

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

廖楠汐^{1,2}, 石德志^{1,2}, 肖莲莲^{1,2}, 刘华兰^{1,2}, 解雨欣^{1,2}, 杨正清^{1,2}, 赵勉^{1,2}, 郑超^{1,2}, 朱喻波^{1,2}, 胡杨^{1,2}, 程建明^{1,2*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046

2. 江苏省经典名方工程研究中心, 江苏 南京 210046

摘要:目的 对不同产地的紫苏 *Perilla frutescens* 叶进行研究, 建立紫苏叶的指纹图谱并测定野黄芩苷、迷迭香酸含量, 为紫苏叶的质量控制提供参考。方法 收集 9 个产地共 36 批紫苏叶药材, 以乙腈-0.2%甲酸溶液为流动相, 建立紫苏叶中野黄芩苷、迷迭香酸的 HPLC 含量测定方法, 对 36 批紫苏叶进行含量测定, 同时建立紫苏叶指纹图谱并进行相似度评价; 采用微科盟生科云、SIMCA 14.1 等工具进行聚类分析 (cluster analysis, CA)、主成分分析 (principal component analysis, PCA)、偏最小二乘法判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)。结果 以野黄芩苷为参照峰建立了紫苏叶的指纹图谱, 共标定了 9 个共有峰。36 批紫苏叶与对照图谱相比较, 相似度均大于 0.900, 聚类分析可将同一产地样品聚为一类; 样品的 9 个共有峰变量投影重要性 (VIP) 值显示, 其中 7 个成分可作为评价紫苏叶差异的指标。样品中野黄芩苷、迷迭香酸的含量测定方法学验证结果良好, 36 批紫苏叶中野黄芩苷、迷迭香酸质量分数分别为 1.911%~4.968%、2.278%~10.257%, 不同产地的样品含量差异较大。结论 建立的指纹图谱和含量测定方法稳定性较高, 分离度良好, 含量测定结果结合指纹图谱化学模式识别分析结果表明不同产地的紫苏叶中主要成分差异较明显, 可为紫苏叶的质量评价提供依据。

关键词: 紫苏叶; 指纹图谱; 聚类分析; 主成分分析; 偏最小二乘法判别分析; 野黄芩苷; 迷迭香酸

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)18-6355-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.18.025

Regional differences of *Perillae Folium* based on index component determination and fingerprint pattern recognition

LIAO Nanxi^{1,2}, SHI Dezhi^{1,2}, XIAO Lianlian^{1,2}, LIU Hualan^{1,2}, XIE Yuxin^{1,2}, YANG Zhengqing^{1,2}, ZHAO Mian^{1,2}, ZHENG Chao^{1,2}, ZHU Yubo^{1,2}, HU Yang^{1,2}, CHENG Jianming^{1,2}

1. School of Pharmacy, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jiangsu Classical Famous Prescription Engineering Research Center, Nanjing 210046, China

Abstract: Objective To establish the fingerprint of Zisuye (*Perillae Folium*) from different regions and determine the content of scutellarin and rosmarinic acid, so as to provide reference for the quality control of *Perillae Folium*. **Methods** A total of 36 batches of *Perillae Folium* from nine producing areas were collected. HPLC was used to determine the contents of scutellarin and rosmarinic acid in *Perillae Folium* with acetonitrile-0.2% formic acid as the mobile phase. Cluster analysis, principal component analysis and partial least squares discriminant analysis were carried out by using Wekemo Bioincloud and SIMCA 14.1 tools. **Results** The fingerprint of *Perillae Folium* was established with scutellarin as the reference peak, and nine common peaks were calibrated. Compared with the control map, the similarity of 36 batches of *Perillae Folium* was more than 0.900. The samples from the same producing area could be clustered into one group by cluster analysis, and the VIP values of nine common peaks of the samples showed that seven components could be used as indexes to evaluate the difference of *Perillae Folium*. The content of scutellarin and rosmarinic acid in 36 batches of *Perillae Folium* was 1.911%—4.968% and 2.278%—10.257%, respectively. **Conclusion** The fingerprint and content determination method established in this study has high stability and good separation. The content determination results combined with fingerprint chemical pattern recognition analysis showed that the main components of *Perillae Folium* from different regions were significantly different, which could provide a basis for the quality evaluation of *Perillae Folium*.

