

基于指纹图谱和化学计量法评价不同产地番石榴叶的质量

李丹, 冯靖雯, 陈鸿平, 刘友平, 胡媛*

成都中医药大学西南特色中药资源国家重点实验室 中药标准化教育部重点实验室, 成都 611137

摘要: 番石榴叶为桃金娘科植物番石榴 (*Psidium guajava* Linn.) 的干燥叶, 主要分布于广东、广西、福建、海南、四川及云南等地。本研究通过高效液相色谱法 (HPLC) 指纹图谱对不同产地的番石榴叶进行质量评价。采用相似度评价、聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘法-判别分析对指纹图谱数据进行统计分析。结果表明 31 批番石榴叶样品确定了 14 个共有峰, 其相似度处于 0.720~0.928, 其中相似度小于 0.8 的番石榴叶样品主要产自广西、广东, 相似度大于 0.9 的番石榴叶样品主要产自四川、云南; 聚类分析及主成分分析提示番石榴叶样品可根据产地大致分为两类, 包括沿海地区 (广西、广东、福建、海南) 和西南地区 (四川、云南), 不同产地番石榴叶药材质量存在差异; 正交偏最小二乘法-判别分析结果表明 9、4、12、11、13、3、10 号峰是引起番石榴叶产地质量差异的主要成分, 并鉴定出 9 号峰为鞣花酸, 11 号峰为异槲皮苷, 13 号峰为番石榴苷, 12 号峰为瑞诺苷, 10 号峰为金丝桃苷。定量分析鞣花酸、异槲皮苷、番石榴苷、瑞诺苷、金丝桃苷发现西南地区的 5 种成分总量高于沿海地区, 具有显著性差异。本研究建立的番石榴叶 HPLC 指纹图谱结合化学计量法的方法简便准确, 可为番石榴叶质量控制和品质评价提供参考依据。

关键词: 番石榴叶; 质量评价; 指纹图谱; 高效液相色谱 (HPLC); 产地

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)6-0899-14

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.6.001

The quality evaluation of *Psidium Guajavae* Folium from different areas based on fingerprints and chemometrics

LI Dan, FENG Jing-wen, CHEN Hong-ping, LIU You-ping, HU Yuan*

State Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Resources of Southwest China, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Chinese Medicine Standardization Ministry of Education, Chengdu 611137, China

Abstract: *Psidium Guajavae* Folium (PGF) are dry leaves of *Psidium guajava* Linn. A plant of Myrtle family, mainly distributed in Guangdong, Guangxi, Fujian, Hainan, Sichuan and Yunnan. In this study, the high performance liquid chromatography (HPLC) fingerprint was used to evaluate the quality of guava leaves from different habitats. Similarity evaluation, cluster analysis, principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis were adopted to analyze fingerprint data. The results showed that 31 batches of PGF have 14 common peaks with similarity ranged from 0.720 to 0.928, among which PGF with a similarity less than 0.8 were mainly produced in Guangxi and Guangdong, while those with a similarity more than 0.9 were mainly produced in Sichuan and Yunnan. According to the cluster analysis and principal component analysis, the samples of PGF could be roughly divided into two types in terms of the origin, namely coastal areas (Guangxi, Guangdong, Fujian, Hainan) and southwest areas (Sichuan, Yunnan), with differences in the quality of PGF from different origins. Orthogonal partial least squares method was used to screen out 7 components with quality differences, including ellagic acid, isoquercetin, guaijaverin, reynoutrin and hyperoside. According to the quantitative analysis of ellagic acid, isoquercetin, guaijaverin, reynoutrin and hyperoside, the total amount of the five components in southwest China outweighed that in coastal areas, which demonstrates a significant difference. In this study, the method combining the HPLC fingerprint of PGF with chemical measurement was simple and accurate, which could provide references for the quality control and evaluation of PGF.

Key words: *Psidium Guajavae* Folium; quality evaluation; fingerprints; high performance liquid chromatography (HPLC); place of origin

收稿日期: 2020-12-04

接受日期: 2021-03-17

基金项目: 国重·双一流·中药质量保障提升创新科研团(030041011)

* 通信作者 Tel: 86-28-61800158; E-mail: huyuan@cdutcm.edu.cn

番石榴叶为桃金娘科植物番石榴 (*Psidium guajava* Linn.) 的干燥叶, 主要分布于广东、广西、四川、云南、福建及台湾^[1] 等地, 具有燥湿健脾, 清热解毒、涩肠止泻、消炎止血之功效^[2-8]。现代研究表明, 番石榴叶的主要有效成分包括黄酮类(番石榴苷、异槲皮苷、金丝桃苷、瑞诺苷、篇蓄苷、槲皮素)、三萜类, 具有降血糖、抗氧化、抑菌等作用^[9-12]。

目前, 番石榴叶未被收录在 2020 版《中国药典》, 但被《广西中药材标准》(1990 年版)^[4]、《广东省中药材标准第一册》(2004 年版)^[3]、《湖南省中药材标准》(2009 年版)^[6]、湖南省中药饮片炮制规范(2010 版)^[8]、《广西壮药质量标准》(第二卷 2011 年版)^[5]、《福建省中药饮片炮制规范》(2012 版)^[2]、《四川省中药饮片炮制规范》(2015 年版)^[7] 收载, 是地方标准收载药材。上述标准仅对番石榴叶中槲皮素进行了定性的薄层鉴定。关于番石榴叶药材质量方面的研究分析方法主要以大类成分含量及多成分定量为主^[13-15], 难以全面反映药材质量。同时, 番石榴作为重要的经济果木, 资源丰富, 但产地不一, 亦难以控制番石榴叶的质量。综上, 番石榴叶的质量标准和质量评价研究尚不完善, 并亟待解决。

中药指纹图谱是一种评价中药材以及中药制剂半成品质量的真实性、优良性和稳定性的综合、量化的鉴定手段, 现多用于评价中药材质量^[16-19]。课题组前期建立了番石榴叶黄酮类成分一测多评法^[20], 为番石榴叶质量控制提供了一定的基础。本研究以番石榴叶为研究对象, 收集了 31 批不同产地

的番石榴叶样品进行指纹图谱研究, 采用相似度评价、聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘法-判别分析研究番石榴叶质量与产地的相关性, 为番石榴叶的质量评价及质量标准研究提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪; Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm; Agilent 公司); BN3000 型万分之一电子天平 (上海精密科学仪器有限公司); CP2000 型十万分子一电子天平 (德国 Sartorius 公司); UPTUO-I-1000TE 优普系列超纯水机 (成都纯水科技有限公司); SG8200HDT 型超声波清洗器 (上海冠特超声仪器有限公司)。

1.2 材料

鞣花酸 (批号: CHB190126、成都克洛玛生物科技有限公司); 金丝桃苷 (批号: CHB190107、成都克洛玛生物科技有限公司); 异槲皮苷 (批号: CHB180628, 成都克洛玛生物科技有限公司); 瑞诺苷 (批号: CHB200621, 成都克洛玛生物科技有限公司)、番石榴苷 (批号: CHB190126, 成都克洛玛生物科技有限公司); 篇蓄苷 (批号: CHB180802, 成都克洛玛生物科技有限公司); 乙腈 (色谱纯, 美国 TE-DIA 有限公司); 甲醇; 无水乙醇 (分析纯, 成都市科龙化工试剂厂)。

