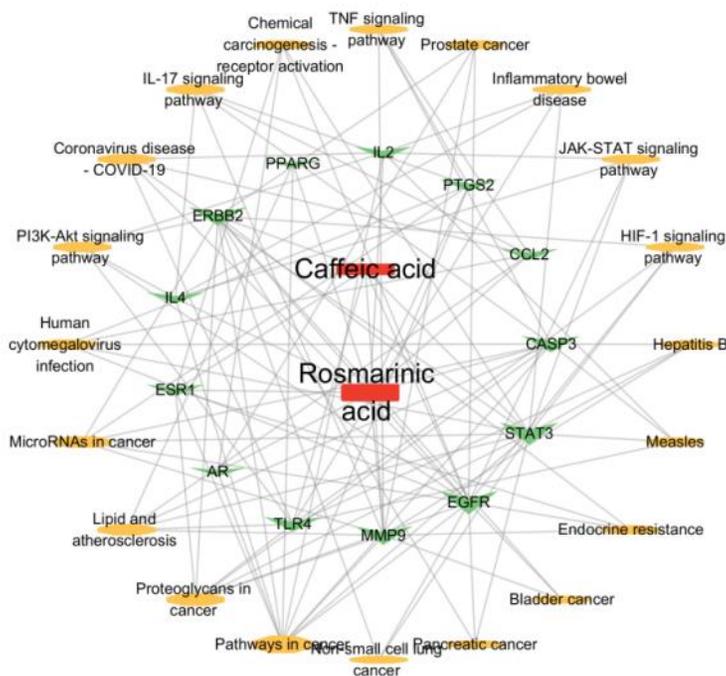


图 11 “活性成分-靶点-通路”网络图

Fig. 11 “Active ingredient-target-pathway” network diagram

2.4.1 色谱条件 同“2.1.1”项下色谱条件。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密称取咖啡酸、迷迭香酸对照品适量，置于 5 mL 量瓶中，分别加甲醇溶解并定容，精密移取对照品溶液各 1 mL，加甲醇制成质量浓度分别为 0.019 4、0.093 2 mg/mL 的混合对照品溶液，过 0.22 μm 微孔滤膜，备用。

2.4.3 供试品溶液的制备 按“2.1.3”项下供试品溶液的制备方法进行制备。

2.4.4 线性关系考察 取混合对照品溶液，精密稀释为 6 个质量浓度，按“2.1.1”项色谱条件测定峰面积。以质量浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y) 进行线性回归，得 2 种成分的回归方程及线性范围 (表 7)。

表 6 成分与关键靶点的分子对接结果

Table 6 Molecular docking results of components with key targets

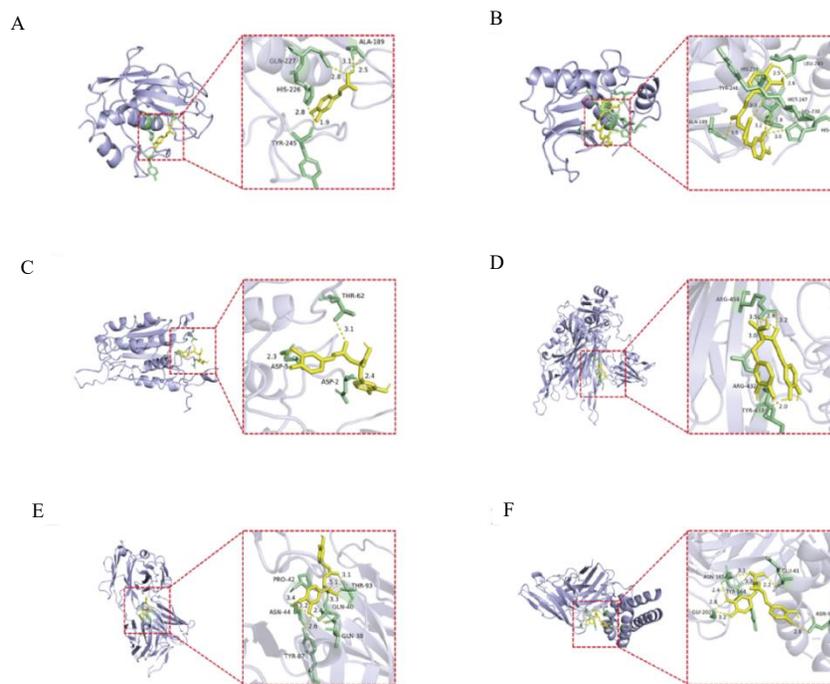
蛋白质	结合能/(kcal·mol <sup>-1</sup> )	
	咖啡酸	迷迭香酸
PTGS2 (PDB: 5F19)	-7.1	-7.2
EGFR (PDB: 3G5Y)	-5.9	-7.4
MMP9 (PDB: 6ESM)	-7.9	-9.4
STAT3 (PDB: 6NJS)	-6.1	-7.2
CASP3 (PDB: 5IBP)	-5.5	-7.5
IL4 (PDB: 4YDY)	-6.2	-7.0
TLR4 (PDB: 2Z62)	-6.1	-6.5
PPARG (PDB: 9F7W)	-6.4	-7.2
CCL2 (PDB: 7SO0)	-5.3	-6.7
IL2 (PDB: 8SOZ)	-5.8	-7.3
ESR1 (PDB: 7UJO)	-6.6	-6.9
ERBB2 (PDB: 1MFG)	-5.3	-6.2
MAOA (PDB: 6EZZ)	-6.4	-7.6
AR (PDB: 8E1A)	-7.2	-7.0