收稿日期: 2024-01-03

基金项目: 江苏省高等学校基础科学 (自然科学) 研究重大项目 (23KJA350003); 国家重点研发计划 (2023YFC2308200); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81803391)

作者简介: 廖楠汐, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。E-mail: 20210928@njucm.edu.cn

*通信作者: 程建明, 研究员, 博士生导师, 从事中药药剂学研究。E-mail: 320320@njucm.edu.cn

Key words: *Perillae Folium*; fingerprint; cluster analysis; principal component analysis; partial least squares discriminant analysis; scutellarin; rosmarinic acid

紫苏叶是唇形科植物紫苏 *Perilla frutescens* (L.) Britt. 的干燥叶, 又称赤苏叶、香苏叶等^[1-2]。紫苏叶作为我国卫生部首批颁布的药食同源的中药之一, 具有食用和药用的双重价值^[3-4]。紫苏味辛性温, 归肺、脾经, 具解表散寒、行气和胃的功效^[5-6], 在临床上多用于治疗风寒、脾胃气滞证等。现代研究表明, 紫苏叶主要成分有主要含有含有黄酮类、酚酸类、花色苷类、挥发油类等成分^[7], 具有抗氧化^[8-9]、抗菌抗炎^[10]、抗肿瘤^[11]、抗抑郁^[12]等多种功效。

中药的有效成分是发挥药效的物质基础, 且成分复杂多样^[13], 而产地、环境、栽培方式以及炮制加工等多种因素都会影响其质量, 致使其品质参差不齐^[14]。尽管紫苏叶在临床中应用广泛, 在半夏厚朴汤、香苏散、苏子降气汤等经典名方中亦有应用, 且在全国大部分地区均有种植, 但目前关于其质量标准的规定较为有限, 《中国药典》2020年版仅对紫苏叶中挥发油含量做出规定, 多个省、市的中药材质量标准、中药饮片炮制规范亦未对其有更多的含量测定规定。因此, 需要建立科学、适当, 并且特色的质量评价方法及质量标准, 对紫苏叶进行全面可行的评价及质量控制。本研究通过选取 9 个产地 36 批的紫苏叶进行研究, 建立紫苏叶的指纹图谱并进行相似度评价, 同时采用聚类分析、主成分分析、偏最小二乘法判别分析等分析方法进行分析, 并选取了其中含

量较高的成分作为含量测定的指标性成分, 为紫苏叶的质量评价提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260 型高效液相色谱仪(美国安捷伦公司); FA1104 型电子分析天平(上海天平仪器厂); YPZ002 型电子天平(上海越平科学仪器有限公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); FW100 型高速粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)

1.2 试药

野黄芩苷(中国食品药品检定研究院, 批 110842-202010, 质量分数 91.5%)、迷迭香酸(上海源叶生物科技有限公司, 批号 Y06A9K67402, 质量分数 98%)、木犀草素-7-O-二葡萄糖苷酸(成都埃法生物科技有限公司, 批号 AFDC0601, 质量分数 98%)、芹菜素-7-O-二葡萄糖苷酸(成都埃法生物科技有限公司, 批号 AFDC0603, 质量分数 98%)、紫苏叶对照药材(中国食品药品检定研究院, 批号 120914-201712)。甲酸、乙腈为色谱级, 甲酸(批号 2113581)购自上海麦克林生化科技有限公司, 乙腈购自美国 Tedia 公司, 甲醇为分析纯, 购自无锡市亚盛化工有限公司。

2023 年 7、8 月收集共计 36 批次紫苏叶样品, 来源见表 1, 经南京中医药大学严辉教授鉴定为唇形科植物紫苏 *P. frutescens* (L.) Britt. 的干燥叶。

表 1 36 批紫苏叶样品信息

Table 1 Information on 36 batches of *Perilla Folium* samples

编号	产地	编号	产地	编号	产地
S1	福建龙岩	S13	广东黄花	S25	广东韶关
S2	福建龙岩	S14	广东黄花	S26	广东韶关
S3	福建龙岩	S15	广东黄花	S27	广东韶关
S4	福建龙岩	S16	广东黄花	S28	广东韶关
S5	河南驻马店	S17	河北安国	S29	四川乐山
S6	河南驻马店	S18	河北安国	S30	四川乐山
S7	河南驻马店	S19	河北安国	S31	四川乐山
S8	河南驻马店	S20	河北安国	S32	四川乐山
S9	安徽太和	S21	江苏镇江	S33	广西玉林
S10	安徽太和	S22	江苏镇江	S34	广西玉林
S11	安徽太和	S23	江苏镇江	S35	广西玉林
S12	安徽太和	S24	江苏镇江	S36	广西玉林

2 方法与结果

2.1 混合对照品溶液制备

分别精密称取对照品野黄芩苷、迷迭香酸适量，置于量瓶中，用50%甲醇定容，配制成含野黄芩苷0.268 mg/mL、迷迭香酸0.377 mg/mL的混合对照品母液，摇匀，备用。