1.3 药材

收集不同产地番石榴叶 31 批, 经成都中医药大学严铸云教授鉴定为桃金娘科番石榴属植物番石榴 (*Psidium guajava* Linn.) 的叶。详细信息见表 1。

表 1 不同产地番石榴叶样品信息

Table 1 Psidii Guajavae Folium sample information from different areas

| 编号 No. | 产地 Production place | 批号 Batch No. | 编号 No. | 产地 Production place | 批号 Batch No. |
|-----------|------------------------|-----------------|-----------|------------------------|-----------------|
| S1 | 广西玉林玉州区大塘镇加垌村 | 191215 | S17 | 广东揭阳市揭东区新亨镇溢溪村 | 191123 |
| S2 | 广西玉林玉州区大塘镇加垌村 | 191216 | S18 | 广东揭阳市揭东区 | 191120 |
| S3 | 广西玉林玉州区大塘镇加垌村 | 191217 | S19 | 福建漳州长泰岩溪镇上蔡村溪坂社 | 191128 |
| S4 | 广西玉林玉州区大塘镇加垌村 | 191218 | S20 | 福建漳州长泰岩溪镇上蔡村溪坂社 | 191129 |
| S5 | 广西崇左市扶绥县新宁镇 | 191110 | S21 | 海南海口澄迈县桥头镇文斗村 | 191219 |
| S6 | 广西南宁武鸣县 | 191118 | S22 | 海南海口澄迈县桥头镇文斗村 | 191220 |
| S7 | 广西百色靖西幸福花园 | 191127 | S23 | 海南海口澄迈县桥头镇文斗村 | 191221 |
| S8 | 广西百色右江 | 191120 | S24 | 四川攀枝花米易撒莲 | 191009 |
| S9 | 广西北海 | 191111 | S25 | 四川攀枝花米易撒莲 | 191010 |
| S10 | 广西北海合浦县公馆镇 | 191112 | S26 | 四川凉山德昌德州镇 | 191115 |

续表 1 (Continued Tab. 1)

| 编号 No. | 产地 Production place | 批号 Batch No. | 编号 No. | 产地 Production place | 批号 Batch No. |
|-----------|------------------------|-----------------|-----------|------------------------|-----------------|
| S11 | 广东广州市增城区碧桂园豪园 | 191119 | S27 | 四川凉山德昌乐跃 | 191013 |
| S12 | 广东广州市增城区碧桂园豪园 | 191120 | S28 | 云南丽江华坪 | 191011 |
| S13 | 广东广州市增城区碧桂园豪园 | 191121 | S29 | 云南丽江华坪 | 191012 |
| S14 | 广东信宜东镇镇十腰村 | 191214 | S30 | 云南丽江华坪荣将镇 | 191106 |
| S15 | 广东汕头澄海隆都 | 191122 | S31 | 云南丽江华坪荣将镇 | 191107 |
| S16 | 广东信宜东镇镇十腰村 | 191213 | | | |

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 (A)-0.2% 磷酸水溶液 (B); 梯度洗脱 (0 ~ 2 min, 5% A; 2 ~ 15 min, 5% → 13.5% A; 15 ~ 40 min, 13.5% A; 40 ~ 65 min, 13.5% → 21.3% A; 65 ~ 70 min, 21.3% → 5% A); 进样量: 10 μL; 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C; 检测波长: 254 nm。

2.2 对照品溶液制备

分别精密称定鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷、蒟蒻苷对照品适量, 加甲醇制成含 19.35 μg/mL 鞣花酸、82.40 μg/mL 金丝桃苷、82.40 μg/mL 异槲皮苷、37.60 μg/mL 瑞诺苷、

75.12 μg/mL 番石榴苷、81.52 μg/mL 蒟蒻苷混合对照品, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

精密称定各产地番石榴叶粉末约 1.0 g (过四号筛), 置于锥形瓶中, 加入 60% 乙醇 25 mL, 超声 30 min, 滤过, 用 0.22 μm 微孔滤膜, 即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 精密度试验

取混合对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件分别平行测定 6 次, 测得各共有峰相对保留时间的 RSD 均 ≤ 0.155%, 相对峰面积均 ≤ 0.255%, 表明仪器精密度良好 (见表 2、3)。

表 2 混合对照品共有峰的相对保留时间

Table 2 The relative retention time of the common peak of the mixed reference substance

| 峰号 Peak No. | 相对保留时间 Relative retention time | | | | | | 平均值 Mean | RSD (%) |
|----------------|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| 9 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 |
| 10 | 1.084 | 1.084 | 1.084 | 1.083 | 1.083 | 1.083 | 1.084 | 0.030 |
| 11 | 1.172 | 1.172 | 1.171 | 1.170 | 1.171 | 1.170 | 1.171 | 0.067 |
| 12 | 1.334 | 1.335 | 1.335 | 1.335 | 1.334 | 1.334 | 1.335 | 0.032 |
| 13 | 1.413 | 1.414 | 1.416 | 1.416 | 1.415 | 1.415 | 1.415 | 0.087 |
| 14 | 1.513 | 1.515 | 1.518 | 1.519 | 1.518 | 1.517 | 1.517 | 0.150 |

表 3 混合对照品共有峰的相对峰面积

Table 3 The relative peak area of the common peak of the mixed reference substance

| 峰号 Peak No. | 相对峰面积 Relative peak area | | | | | | 平均值 Mean | RSD (%) |
|----------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| 9 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 |
| 10 | 1.034 | 1.034 | 1.034 | 1.035 | 1.035 | 1.035 | 1.035 | 0.052 |
| 11 | 1.050 | 1.050 | 1.051 | 1.051 | 1.052 | 1.052 | 1.051 | 0.071 |

续表 3(Continued Tab. 3)

| 峰号 Peak No. | 相对峰面积 Relative peak area | | | | | | 平均值 Mean | RSD(%) |
|----------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| 12 | 0.648 | 0.648 | 0.648 | 0.648 | 0.649 | 0.649 | 0.648 | 0.068 |
| 13 | 0.991 | 0.990 | 0.989 | 0.990 | 0.992 | 0.991 | 0.991 | 0.091 |
| 14 | 1.101 | 1.098 | 1.096 | 1.094 | 1.095 | 1.095 | 1.096 | 0.255 |

2.4.2 重复性试验

取样品 S24 适量,按“2.3”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件,测得各共有

峰相对保留时间的 RSD 均 $\leq 0.952\%$,相对峰面积均 $\leq 4.732\%$ (见表 4、5)。

表 4 番石榴叶药材样品 S24 HPLC 图谱共有峰相对保留时间(重复性)