2.4.5 精密度试验 取“2.4.2”项下混合对照品溶液，按“2.1.1”项色谱条件连续进样6次，测得咖啡酸和迷迭香酸峰面积的RSD分别为0.74%、0.35%。

2.4.6 重复性试验 取夏枯草S3批次样品，平行制备6份供试品溶液，按“2.1.1”项色谱条件测定，咖啡酸和迷迭香酸质量分数的RSD分别为0.57%、0.52%。

2.4.7 稳定性试验 夏枯草S3批次供试品溶液于0、2、4、8、12、24h按“2.1.1”项色谱条件测定，咖啡酸与迷迭香酸峰面积的RSD分别为1.2%、1.0%。

2.4.8 加样回收率试验 精密称取已测定的样品0.25g，共6份，分别添加0.1mL质量浓度为0.581mg/mL的咖啡酸对照品溶液、1.1mL质量浓度为1.174mg/mL的迷迭香酸对照品溶液，依照“2.1.3”项方法制备供试品溶液，按“2.1.1”项下色谱条件测定。咖啡酸、迷迭香酸平均加样回收率分别为99.17%、99.21%，RSD分别为1.7%、1.3%。



A-迷迭香酸与MMP9的3D结合构象；B-咖啡酸与MMP9的3D结合构象；C-迷迭香酸与MAOA的3D结合构象；D-迷迭香酸与CASP3的3D结合构象；E-迷迭香酸与EGFR的3D结合构象；F-迷迭香酸与IL2的3D结合构象。

A- 3D binding conformation of rosmarinic acid and MMP9; B-3D binding conformation of caffeic acid and MMP9; C-3D binding conformation of rosmarinic acid and MAOA; D is the 3D binding conformation of rosmarinic acid and CASP3; E-3D binding conformation of rosmarinic acid and EGFR; F-3D binding conformation of rosmarinic acid and IL2.

图 12 夏枯草活性成分与关键靶点的对接结果

Fig. 12 Docking results of active ingredients in *P. vulgaris* key targets

表 7 回归方程与线性范围

Table 7 Regression equations and linear ranges

成分	线性回归方程	R <sup>2</sup>	线性范围/μg
咖啡酸	Y=32.634 X+1.498 7	0.999 9	0.61~19.40
迷迭香酸	Y=18.148 X+7.287 5	0.999 9	7.33~234.80

2.4.9 指标性成分含量测定 8 批夏枯草不同部位中咖啡酸和迷迭香酸的含量测定结果见表 8。各部位中咖啡酸质量分数为 0.01%~0.08%，迷迭香酸为 0.13%~1.41%。除 Y5 和 G7 批次外，其余样品迷迭香酸含量均符合《中国药典》2025 年版不低于 0.20% 的要求，且茎、叶、根中的平均含量高于果穗。含量分布分析表明（图 13），咖啡酸为叶>根>茎>穗，迷迭香酸为根>叶>茎>穗，

差异均不显著。因此，夏枯草茎、叶、根可作为迷迭香酸的潜在开发部位。

2.4.10 TOPSIS 分析 由于评价指标独立性强，故采用变异系数（RSD）法来计算夏枯草质量评价指标的权重，结果见表 9。根据咖啡酸、迷迭香酸权重结果，以标准化的数据采用 DPS 软件进行 TOPSIS 分析<sup>[17]</sup>，夏枯草穗（S1~S8）、茎（J1~J8）、叶（Y1~Y8）、根（G1~G8）的结果见表 10。

表 8 夏枯草穗、茎、叶和根中 2 种酚酸类成分的含量测定结果

Table 8 Determination results of content of two phenolic acid components in spikes, stems, leaves, and roots of *P. vulgaris*

