紫苏叶中黄酮及酚酸类成分一测多评含量测定方法的建立Δ

李丹阳[1*]，董　超[2]，郑云枫[3]，严　辉[3]，张　丽[3#]（1.江苏省中医院药学部，南京　210029；2.南京医科大学第一附属医院药学部，南京　210029；3.南京中医药大学药学院，南京　210023）

中图分类号　R917；R284.1　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2025）11-1323-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2025.11.06

摘　要　目的　以野黄芩苷、迷迭香酸为内参物，建立同时测定紫苏叶中6种黄酮类及2种酚酸类成分含量的一测多评（QAMS）法，并采用该法测定20批不同产地紫苏叶样品中8种成分的含量。**方法**　以野黄芩苷为内参物计算野黄芩素-7-*O*-二葡萄糖醛酸苷、木犀草素-7-*O*-二葡萄糖醛酸苷、芹菜素-7-*O*-二葡萄糖醛酸苷、木犀草素-7-*O*-*β*-D-葡萄糖醛酸苷、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷的相对校正因子，以迷迭香酸为内参物计算咖啡酸的相对校正因子，采用QAMS法测定样品中各成分的含量，并与外标法检测结果进行比较。**结果**　上述8种成分在各自质量浓度范围内线性关系良好（$r\geq0.999\ 0$），平均加样回收率为95.60%～102.15%，RSD为0.72%～2.70%（$n=6$）。该方法的精密度、重复性、稳定性均良好（RSD＜2.50%，$n=6$）。不同仪器和色谱柱、柱温、流速、甲酸体积分数对所得相对校正因子的影响较小（RSD＜3%，$n=3$）。与外标法比较，除ZS12批次样品中的咖啡酸外，其余各批次样品中各成分的含量均无明显差异（RE绝对值＜5%，$n=2$）。不同产地紫苏叶样品中6种黄酮类成分的含量存在一定差异，而上述黄酮类成分的总含量无明显差异；不同产地紫苏叶中2种酚酸类成分的含量及其总含量具有明显差异。**结论**　所建QAMS法可同时测定紫苏叶药材中6种黄酮类及2种酚酸类成分的含量，方法检测方便、准确度高且成本较低，可用于紫苏叶药材的质量控制。不同产地紫苏叶药材中黄酮类及酚酸类成分的含量存在一定差异，可为紫苏叶药材产地的优选提供参考依据。

关键词　紫苏叶；一测多评法；含量测定；质量控制；野黄芩苷；迷迭香酸；黄酮；酚酸；产地

Establishment of quantitative analysis of multi-components by single-marker method for content determination of flavonoids and phenolic acids in *Perilla frutescens* leaves

LI Danyang[1], DONG Chao[2], ZHENG Yunfeng[3], YAN Hui[3], ZHANG Li[3]（1. Dept. of Pharmacy, Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China; 3. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To establish a quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS) method for simultaneous determination of six flavonoids and two phenolic acids in *Perilla frutescens* leaves using scutellarin and rosmarinic acid as internal reference substances, and apply this method to determine the contents of eight components in 20 batches of *P. frutescens* leaves samples from different regions. **METHODS** Scutellarin served as the internal reference to calculate relative correction factors (RCFs) for scutellarin-7-*O*-diglucuronide, luteolin-7-*O*-diglucuronide, apigenin-7-*O*-diglucuronide, luteolin-7-*O*-*β*-D-glucuronide and apigenin-7-*O*-glucuronide. Rosmarinic acid was employed as the internal reference to determine the RCF for caffeic acid. The contents of the above flavonoids and phenolic acids were calculated with QAMS, and compared with the results of external standard method. **RESULTS** The eight analytes demonstrated excellent linearity within their respective concentration ranges ($r\geq0.999\ 0$). The mean recovery rates for spiked samples ranged from 95.60% to 102.15%, with relative standard deviations (RSDs) of 0.72% to 2.70% ($n=6$). The method exhibited good precision, repeatability, and stability (RSD＜2.50%, $n=6$). Variations in instruments, columns, column temperature, flow rate, and formic acid volume fraction had minimal impact on the RCFs (RSD＜3%, $n=3$). Comparison with the external standard method showed no significant differences in the content of each component across batches, except for caffeic acid in the ZS12 batch (absolute value of RE＜5%, $n=2$). The contents of six flavonoid components in *P. frutescens* leaves samples varied significantly across different geographic origins, while the content of total flavonoids showed no significant difference. In contrast, the contents of two phenolic acid components and

Δ **基金项目**　国家中药材产业技术体系综合试验站项目（No. CARS-21）

＊**第一作者**　初级中药师，硕士。研究方向：中药检验与质量分析。E-mail：1979985238@qq.com

＃ **通信作者**　教授，博士生导师，博士。研究方向：中药炮制与质量标准。E-mail：zhangli@njucm.edu.cn

total phenolic acid exhibited significant variation among samples from different regions. **CONCLUSIONS** The developed QAMS method can simultaneously determine the contents of six flavonoids and two phenolic acids in *P. frutescens* leaves. It is convenient for detection, highly accurate, and cost-effective. This method is suitable for the quality control of *P. frutescens* leaves, and the variation of flavonoid and phenolic acid content in samples from different regions provides a reference for the selection of optimal cultivation areas.