Table 4 The relative retention time (repeatability) of the common peak in the S24 HPLC spectrum of Psidii Guajavae Folium

| 峰号 Peak No. | 相对保留时间 Relative retention time | | | | | | 平均值 Mean | RSD(%) |
|----------------|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| 1 | 0.169 | 0.167 | 0.167 | 0.167 | 0.167 | 0.168 | 0.168 | 0.405 |
| 2 | 0.279 | 0.278 | 0.278 | 0.278 | 0.276 | 0.276 | 0.278 | 0.423 |
| 3 | 0.320 | 0.318 | 0.320 | 0.319 | 0.317 | 0.316 | 0.318 | 0.464 |
| 4 | 0.343 | 0.342 | 0.343 | 0.342 | 0.340 | 0.339 | 0.342 | 0.464 |
| 5 | 0.449 | 0.439 | 0.448 | 0.447 | 0.447 | 0.447 | 0.446 | 0.819 |
| 6 | 0.476 | 0.463 | 0.474 | 0.473 | 0.474 | 0.473 | 0.472 | 0.952 |
| 7 | 0.501 | 0.498 | 0.500 | 0.499 | 0.499 | 0.498 | 0.499 | 0.228 |
| 8 | 0.655 | 0.652 | 0.653 | 0.653 | 0.654 | 0.649 | 0.653 | 0.307 |
| 9 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 |
| 10 | 1.085 | 1.084 | 1.084 | 1.083 | 1.082 | 1.066 | 1.081 | 0.682 |
| 11 | 1.183 | 1.181 | 1.180 | 1.180 | 1.179 | 1.157 | 1.177 | 0.828 |
| 12 | 1.339 | 1.332 | 1.333 | 1.332 | 1.333 | 1.315 | 1.331 | 0.618 |
| 13 | 1.419 | 1.409 | 1.411 | 1.411 | 1.413 | 1.400 | 1.410 | 0.438 |
| 14 | 1.521 | 1.507 | 1.512 | 1.510 | 1.515 | 1.507 | 1.512 | 0.342 |

表 5 番石榴叶药材样品 S24HPLC 图谱共有峰相对峰面积(重复性)

Table 5 The relative peak area (repeatability) of the common peaks in the S24 HPLC spectrum of Psidii Guajavae Folium

| 峰号 Peak No. | 相对峰面积 Relative peak area | | | | | | 平均值 Mean | RSD(%) |
|----------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| 1 | 0.110 | 0.108 | 0.110 | 0.106 | 0.106 | 0.109 | 0.108 | 1.596 |
| 2 | 0.142 | 0.139 | 0.142 | 0.138 | 0.137 | 0.129 | 0.138 | 3.486 |
| 3 | 0.102 | 0.095 | 0.097 | 0.094 | 0.092 | 0.089 | 0.095 | 4.539 |
| 4 | 0.092 | 0.088 | 0.090 | 0.087 | 0.085 | 0.087 | 0.088 | 2.859 |
| 5 | 0.045 | 0.043 | 0.043 | 0.040 | 0.041 | 0.041 | 0.042 | 4.379 |
| 6 | 0.211 | 0.200 | 0.201 | 0.189 | 0.185 | 0.194 | 0.197 | 4.732 |

续表 5 (Continued Tab. 5)

| 峰号 Peak No. | 相对峰面积 Relative peak area | | | | | | 平均值 Mean | RSD(%) |
|----------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| 7 | 0.776 | 0.753 | 0.782 | 0.752 | 0.719 | 0.740 | 0.754 | 3.053 |
| 8 | 0.042 | 0.039 | 0.039 | 0.037 | 0.037 | 0.039 | 0.039 | 4.570 |
| 9 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 |
| 10 | 0.564 | 0.549 | 0.559 | 0.539 | 0.543 | 0.549 | 0.550 | 1.715 |
| 11 | 0.887 | 0.863 | 0.877 | 0.848 | 0.823 | 0.846 | 0.857 | 2.707 |
| 12 | 0.306 | 0.297 | 0.304 | 0.294 | 0.289 | 0.283 | 0.296 | 2.946 |
| 13 | 0.769 | 0.748 | 0.767 | 0.737 | 0.741 | 0.734 | 0.749 | 2.001 |
| 14 | 0.807 | 0.788 | 0.799 | 0.785 | 0.801 | 0.780 | 0.793 | 1.315 |

2.4.3 稳定性试验

取样品 S24 适量,按“2.3”项下方法制备供试品溶液,分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样,按“2.1”

项下色谱条件,测得各共有峰相对保留时间的 RSD 均 $\leq 1.867\%$,相对峰面积均 $\leq 4.918\%$ (见表 6、7)。

表 6 番石榴叶药材样品 S24 HPLC 图谱共有峰相对保留时间(稳定性)

Table 6 The relative retention time (stability) of the common peaks of the S24 HPLC spectrum of Psidii Guajavae Folium

| 峰号 Peak No. | 相对保留时间 Relative retention time | | | | | | | 平均值 Mean | RSD(%) |
|----------------|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------|
| | 0 h | 2 h | 4 h | 6 h | 8 h | 10 h | 12 h | | |
| 1 | 0.166 | 0.167 | 0.167 | 0.169 | 0.167 | 0.166 | 0.167 | 0.167 | 0.709 |
| 2 | 0.276 | 0.277 | 0.277 | 0.263 | 0.276 | 0.276 | 0.278 | 0.275 | 1.867 |
| 3 | 0.316 | 0.317 | 0.318 | 0.320 | 0.316 | 0.317 | 0.320 | 0.318 | 0.577 |
| 4 | 0.340 | 0.340 | 0.341 | 0.343 | 0.340 | 0.340 | 0.343 | 0.341 | 0.450 |
| 5 | 0.443 | 0.444 | 0.446 | 0.449 | 0.443 | 0.445 | 0.448 | 0.446 | 0.519 |
| 6 | 0.469 | 0.470 | 0.472 | 0.476 | 0.464 | 0.471 | 0.474 | 0.471 | 0.825 |
| 7 | 0.494 | 0.495 | 0.497 | 0.501 | 0.494 | 0.496 | 0.500 | 0.497 | 0.540 |
| 8 | 0.649 | 0.650 | 0.651 | 0.654 | 0.649 | 0.649 | 0.653 | 0.651 | 0.294 |
| 9 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 |
| 10 | 1.183 | 1.173 | 1.182 | 1.179 | 1.181 | 1.183 | 1.180 | 1.180 | 0.300 |
| 11 | 1.183 | 1.173 | 1.182 | 1.179 | 1.181 | 1.183 | 1.180 | 1.180 | 0.300 |
| 12 | 1.331 | 1.321 | 1.333 | 1.333 | 1.328 | 1.334 | 1.333 | 1.330 | 0.351 |
| 13 | 1.405 | 1.398 | 1.409 | 1.412 | 1.402 | 1.410 | 1.411 | 1.407 | 0.378 |
| 14 | 1.501 | 1.497 | 1.507 | 1.514 | 1.498 | 1.508 | 1.512 | 1.505 | 0.448 |

表 7 番石榴叶药材样品 S24HPLC 图谱共有峰相对峰面积(稳定性)

Table 7 The relative peak area (stability) of the common peaks in the S24 HPLC spectrum of Psidii Guajavae Folium

| 峰号 Peak No. | 相对峰面积 Relative peak area | | | | | | | 平均值 Mean | RSD(%) |
|----------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------|
| | 0 h | 2 h | 4 h | 6 h | 8 h | 10 h | 12 h | | |
| 1 | 0.107 | 0.108 | 0.107 | 0.110 | 0.107 | 0.107 | 0.110 | 0.108 | 1.419 |

