基于效应成分指数的补骨脂抗肝癌质量评价研究

冯晓安, 陈礼怡, 刘欣桐, 岳美君, 李国辉*, 李春雨*

(国家癌症中心/国家肿瘤临床医学研究中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院, 北京 100021)

摘要: 补骨脂作为临床常用中药, 近年来应用范围已拓展至肝癌治疗领域并展现出一定潜力, 但其相关的临床功效质量评价尚缺乏。本研究以10批不同产地的补骨脂药材为研究对象, 通过高效液相色谱法 (HPLC) 优化色谱条件, 构建10批药材的化学指纹图谱, 同时测定各批次药材提取物对Hepa1-6肝癌细胞的IC_{50}值; 基于谱−效相关分析初步筛选抗肝癌活性成分, 并通过细胞实验进一步验证各成分活性; 构建10批补骨脂药材的效应成分指数 (ECI), 将其应用至补骨脂药材的质量评价。结果表明10批补骨脂药材的化学指纹图谱相似度均超过0.95, 但共有成分的含量存在较大差异; 10批药材抗肝癌IC_{50}值最小为34.54 μmol·L^{-1}, 最大为85.04 μmol·L^{-1}, 活性差异明显; 经谱−效相关性分析与细胞活性实验确认, 异补骨脂二氢黄酮、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂定、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂酚是其抗肝癌主要活性成分, 而药典中的指标性成分补骨脂素和异补骨脂素并没有抑制活性。将ECI应用于13批不同产地补骨脂药材, 可将其区分为3个质量等级, 与线性判别分析结果一致。补骨脂药材的ECI与其抗肝癌活性相关性高达0.957。本研究建立的ECI可用于补骨脂抗肝癌的质量评价, 并为提升补骨脂及其他抗肿瘤中药质量控制标准提供参考依据。

关键词: 补骨脂; 肝癌; 质量评价; 效应成分指数; 谱−效相关分析

中图分类号: R917 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)07-2632-09

Study on quality evaluation of *Psoralea corylifolia* L. against liver cancer based on the effect-constituents index

FENG Xiao-an, CHEN Li-yi, LIU Xin-tong, YUE Mei-jun, LI Guo-hui*, LI Chun-yu*

(*National Cancer Center/ National Clinical Research Center for Cancer/Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China*)

Abstract: *Psoralea corylifolia* L., a widely used traditional Chinese medicine, has recently demonstrated therapeutic potential in the treatment of liver cancer. However, rigorous evaluations regarding its clinical efficacy and quality control remain insufficient. To address this issue, this study selected 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. from different habitats as research objects. Firstly, high-performance liquid chromatography (HPLC) was employed to optimize the chromatographic conditions, and based on this, the chemical fingerprints of the 10 batches of medicinal materials were constructed to characterize their chemical composition profiles. Meanwhile, the IC_{50} values of medicinal extracts from each batch against Hepa1-6 liver cancer cells were determined; using spectrum-effect correlation analysis, potential anti-liver cancer active components were preliminarily screened, and their activities were further validated by cell experiments. Finally, an effective-constituents index (ECI) was established for the 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. and applied to its quality evaluation. The results showed that although the similarity of the chemical fingerprints of the 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. exceeded 0.95, indicating a relatively consistent overall chemical composition, the content of common components varied significantly among

收稿日期: 2025-10-30; 修回日期: 2026-04-14.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82174071); 高水平医院临床学科建设−药剂科 (80102022518).

*通讯作者 E-mail: lgh0603@cicams.ac.cn; chunyu_li@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1279

different batches. In terms of anti-liver cancer activity, the IC_{50} values of the 10 batches of medicinal materials against Hepa1-6 cells ranged from 34.54 μmol·L^{-1} (minimum) to 85.04 μmol·L^{-1} (maximum), showing obvious differences in activity, which further confirmed the necessity of establishing a more targeted quality evaluation system. Through spectrum-effect relationship analysis and *in vitro* cell activity verification, it was confirmed that isobavachin, neobavaisoflavone, bavachin, psoralidin, isobavachalcone, bavachinin and bakuchiol are the main active components responsible for the anti-liver cancer effect of *Psoralea corylifolia* L. Notably, psoralen and isopsoralen, which are specified as index components in the Pharmacopoeia, showed no inhibitory activity against Hepa1-6 liver cancer cells in this study. In addition, the constructed ECI could classify the 13 batches of *Psoralea corylifolia* L. into three quality grades, and this classification result was consistent with the results of linear discriminant analysis, indicating good reliability of the ECI. More importantly, the correlation coefficient between the ECI of *Psoralea corylifolia* L. and its anti-liver cancer activity reached as high as 0.957, which fully proved that the ECI can effectively reflect the anti-liver cancer efficacy of *Psoralea corylifolia* L. In conclusion, the ECI established in this study can be used for the quality evaluation of the anti-liver cancer effect of *Psoralea corylifolia* L. It not only provides a new method for improving the quality control standard of *Psoralea corylifolia* L. but also offers a valuable reference for the quality control and efficacy evaluation of other anti-tumor traditional Chinese medicines.

Key words: *Psoralea corylifolia* L.; liver cancer; quality evaluation; effective-constituents index; spectrum-efficacy correlation analysis