KEYWORDS *Perillae frutescens* leaves; quantitative analysis of multi-components by single-marker method; content determination; quality control; scutellarin; rosmarinic acid; flavonoids; phenolic acids; cultivation areas

紫苏叶始载于《名医别录》，为唇形科植物紫苏*Perilla frutescens*（L.）Britt.的干燥叶（或带嫩枝），性温，味辛，具有解表散寒、行气和胃的功效[1]。紫苏叶在我国种植及应用历史悠久，是传统的药食两用植物之一[2]。

目前相关药品标准将紫苏叶中的挥发油成分作为其质量控制的指标[1]。然而除了挥发油以外，黄酮及酚酸类成分在紫苏叶中的含量同样较高，并且具有抗氧化[3—4]、抗炎[5—6]、抗过敏[5—6]、抗菌[7]等活性。因此，仅以挥发油成分作为质量控制指标，无法全面评价紫苏叶药材的优劣，故可综合考虑紫苏叶中的黄酮及酚酸类成分，完善其质量控制方法。

现有研究多以紫苏叶中黄酮或酚酸类的某一种或几种成分开展质量控制研究。如赵茜等[8]采用高效液相色谱（HPLC）法对紫苏叶中生物活性较强的黄酮类成分——木犀草素和芹菜素进行含量测定，以研究不同来源紫苏叶的质量差异；廖楠汐等[9]选取紫苏叶中具有抗炎、抗肿瘤作用的黄酮类代表成分野黄芩苷和含量丰富的酚酸类成分迷迭香酸作为指标成分，用于评价紫苏叶的质量。然而有研究表明，除了木犀草素、芹菜素、野黄芩苷、迷迭香酸外，紫苏叶中其他黄酮及酚酸类成分同样具有较好的生物活性，例如紫苏叶中的咖啡酸具有减轻氧化应激、改善炎症的作用[10]；紫苏叶中的黄酮具有良好的抗氧化和抗肿瘤的作用[11]。可见，进行多指标成分测定能更好地评价紫苏叶药材的质量。但是，由于某些成分的对照品制备困难，若采用峰面积归一化法等方法进行分析，所得结果准确度不高、检测效率较低[12—13]。

有鉴于此，本研究在前期紫苏叶研究的基础上，以20批紫苏叶药材为研究对象，建立了一测多评（quantitative analysis of multi-components by single-marker，QAMS）法同时测定紫苏叶中含量相对较高且具有较好生物活性的8种化学成分（6种黄酮类及2种酚酸类）的含量，包括野黄芩苷（scutellarin，SC）、芹菜素-7-*O*-葡萄糖醛酸苷（apigenin-7-*O*-glucuronide，AG）、木犀草素-7-*O*-β-D-葡萄糖醛酸苷（luteolin-7-*O*-β-D-glucuronide，LG）、野黄芩素-7-*O*-二葡萄糖醛酸苷（scutellarein-7-*O*-diglucuronide，SD）、芹菜素-7-*O*-二葡萄糖醛酸苷（apigenin-7-*O*-diglucuronide，AD）、木犀草素-7-*O*-二葡萄糖醛酸苷（luteolin-7-*O*-diglucuronide，LD）、咖啡酸（caffeic acid，CA）和迷迭香酸（rosmarinic acid，RA），以期为紫苏叶药材及其饮片质量标准的修订提供参考，同时为紫苏叶药材资源的利用与开发、品质评价等相关研究提供数据支撑。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Waters 2695型HPLC仪、2998型光电二极管阵列检测器、Empower色谱工作站（美国Waters公司），Agilent 1290型HPLC仪、1260型二极管阵列检测器、Chemstation色谱工作站（美国Agilent公司），MS-105DU型十万分之一电子天平（瑞士Mettler Toledo公司），KH-500DB型数控超声仪（昆山禾创超声仪器有限公司）等。

1.2 主要药品与试剂

SC、CA、RA对照品（批号分别为111842-201709、110885-201703、111871-201706，纯度分别为91.7%、99.7%、90.5%）均购自中国食品药品检定研究院；AG对照品（批号JBZ-0975，纯度98%）购自南京金益柏生物科技有限公司；LG对照品（批号P18M10F88858，纯度98%）购自南京迈博生物科技有限公司；SD、AD、LD对照品（纯度均不低于98%）均由本实验室自制；乙腈（色谱纯）、甲醇（色谱纯）均购自美国Tedia公司；甲酸（色谱纯）购自美国Merck公司；超纯水由Milli-Q超纯水系统制备。