另精密称取对照品木犀草素-7-O-二葡萄糖苷酸、芹菜素-7-O-二葡萄糖苷酸适量，置于量瓶中，加入野黄芩苷与迷迭香酸的混合对照品母液适量，用50%甲醇定容，配制成含木犀草素-7-O-二葡萄糖苷酸0.145 mg/mL、芹菜素-7-O-二葡萄糖苷酸0.160 mg/mL、野黄芩苷0.188 mg/mL、迷迭香酸0.064 mg/mL的混合对照品溶液，摇匀，备用。

2.2 供试品溶液制备

36批不同产地的紫苏叶，挑去粗梗后，将紫苏叶粉碎后过3号筛（50目）。精密称取0.5 g，置于具塞锥形瓶中，精密加入50%甲醇50 mL，称定质量，密塞，超声提取30 min（400 W、250 Hz），放凉至室温后补足损失质量，滤过，取续滤液，经0.22 μm微孔滤膜滤过，取续滤液，即得供试品溶液。

2.3 色谱条件

Agilent Eclipse XDB-Phenyl 色谱柱（250 mm × 4.6 mm，5 μm）；流动相为乙腈（A）-0.2%甲酸水溶液（B），梯度洗脱（0~3 min，88%~85% B；3~12 min，85%~84% B；12~30 min，84%~78% B；30~38 min，78%~64% B；38~50 min，64%~30% B）。体积流量为1.0 mL/min，柱温30 °C，进样体积10 μL，检测波长330 nm。

2.4 指纹图谱分析

2.4.1 精密度试验 取紫苏叶供试品溶液（S17），按照“2.3”项下色谱条件连续进样6次，以6号色谱峰野黄芩苷为参照峰（S），计算得到各共有峰相对保留时间及相对峰面积的RSD均小于3.0%，表明仪器精密度良好。

2.4.2 稳定性试验 取紫苏叶供试品溶液（S17），分别于0、2、4、6、12、18、24 h进样测定，以6号色谱峰野黄芩苷为参照峰（S），计算得到各共有峰相对保留时间及相对峰面积的RSD均小于3.0%，表明供试品溶液在24 h内稳定性良好。

2.4.3 重复性试验 取同一批紫苏叶供试品（S17），精密称定，平行制备6份，按照“2.3”项下色谱条件进行检测，计算得到各共有峰的相对保留时间及相对峰面积RSD均小于3.0%。

2.4.4 紫苏叶指纹图谱建立及相似度评价 取每批次的紫苏叶样品溶液，按照“2.3”项下的色谱条件进样，将液相数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统（2012版）”，以S11样品色谱图为参照图谱，进行多点校正及峰匹配后，建立多批次紫苏叶样品的叠加图谱（图1），并生成对照图谱R（图2），共确定9个共有峰。将对照品溶液。以6号色谱峰野黄芩苷为参照峰（S），计算得到各共有峰相对保留时间的RSD均小于3.0%，相对峰面积的RSD在20.0%~55.0%，表明不同产地样品的差异较大。36批紫苏叶样品与对照图谱的相似度见表2，除S21批次紫苏叶外，其余35批次的样品图谱相似度均高于0.950，表明不同产地的紫苏叶色谱图相似度良好，主要化学成分组成较为相似。

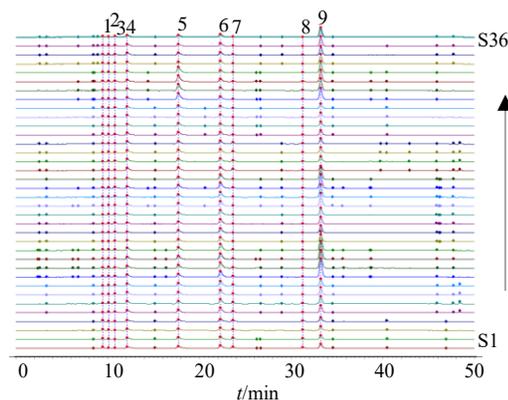
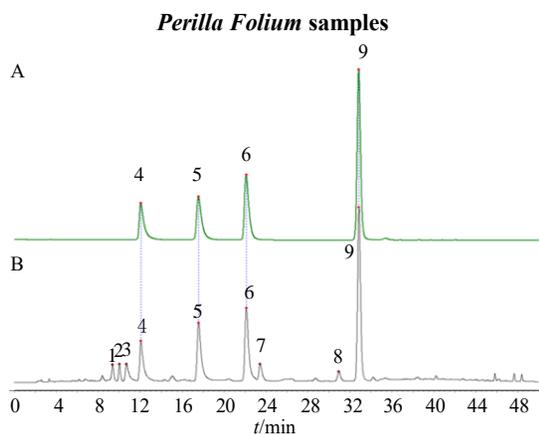


图1 36批紫苏叶样品 HPLC 叠加指纹图谱

Fig. 1 HPLC superimposed fingerprint of 36 batches of



4-木犀草素-7-O-二葡萄糖苷酸；5-芹菜素-7-O-二葡萄糖苷酸；6-野黄芩苷；9-迷迭香酸。

4-luteolin-7-O-diglucuronide；5-apigenin-7-O-diglucuronide；6-scutellarin；9-rosmarinic acid.