中医药是我国医学科学的特色, 也是中华民族优秀文化的重要组成部分, 在保障人民健康事业中发挥重要作用。近年来, 尤其在中西医结合治疗恶性肿瘤过程中, 中药能够减少肿瘤药物的不良反应、延长患者生存期、提高患者的免疫力和生活质量, 在肿瘤治疗领域的关注度日益提升[1-3]。补骨脂 (*Psoralea corylifolia* L.) 作为我国传统药用植物, 临床应用历史已逾千年, 其药用价值最早记载于东汉时期的《雷公炮制论》, 具有温肾助阳、纳气平喘、温脾止泻的功效[4]。现代药理研究表明, 补骨脂还具有抗氧化、抗菌、抗抑郁、抗炎等药理作用[5-7]。近年来补骨脂在抗肿瘤领域展现出良好的应用潜力, 其在肝癌治疗相关研究中成果显著。研究表明, 补骨脂中的补骨脂异黄酮、补骨脂乙素等[1,5,7]黄酮类成分, 以及补骨脂酚等[8]酚类成分, 可通过抑制肝癌细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、调控肿瘤微环境等途径发挥作用, 为其应用于肝癌辅助治疗提供了药理学依据。药材质量是决定其临床疗效的关键, 当前对补骨脂的质量评价, 多以中国药典中补骨脂项下规定的补骨脂素与异补骨脂素含量为评价指标[9]。但这两个成分的抗肝癌活性尚未明确, 能否用于抗肝癌功效的质量控制指标, 还有待商榷; 此外, 补骨脂中是否还存在其他未被发现的抗肝癌活性成分, 哪个成分对治疗肝癌贡献度最大?哪批药材用于肝癌治疗质量最佳?目前仍缺乏相关研究。因此, 补骨脂在临床上, 针对肝癌治疗的用药需求及疗效的发挥受到极大限制, 有必要建立关联临床功效的补骨脂质量评价方法。

效应成分指数 (ECI) 作为一种与临床疗效高度相关的中药质量综合量化评价方法[10-13]。该方法既融合了化学分析精确、易操作的技术特性, 又整合生物评价中与疗效相关的核心要素; 借助化学成分检测直接判定与疗效相关的中药中活性成分的同时, 还有效化解了传统评价中不同成分对整体药效贡献度难以界定难题, 同时提升了中药质量生物评价的可及性与普适性[13,14]。

因此, 本研究选取 10 批不同产地的补骨脂为研究对象, 构建不同产地补骨脂质量的 ECI 评价模型, 明确补骨脂抗肝癌的关键活性成分, 建立可量化、关联药效的质量评价方法, 为补骨脂抗肝癌临床合理用药提供科学依据。

材料与方法

仪器 CP214 型电子分析天平 (美国奥豪斯仪器有限公司); KQ5200DE 数控超声波清洗器 (昆山舒美超声仪器有限公司); Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); CV200 型真空离心浓缩仪 (北京吉艾姆仪器有限公司); zTS2-FL 型倒置显微镜 (日本尼康映像仪器销售有限公司); LUX-24 电热恒温水浴锅 (北京陆希科技有限公司); SC-3614 低速离心机 (安徽中科中佳科学仪器有限公司); H1MD 全功能微孔板检测仪 (美国伯腾仪器有限公司); BB150 二氧化碳培养箱和 COUNTESS II 型细胞计数仪 (美国赛默飞世尔科技公司)。

药材 10 批补骨脂药材分别收集于云南、河南、陕西、四川、安徽、辽宁、广西 7 个省份, 经中国医学科学院肿瘤医院李春雨副教授鉴定为 *Psoralea corylifolia*

L. 的干燥成熟果实。样品购买后密封保存, 粉碎后, 置于干燥器中备用。来源信息见表 1。

药品与试剂 对照品补骨脂素 (货号: JOT-10369)、异补骨脂素 (货号: JOT-10124)、异补骨脂二氢黄酮 (货号: 22070704)、新补骨脂异黄酮 (货号: 17020201)、补骨脂甲素 (货号: JOT-10369)、补骨脂乙素 (货号: JOT-10581)、补骨脂定 (货号: JOT-10584)、补骨脂二氢黄酮甲醚 (货号: 23032205)、补骨脂酚 (货号: JOT-10583) 均购自成都普菲德对照品科技有限公司; 甲醇 (色谱纯, 批号: F24O3C201)、乙腈 (色谱纯, 批号: 224288)、胎牛血清 (货号: 03.U16001DC)、DEME 培养基 (货号: 031002C) 均购自赛默飞世尔科技有限公司; DMSO (批号: 34241216014) 购自北京中生奥邦生物科技有限公司; 青霉素−链霉素双抗混合溶液 (100×, 批号: 20250926) 购自北京索莱宝科技有限公司。

溶液的制备

供试品溶液的制备 称取 0.15 g 补骨脂药材粉末, 精密称定, 置于量瓶中, 加入体积分数为 80% 的乙醇浸泡 30 min, 密封后称重, 进行超声提取 30 min 后, 冷却至室温, 再次称重, 用稀乙醇补足减失的重量, 取出上清液, 4 500 r·min^{-1} 条件下离心 5 min, 取上清于 0.22 μmol·L^{-1} 微孔滤膜滤过, 即得供试品溶液。

对照品溶液的制备 分别精密称取补骨脂素 (psoralen) 3.2 mg、异补骨脂素 (isopsoralen) 2.5 mg、异补骨脂二氢黄酮 (isobavachin) 1.0 mg、新补骨脂异黄酮 (neobavaisoflavone) 4.0 mg、补骨脂甲素 (bavachin) 1.0 mg、补骨脂乙素 (isobavachalcone) 5.0 mg、补骨脂定 (psoralidin) 1.0 mg、补骨脂二氢黄酮甲醚 (bavachinin) 4.0 mg、补骨脂酚 (bakuchiol) 9.0 mg 对照品, 将各对照品分别置于洁净的量瓶中。向每个量瓶中加入适量甲醇, 超声助溶 (30 min), 继续加甲醇定容, 静置至室温, 即得各单一成分的对照品储备液。分别精密量取上述单体溶液混合, 置于洁净的量瓶中, 混匀后, 补加甲醇至量瓶刻度线定容, 最终制得对照品混合溶液; 该混合溶液中各成分的终浓度分别为: 补骨脂素 3.2 mg·mL^{-1}、异补骨脂素 2.5 mg·mL^{-1}、异补骨脂二氢黄酮 1 mg·mL^{-1}、新补骨脂异黄酮 4 mg·mL^{-1}、补骨脂甲素 1 mg·mL^{-1}、补骨脂乙素 5 mg·mL^{-1}、补骨脂定 1 mg·mL^{-1}、补骨脂二氢黄酮甲醚 4 mg·mL^{-1}、补骨脂酚 9 mg·mL^{-1}。