20批紫苏叶药材分别采集于广东省英德市、安徽省太和县及河北省安国市，经南京中医药大学药学院刘训红教授鉴定均为唇形科植物紫苏*P. frutescens*（L.）Britt.的干燥叶（或带嫩枝）。详细信息见表1。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

采用Hedera ODS-2 C_{18}（250 mm×4.6 mm，5 μm）色谱柱，以乙腈（A）和0.20%甲酸溶液（B）为流动相进行梯度洗脱（0～30 min，12%A→22%A；30～40 min，22%A→38%A）；检测波长为330 nm；流速为1.0 mL/min；柱温为25 ℃；进样量为10 μL。

表1　紫苏叶样品采集表

编号	产地	批号	编号	产地	批号
ZS01	广东省英德市	20180801	ZS11	广东省英德市	20180814
ZS02	广东省英德市	20180802	ZS12	广东省英德市	20180815
ZS03	广东省英德市	20180803	ZS13	广东省英德市	20180818
ZS04	广东省英德市	20180804	ZS14	广东省英德市	20180819
ZS05	安徽省太和县	20180807	ZS15	广东省英德市	20180820
ZS06	安徽省太和县	20180808	ZS16	河北省安国市	20180816
ZS07	安徽省太和县	20180809	ZS17	河北省安国市	20180817
ZS08	河北省安国市	20180901	ZS18	安徽省太和县	20181109
ZS09	河北省安国市	20180812	ZS19	安徽省太和县	20181110
ZS10	河北省安国市	20180813	ZS20	安徽省太和县	20181111

2.2　混合对照品溶液的制备

分别精密称取CA、SD、LD、AD、SC、LG、AG、RA对照品适量，置于同一50 mL容量瓶中，加50%甲醇溶解并稀释至刻度，超声（功率250 W，频率40 kHz，下同），摇匀，制成每1 mL含有CA、SD、LD、AD、SC、LG、AG、RA分别为0.10、0.21、0.16、0.29、0.28、0.15、0.10、0.35 mg的混合对照品溶液。

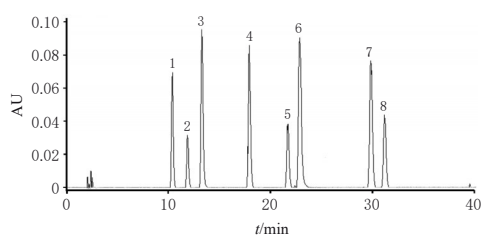
2.3　供试品溶液的制备

取本品粉末（过三号筛）约0.50 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入50%甲醇50 mL，称质量，超声处理30 min，取出，再次称质量，用50%甲醇补足减失的质量，摇匀，以13 000 r/min离心5 min，取上清，即得。

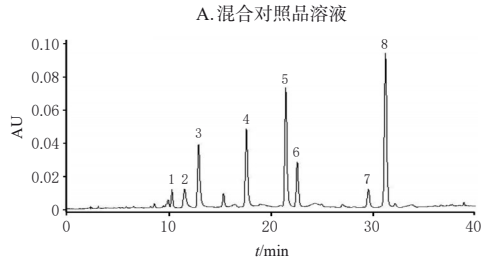
2.4　方法学考察

2.4.1　系统适应性试验

取按“2.2”“2.3”项下方法制备的混合对照品溶液、供试品溶液（编号ZS11）以及空白对照溶液（50%甲醇）各适量，按“2.1”项下色谱条件进样测定，记录色谱图，详见图1。由图1可知，在当前色谱条件下，各色谱峰的分离度均大于1.5，理论板数均大于5 000，供试品溶液色谱图中各色谱峰的出峰时间与混合对照品溶液一致，空白对照溶液（图略）无干扰。



A. 混合对照品溶液



B. 供试品溶液（编号ZS11）

1：CA；2：SD；3：LD；4：AD；5：SC；6：LG；7：AG；8：RA。

图1　混合对照品溶液及紫苏叶供试品溶液的HPLC图

2.4.2　线性关系考察

将“2.2”项下制得的混合对照品溶液，用50%甲醇分别稀释2、4、8、16、32、64倍，制得系列线性工作溶液。取系列线性工作溶液及“2.2”项下混合对照品溶液各适量，按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积。以每个成分的质量浓度（X）为横坐标、峰面积（Y）为纵坐标进行线性回归，得到其回归方程、相关系数（r）及线性范围，详见表2。表2结果显示，6种黄酮类及2种酚酸类成分在各自质量浓度范围内线性关系良好。