图2 混合对照品溶液 (A) 与紫苏叶对照图谱 (B)

Fig. 2 Mixed reference solution (A) and *Perilla Folium* reference map (B)

表 2 36 批紫苏叶指纹图谱相似度评价结果

Table 2 Results of similarity evaluation of 36 batches of *Perilla Folium* fingerprints

编号	相似度	编号	相似度	编号	相似度
S1	0.961	S13	0.979	S25	0.960
S2	0.960	S14	0.981	S26	0.958
S3	0.960	S15	0.982	S27	0.959
S4	0.960	S16	0.978	S28	0.957
S5	0.980	S17	0.988	S29	0.961
S6	0.980	S18	0.985	S30	0.962
S7	0.979	S19	0.986	S31	0.965
S8	0.978	S20	0.984	S32	0.961
S9	0.977	S21	0.936	S33	0.981
S10	0.977	S22	0.959	S34	0.986
S11	0.978	S23	0.961	S35	0.982
S12	0.977	S24	0.967	S36	0.984

2.5 化学模式识别分析

2.5.1 聚类分析 (cluster analysis, CA) 将 36 批紫苏叶 HPLC 图谱中 9 个共有峰峰面积标准化处理, 处理结果导入微科盟生科云工具 (<https://bioincloud.tech/task-meta>), 采用组间联系法, 进行 CA, 结果见图 3。结果显示, 同一产地的样品均归为一类; 当样品聚为 2 个类别时, S5~S12、S17~

S24、S29~S32 产地为河北安国、安徽太和、四川乐山、河南驻马店、江苏镇江的样品聚为一类, S1~S4、S13~S16、S25~S28、S33~S36 产地为福建龙岩、广东黄花、广东韶关、广西玉林的样品聚为一类。不同产地的紫苏叶主要成分组成相似, 在含量上有较大差异, 差异可能与产地的气候特点、生态环境、地理位置等有关联。

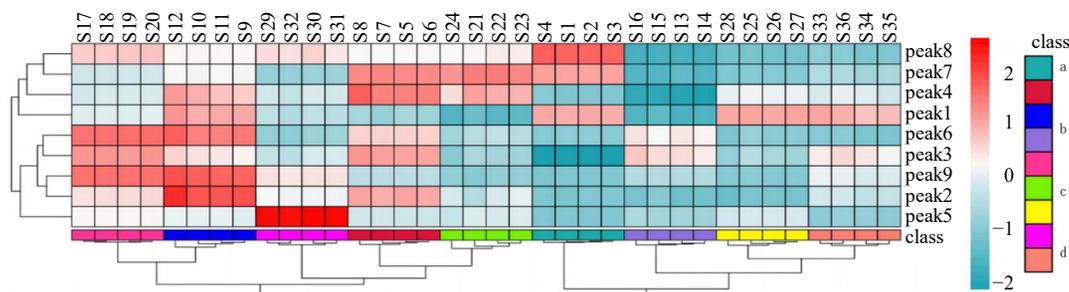


图 3 36 批紫苏叶的 CA 热图
Fig. 3 CA heat map of 36 batches of *Perilla Folium*

2.5.2 主成分分析 (principal component analysis, PCA) 将 36 批紫苏叶样品的 9 个共有峰峰面积为变量导入 SIMCA 14.1 软件中, 进行 PCA, 建立 PCA 模型, 得分见图 4。结果显示 36 批紫苏叶药材产地相同的批次均能归在一类, 与 CA 结果相同。同时, 由图可知所有样品可分为 4 大类, 第 1 类为 S5~S12、S17~S20, 第 2 类为 S21~S36, 而 S13~S16、S1~S4 分别分为第 3、4 类, 其中第 1、3、4 类互相之间距离均较远, 表明这 3 类样品成分特征差异较大。