续表 7 (Continued Tab. 7)

| 峰号 Peak No. | 相对峰面积 Relative peak area | | | | | | | | 平均值 Mean | RSD(%) |
|----------------|--------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|--------|
| | 0 h | 2 h | 4 h | 6 h | 8 h | 10 h | 12 h | | | |
| 2 | 0.142 | 0.142 | 0.139 | 0.144 | 0.140 | 0.140 | 0.142 | 0.141 | 1.168 | |
| 3 | 0.101 | 0.101 | 0.100 | 0.103 | 0.096 | 0.097 | 0.097 | 0.099 | 2.661 | |
| 4 | 0.047 | 0.047 | 0.046 | 0.043 | 0.045 | 0.043 | 0.043 | 0.045 | 3.428 | |
| 5 | 0.091 | 0.092 | 0.091 | 0.094 | 0.088 | 0.089 | 0.090 | 0.091 | 1.949 | |
| 6 | 0.235 | 0.232 | 0.226 | 0.225 | 0.213 | 0.209 | 0.217 | 0.222 | 4.337 | |
| 7 | 0.784 | 0.785 | 0.777 | 0.791 | 0.764 | 0.758 | 0.782 | 0.777 | 1.520 | |
| 8 | 0.045 | 0.043 | 0.042 | 0.043 | 0.044 | 0.040 | 0.040 | 0.042 | 4.918 | |
| 9 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 0.000 | |
| 10 | 0.561 | 0.563 | 0.557 | 0.570 | 0.551 | 0.550 | 0.559 | 0.559 | 1.242 | |
| 11 | 0.882 | 0.884 | 0.879 | 0.892 | 0.863 | 0.866 | 0.877 | 0.878 | 1.155 | |
| 12 | 0.302 | 0.303 | 0.299 | 0.309 | 0.302 | 0.296 | 0.304 | 0.302 | 1.294 | |
| 13 | 0.767 | 0.769 | 0.771 | 0.773 | 0.802 | 0.751 | 0.767 | 0.772 | 1.995 | |
| 14 | 0.814 | 0.808 | 0.775 | 0.803 | 0.789 | 0.788 | 0.799 | 0.797 | 1.654 | |

2.5 指纹图谱相似度分析

取不同产地的 31 批番石榴叶进行指纹图谱检测,将结果导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”(2012 版),选择平均数为对照图谱生成方法进行指纹图谱相似度分析,在分析检验下,以 R 对照图谱作为参照图谱进行相似度计算(见表 8)。31 批番石榴叶药材中与 R 对照指纹图谱的相似度为 0.720~0.928,其中大于 0.9 有 10 批,大于 0.8 有 21 批。相似度结果表明不同产地番石榴叶指纹图

谱存在差异。31 批番石榴叶色谱峰图见图 1。不同产地番石榴叶的对照指纹图谱可检出 14 个共有峰,通过对照品(见图 2)指认,确定 9 号峰为鞣花酸,10 号峰为金丝桃苷,11 号峰为异槲皮苷,12 号峰为瑞诺苷,13 号峰为番石榴苷,14 号峰为蒽萹苷。以峰面积较大、峰形较好且保留时间居中的 9 号峰作为参照峰,计算其他各共有峰和参照峰的峰面积比值即相对峰面积(见表 9)。

表 8 番石榴叶指纹图谱相似度评价结果

Table 8 Evaluation results of similarity of *Psidium Guajavae* Folium fingerprints

| 编号 No. | 相似度 Similarity | 编号 No. | 相似度 Similarity |
|-----------|-------------------|-----------|-------------------|
| S1 | 0.799 | S17 | 0.799 |
| S2 | 0.784 | S18 | 0.902 |
| S3 | 0.784 | S19 | 0.842 |
| S4 | 0.784 | S20 | 0.831 |
| S5 | 0.784 | S21 | 0.758 |
| S6 | 0.869 | S22 | 0.905 |
| S7 | 0.928 | S23 | 0.813 |
| S8 | 0.885 | S24 | 0.898 |
| S9 | 0.900 | S25 | 0.896 |
| S10 | 0.883 | S26 | 0.923 |
| S11 | 0.754 | S27 | 0.874 |

续表 8(Continued Tab. 8)

| 编号 No. | 相似度 Similarity | 编号 No. | 相似度 Similarity |
|-----------|-------------------|-----------|-------------------|
| S12 | 0.720 | S28 | 0.907 |
| S13 | 0.914 | S29 | 0.901 |
| S14 | 0.877 | S30 | 0.922 |
| S15 | 0.822 | S31 | 0.920 |
| S16 | 0.778 | | |

表 9 31 批番石榴叶指纹图谱中共有特征峰的相对峰面积

Table 9 Relative peak areas of common characteristic peaks in fingerprints of 31 batches of *Psidii Guajavae Foliium*