表2　SD等8种成分的线性关系考察结果

成分类别	成分	回归方程	r	线性范围/（μg/mL）
黄酮类	SD	Y=11 622X+26 669	0.999 0	3.22～205.80
	LD	Y=17 063X+13 240	0.999 8	2.45～156.80
	AD	Y=21 825X+90 833	0.999 0	4.59～294.00
	SC	Y=23 339X+52 385	0.999 7	4.30～275.10
	LG	Y=13 264X+7 977	0.999 8	2.34～150.00
	AG	Y=29 297X+15 290	0.999 7	1.56～100.00
酚酸类	CA	Y=53 205X+95 269	0.999 4	1.56～100.00
	RA	Y=22 547X+93 993	0.999 3	5.52～353.00

2.4.3　精密度试验

取同一批紫苏叶样品（编号ZS11），按“2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件连续进样6次，记录峰面积。结果显示，SC、CA、SD、LD、AD、LG、AG、RA峰面积的RSD分别为1.04%、0.70%、0.93%、0.80%、0.64%、0.94%、0.69%、0.63%（n=6），表明该方法的精密度良好。

2.4.4　稳定性试验

取紫苏叶样品（编号ZS11），按“2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件分别在室温下放置0、2、4、6、8、10 h时进样分析，记录峰面积。结果显示，SC、CA、SD、LD、AD、LG、AG、RA峰面积的RSD分别为0.89%、1.69%、1.68%、1.52%、0.75%、1.14%、0.93%、0.64%（n=6），表明供试品溶液在室温下放置10 h内稳定性良好。

2.4.5　重复性试验

取同一批紫苏叶样品适量（编号ZS11），共6份，分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积，以外标法计算样品含量。结果显示，SC、CA、SD、LD、AD、LG、AG、RA的平均含量分别为1.05、0.28、0.40、1.12、0.76、0.69、0.10、1.57 mg/g，RSD分别为2.41%、2.19%、1.51%、1.71%、1.09%、1.10%、1.77%、2.01%（n=6），表明该方法的重复性良好。

2.4.6　加样回收率试验

称取已知含量的紫苏叶药材共6份（编号ZS11），各0.25 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，加入相当于0.25 g样品中各成分含量100%的CA、SD、LD、AD、SC、LG、AG、RA对照品制成的混合对照品溶液，按“2.3”项下方法制备供试品溶液，再按“2.1”项下色谱条件进样分析，计算加样回收率。结果显示，上述8种成分的平均加样

回收率依次为95.60%、97.33%、97.91%、96.81%、98.34%、102.15%、99.66%、95.90%，RSD依次为0.72%、2.70%、1.67%、1.99%、1.69%、1.15%、1.44%、1.04%（n=6），表明该方法的准确度良好。

2.5 相对校正因子的测定

取“2.2”项下混合对照品溶液及“2.4.2”项下系列线性工作溶液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积。采用多点法测定校正因子，其中黄酮类成分以SC为内参物，计算其他5种黄酮的相对校正因子$f_{SD/SC}$、$f_{LD/SC}$、$f_{AD/SC}$、$f_{LG/SC}$、$f_{AG/SC}$；酚酸类成分以RA为内参物，计算CA的相对校正因子$f_{CA/RA}$。结果显示，$f_{SD/SC}$、$f_{LD/SC}$、$f_{AD/SC}$、$f_{LG/SC}$、$f_{AG/SC}$、$f_{CA/RA}$的平均值分别为0.506、0.717、0.976、0.544、1.258、0.590，RSD均小于3%（n=6），详见表3。

表3 多点法测定的相对校正因子（n=6）

序号	$f_{SD/SC}$	$f_{LD/SC}$	$f_{AD/SC}$	$f_{LG/SC}$	$f_{AG/SC}$	$f_{CA/RA}$
1	0.497	0.700	0.936	0.539	1.323	0.595
2	0.510	0.706	0.958	0.546	1.212	0.590
3	0.511	0.723	0.980	0.545	1.241	0.586
4	0.503	0.724	0.986	0.545	1.251	0.588
5	0.507	0.722	0.996	0.545	1.261	0.590
6	0.506	0.728	0.998	0.541	1.259	0.593
均值	0.506	0.717	0.976	0.544	1.258	0.590
RSD/%	1.01	1.58	2.48	0.52	2.91	0.55