指纹图谱的建立 选用 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱 (100 mm × 4.6 mm, 2.7 μm), 流动相采用超纯水 (A)−乙腈 (B), 所有溶剂均经 0.22 μm 滤膜真空抽滤, 超声脱气 15 min。为实现目标成分的基线分离, 采用如下线性梯度洗脱程序: 0～5 min, 5%～45% B; 5～18 min, 45%～70% B; 18～20 min, 70%～100% B; 20～25 min, 100%～100% B; 25～25.1 min, 100%～5% B; 25.1～30 min, 5% B。体积流量为 0.8 mL·min^{-1}; 检测波长 250 nm; 柱温为 30 ℃; 进样量为 10 μL, 柱平衡时间为 5 min[15]。

细胞实验

细胞给药及分组 取对数生长期的肝癌 Hepa1-6 细胞消化后, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基调整细胞密度至每毫升 1.5×10^5 个, 接种于 96 孔板中, 置于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中培养 24 h, 待细胞贴壁后, 弃去原有培养基, 分别加入不同浓度的补骨脂供试品溶液进行给药处理。实验分组为: 空白对照组、不同浓度的补骨脂提取物组、各化学成分组, 每组设置 3 个复孔。

CCK-8 法检测细胞存活率 细胞给药 24 h 后弃去各孔中的培养基, 每孔加入含 10% CCK-8 溶液的无血清 DMEM 培养基 60 μL, 继续置于 37 ℃、5% CO_2 培养箱中孵育 3 h。孵育结束后, 使用酶标仪在 450 nm 波长处测定各孔的吸光度值 (OD 值), 以空白组的 OD 值为参照, 并按照下述公式计算各组细胞抑制率: 抑制率 (%) = (OD 对照组 − OD 给药组) / (OD 对照组 − OD 空白组) ×100%。

ECI 建立 补骨脂抗肝癌效应成分指数是基于中药已测活性成分, 经相对生物活性权重系数校准后计算含量总和, 表征其总体疗效。因此基于补骨脂中各活性成分的药效学活性, 按式 (1) 对其相对生物活性进行归一化处理, 以确定各成分的相对生物活性权重系数 (F_i), 实现对不同成分活性差异的校准。

$$F_i = \frac{1/\mathrm{IC}_{50i}}{\sum_{i=1}^{n} 1/\mathrm{IC}_{50i}} \tag{1}$$

式 (1) 中, n 为补骨脂中已测定活性成分的数量, IC_{50i} 表示第 i 种活性成分的药效学活性指标, 即半数抑制浓度, 数值越小活性越强, F_i 则为第 i 种活性成分对应的活性权重系数。

在此基础上, 补骨脂抗肝癌疗效的 ECI 定量计算

Table 1 Information on *Psoralea corylifolia* L. sample

Sample No.	Sampling time	Origin	Sample No.	Sampling time	Origin
S1	20250207	Xishuangbanna, Yunnan	S6	20241224	Fushun, Liaoning
S2	20240225	Henan	S7	20240901	Ruili, Yunnan
S3	20250213	Baoji, Shaanxi	S8	20241225	Huoshan, Anhui
S4	20250212	Shangluo, Shaanxi	S9	20250125	Yulin, Guangxi
S5	20241211	Jinsha, Sichuan	S10	20241130	Xinxiang, Henan

方法如式 (2) 所示, 将各活性成分的含量 (C_i) 与其对应的活性权重系数 (F_i) 相乘后求和, 即可得到不同批次中药的ECI值, 该值可直接量化表征补骨脂的抗肝癌疗效水平。

$$ECI = 100 \times \sum_{i=1}^{n} F_i \times C_i \quad (2)$$

式 (2) 中, C_i 为第 i 种活性成分的实测含量, ECI值越大代表补骨脂的抗肝癌疗效越强。

统计学分析 使用中药色谱指纹图谱相似度评价系统绘制并分析补骨脂峰面积, 采用SPSS软件进行谱–效相关分析并绘制线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 图, 借助metaboanalyst网站 (https://www. metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/) 绘制热图。

结果

1 10批补骨脂样品指纹图谱分析

结果表明, 10批样品和混合标准品的色谱峰均可有效分离 (图1A、B), 并在样品S4 (图1A) 中成功识别出9个特征色谱峰。除9个已知成分外, 10批样品色谱图中均稳定出现两个未匹配标准品的色谱峰, 命名为X1和X2 (图1C), 保留时间集中在11～15 min且10批样品相似度系数在0.958～0.999之间。此外, 分析11个共有峰峰面积变异系数发现, 已知成分的RSD%数值分布在12.1～28.5之间, 其中补骨脂二氢黄酮甲醚 (h) 峰面积变异系数最大。