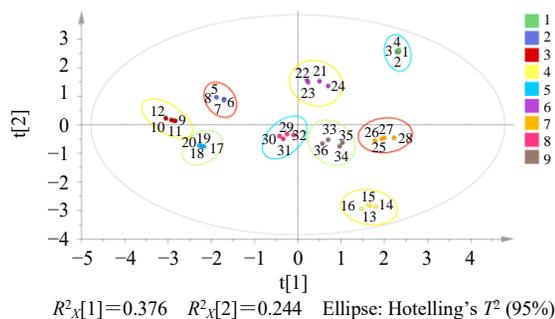


图 4 36 批紫苏叶 PCA 得分图
Fig. 4 PCA score plot of 36 batches of *Perilla Folium*

2.5.3 偏最小二乘法判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 将 36 批紫苏叶样品的 9 个共有峰峰面积为变量导入 SIMCA 14.1 软件中进行 PLS-DA 分析, 得到自变量拟合指数 $R^2_X=1.000$, 因变量拟合指数 $R^2_Y=0.957$, 模型预测参数 $Q^2=0.957$, 可知模型稳定性和拟合结果较好。设置置换检验次数为 200 次, 分析得到交叉验证结果, 如图 5 所示, R^2 回归线与 Y 轴的截距为 0.106 (<0.30), 说明该模型可靠; Q^2 回归线与 Y 轴的截距为 -0.693 (<0), 说明该模型不存在过度拟合, 能用于分析紫苏叶样品 HPLC 图谱间的差异。提取 9 个共有峰变量重要性投影值 (variable importance projection, VIP) 并进行排序, 结果见图 6。结果显示峰 3、6 (野黄芩苷)、1、9 (迷迭香酸)、2、4、5 的 VIP 值均大于 1, 表示这 7 个成分可作为评价紫苏叶质量的差异性成分。

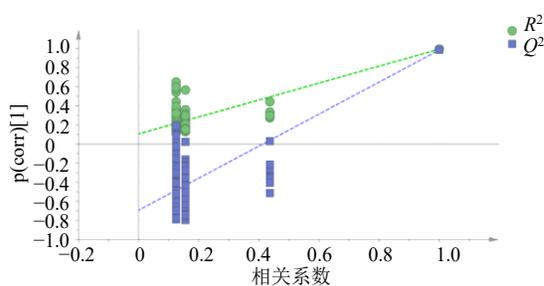


图 5 PLS-DA 交叉验证结果

Fig. 5 Permutation test of PLS-DA model

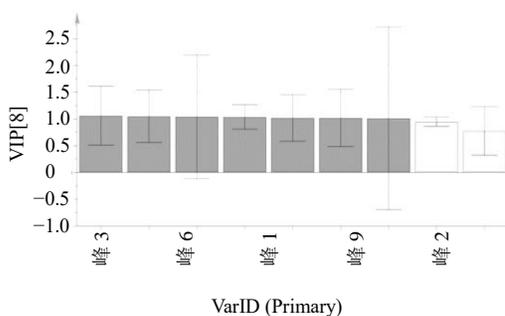


图 6 36 批紫苏叶药材 9 个共有峰的 VIP 值

Fig. 6 VIP values of nine common peaks of 36 batches of *Perilla Folium*

2.6 有效成分测定

2.6.1 色谱条件 色谱条件同“2.3”项。

2.6.2 对照品溶液制备 取“2.1”项下野黄芩苷、迷迭香酸混合对照品母液 2.5 mL, 定容至 15 mL, 作为含量测定时所用混合对照品溶液。

2.6.3 供试品溶液的制备 同“2.2”项。

2.6.4 回归方程的绘制 精密吸取“2.1”项下的野黄芩苷、迷迭香酸混合对照品母液, 分别制备 7 份不同浓度的混合对照品溶液, 通过“2.3”项的色谱条件进行测定, 以混合对照品质量浓度为横坐标 (X), 峰面积为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线并进行线性回归。野黄芩苷 $Y=140\,598X-108\,243$, $R^2=1.000$, 线性范围为 $0.009\sim0.268$ mg/mL; 迷迭香酸 $Y=136\,423X-101\,300$, $R^2=1.000$, 线性范围为 $0.013\sim0.377$ mg/mL。

2.6.5 精密度试验 取紫苏叶 (S17) 粉末, 参照“2.2”项下供试品制备方法制备供试品溶液, 按照“2.3”项下色谱条件连续进样 6 次, 计算得到野黄芩苷与迷迭香酸峰面积的 RSD 均小于 3.0%, 表明仪器精密度良好。

2.6.6 稳定性试验 取紫苏叶 (S17) 粉末, 参照“2.2”项下方法制备供试品溶液, 分别于 0、2、4、6、12、18、24 h 进样测定, 计算得到野黄芩苷与迷迭香酸峰面积的 RSD 均小于 3.0%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.6.7 重复性试验 取紫苏叶 (S17) 粉末, 精密称定, 平行制备 6 份, 参照“2.2”项下方法制备供试品溶液, 按照“2.3”项下色谱条件进行检测, 计算得到野黄芩苷与迷迭香酸峰面积的 RSD 均小于 3.0%, 表明该方法重复性良好。