2.6 耐用性考察

2.6.1 仪器和色谱柱考察

取“2.2”项下混合对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积，并分别计算2种色谱仪（Waters 2695、Agilent 1290型）以及3种色谱柱（Hedera ODS-2 C_{18}、Phenomenex Luna C_{18}、Boston Green ODS-C_{18}）下各成分的相对校正因子。结果显示，$f_{SD/SC}$、$f_{LD/SC}$、$f_{AD/SC}$、$f_{LG/SC}$、$f_{AG/SC}$、$f_{CA/RA}$的平均值分别为0.498、0.721、0.980、0.544、1.256、0.589，RSD均小于3%（n=3），表明使用不同仪器和色谱柱对相对校正因子无明显影响，详见表4。

表4 不同仪器和色谱柱对相对校正因子的影响（n=3）

色谱仪	色谱柱	$f_{SD/SC}$	$f_{LD/SC}$	$f_{AD/SC}$	$f_{LG/SC}$	$f_{AG/SC}$	$f_{CA/RA}$
Waters 2695	Hedera ODS-2 C_{18}	0.503	0.724	0.986	0.545	1.251	0.588
	Phenomenex Luna C_{18}	0.494	0.713	0.982	0.548	1.248	0.606
	Boston Green ODS C_{18}	0.510	0.736	0.985	0.543	1.263	0.569
Agilent 1290	Hedera ODS-2 C_{18}	0.493	0.715	0.978	0.538	1.243	0.590
	Phenomenex Luna C_{18}	0.490	0.701	0.974	0.544	1.248	0.599
	Boston Green ODS C_{18}	0.500	0.734	0.974	0.546	1.280	0.579
均值		0.498	0.721	0.980	0.544	1.256	0.589
RSD/%		1.49	1.86	0.54	0.63	1.10	2.27

2.6.2 柱温的考察

取“2.2”项下混合对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积，并分别计算不同柱温（20、25、30 ℃）下各成分的相对校正因子。结果显示，$f_{SD/SC}$、$f_{LD/SC}$、$f_{AD/SC}$、$f_{LG/SC}$、$f_{AG/SC}$、$f_{CA/RA}$在不同柱温下的平均值分别为0.503、0.721、0.980、0.546、1.261、2.313，RSD分别为1.08%、0.49%、0.73%、1.75%、2.35%、1.15%（n=3），表明上述不同柱温对相对校正因子无明显影响。

2.6.3 流速的考察

取“2.2”项下对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积，并分别计算不同流速（0.9、1.0、1.1 mL/min）下各成分的相对校正因子。结果显示，$f_{SD/SC}$、$f_{LD/SC}$、$f_{AD/SC}$、$f_{LG/SC}$、$f_{AG/SC}$、$f_{CA/RA}$在不同流速下的平均值分别为0.493、0.726、0.969、0.537、1.241、2.378，RSD分别为1.72%、0.84%、1.50%、1.31%、1.01%、0.36%（n=3），表明上述不同流速对相对校正因子无明显影响。

2.6.4 甲酸体积分数的考察

取“2.2”项下对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，记录峰面积，并分别计算不同甲酸体积分数（0.15%、0.20%、0.25%）下各成分的相对校正因子。结果显示，$f_{SD/SC}$、$f_{LD/SC}$、$f_{AD/SC}$、$f_{LG/SC}$、$f_{AG/SC}$、$f_{CA/RA}$在不同甲酸体积分数下的平均值分别为0.500、0.722、0.977、0.546、1.253、2.386，RSD分别为1.19%、2.45%、2.56%、1.81%、2.63%、0.56%（n=3），表明上述不同甲酸体积分数对相对校正因子无明显影响。

2.7 待测成分色谱峰的定位

使用不同仪器和不同色谱柱，记录待测成分（SD、LD、AD、LG、AG、CA）的保留时间，分别以SC、RA为内参物，采用相对保留时间（relative retention time，RRT）法定位待测成分的色谱峰，考察不同仪器和色谱柱对RRT的影响。结果显示，SD、LD、AD、LG、AG、CA的RRT平均值为0.537、0.610、0.820、1.037、1.390、0.355，RSD分别为1.64%、1.04%、1.13%、3.03%、1.47%、2.88%（n=6），表明采用不同仪器及不同色谱柱时，各成分的RRT波动较小，详见表5。

表5 不同仪器和色谱柱对RRT的影响（n=6）

色谱仪	色谱柱	$RRT_{SD/SC}$	$RRT_{LD/SC}$	$RRT_{AD/SC}$	$RRT_{LG/SC}$	$RRT_{AG/SC}$	$RRT_{CA/RA}$
Waters 2695	Hedera ODS-2 C_{18}	0.543	0.606	0.824	1.055	1.385	0.358
	Phenomenex Luna C_{18}	0.535	0.612	0.808	1.045	1.364	0.355
	Boston Green ODS C_{18}	0.539	0.609	0.825	1.051	1.386	0.352
Agilent 1290	Hedera ODS-2 C_{18}	0.546	0.620	0.821	1.049	1.390	0.373
	Phenomenex Luna C_{18}	0.521	0.611	0.809	0.973	1.388	0.346
	Boston Green ODS C_{18}	0.540	0.601	0.831	1.047	1.427	0.345
均值		0.537	0.610	0.820	1.037	1.390	0.355
RSD/%		1.64	1.04	1.13	3.03	1.47	2.88