进一步挖掘10批补骨脂样品的批次间差异, 结果

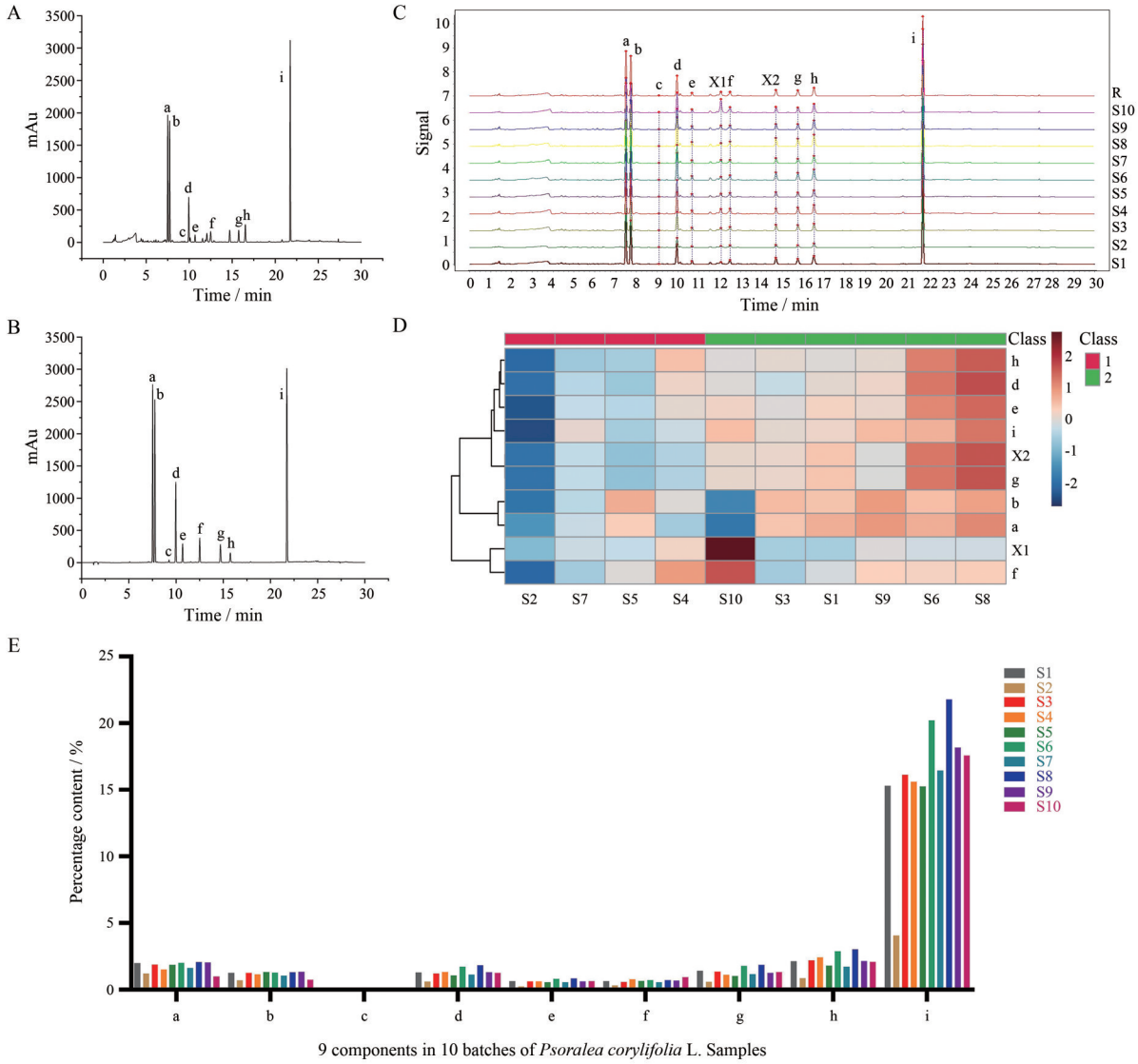


Figure 1 HPLC Chromatograms of *Psoralea corylifolia* L. sample and mixed standards, as well as chemical characteristics of 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. A: HPLC chromatograms of *Psoralea corylifolia* L. sample; B: HPLC chromatograms of mixed standards; C: Chromatographic peaks of 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. samples; D: Heatmap of 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. samples; E: Percentage content of 9 components in 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. sample. a: Psoralen; b: Isopsoralen; c: Isobavachin; d: Neobavaisoflavone; e: Bavachin; f: Psoralidin; g: Isobavachalcone; h: Bavachinin; i: Bakuchiol

如图1D所示。10批样品主要分为两个聚类。聚类1包含样品S2、S4、S5、S7, 该聚类中所有共有峰的峰强度普遍较低 (冷点), 聚类2包含样品S1、S3、S6、S8、S9、S10, 该聚类中所有共有峰的峰强度较高 (热点)。此外, 本研究还测定了10批补骨脂中各成分的准确含量, 其中补骨脂酚的含量最高 (图1E)。

2 10批补骨脂样品抗肝癌细胞活力的测定

为评估补骨脂样品的生物活性差异, 本研究测定了10批不同来源的补骨脂样品抗肝癌的IC_{50}值。结果如图2所示, IC_{50}值最小的样品是S6 (34.54 μmol·L^{-1}), 其次是S8 (37.46 μmol·L^{-1}), 但二者相差不大, 提示S6和S8抗肝癌活性最强; 而IC_{50}值最大的样品为S2 (85.04 μmol·L^{-1}), 说明其活性最弱。其他产地样品抗肝癌活性相近, 其IC_{50}均介于38～45 μmol·L^{-1}之间。活性最高与最低的样品间抗肝癌活性差距可达2.5倍。值得注意的是, 即使是来自同一省份 (河南) 的样品S2和S10, 其IC_{50}值也有较大差异, 这表明补骨脂的抗肝癌活性不仅与样品产地相关, 还可能受到种植环境、采收时间或加工方式等因素的影响。

3 补骨脂抗肝癌的活性成分筛选

为明确补骨脂发挥抗肝癌作用的主要药效成分, 本研究将上述10批样品的抗肝癌IC_{50}值与其中9种已知化学成分的色谱峰面积值进行Pearson相关性分析 (图3)。结果表明, 其中7种成分 (异补骨脂二氢黄酮、新补骨脂异黄酮、补骨脂甲素、补骨脂定、补骨脂乙素、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂酚) 与抗肝癌活性呈现显著正相关, 而补骨脂素、异补骨脂素则未表现出统计学意义上的相关性。在所有呈显著正相关的成分中, 补骨脂甲素与抑制Hepa1-6肝癌细胞生长作用的相关性最强 (相关系数r = 0.914)。