2.6.8 加样回收率试验 取紫苏叶 (S17) 粉末, 精密称定 0.25 g, 置于锥形瓶中, 平行称取 6 份样品, 在 6 份样品中分别加入“2.1”项下野黄芩苷、迷迭香酸混合对照品溶液 4.25 mL, 再各加入 50% 甲醇 45.75 mL, 称定质量, 超声提取 30 min 后放凉, 用 50% 甲醇补足减失质量, 摇匀, 10 000 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 微孔滤膜, 依照“2.3”项液相条件进行测定, 野黄芩苷与迷迭香酸的加样回收率分别为 97.67%、95.95%, RSD 分别为 1.33%、0.86%。

2.6.9 多批次紫苏叶含量测定 将 S1~S36 样品参照“2.2”项制备供试品溶液, 同时添加紫苏叶对照药材, 参照“2.2”项制备对照药材溶液, 按“2.3”项色谱条件进行含量测定, 结果见表 3。

含量结果表明, 不同产地, 不同批次之间的紫苏叶之间含量有较大差异, 其中, 以福建龙岩和四川乐山 2 个产地的迷迭香酸、野黄芩苷平均含量最低, 以江苏镇江和安徽太和 2 个产地的迷迭香酸、野黄芩苷平均含量最高; 同时, 本研究还发现, 同一产地不同批次之间的紫苏叶含量也存在比较大的

表 3 紫苏叶中野黄芩苷、迷迭香酸的测定结果

Table 3 Results of determination of scutellarin and rosmarinic acid in *Perilla Folium*

编号	野黄芩苷/(mg·g ⁻¹)	迷迭香酸/(mg·g ⁻¹)	编号	野黄芩苷/(mg·g ⁻¹)	迷迭香酸/(mg·g ⁻¹)
S1	2.073	2.303	S20	3.930	6.872
S2	2.123	2.299	S21	4.790	9.299
S3	2.104	2.295	S22	4.806	9.334
S4	2.035	2.278	S23	4.844	9.395
S5	3.767	4.042	S24	4.831	9.381
S6	3.763	4.027	S25	2.607	2.434
S7	3.767	4.023	S26	2.741	2.884
S8	3.766	4.031	S27	2.642	2.888
S9	4.720	9.778	S28	2.403	2.841
S10	4.629	9.827	S29	2.352	2.593
S11	4.645	9.782	S30	2.098	2.480
S12	4.968	10.257	S31	2.066	2.514
S13	3.551	3.811	S32	1.911	2.440
S14	3.463	3.843	S33	2.172	6.424
S15	3.425	3.783	S34	2.314	6.515
S16	3.645	3.827	S35	2.348	6.484
S17	4.049	7.115	S36	2.155	6.335
S18	3.959	6.792	对照药材	2.718	2.588
S19	4.417	7.645			

差异,其中,四川乐山、广东韶关、河北安国 3 个产地的不同批次紫苏叶中迷迭香酸的含量差异较大,迷迭香酸质量分数的 RSD 值均超过 5%,河北安国、广东韶光 2 个产地的不同批次紫苏叶中野黄芩苷的含量差异较大,野黄芩苷含量的 RSD 值也均超过 5%。在紫苏叶对照药材中,亦能检测到野黄芩苷、迷迭香酸,上述结果提示,不同产地紫苏叶药材因所处的气候、土壤、地势地貌等环境不同,在化学成分的种类及含量上产生了很大变化,即生成了特有成分与共有成分,且同一产地不同批次的紫苏叶亦存在含量差异,提示紫苏叶的质量不仅与其产地密切相关,同时还可能受到采收期、种质资源、田间管理等因素影响。

3 讨论

紫苏叶不仅在食品中应用广泛^[18-20],亦可作药用,在许多方剂里均含有紫苏叶^[21-22]。紫苏叶对生长环境并未有严格要求,因此在市场上紫苏叶产地颇多。药材的质量与生长的自然条件有密切关系,不同地域的土壤、水质、气候、雨量等自然条件会影响药用植物的生长、开花、结果等生态过程,导致不同产地的药材间存在成分种类及含量的差异,