2.8 样品含量测定

取20批不同产地紫苏叶药材，分别按“2.3”项下方法制备供试品溶液，按“2.1”项下色谱条件进样分析，采用外标法（external standard method，ESM）和QAMS法分别计算样品中8种成分的含量，并以相对误差（relative error，RE）进行评价。各批样品平行测定2次，结果以平均值展示，详见表6。表6结果显示，采用ESM与QAMS法测得的各成分含量差异较小，除ZS12批次中的CA外，其余各批次样品中各成分的RE均在±5%内，表明QAMS法测得的含量结果较为准确。

表6　紫苏叶中SC等8种成分的含量测定结果（mg/g，n=2）

序号	样品编号	SC	SD			LD			AD			LG			AG			RA	CA		
			ESM	QAMS法	RE/%	ESM	QAMS法	RE/%	ESM	QAMS法	RE/%	ESM	QAMS法	RE/%	ESM	QAMS法	RE/%		ESM	QAMS法	RE/%
1	ZS01	1.359	0.721	0.715	−0.8	1.186	1.147	−3.3	0.898	0.897	−0.1	0.787	0.783	−0.5	0.115	0.120	3.7	1.892	0.309	0.298	−3.7
2	ZS02	1.257	0.688	0.685	−0.5	1.177	1.138	−3.3	0.872	0.874	0.2	0.737	0.735	−0.3	0.107	0.112	4.4	1.895	0.336	0.321	−4.4
3	ZS03	0.926	0.467	0.482	3.2	0.887	0.862	−2.7	0.785	0.796	1.4	0.555	0.556	0.3	0.107	0.112	4.5	1.575	0.270	0.258	−4.4
4	ZS04	0.874	0.509	0.521	2.2	1.560	1.503	−3.7	1.605	1.530	−4.7	0.511	0.514	0.6	0.110	0.115	4.2	2.240	0.226	0.220	−3.0
5	ZS05	1.235	0.474	0.488	2.9	1.000	0.970	−3.0	0.836	0.841	0.6	0.490	0.493	0.7	0.108	0.113	4.4	3.769	0.319	0.314	−1.8
6	ZS06	1.810	0.519	0.530	2.1	1.055	1.023	−3.1	0.919	0.917	−0.3	0.514	0.517	0.6	0.105	0.110	4.8	4.278	0.315	0.315	−0.2
7	ZS07	1.739	0.505	0.516	2.2	1.068	1.035	−3.1	0.941	0.935	−0.6	0.505	0.508	0.6	0.104	0.109	4.8	3.863	0.434	0.425	−2.1
8	ZS08	1.506	0.697	0.693	−0.6	0.665	0.652	−2.1	0.829	0.835	0.7	0.146	0.147	0.9	0.025[a]	0.025	1.8	2.265	0.170	0.164	−3.6
9	ZS09	1.314	0.495	0.507	2.5	0.832	0.810	−2.6	0.926	0.922	−0.4	0.414	0.419	1.2	0.110	0.114	4.2	3.787	0.269	0.266	−1.2
10	ZS10	1.364	0.502	0.514	2.4	0.861	0.838	−2.7	0.947	0.942	−0.6	0.429	0.434	1.1	0.116	0.120	3.6	3.881	0.275	0.273	−0.6
11	ZS11	1.017	0.400	0.420	5.0	1.121	1.085	−3.2	0.758	0.772	1.8	0.693	0.692	−0.2	0.103	0.108	4.9	1.552	0.268	0.254	−5.0
12	ZS12	0.711	0.263	0.269	2.3	0.782	0.763	−2.5	0.725	0.742	2.4	0.422	0.427	1.2	0.054	0.053	−2.9	0.582	0.108[a]	0.093	−14.1
13	ZS13	0.644	0.225	0.234	4.5	0.506	0.500	−1.2	0.293	0.296	0.9	0.449	0.454	1.0	0.055	0.057	1.8	2.892	0.247	0.243	−1.9
14	ZS14	1.214	0.470	0.484	3.1	1.002	0.972	−3.0	0.876	0.877	0.1	0.836	0.831	−0.6	0.151	0.153	1.2	1.791	0.253	0.241	−4.7
15	ZS15	0.275	0.074	0.077	3.1	0.046[a]	0.046	−0.8	0.263	0.264	0.3	0.010[a]	0.010	4.3	0.012[a]	0.012	3.2	0.994	0.191	0.176	−7.7
16	ZS16	1.154	0.632	0.633	0.2	0.544	0.537	−1.4	0.637	0.663	4.1	0.087	0.089	3.1	0.026[a]	0.027	2.5	1.946	0.210	0.201	−4.1
17	ZS17	1.118	0.633	0.634	0.2	0.555	0.547	−1.5	0.637	0.664	4.2	0.086	0.089	3.2	0.022[a]	0.023	2.9	1.748	0.197	0.190	−3.7
18	ZS18	0.709	0.180	0.184	1.8	0.805	0.784	−2.5	0.659	0.683	3.6	0.548	0.550	0.4	0.133	0.136	2.2	3.479	0.423	0.414	−2.2
19	ZS19	0.776	0.218	0.227	3.8	0.891	0.867	−2.8	0.774	0.787	1.6	0.553	0.555	0.4	0.137	0.139	2.1	3.696	0.445	0.445	0.0
20	ZS20	0.790	0.210	0.210	0.3	0.892	0.868	−2.8	0.779	0.790	1.5	0.557	0.559	0.3	0.137	0.140	2.0	3.549	0.453	0.445	−1.7