| No. | Peak 1 | Peak 2 | Peak 3 | Peak 4 | Peak 5 | Peak 6 | Peak 7 | Peak 8 | Peak 9 | Peak 10 | Peak 11 | Peak 12 | Peak 13 | Peak 14 |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|
| S1 | 0.336 | 0.675 | 1.445 | 0.170 | 0.134 | 0.324 | 0.421 | 0.086 | 1.000 | 0.887 | 1.543 | 0.592 | 1.819 | 2.163 |
| S2 | 0.366 | 0.658 | 2.077 | 0.189 | 0.172 | 0.318 | 0.355 | 0.226 | 1.000 | 0.810 | 1.094 | 0.405 | 1.388 | 1.354 |
| S3 | 0.345 | 0.525 | 1.884 | 0.176 | 0.129 | 0.167 | 0.295 | 0.129 | 1.000 | 1.408 | 1.406 | 0.549 | 1.939 | 2.062 |
| S4 | 0.289 | 0.607 | 1.022 | 0.126 | 0.163 | 0.163 | 0.346 | 0.069 | 1.000 | 0.992 | 1.269 | 0.510 | 1.574 | 1.897 |
| S5 | 0.117 | 0.510 | 0.229 | 0.152 | 0.199 | 0.076 | 0.109 | 0.108 | 1.000 | 0.813 | 1.093 | 0.611 | 1.213 | 1.459 |
| S6 | 0.190 | 0.363 | 1.026 | 0.090 | 0.155 | 0.212 | 0.383 | 0.049 | 1.000 | 0.483 | 0.768 | 0.343 | 0.807 | 1.130 |
| S7 | 0.206 | 0.509 | 1.553 | 0.083 | 0.081 | 0.604 | 1.176 | 0.273 | 1.000 | 1.219 | 1.368 | 0.559 | 1.656 | 1.680 |
| S8 | 0.128 | 0.248 | 0.230 | 0.078 | 0.202 | 0.366 | 1.325 | 0.057 | 1.000 | 0.873 | 1.105 | 0.456 | 1.122 | 1.354 |
| S9 | 0.161 | 0.427 | 0.158 | 0.153 | 0.195 | 0.654 | 2.160 | 0.093 | 1.000 | 1.101 | 1.487 | 0.575 | 1.341 | 1.622 |
| S10 | 0.123 | 0.443 | 0.416 | 0.166 | 0.224 | 0.728 | 2.386 | 0.147 | 1.000 | 1.127 | 1.522 | 0.583 | 1.296 | 1.581 |
| S11 | 0.277 | 0.501 | 1.195 | 0.171 | 0.138 | 0.532 | 1.662 | 0.135 | 1.000 | 1.357 | 1.272 | 0.587 | 1.398 | 1.732 |
| S12 | 0.278 | 0.336 | 0.103 | 0.103 | 0.227 | 0.519 | 2.296 | 0.060 | 1.000 | 0.672 | 0.442 | 0.268 | 0.510 | 0.732 |
| S13 | 0.274 | 0.496 | 0.912 | 0.170 | 0.105 | 0.417 | 1.070 | 0.112 | 1.000 | 1.959 | 2.550 | 1.060 | 2.551 | 3.137 |
| S14 | 0.281 | 0.776 | 1.421 | 0.225 | 0.100 | 0.916 | 1.412 | 0.175 | 1.000 | 1.955 | 2.094 | 0.849 | 2.407 | 2.671 |
| S15 | 0.391 | 0.876 | 1.496 | 0.200 | 0.130 | 0.644 | 0.689 | 0.136 | 1.000 | 1.361 | 2.266 | 0.674 | 2.281 | 2.718 |
| S16 | 0.502 | 0.914 | 2.659 | 0.206 | 0.128 | 0.653 | 0.561 | 0.179 | 1.000 | 1.588 | 1.823 | 0.497 | 2.087 | 2.359 |
| S17 | 0.372 | 1.012 | 2.094 | 0.405 | 0.269 | 1.792 | 4.409 | 0.170 | 1.000 | 2.630 | 2.796 | 0.984 | 2.513 | 3.285 |
| S18 | 0.220 | 0.529 | 0.313 | 0.148 | 0.103 | 0.828 | 2.272 | 0.239 | 1.000 | 1.447 | 1.832 | 0.756 | 1.751 | 2.203 |
| S19 | 0.180 | 0.439 | 0.869 | 0.111 | 0.208 | 0.629 | 1.449 | 0.088 | 1.000 | 0.619 | 0.610 | 0.205 | 0.708 | 0.779 |
| S20 | 0.225 | 0.561 | 1.276 | 0.133 | 0.079 | 0.315 | 0.571 | 0.124 | 1.000 | 0.974 | 1.400 | 0.535 | 1.501 | 1.947 |
| S21 | 0.276 | 0.895 | 1.694 | 0.233 | 0.186 | 0.792 | 0.674 | 0.160 | 1.000 | 1.588 | 2.252 | 0.763 | 2.226 | 2.699 |
| S22 | 0.163 | 0.412 | 1.457 | 0.225 | 0.153 | 0.902 | 1.323 | 0.188 | 1.000 | 1.494 | 2.584 | 1.038 | 2.177 | 2.506 |
| S23 | 0.197 | 0.495 | 1.328 | 0.167 | 0.198 | 0.353 | 0.696 | 0.169 | 1.000 | 0.965 | 1.213 | 0.500 | 1.309 | 1.779 |
| S24 | 0.106 | 0.123 | 0.071 | 0.076 | 0.039 | 0.349 | 0.704 | 0.034 | 1.000 | 0.571 | 0.860 | 0.310 | 0.768 | 0.791 |
| S25 | 0.110 | 0.147 | 0.139 | 0.081 | 0.045 | 0.335 | 0.791 | 0.058 | 1.000 | 0.487 | 0.749 | 0.307 | 0.696 | 0.712 |
| S26 | 0.126 | 0.484 | 0.188 | 0.187 | 0.103 | 0.700 | 1.956 | 0.168 | 1.000 | 1.357 | 1.698 | 0.669 | 1.559 | 1.964 |
| S27 | 0.142 | 0.122 | 0.075 | 0.055 | 0.031 | 0.139 | 0.570 | 0.037 | 1.000 | 0.379 | 0.601 | 0.210 | 0.591 | 0.585 |
| S28 | 0.150 | 0.138 | 0.087 | 0.072 | 0.047 | 0.273 | 0.734 | 0.078 | 1.000 | 0.507 | 0.707 | 0.326 | 0.744 | 0.845 |
| S29 | 0.142 | 0.147 | 0.114 | 0.063 | 0.047 | 0.228 | 0.706 | 0.065 | 1.000 | 0.420 | 0.589 | 0.250 | 0.605 | 0.675 |
| S30 | 0.159 | 0.298 | 0.182 | 0.140 | 0.098 | 0.398 | 1.325 | 0.105 | 1.000 | 0.873 | 1.119 | 0.470 | 1.212 | 1.302 |
| S31 | 0.152 | 0.224 | 0.120 | 0.119 | 0.090 | 0.190 | 1.081 | 0.082 | 1.000 | 0.801 | 1.090 | 0.482 | 1.151 | 1.222 |

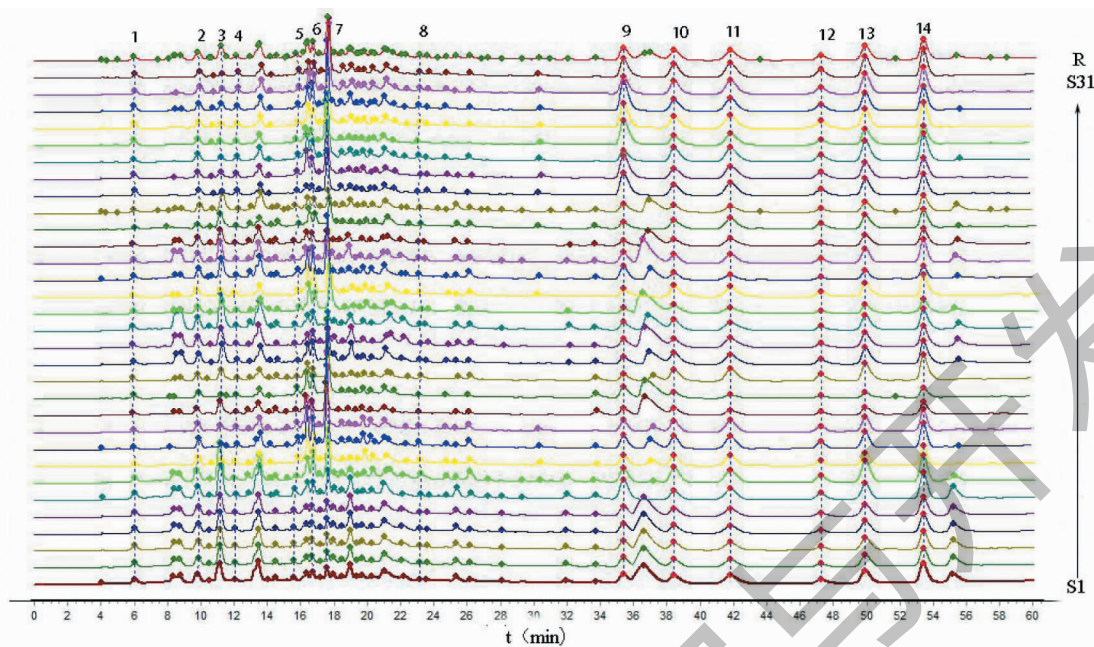


图 1 31 批番石榴叶 HPLC 指纹图谱

Fig. 1 HPLC fingerprint of 31 batches of *Psidium Guajavae Foliom*

注:9-鞣花酸;10-金丝桃苷;11-异槲皮苷;12-瑞诺苷;13-番石榴苷;14-蒽薹苷(下同)。Note:9-Ellagic acid;10-Hyperoside;11-Isoquercitroside;12-Reynoutrin;13-Guaijaverin;14-Avicularin (the same below).