编号	咖啡酸/%	迷迭香酸/%									
S1	0.020 0	0.511 0	J1	0.017 0	0.414 6	Y1	0.017 0	0.415 0	G1	0.026 5	1.232 4
S2	0.031 9	0.692 7	J2	0.018 9	0.382 4	Y2	0.041 1	1.419 4	G2	0.019 5	0.332 7
S3	0.019 6	1.267 4	J3	0.013 1	0.870 3	Y3	0.023 9	1.409 2	G3	0.019 0	0.581 2
S4	0.010 1	0.394 8	J4	0.012 2	0.525 1	Y4	0.016 9	0.350 2	G4	0.012 1	0.464 3
S5	0.015 8	0.373 4	J5	0.022 6	1.203 2	Y5	0.012 7	0.129 0	G5	0.029 5	1.191 8
S6	0.014 2	0.207 1	J6	0.037 1	0.744 9	Y6	0.079 8	0.908 1	G6	0.024 1	0.963 7
S7	0.015 9	0.285 8	J7	0.023 8	0.431 6	Y7	0.026 6	0.439 9	G7	0.021 7	0.175 1
S8	0.016 1	1.023 6	J8	0.012 7	1.029 0	Y8	0.019 7	0.678 3	G8	0.012 7	0.861 8
平均值	0.017 9	0.594 5	平均值	0.019 7	0.700 1	平均值	0.029 7	0.718 6	平均值	0.020 6	0.725 4

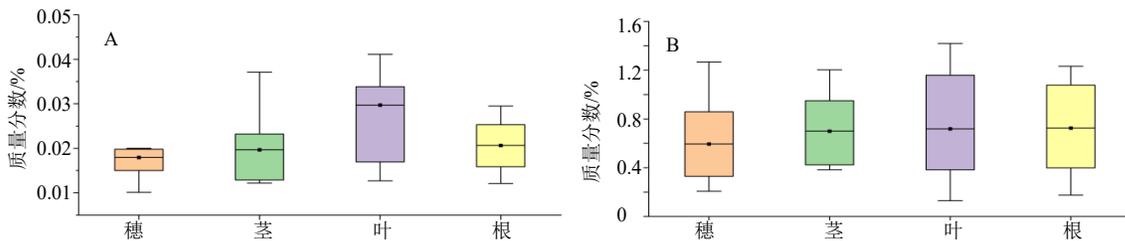


图 13 夏枯草穗、茎、叶及根中的咖啡酸 (A) 和迷迭香酸 (B) 含量

Fig. 13 Quantitative analysis of caffeic acid (A) and rosmarinic acid (B) content in spikes, stems, leaves, and roots of *P. vulgaris*

表 9 咖啡酸、迷迭香酸成分的含量 RSD 与权重结果

Table 9 RSD and weight results of caffeic acid and rosmarinic acid

成分	穗		茎		叶		根	
	RSD	权重	RSD	权重	RSD	权重	RSD	权重
咖啡酸	0.357 7	0.361 5	0.422 4	0.487 4	0.741 1	0.522 4	0.298 5	0.353 7
迷迭香酸	0.631 9	0.638 5	0.444 3	0.512 6	0.677 4	0.477 6	0.545 5	0.646 3

表 10 夏枯草不同部位 TOPSIS 分析结果

Table 10 TOPSIS analysis results of different parts of *P. vulgaris*

编号	$C_i$	排名									
S1	0.336 7	4	J1	0.144 3	7	Y1	0.127 0	6	G1	0.917 3	2
S2	0.586 0	3	J2	0.191 6	6	Y2	0.568 4	2	G2	0.239 7	6
S3	0.748 8	1	J3	0.335 2	4	Y3	0.437 3	3	G3	0.387 3	5
S4	0.146 9	7	J4	0.109 3	8	Y4	0.104 3	7	G4	0.227 4	8
S5	0.190 0	5	J5	0.623 3	2	Y5	0.000 0	8	G5	0.966 9	1
S6	0.093 9	8	J6	0.688 3	1	Y6	0.810 7	1	G6	0.731 1	3
S7	0.148 6	6	J7	0.324 6	5	Y7	0.217 2	5	G7	0.236 4	7
S8	0.611 0	2	J8	0.407 0	3	Y8	0.229 6	4	G8	0.495 9	4

结果表明,以咖啡酸、迷迭香酸为评价指标,根据最优值相对接近度( $C_i$ )排名,S3 夏枯草穗样品质量最优、J6 夏枯草茎样品质量最优、Y6 夏枯草叶样品质量最优、G5 夏枯草根样品质量最优。