a：超出标准曲线浓度范围。

2.9　不同产地紫苏叶中黄酮及酚酸类成分含量比较

按照上述QAMS法对不同产地紫苏叶药材中8种成分的含量进行计算，结果见表7。由表7可以看出，不同产地紫苏叶中6种黄酮类成分的含量存在一定差异，而上述黄酮类成分的总含量无明显差异；不同产地紫苏叶中RA、CA含量以及2种酚酸类成分的总含量具有明显差异，且安徽省太和县产药材中酚酸类成分含量明显高于其余两产地药材。

表7　不同产地紫苏叶中SC等8种成分的含量比较（$\bar{x}\pm s$）

类型	成分	广东省英德市（n=9）	安徽省太和县（n=6）	河北省安国市（n=5）
黄酮类	SC	0.92±0.34	1.18±0.50	1.29±0.16
	SD	0.43±0.21	0.36±0.17	0.60±0.08
	LD	0.89±0.42	0.92±0.10	0.68±0.14
	AD	0.78±0.37	0.83±0.09	0.81±0.14
	LG	0.56±0.25[a]	0.53±0.03	0.24±0.18[a]
	AG	0.09±0.04	0.12±0.02[b]	0.06±0.05[b]
	总体	3.67±1.48	3.94±0.81	3.67±0.54
酚酸类	RA	1.71±0.67[ac]	3.77±0.29[c]	2.73±1.03[a]
	CA	0.23±0.07[c]	0.39±0.06[bc]	0.22±0.05[b]
	总体	1.95±0.71[c]	4.12±0.25[bc]	2.94±1.07[b]

a：广东省英德市与河北省安国市的药材相比，P<0.01；b：安徽省太和县与河北省安国市的药材相比，P<0.01；c：广东省英德市与安徽省太和县的药材相比，P<0.01。

3　讨论

3.1　分析方法的建立与优化

本研究对紫苏叶药材样品进行了全波长（190～400 nm）扫描，结果显示，主要色谱峰在330 nm波长条件下的峰面积较大，且色谱图中基线平稳、分离度较好，可以满足定量分析的要求。因此，最终选择330 nm作为检测波长。

本研究对供试品溶液的提取方式（回流和超声）、提取溶剂甲醇的体积分数（25%、50%、75%、100%）、加药量（0.25、0.50、0.75、1.00 g）、提取时间（15、30、45 min）均进行了考察。结果显示，使用“2.3”项下供试品溶液的制备方法，实验条件更易控制，色谱图的均一性更好，紫苏叶药材中的有效成分能最大程度地被提取出来。

3.2　内参物的选择

根据文献报道，对内参物的选择应为对照品易得且在样品中含量较高的有效成分[14]。本研究选择SC与RA为内参物，主要考虑到这2种化合物在紫苏叶药材中的含量较高，且其性质稳定、易于获得，并能够代表紫苏叶药材中两大类成分，且不同类别成分选择不同内参物，其相对校正因子将更准确。以SC及RA为内参物时，各成分相对校正因子的RSD均小于3%，且不同仪器和色谱柱、不同柱温、不同流速、不同甲酸体积分数对相对校正因子的影响较小（RSD均小于3%），表明选择SC和RA作为内参物建立的QAMS法可行。