4 补骨脂抗肝癌活性成分的药效验证

为了验证补骨脂中9种已知化学成分的抗肝癌活性, 本研究对其IC_{50}值进行了测定 (图4)。结果显示, 异补骨脂二氢黄酮、补骨脂甲素、补骨脂乙素、新补骨脂异黄酮、补骨脂二氢黄酮甲醚、补骨脂酚及补骨脂定等7种成分, 均能在实验浓度范围内显著抑制肝癌细胞生长; 且从活性强度排序来看, 异补骨脂二氢黄酮的IC_{50}值最大 (15.26 μmol·L^{-1}), 随后依次为补骨脂甲素 (18.46 μmol·L^{-1})、补骨脂乙素 (18.48 μmol·L^{-1})、新补骨脂异黄酮 (24.16 μmol·L^{-1})、补骨脂二氢黄酮甲醚 (28.72 μmol·L^{-1})、补骨脂酚 (29.67 μmol·L^{-1}) 与补骨脂定 (46.73 μmol·L^{-1})。而补骨脂素和异补骨脂素在相同实验条件下并没有明显抑制肝癌细胞活性, 这一结果与前述相关性分析结果基本一致, 进一步佐证了这2种成分并非补骨脂抗肝癌作用的重要活性成分。

5 10批补骨脂ECI建立

根据公式 (1) 得到7种具有抗肝癌药效的主要药效成分分配效应权重系数, 再通过公式 (2) 计算10批补骨脂样品的ECI值, 详见表2。

从公式中各成分的效应权重来看, 异补骨脂二氢

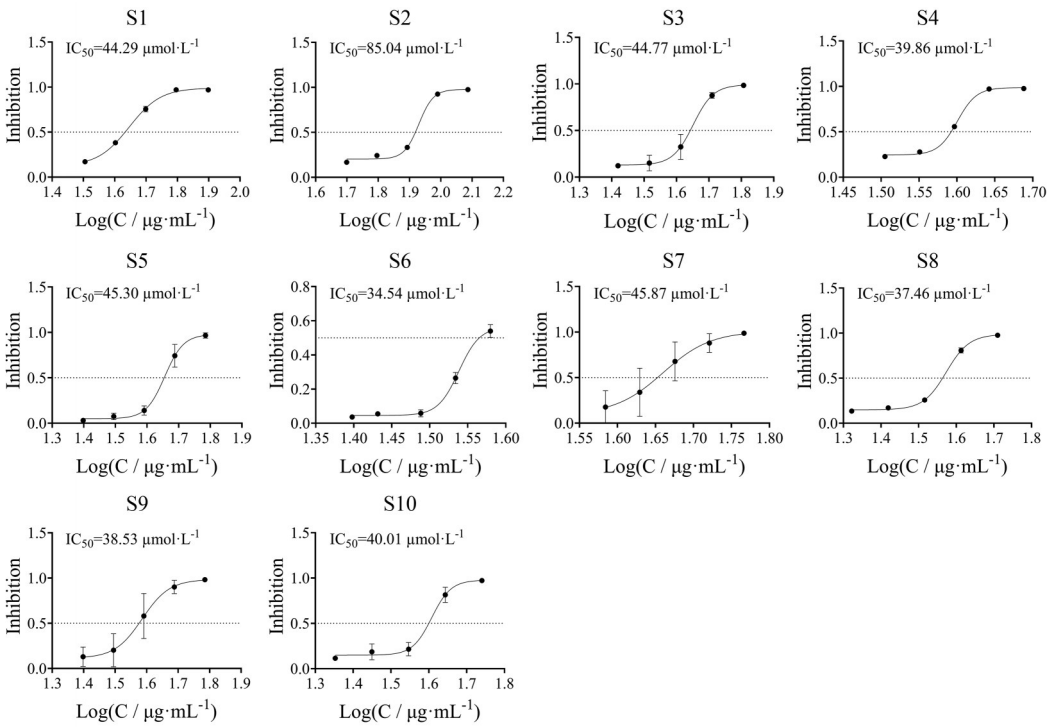


Figure 2 Determination of *in vitro* anti-liver cancer activity of 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. samples

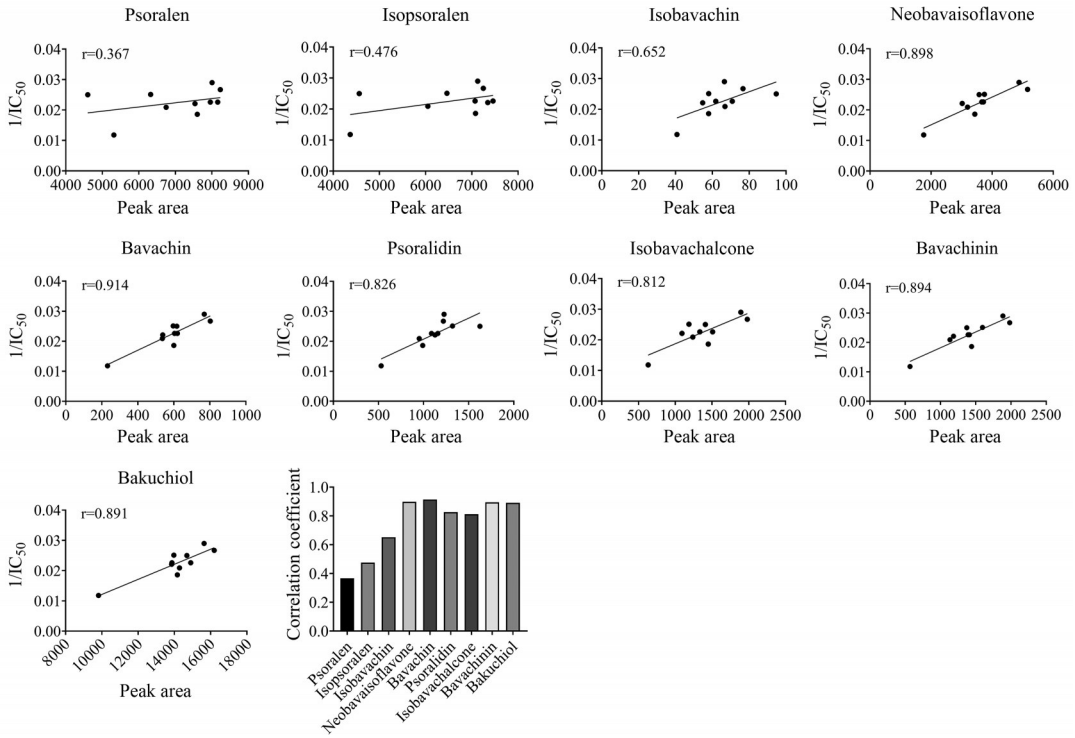


Figure 3 Pearson correlation analysis between $1/IC_{50}$ value of 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. samples and the content of 9 chemical constituents