### 3 讨论

#### 3.1 提取和分析条件优化

实验分别考察了不同提取溶剂(50%、70%、90%、甲醇,50%、70%、90%、无水乙醇),提取方法(超声提取法、加热回流提取法)。色谱条件考察了不同流动相(甲醇-0.1%甲酸水、乙腈-0.1%甲酸水、甲醇-0.1%甲酸水、乙腈-0.1%乙酸水、乙腈-0.2%甲酸水),柱温(25、30、35 °C),进样量(5、10  $\mu$ L),波长(210、220、256、290、300、330 nm),体积流量(0.6、0.8、1.0 mL/min),发现样品经 50%乙醇超声 30 min,在流动相为乙腈-0.1%甲酸、柱温 30 °C、进样量 5  $\mu$ L、检测波长 290 nm 的条件下,指纹图谱色谱峰分离度、峰型、塔板数均较优,整体效果最佳,可满足指纹图谱的建立要求。

#### 3.2 不同部位相似度及化学识别模式分析

采用 HPLC 指纹图谱结合相似度评价、PCA 和 OPLS-DA 等方法对不同产地夏枯草各部位进行了综合分析。指纹图谱相似度均在 0.85 以上,表明不同产地样品质量较为稳定。PCA 结果显示,穗、茎、叶和根可明显区分为 4 类,且不同批次样品分布较分散,说明产地和批次间存在一定差异。OPLS-DA 进一步明确了部位间差异,并筛选出迷迭香酸、芦丁、异迷迭香酸苷和木犀草素等主要差异成分。熵权 TOPSIS 分析显示各部位质量优劣顺序为叶>穗>根>茎,为夏枯草质量评价和药用部位选择提供了科学依据。

#### 3.3 夏枯草不同药用部位 Q-Marker 预测分析

基于 Q-Marker “五原则”,本研究采用指纹图

谱结合化学模式识别、网络药理学方法对夏枯草 Q-Marker 进行辨识。咖啡酸和迷迭香酸作为夏枯草不同部位共有成分,能反映药材整体特征,在抗肿瘤、免疫抑制等方面均表现出显著作用,对甲状腺、乳腺等癌症具有良好的治疗效果<sup>[18]</sup>,这与 KEGG 筛选出的前 20 条通路有 7 条与之相关,包括癌症中的蛋白聚糖、癌症中的信号通路、前列腺癌、癌症中的微小 RNA、非小细胞肺癌、化学致癌-受体激活、膀胱癌这 7 条信号通路,表明夏枯草具有良好的抗癌效应,具体作用机制有待进一步研究。网络药理学研究表明夏枯草活性成分可作用于 PTGS2、EGFR、MMP9 等多个靶点及 IL-17 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、HIF-1 等多条信号通路。PTGS2 主要产物前列腺素具有抑制细胞凋亡、促进细胞增殖、抑制免疫监视、促进血管生成等生物活性<sup>[19]</sup>;MMP9 是一种转移诱导剂,在癌症的发生进展中发挥着重要的作用<sup>[20]</sup>;EGFR 在调节细胞增殖、存活和分化过程中有着重要作用<sup>[21]</sup>,以上均表明夏枯草通过多靶点、多途径作用于多种疾病分子机制,为进一步阐明夏枯草治疗肿瘤、免疫抑制等作用机制提供新思路,也证实了本研究选择咖啡酸、迷迭香酸为夏枯草 Q-Marker 的科学性及合理性。

#### 3.4 夏枯草不同药用部位化学成分差异性分析

夏枯草的质量易受产地和环境等因素影响,导致各部位活性成分及药理作用存在差异。HPLC 分析表明,不同部位咖啡酸和迷迭香酸含量差异显著:咖啡酸为叶>根>茎>穗,迷迭香酸为根>叶>茎>穗,且茎、叶、根中的迷迭香酸平均含量均高于穗,说明茎、叶也具有开发为药用部位的潜力。TOPSIS 分析进一步筛选出各部位优质样品,为资源利用提供了依据。未来需更全面研究不同部位的化学成分差异及其药效影响。

夏枯草作为传统中药, 具有悠久的历史。传统上仅以干燥果穗入药, 大量茎叶被丢弃, 造成资源浪费。为提高资源利用效率和产业可持续性, 挖掘其其他部位的药用价值具有重要意义。然而, 尽管根部含有迷迭香酸等潜在活性成分, 从资源合理利用与生态保护角度出发, 根部采挖成本高、易损伤植株再生能力; 成分受环境因素影响大, 质量不稳定; 过度采挖会破坏生态平衡和生物多样性; 且可能冲击已有的果穗利用模式, 反而导致资源浪费。因此, 并不适宜将其根部开发为药用部位。综上所述, 本研究通过整合指纹图谱、模式识别和网络药理学方法, 筛选出咖啡酸与迷迭香酸作为夏枯草不同部位潜在的 Q-Marker, 为多产地夏枯草的质量评价提供依据。后续可进一步研究其化学成分与药效关系, 以及产地和环境对质量的影响机制, 从而支持规范化种植与综合利用。