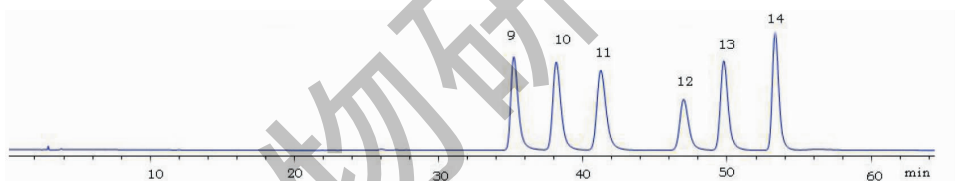


图 2 混合对照品的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chart of mixed reference substance

通过相似度对比发现相似度小于 0.8 的番石榴叶样品主要产自广西、广东,相似度大于 0.9 的番石榴叶样品主要产自四川、云南,说明不同产地番石榴叶样品差异大。通过对比两类的主要色谱峰峰面积发现产自广东、广西番石榴叶样品中 9 号峰鞣花酸、10 号峰金丝桃苷、11 号峰异槲皮苷、12 号峰瑞诺苷、13 号峰番石榴苷、14 号峰蒽薹苷的平均峰面积均小于产自四川、云南的番石榴叶样品。

2.6 化学模式识别分析

2.6.1 聚类分析

为全面分析不同产地番石榴叶样品质量的影响,以 14 个共有峰峰面积作为变量,运用 SPSS20.0 软件对 31 批番石榴叶样品进行系统聚类分析,采用组间联接聚类法,度量标准为 Pearson 相关性,结果见图 3。31 个样品被分为三大类,3 个分类中,四川

米易、德昌,云南丽江聚为一类;广西玉林、南宁、崇左、百色,广东信宜、广州、汕头,海南海口聚为一类;上述 2 类番石榴叶的地理位置分别相近,各自聚为一类,说明不同产地的番石榴叶药材可以通过聚类分析对番石榴叶样品进行分类质量品质评价。

2.6.2 主成分分析及正交偏最小二乘法判别分析

主成分分析法(principal component analysis)是一种通过降维技术把多个变量化为少数几个主成分(综合变量)的统计分析方法。这些主成分能够反映原始变量的绝大部分信息,它们通常表示为原始变量的某种线性组合。正交偏最小二乘判别分析(orthogonal PLS-DA, OPLS-DA)是一种有监督的判别分析统计方法,其最大的特点是可以除自变量 X 中与分类变量 Y 无关的数据变异,使分类信息主要集中在一个主成分,使模型更简单和易于解释,其判

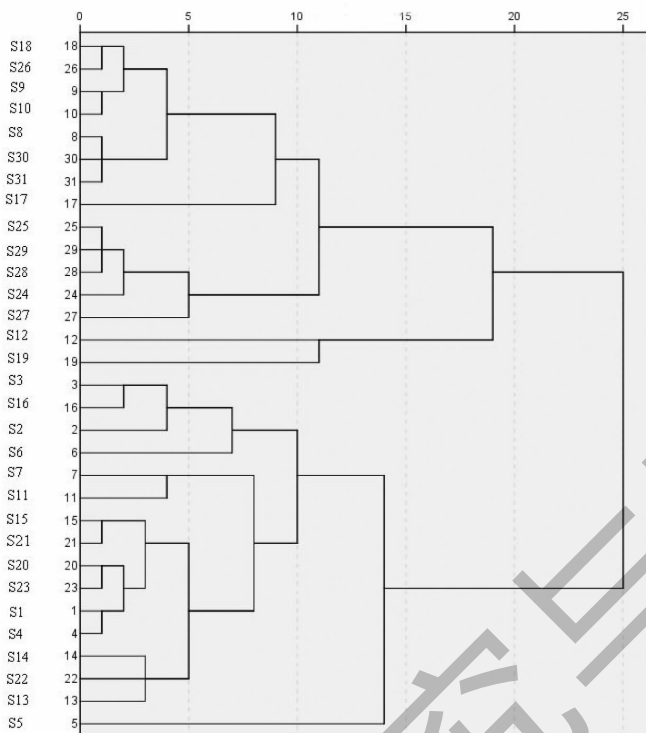


图 3 番石榴叶的系统聚类分析

Fig. 3 System cluster analysis of Psidii Guajavae Folium

别效果及主成分得分图的可视化效果更加明显。

以 14 个共有峰峰面积为变量,采用 SIMCA (14.1)软件对 31 批番石榴叶样品进行 PCA,结果提取到 2 个具有最大特征制得主成分(PC),总贡献率为 55.1%,其中 PC1 贡献率为 37.2%,贡献率最大;PC2 贡献率为 17.9%。由前 2 个主要成分建立坐标系,得到 31 批番石榴叶的 PCA 得分图(图 4),由图 4 可见,大部分样品均在 95% 可信区间,且能

分为两类。其中大部分广东、广西、福建、海南番石榴叶样品聚为一类,四川、云南聚为一类,与聚类分析结果一致。据中国地理分布图及行政区划发现四川、云南位于以大兴安岭、太行山脉、巫山及雪峰山的界限的第二阶梯(平均海拔 1 000 ~ 2 000 m),属于西南地区;广西、广东、福建海南位于以大兴安岭、太行山脉、巫山及雪峰山为界限的第三阶梯(平均海拔 500m 以下),属于沿海地区。综上,2 个主要

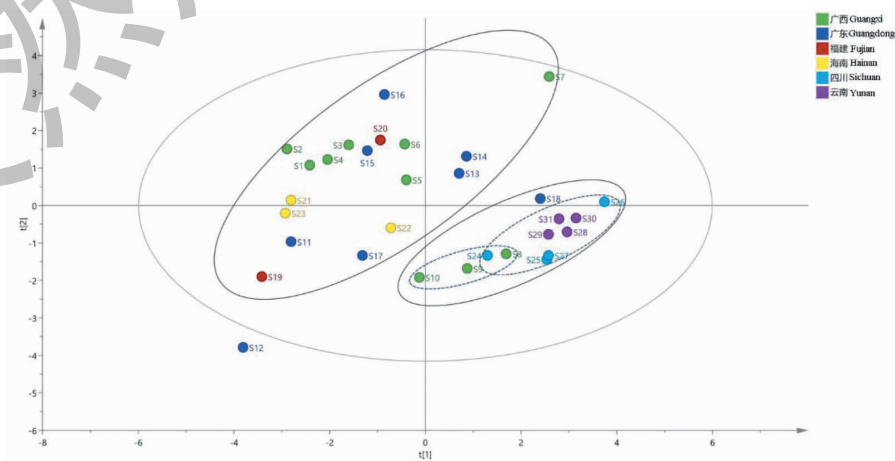


图 4 不同番石榴叶样品的 PCA 得分

Fig. 4 PCA scores of different Psidii Guajavae Folium samples

成分能反映不同产地番石榴叶的主要特征,提示沿海地区和西南地区的番石榴叶在化学成分含量上存在差异。

依据 PCA 结果,对不同分布地区的 2 组样品进行 OPLS-DA 分析。OPLS-DA 模型, $R^2 Y(\text{cum}) = 0.895$, $Q^2(\text{cum}) = 0.842$, 均大于 0.5, 说明模型稳定可靠, 可用于不同产地样品的区分。从图 5 可以发现, 数据的分类算法中 OPLS-DA 的效果较好, 可使两类样本完全分开, 相互之间没有样本出现交叉的

情况, 少部分样品在 95% 可信区间外。

对 OPLS-DA 变量重要性投影值(variable importance in the projection, VIP) 进行分析(见图 6), VIP 值越大的变量(至少大于 1)对分类的贡献越大。采用 $VIP > 1.0$ 作为标准筛选出对模型贡献较大的变量, 分别为峰 9、12、11、4、13、3、10, 这些成分是引起番石榴叶因产地差异导致成分差异的主要标志性成分, 其余峰 VIP 值 < 1 , 对样品产地区分影响较小。