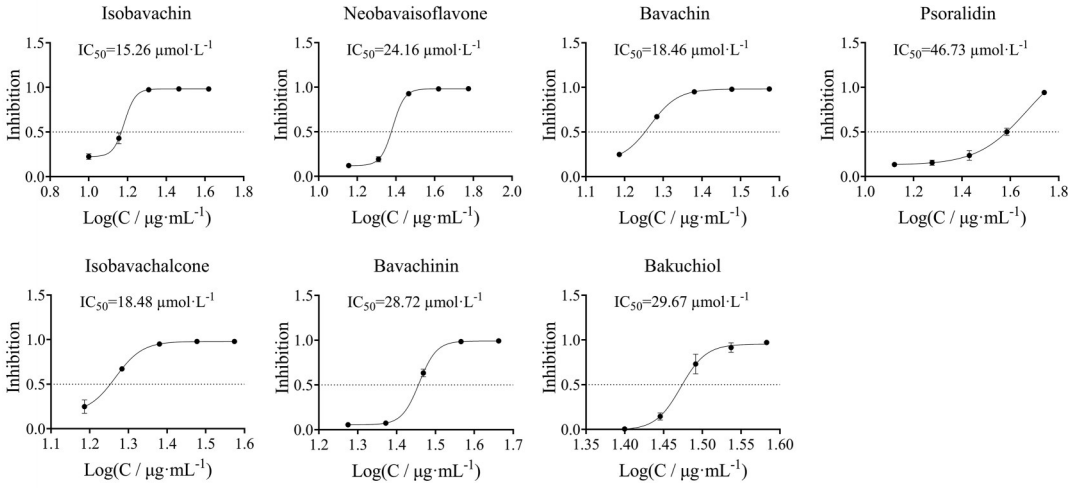


Figure 4 Determination of anti-liver cancer activity of 7 active compounds in *Psoralea corylifolia* L.

黄酮的效应权重最大, 提示其在补骨脂抗肝癌活性中贡献度最高, 而补骨脂定的效应权重最小, 表明其发挥的活性作用相对较弱。值得注意的是, 尽管补骨脂酚的效应权重较低, 但在每批样品的ECI值构成中均占较大比例, 推测这一现象与补骨脂酚在补骨脂样品中的基础含量较高直接相关, 即成分的实际贡献需同时兼顾“效应权重 (活性强度)”与“含量水平”双重因素。对10批不同产地补骨脂样品的ECI值进行比较发现, 样品S8的ECI值最高 (3.556), 其次是S6 (3.328) 二者比较接近, 表明S6和S8综合抗肝癌活性最优; 而样品S2的ECI值最低, 仅为0.812, 综合活性最弱, 与抗肝癌细胞活力结果基本一致。

此外, 将10批样品的ECI值与其抑制肝癌细胞活力进行相关性分析, 结果显示二者的相关系数$r = 0.957$, 提示ECI作为多活性成分的综合评价指标, 能较好反映补骨脂的整体抗肝癌活性, 为补骨脂质量标准的提升提供了可靠的量化依据。

6 ECI在补骨脂抗肝癌细胞活性质量评价中的应用

为进一步验证ECI在补骨脂质量评价中的可行性, 本研究再次从市面上购买了产自四川、江苏、云南、

Table 2 Effect-constituents index (ECI) of 10 batches of *Psoralea corylifolia* L. samples

Sample	$100 \cdot F_i \cdot C_i$							ECI
	c	d	e	f	g	h	i	
S1	0.023	0.176	0.115	0.045	0.251	0.242	1.689	2.541
S2	0.015	0.083	0.042	0.022	0.104	0.097	0.449	0.812
S3	0.022	0.164	0.111	0.041	0.241	0.250	1.782	2.611
S4	0.022	0.179	0.110	0.054	0.197	0.277	1.722	2.561
S5	0.021	0.144	0.100	0.046	0.181	0.205	1.684	2.381
S6	0.025	0.234	0.143	0.050	0.315	0.328	2.233	3.328
S7	0.025	0.153	0.099	0.039	0.206	0.197	1.817	2.536
S8	0.029	0.248	0.149	0.050	0.330	0.345	2.405	3.556
S9	0.027	0.178	0.112	0.047	0.222	0.245	2.007	2.838
S10	0.036	0.171	0.114	0.067	0.234	0.238	1.942	2.802

Table 3 ECI of 13 batches of *Psoralea corylifolia* L. samples

Sample	$100 \cdot F_i \cdot C_i$							ECI
	c	d	e	f	g	h	i	
SY1	0.016	0.073	0.051	0.036	0.123	0.128	1.948	2.375
SY2	0.019	0.071	0.076	0.057	0.096	0.145	1.346	1.810
SY3	0.015	0.103	0.069	0.041	0.135	0.143	2.248	2.754
SY4	0.004	0.065	0.046	0.022	0.081	0.090	1.195	1.503
SY5	0.007	0.105	0.073	0.028	0.137	0.142	2.146	2.638
SY6	0.010	0.067	0.048	0.030	0.088	0.099	1.442	1.784
SY7	0.016	0.082	0.053	0.035	0.120	0.125	2.152	2.583
SY8	0.023	0.098	0.056	0.057	0.111	0.134	2.275	2.754
SY9	0.011	0.061	0.042	0.035	0.081	0.097	1.517	1.844
SY10	0.012	0.046	0.024	0.026	0.055	0.058	0.892	1.113
SY11	0.009	0.118	0.075	0.031	0.150	0.153	2.261	2.797
SY12	0.013	0.102	0.100	0.037	0.132	0.157	2.153	2.694
SY13	0.011	0.111	0.088	0.031	0.156	0.154	2.328	2.879