**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. 2025: 300.
- [2] 皮胜玲, 郭小兰, 刘密, 等. 野生与栽培夏枯草不同生长期 3 种酚酸成分含量动态研究 [J]. 中南药学, 2021, 19(1): 100-104.
- [3] 王巧琼, 杨冬梅, 陈临江, 等. 中药夏枯草化学成分及药理作用研究概述 [J]. 广东化工, 2021, 48(24): 6-7.
- [4] Mir R H, Bhat M F, Sawhney G, et al. *Prunella vulgaris* L: Critical pharmacological, expository traditional uses and extensive phytochemistry: A review [J]. *Curr Drug Discov Technol*, 2022, 19(1): e140122191102.
- [5] 王颖, 王一硕, 杜紫薇, 等. 夏枯草不同部位化学成分、药理作用研究进展及质量标志物的预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2024, 42(6): 199-210.
- [6] Aloglu A K, de B Harrington P, Sahin S, et al. Prediction of total antioxidant activity of *Prunella* L. species by automatic partial least square regression applied to 2-way liquid chromatographic UV spectral images [J]. *Talanta*, 2016, 161: 503-510.
- [7] 李梦琦, 石玉, 杨诗宇, 等. 夏枯草抗肿瘤活性成分及其作用机制研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2024, 41(5): 716-726.
- [8] 汤蕊, 高庆军, 杨慧芳, 等. 夏枯草口服液 HPLC 指纹图谱的建立及 5 种成分的含量测定 [J]. 贵州医科大学学报, 2022, 47(6): 646-653.
- [9] Feng L, Jia X B, Zhu M M, et al. Antioxidant activities of total phenols of *Prunella vulgaris* L. In vitro and in tumor-bearing mice [J]. *Molecules*, 2010, 15(12): 9145-9156.
- [10] 陈明龙, 覃桂, 张兴明, 等. 基于文献计量学的夏枯草植物学特性、种植管理及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2025, 56(16): 6017-6029.
- [11] 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.
- [12] 李天娇, 王帅, 杨欣欣, 等. 益血生胶囊多波长等基线融差指纹图谱的建立及质量控制方法研究 [J]. 时珍国医国药, 2025, 36(3): 474-477.
- [13] 罗佳星, 文检, 何昊奇, 等. 基于 HPLC 指纹图谱和化学计量学的翼首草不同药用部位差异性标志物研究 [J]. 中药材, 2025, 48(1): 129-133.
- [14] 王梦蝶, 卓越, 邹丽娜, 等. 基于 HPLC 指纹图谱及多成分定量的金钱草质量评价 [J]. 中草药, 2025, 56(3): 998-1007.
- [15] 缪翼翔, 常源, 董珂旭, 等. UPLC 指纹图谱结合化学计量学和加权 TOPSIS 法评价木通与川木通的差异 [J]. 中成药, 2025, 47(4): 1188-1194.
- [16] 曾昭君, 余欣彤, 邓成程, 等. 基于化学模式识别和熵权 TOPSIS 法分析木棉花不同部位的差异 [J]. 天然产物研究与开发, 2022, 34(9): 1557-1564.
- [17] 钟海蓉, 张绍山, 肖芳, 等. 基于 UPLC 法测定指标成分结合指纹图谱评价不同产地川赤芍不同部位的质量 [J]. 中草药, 2021, 52(7): 2062-2071.
- [18] 张金华, 邱俊娜, 王路, 等. 夏枯草化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(14): 3432-3440.
- [19] Popovics P, Awadallah W N, Kohrt S E, et al. Prostatic osteopontin expression is associated with symptomatic benign prostatic hyperplasia [J]. *Prostate*, 2020, 80(10): 731-741.
- [20] Huang H. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a cancer bioMarker and MMP-9 biosensors: Recent advances [J]. *Sensors*, 2018, 18(10): 3249.
- [21] Zhu J, Li Y L, Wu X A, et al. In vivo PET imaging of EGFR expression: An overview of radiolabeled EGFR TKIs [J]. *Curr Top Med Chem*, 2022, 22(28): 2329-2342.

[责任编辑 时圣明]