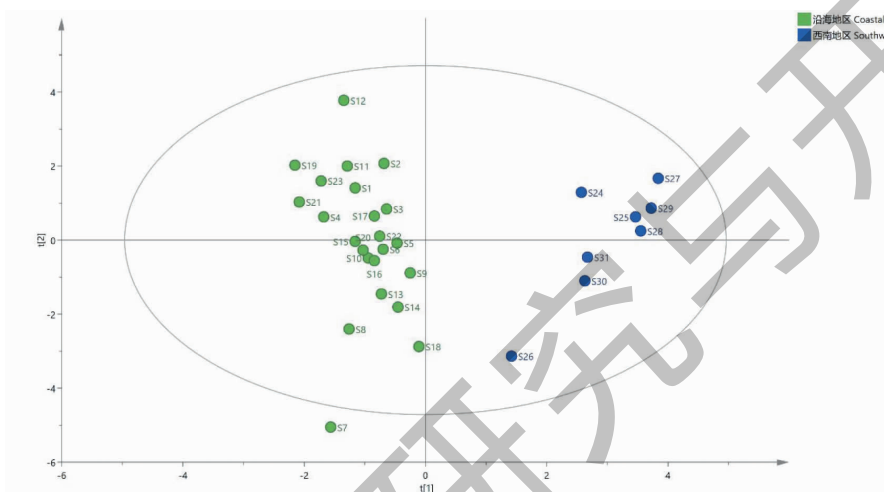


图 5 不同番石榴叶样品 OPLS-DA 得分图

Fig. 5 OPLS-DA scores of different *Psidium Guajavae Folium* samples

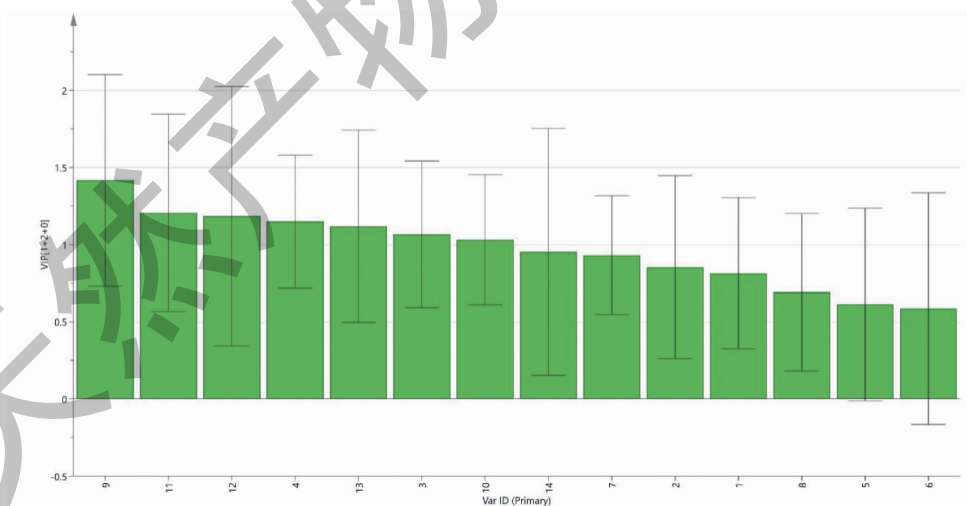


图 6 番石榴叶 14 个共有峰的 VIP 值

Fig. 6 VIP values of 14 common peaks of *Psidium Guajavae Folium*

注: 1 ~ 14: 峰 1 ~ 14。Note: 1 ~ 14: Peak 1 ~ 14.

2.7 多成分含量测定

2.7.1 系统适应性

取混合对照品溶液、供试品溶液, 按“2.1”项下

色谱条件进样测定, 鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷与其相邻色谱峰的分离度大于 1.5 (见图 2)。

2.7.2 线性关系考察

精密移取各对照品溶液,至 5 mL 容量瓶中,加甲醇配制成鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷的混合对照品溶液,浓度分别为 38.69、164.80、164.80、75.20、150.24 $\mu\text{g/mL}$,作为标曲最高浓度。精密移取混合对照品溶液 1 mL,置 2 mL 容量瓶中,加入甲醇稀释并定容至刻度线,混匀。按照上述方法,依次制备得到不同浓度的混合对照品溶液,按照“2.1”项下色谱条件进样,以对照品浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线及线性回归方程(见表 10)。

2.7.3 精密度考察

根据“2.4.1”项下精密度考察试验,测得鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷的峰面积 RSD 值分别为 1.51%、1.50%、1.50%、1.51%、1.49%,表明仪器精密度良好。

2.7.4 重复性考察

根据“2.4.2”项下重复性考察试验,测得鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷的峰面积 RSD 值分别为 2.17%、0.85%、0.90%、2.05%、1.31%,表明该方法重复性良好。

2.7.5 稳定性考察

根据“2.4.3”项下稳定性考察试验,测得鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷的峰面积 RSD 值分别 1.14%、0.18%、0.36%、0.66%、2.37%,表明该供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.7.6 加样回收率试验

精密称取已知含量的 S24 番石榴叶药材 6 份,每份 0.5 g,分别精密加入与样品中含量相当的鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷对照品,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,计算各成分的平均加样回收率,结果鞣

表 10 线性回归方程及相关系数

Table 10 Linear regression equation and correlation coefficient

| 成分 Ingredient | 线性回归方程 Equation of linear regression | R^2 | 线性范围 Linearity range($\mu\text{g/mL}$) |
|-----------------------|---|---------|---|
| 鞣花酸 Ellagic acid | $Y = 475.92X - 78.917$ | 0.999 9 | 2.42 ~ 38.69 |
| 金丝桃苷 Hyperoside | $Y = 112.87X - 78.533$ | 0.999 9 | 10.30 ~ 164.80 |
| 异槲皮苷 Isoquercitroside | $Y = 115.33 X - 126.63$ | 0.999 7 | 10.30 ~ 164.80 |
| 瑞诺苷 Reynoutrin | $Y = 151.54 X - 51.163$ | 0.999 9 | 4.70 ~ 75.20 |
| 番石榴苷 Guajajaverin | $Y = 117.67 X - 55.033$ | 0.999 9 | 9.39 ~ 150.24 |

花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷平均加样回收率分别为 100.18%、98.17%、97.36%、100.64%、98.40%,RSD 值分别为 3.50%、2.99%、3.13%、4.29%、2.05%。

2.7.7 样品含量测定

根据“2.3”项下方法制备番石榴叶药材供试品溶液,每批平行 3 份,按“2.1”项下色谱条件进样,记录数据。测得鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷的百分含量,具体结果见表 11。

表 11 31 批番石榴叶药材多成分含量测定结果($n=3$)

Table 11 Results of multi-component content determination of Psidium Guajavae Folium in 31 batches ($n=3, \text{mg/g}$)

| 批号 No. | 鞣花酸 Ellagic acid | 金丝桃苷 Hyperoside | 异槲皮苷 Isoquercitroside | 瑞诺苷 Reynoutrin | 番石榴苷 Guajajaverin | 总含量 Total content |
|-----------|---------------------|--------------------|--------------------------|-------------------|----------------------|----------------------|
| S1 | 0.30 | 1.19 | 1.73 | 0.47 | 2.01 | 5.71 |
| S2 | 0.31 | 1.09 | 1.42 | 0.39 | 1.74 | 4.96 |
| S3 | 0.30 | 1.73 | 1.71 | 0.55 | 2.21 | 6.50 |
| S4 | 0.33 | 1.43 | 1.76 | 0.54 | 2.10 | 6.17 |
| S5 | 0.47 | 1.57 | 2.12 | 0.88 | 2.18 | 7.22 |
| S6 | 0.69 | 1.40 | 2.17 | 0.75 | 2.24 | 7.24 |