河南、安徽、贵州等6个省份的13批补骨脂药材, 计算各批次的ECI (表3), 并采用LDA对其进行分类。结果如图5A所示, 13批样品可分为3个等级: 1级 (S2、S4、S6、S9和S10)、2级 (S1、S5、S7和S12)、3级 (S3、S8、S11和S13)。进一步用ECI对13批补骨脂进行等级区分, 结果显示其分级结果与LDA分析结果一致。然而, 使用药典指标性成分补骨脂素或者异补骨脂素, 以及9种活性成分含量简单加和, 均未达到ECI等级区分效果 (图5B)。

讨论

由于中药化学成分复杂且多样, 其关联临床功效的质量评价一直是困囿中药质量标准提升的难点问题[7]。在本研究中, 10批来自不同产地的补骨脂样品的指纹图谱相似度表现出高度一致性, 然而其共有成分的RSD%较大, 提示不同产地样品中各成分的含量存在较大差异, 这也决定了临床药效的差异。本研究抗肝癌细胞活力结果也验证了该差异, 10批样品抑制肝癌细胞活性的IC_{50}值在34.54至80.04之间波动。同时, 通过谱−效相关分析和实验验证进一步确定补骨脂抗肝癌的质量标志物: 异补骨脂二氢黄酮、补骨脂甲素等7种成分不仅自身具有明确的肝癌细胞抑制活性, 且其活性强度与样品整体抑制肝癌细胞活性呈显著正相关。现有文献报道与本研究结果一致, 如Li等[16]发现补骨脂甲素、补骨脂乙素、异补骨脂二氢黄酮等对HepG2肝癌细胞的抑制作用最强, 且补骨脂甲素呈现明显的剂量−效应关系。Song等[17]研究表明, 补骨脂乙素可以阻滞肝癌细胞G1/S期, 促进凋亡蛋白Bax的表达, 诱导细胞凋亡。Tian等[18]证实补骨脂酚可通过上调Bax表达发挥促凋亡作用, 且Li等[19]以补骨脂酚为先导化合物设计的4种衍生物均表现出优异抗肿瘤活性。此外, 补骨脂二氢黄酮甲醚可通过抑制IL-6和STAT3通路来抑制肝癌[20]; 值得注意的是, 补骨脂素、异补骨脂素两种成分虽在抗骨质疏松、抗炎、抗菌等多

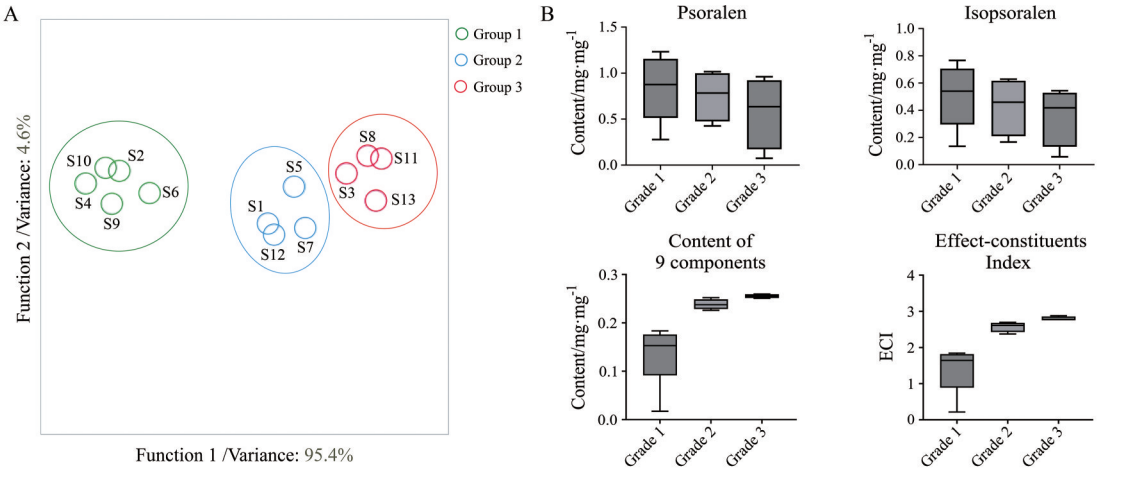


Figure 5 Linear discriminant analysis (LDA) analysis of quality grades for different batches of *Psoralea corylifolia* L. samples. A: LDA analysis based on liver cancer cell inhibitory activity for 13 *Psoralea corylifolia* L. batches; B: Classification analysis based on psoralen, isopsoralen, total content of 9 components, and ECI

个药理领域发挥重要作用, 且二者在补骨脂中含量较高、化学性质稳定,《中华人民共和国药典》将其作为质量控制的指标成分, 具有充分的科学依据[4,21,22]。但在抗肝癌方面, 这两种成分作为质量控制具有明显的局限性。因此, 本研究将异补骨脂二氢黄酮、补骨脂甲素等7种成分作为补骨脂在抗肝癌应用方面的质量标志物, 可为药典质量控制体系提供重要补充。

此外, 本研究发现异补骨脂二氢黄酮在单独检测时表现出最强的抑制活性, 但其与样品整体药效活性的相关性却相对较低 (r = 0.652)。这可能与部分补骨脂样品中异补骨脂二氢黄酮含量较低有关, 因其含量低, 导致整体抗肿瘤活性的贡献度较低。而补骨脂酚却恰恰相反, 尽管其抗肝癌活性相对较低, 但因在多数样品中含量较高, 其相关系数也明显提高。