3.3　紫苏叶质量标准修订建议

QAMS法不仅可在对照品不易获得的情况下实现对药材的整体质量控制，还能降低多组分含量测定的成本[15]。现行紫苏叶质量标准含量测定项仅对挥发油含

量进行了限定，事实上在紫苏叶水煎液中挥发性成分相对较少，而主要为黄酮及酚酸类成分[16]，因此仅以挥发油类成分无法全面地评价该药材质量。本研究发现，紫苏叶中存在多种黄酮及酚酸类成分，且不同产地或批次的药材成分含量波动较大，其中来自河北省安国市的ZS08、ZS16、ZS17共3个批次紫苏叶药材中AG的含量、来自广东省英德市的ZS12紫苏叶药材中CA的含量以及ZS15紫苏叶药材中LD、LG、AG的含量均低于标准曲线浓度范围，对于这些成分含量暂用ESM进行计算。

本研究结果显示，不同产地紫苏叶药材中黄酮及酚酸类成分含量存在明显差异，这可能会直接影响到紫苏叶药材的整体质量及临床疗效。因此，建议在紫苏叶药材质量标准的修订过程中，考虑对SD、LD、AD、LG、AG、SC 6个黄酮类成分及CA、RA 2个酚酸类成分的总含量分别建立最低含量下限；同时，还应进一步对紫苏叶药材不同采收期、干燥条件、储藏环境等影响质量的关键因素进行充分考察，以期完善紫苏叶药材的质量标准。

综上所述，本研究在前期研究及文献报道的基础上，首次建立了以SC及RA为内参物，同步测定SD、LD、AD、LG、AG等6种黄酮类及CA等2种酚酸成分的QAMS法，该方法检测方便、准确度高且成本较低，与ESM所得结果无明显差异，可用于紫苏叶药材的质量控制。不同产地紫苏叶药材中黄酮及酚酸类成分的含量存在一定差异，该结论可为紫苏叶药材产地的优选提供参考依据，并促进紫苏叶资源的开发和临床合理应用。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典：一部[M]. 2020年版. 北京：中国医药科技出版社，2020：354.

[2] 陆敏婷，刘鹏，沈奇，等. 紫苏的食药价值及栽培历史考证[J]. 广州中医药大学学报，2024，41(10)：2815-2822.

[3] 唐飞，冯五文，敖慧. 紫苏叶药理作用研究进展[J]. 成都中医药大学学报，2021，44(4)：93-97，112.

[4] 孙江怡，龙勇益，刘世琦，等. 紫苏叶花色苷的提取工艺优化及其抗氧化和抑菌活性[J]. 食品工业科技，2023，44(19)：191-198.

[5] YUAN J Q，LI X Y，FANG N，et al. *Perilla* leaf extract (PLE) attenuates COPD airway inflammation via the TLR4/syk/PKC/NF-κB pathway *in vivo* and *in vitro*[J]. Front Pharmacol，2022，12：763624.

[6] 张良琦，李文姣，肖美凤. 紫苏不同部位活性成分比较及其药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志，2023，48(24)：6551-6571.

[7] 张敏. 紫苏迷迭香酸的提取纯化及抑菌性研究[D]. 太原：山西大学，2021.

[8] 赵茜，刘倩，邹素兰. HPLC测定不同来源紫苏不同部位木犀草素与芹菜素的含量[J]. 中华中医药杂志，2015，30(8)：3004-3006.

[9] 廖楠汐，石德志，肖莲莲，等. 基于指标成分测定及指纹图谱模式识别的紫苏叶产地差异性研究[J]. 中草药，2024，55(18)：6355-6362.

[10] 盘昌杰，石雨彤，罗晓艳，等. 咖啡酸及其衍生物在糖尿病及其并发症中作用的研究进展[J]. 中南药学，2025，23(2)：484-489.

[11] 王馨平，聂黎行，康帅，等. 紫苏叶的化学成分、药理活性和质量控制研究进展[J]. 中国药事，2023，37(10)：1193-1212.

[12] SONG J Z，YIU H H W，QIAO C F，et al. Chemical comparison and classification of Radix Astragali by determination of isoflavonoids and astragalosides[J]. J Pharm Biomed Anal，2008，47(2)：399-406.

[13] SONG J Z，MO S F，YIP Y K，et al. Development of microwave-assisted extraction for the simultaneous determination of isoflavonoids and saponins in Radix Astragali by high performance liquid chromatography[J]. J Sep Sci，2007，30(6)：819-824.

[14] 张蕊，冯晓川，徐延昭，等. 不同产地伸筋草的质量评价[J]. 中国药房，2024，35(22)：2732-2738.

[15] 王佳佳，李希，冯建安，等. HPLC指纹图谱结合一测多评法控制马齿苋药材质量[J]. 中国药房，2023，34(9)：1081-1085.

[16] 史月姣，王瑛，朱惠照，等. LC-MS快速分析紫苏水煎液中的主要化学成分[J]. 药物分析杂志，2015，35(8)：1417-1423.

（收稿日期：2024-12-15　修回日期：2025-05-19）

（编辑：胡晓霖）