从而影响最终临床药效^[23]。

相关文献指出,紫苏叶有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抗血栓等药理作用,发挥药理作用的主要活性成分以挥发油类、黄酮类、酚酸类为主^[7],在《中国药典》2020 年版中仅规定了紫苏叶的挥发油含量,并未对其他化学成分含量做出规定。参考其他药材,常用的含量测定方法有滴定法^[24-25]、分光光度法^[26-27]、HPLC^[28-29]、UPLC^[30-31]等,然而滴定法、分光光度法灵敏度较差,测量过程中易产生误差;在正式实验前曾采用 UPLC 对紫苏叶样品进行分析,发现不能很好地分离主要成分的特征峰,因此,建立了以 HPLC 为检测手段、以野黄芩苷与迷迭香酸为指标成分的含量测定方法,以期为严格把控紫苏叶的质量,保证临床药效稳定提供参考。

本研究建立了紫苏叶的 HPLC 指纹图谱,共标定了 9 个共有峰,将 36 批样品的 HPLC 图谱与所生成的指纹图谱进行相似度比较,其中 35 批样品的 HPLC 图谱相似度均在 0.95 以上,表明不同产地的紫苏叶主要成分在种类上相似,仅从相似度评价结果上不能很好地地区分样品产地。化学模式识别分析结果发现,现有的 36 批次紫苏叶的主要成分种类相

似,但在成分含量上差异较大,可根据含量差异对样品进行产地区分,结合9个共有峰的VIP值分析,其中7个成分可作为区分产地差异的指标。

在《中国药典》2020年版中,紫苏叶含量测定项下以挥发油含量来评价其质量,但紫苏子和紫苏梗均是以迷迭香酸为指标性成分,用以评价其质量。从收集的9个产地共36批紫苏叶的指纹图谱中,可以明显地观察到芹菜素-7-O-二葡萄糖苷酸(峰5)、野黄芩苷(峰6)、迷迭香酸(峰9)的分离度较好,响应值较高;但由于芹菜素-7-O-二葡萄糖苷酸(峰5)的离散程度较高,因此不考虑将其作为指标成分。紫苏叶作为一种食药物质,主要含有黄酮类、酚酸类、花色苷类、挥发油类成分^[15-16],迷迭香酸作为酚酸类化合物,在紫苏叶中含量丰富,且已被《中国药典》2020年版选为紫苏子和紫苏梗的主要指标性成分,同时,野黄芩苷也是紫苏叶中黄酮类成分的代表,且有文献报道,迷迭香酸、野黄芩苷有抗炎、抗肿瘤、抗氧化等药理作用^[7,17],与紫苏叶的传统功效相契合。因此,基于上述分析和考虑,本研究选择野黄芩苷和迷迭香酸作为2个主要的指标成分,用于评价紫苏叶的质量。这2个成分不仅反映了紫苏叶中重要的化学特性,而且与紫苏叶的药理活性密切相关,为全面评估紫苏叶的质量提供了科学依据。以野黄芩苷、迷迭香酸为指标,结合提取效率,对提取溶剂、提取时间、料液比进行了初步考察,确定了上述提取条件以及色谱条件。本研究对紫苏叶中含量较多的野黄芩苷和迷迭香酸进行了含量测定方法的确立,并通过方法学验证该色谱条件可行。计算36批样品含量测定结果的平均值,并以均值下浮30%的结果作为含量测定下限,可规定紫苏叶中野黄芩苷质量分数不低于2.241 mg/g,迷迭香酸质量分数不低于3.734 mg/g,可为紫苏叶质量评价提供参考依据。

对36批样品的含量分析,安徽太和(S9~S12)、江苏镇江(S21~S24)2个产地样品的野黄芩苷、迷迭香酸含量均远高于其他产地样品的含量,这2地也是紫苏叶的主产区^[2],可认为安徽、江苏产出紫苏叶较优;河北安国(S17~S20)、河南驻马店(S5~S8)、广西玉林(S33~S36)3地次之,其他产地样品的含量较相近,可见产地对紫苏叶中成分含量有较大影响。同时,不同产地的样品迷迭香酸含量差异较明显,产自福建龙岩、广东黄花、广东韶关、四川乐山的样品迷迭香酸含量均较低,产自

河南驻马店、安徽太和、河北安国、江苏镇江、广西玉林的样品迷迭香酸含量较高,提示迷迭香酸含量或受南北差异影响;而广西与广东相邻,样品含量却差异较大,表明影响成分含量的不仅有地域差异。后续可对紫苏叶进行更深入的研究,结合采收期、当地气候、种植环境等影响因素,进一步分析比较各地紫苏叶质量情况。