基于此, 作者以7种活性成分的抗肝癌活性为权重, 结合各成分含量构建ECI值。异补骨脂二氢黄酮 (权重0.214 8) 与补骨脂甲素 (权重0.177 5) 的效应权重最高, 与二者“单体活性较强”的结果一致; 而补骨脂定 (0.070 1) 权重最低, 也与其较弱的抑制活性匹配, 表明权重分配充分遵循“活性强度决定贡献度”的原则。从实际应用来看, 单独使用各单体成分含量的简单加和无法区分各批次药材质量等级, 而ECI可实现3个抗肝癌等级区分, 解决了“成分含量相似但药效差异显著”的评价难题。此外, ECI与样品抗肝癌活性的高相关性 (r = 0.957) 验证了其有效性, 且与抗肝癌药效高度关联, 体现了中药多成分协同的特点。

本研究仍存在一定不足之处, 目前研究建立的ECI, 仅关联了7个活性成分, 后续需要挖掘其他活性成分, 进一步完善ECI。再者, 本研究只是建立了补骨脂抗肝癌功效的ECI, 关联其他临床功效的ECI亟待建立, 以期为其临床合理应用提供科学依据。

作者贡献: 冯晓安负责文献查阅、设计方案、实验操作、数据分析及文章撰写; 陈礼怡、刘欣桐、岳美君负责查阅文献和数据分析; 李国辉和李春雨负责指导实验方案设计、论文写作及修改。

利益冲突: 无利益冲突。

References

[1] Liu GT, Gou WF, Xv FF, et al. Research progress on antitumor mechanism of Psoraleae Fructus [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2024, 55: 3529-3538.

[2] Mo L, Wang Y, Liang XY, et al. Progress of traditional Chinese medicine in the prevention and treatment of colorectal cancer [J]. World J Gastrointest Oncol, 2025, 17: 105690.

[3] Fu L, Wu SY, Li M, et al. Research progress on anti-tumor effects by traditional Chinese medicine based on "soothing" or "blockage" regulation of tumor vessels [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2023, 48: 5131-5141.

[4] Wang JY, Lv YM, Yin J, et al. Research progress on processing historical evolution and mechanism of *Psoralea Fructus* and its quality marker predictive analysis [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2023, 54: 5759-5772.

[5] Zhang X, Zhao W, Wang Y, et al. The chemical constituents and bioactivities of *Psoralea corylifolia* Linn.: A review [J]. Am J Chin Med, 2016, 44: 35-60.

[6] Chen L, Chen S, Sun P, et al. *Psoralea corylifolia* L.: A comprehensive review of its botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology, toxicology, quality control and pharmacokinetics [J]. Chin Med, 2023, 18: 4.

[7] Zhang XN, Wang YY, Wu YH, et al. Research progress on anti-tumor active components and mechanism of traditional Chinese medicine Fructus Psoraleae [J]. Bachu Med J (巴楚医学), 2019, 2: 102-106.

[8] Chen CC, Chen CY, Ueng SH, et al. Corylin increases the sensitivity of hepatocellular carcinoma cells to chemotherapy through long noncoding RNA RAD51-AS1-mediated inhibition of DNA repair [J]. Cell Death Dis, 2018, 9: 543.

[9] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. 2020 Ed. Vol 1. Beijing: China Medicinal Science and Technology Press, 2020: 88.

[10] Tan P, Wang JB, Zhang DK, et al. Application of an effect-constituents index for the quality evaluation of the traditional Chinese medicine rhubarb [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2019, 54: 2141-2148.

[11] Liu ZJ, Shi ZL, Tu C, et al. An activity-calibrated chemical standardization approach for quality evaluation of *Salvia miltiorrhiza* Bge [J]. RSC Adv, 2017, 7: 5331-5339.

[12] Li C, Liu Y, Cao B, et al. Improving Chuanxiong Rhizoma quality standards using an effect-constituent index based bioassay [J]. J Pharm Biomed Anal, 2023, 233: 115455.

[13] Ren Y, Gao F, Li B, et al. A precise efficacy determination strategy of traditional Chinese herbs based on Q-markers: Anticancer efficacy of Astragali radix as a case [J]. Phytomedicine, 2022, 102: 154155.

[14] Xiong Y, Hu Y, Li F, et al. Promotion of quality standard of Chinese herbal medicine by the integrated and efficacy-oriented quality marker of effect-constituent index [J]. Phytomedicine, 2018, 45: 26-35.

[15] Yin FZ, Li L, Lu TL, et al. Quality assessment of Psoralea fructus by HPLC fingerprint coupled with multi-components analysis [J]. Indian J Pharm Sci, 2015, 77: 715-722.

[16] Li YY, Cao B, Ling MM, et al. Establishment of a method for *in vitro* screening of idiosyncratic hepatotoxicity components of traditional Chinese medicine: Taking Epimedii Folium and Psoraleae Fructus as an example [J]. Chin J Cancer (癌症),

2023, 42: 586-598.

[17] Song HS, Jang S, Kang SC. Bavachalcone from *Cullen corylifolium* induces apoptosis and autophagy in HepG2 cells [J]. Phytomedicine, 2018, 40: 37-47.

[18] Tian YT. Study on the Action of Anti-tumor of Bakuchiol in HepG-2 Cells and H22 Hepatoma Transplanted Mice (补骨脂酚对hepG-2细胞和H22肝癌移植小鼠抗肿瘤作用的研究) [D]. Yanbian: Yanbian University, 2024.

[19] Li R, Ding YM, Hou X, et al. Synthesis, characterization and anti-tumor activity of bakuchiol derivatives [J]. J Jiangsu Ocean Univ (Nat Sci Ed) (江苏海洋大学学报 自然科学版), 2024, 33: 51-58.

[20] Lee SW, Yun BR, Kim MH, et al. Phenolic compound isolated from *Psoralea corylifolia* inhibit IL-6-induced STAT3 activation [J]. Planta Med, 2012, 78: 903-906.

[21] Ji B. Modern research progress of *Psoralea corylifolia* [J]. Guangming J Chin Med (光明中医), 2024, 39: 5075-5078.

[22] Liao WW, Liu YY, Huang S, et al. Research progress on the pharmacological effects of isopsoralen against osteoporosis [J]. Drugs Clin (现代药物与临床), 2025, 40: 1334-1339.