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: 353.
- [2] 钱锦秀, 孟武威, 刘晖晖, 等. 经典名方中厚朴的本草考证 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(10): 306-317.
- [3] 唐雪阳, 谢果珍, 周融融, 等. 药食同源的发展与应用概况 [J]. 中国现代中药, 2020, 22(9): 1428-1433.
- [4] 王宇宁, 樊晖, 梁克利. 紫苏叶化学成分研究及抗炎活性初步评价 [J]. 中国药业, 2021, 30(21): 55-58.
- [5] 胡献国. 药食两用说紫苏 [J]. 家庭中医药, 2016, 23(4): 74-75.
- [6] 亢倩丽, 李壮壮, 范珊珊, 等. 基于 UPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 的紫苏叶与紫苏梗化学成分分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(13): 156-162.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 王垚, 高维浩, 宋源, 等. 紫苏提取物药理作用的研究进展 [J]. 吉林医药学院学报, 2022, 43(6): 455-457.
- [10] 张琛武, 郭佳琪, 郭宝林. 紫苏中酚酸类成分研究进展 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(11): 1651-1658.
- [11] 朱双全. 紫苏化学成分及药理学研究进展概要 [J]. 生物化工, 2018, 4(2): 148-149.
- [12] 张婉萍, 陈婕, 王恒, 等. 紫苏叶的活性成分及生物活性研究进展 [J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(20): 361-368.
- [13] 栾笑, 吕世盟, 孙鹏, 等. 中药有效成分调控小胶质细胞改善缺血性脑卒中作用机制研究进展 [J]. 中医药信息, 2023, 40(11): 71-81.
- [14] 孟宪生, 罗曦, 贾梦楠, 等. 中药质量评价研究现状及“质-量”双标评价方法探讨 [J]. 中草药, 2023, 54(22): 7281-7286.
- [15] 梁晶春, 梁洁, 黄团心, 等. 紫苏质量标志物预测分析 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(4): 131-134.
- [16] 刘振杰, 丘海芯, 甘金月, 等. 紫苏叶 HPLC 指纹图谱建立及其抗流感病毒活性谱效关系研究 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 287-296.

- [17] 曹雯, 张文娟, 潘金凤, 等. 迷迭香酸药理作用的研究进展 [J]. 广西中医药, 2019, 42(1): 54-58.
- [18] 李孟昊. 紫苏风味保健醋制备及生物活性研究 [D]. 太原: 中北大学, 2023.
- [19] 杨盛兴, 朱文慧, 李娜. 一种茯苓紫苏复合保健饮料的研制 [J]. 农产品加工, 2022(15): 6-9.
- [20] 郑哲浩. 紫苏精油席夫碱类生物涂膜制备及其在大黄鱼冷鲜中的应用 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2022.
- [21] 曾军, 谯明鸣, 彭明红, 等. 通宣理肺颗粒中紫苏叶挥发油掺伪桂皮油的检测 [J]. 食品与药品, 2024, 26(1): 63-66.
- [22] 曾彩玲. 基于数据挖掘的半夏厚朴汤方证研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2023.
- [23] 赵露颖, 施梦瑶, 张巧艳, 等. 道地药材品质特征及形成机制研究进展 [J]. 中草药, 2022, 53(21): 6931-6947.
- [24] 石雪萍. 莲心生物碱的提取工艺优化 [J]. 江苏调味副食品, 2023, 40(3): 31-33.
- [25] 姚隆丹, 王雅婷, 张玺雅, 等. EDTA 滴定法测定芎芷石膏汤中钙离子含量 [J]. 山西医科大学学报, 2023, 54(4): 515-520.
- [26] 杨务彬. 兔儿伞总黄酮提取工艺的优化及体外活性研究 [J]. 云南民族大学学报 (自然科学版), 2024, 3: 75.
- [27] 查兰松, 敖茂宏. 不同干燥方法对束花石斛的质量和抗氧化活性的影响 [J]. 浙江农业科学, 2024, 65(2): 443-448.
- [28] 乔晓莉, 曹宁宁, 王清果, 等. 疏肝止痛片的 HPLC 指纹图谱建立及多成分含量测定研究 [J]. 中药材, 2024, 47(2): 415-419.
- [29] 黄蕾, 郑丽慧, 黄凤娇, 等. 多成分定量结合指纹图谱评价羊眼花药材质量 [J]. 中药材, 2024, 47(2): 420-424.
- [30] 涂爱国, 孜拉来·吐尔洪, 李梅, 等. 基于 UPLC 法测定建昌帮姜制厚朴主成分含量变化差异 [J]. 光明中医, 2024, 39(6): 1114-1117.
- [31] 傅咏梅, 卢伟玲, 王欢, 等. 复方罗布麻颗粒 UPLC 特征图谱及 6 个成分含量测定 [J]. 中国现代中药, 2024, 26(3): 26-35.

[责任编辑 时圣明]