续表 11 (Continued Tab. 11)

| 批号 No. | 鞣花酸 Ellagic acid | 金丝桃苷 Hyperoside | 异槲皮苷 Isoquercitroside | 瑞诺昔 Reynoutrin | 番石榴苷 Guajaverin | 总含量 Total content |
|-----------|---------------------|--------------------|--------------------------|-------------------|--------------------|----------------------|
| S7 | 0.47 | 2.40 | 2.64 | 0.82 | 3.12 | 9.45 |
| S8 | 0.53 | 2.01 | 2.57 | 0.78 | 2.47 | 8.36 |
| S9 | 0.46 | 1.79 | 2.31 | 0.72 | 2.05 | 7.34 |
| S10 | 0.31 | 1.48 | 1.93 | 0.56 | 1.60 | 5.88 |
| S11 | 0.25 | 1.39 | 1.26 | 0.44 | 1.33 | 4.66 |
| S12 | 0.41 | 1.12 | 0.74 | 0.34 | 0.82 | 3.44 |
| S13 | 0.25 | 1.84 | 2.61 | 0.84 | 2.51 | 8.05 |
| S14 | 0.25 | 2.12 | 2.25 | 0.68 | 2.57 | 7.87 |
| S15 | 0.24 | 1.37 | 2.18 | 0.50 | 2.17 | 6.45 |
| S16 | 0.28 | 1.85 | 2.05 | 0.47 | 2.30 | 6.95 |
| S17 | 0.14 | 1.61 | 1.68 | 0.45 | 1.43 | 5.31 |
| S18 | 0.33 | 2.00 | 2.44 | 0.78 | 2.31 | 7.87 |
| S19 | 0.44 | 1.15 | 1.11 | 0.29 | 1.25 | 4.24 |
| S20 | 0.32 | 1.33 | 1.92 | 0.56 | 2.06 | 6.20 |
| S21 | 0.19 | 1.24 | 1.78 | 0.45 | 1.72 | 5.38 |
| S22 | 0.24 | 1.48 | 2.43 | 0.75 | 2.00 | 6.91 |
| S23 | 0.28 | 1.16 | 1.43 | 0.44 | 1.50 | 4.80 |
| S24 | 0.73 | 1.79 | 2.64 | 0.77 | 2.36 | 8.28 |
| S25 | 0.86 | 1.81 | 2.78 | 1.01 | 1.74 | 8.20 |
| S26 | 0.44 | 2.47 | 3.02 | 0.91 | 2.97 | 9.81 |
| S27 | 1.00 | 1.63 | 2.53 | 0.67 | 2.42 | 8.26 |
| S28 | 0.90 | 1.91 | 2.59 | 0.90 | 2.63 | 8.93 |
| S29 | 1.05 | 1.84 | 2.55 | 0.87 | 2.54 | 8.85 |
| S30 | 0.58 | 2.11 | 2.69 | 0.85 | 2.78 | 9.02 |
| S31 | 0.70 | 1.85 | 2.64 | 0.78 | 2.41 | 8.37 |

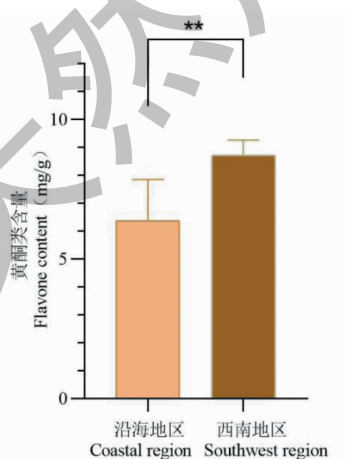


图 7 31 批不同产地番石榴叶药材的平均质量分数

Fig. 7 The average mass fraction of 31 batches of *Psidium guajavae* Folium from different origins

3 讨论

参照课题组前期研究^[20], 确定提取方法为 60% 乙醇超声提取 30 min, 流动体系为乙腈-0.2% 磷酸水, 色谱柱 (Zorbax SB-C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 柱温 35 °C, 进样体积 10 μL。同时, 考察波长 (230、254、360 nm) 及流动体系不同比例梯度洗脱对番石榴叶 HPLC 指纹图谱的影响。结果, 本试验确定的色谱条件下, 番石榴叶样品溶液峰数最多, HPLC 基线平稳, 峰形及分离度较好。

本试验收集了具有地域代表的番石榴叶药材, 包括广东、广西、福建、海南、四川, 保证了番石榴叶指纹图谱的广泛性。采用相似度评价对番石榴叶 HPLC 指纹图谱进行分析, 发现 31 批番石榴叶的

HPLC 指纹图谱相似度存在一定差异,不同产地的番石榴叶药材质量受地域影响。

聚类分析与主成分分析结果一致,发现 31 批番石榴叶样品主要分为两类,广西、广东、福建、海南聚为一类,四川、云南聚为一类。根据中国地理分布图及行政区划发现四川、云南位于以大兴安岭、太行山脉、巫山及雪峰山的界限的第二阶梯(平均海拔 1 000 ~ 2 000 m),属于西南地区;广西、广东、福建海南位于以大兴安岭、太行山脉、巫山及雪峰山为界限的第三阶梯(平均海拔 500 m 以下),属于沿海地区。利用正交偏最小二乘判别分析,发现引起此两类产地番石榴叶差异的 7 中主要成分,并鉴定出鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷 5 种成分。通过对番石榴叶样品中鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮素、瑞诺苷、番石榴苷进行定量分析,发现沿海地区(广东、广西、福建、海南)的 5 种成分含量均低于西南地区(四川、云南),且有显著性差异(见图 7)。综上,番石榴叶的次生代谢产物呈明显的地域差异,提示番石榴叶的药材质量与其生长环境密切相关,可能受当地的气候条件和环境因素影响,其具体影响因素还需进一步调查研究。

本研究以番石榴叶为对象,采用高效液相色谱法,建立了番石榴叶药材的化学指纹图谱,测定了番石榴叶药材中鞣花酸、金丝桃苷、异槲皮苷、瑞诺苷、番石榴苷 5 种化学成分的含量,并结合化学计量学方法分析了 31 批不同产地的番石榴叶药材,发现番石榴叶药材质量受地域影响。所建立的方法简便、准确,为番石榴叶药材的质量控制及质量标准的建立提供了方法及数据参考。

参考文献

- Liang GQ, Deng DX, Chen QB, et al. Bibliometric analysis of *Psidium guajava* literature[J]. J Lib Inf Sci Agr(农业图书情报学刊), 2007, 19(3): 117-120.
- Fujian Food and Drug Administration. Standards for the Processing of Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces in Fujian Province, 2012(福建省中药饮片炮制规范 2012 年版) [M]. Fujian: Fujian Science and Technology Press, 2013: 220.
- Guangdong Food and Drug Administration. Guangdong Standard for Traditional Chinese Medicinal Materials: Vol I (广东省中药材标准: 第一册) [M]. Guangdong: Guangdong Science and Technology Press, 2004: 190-191.
- Department of Health of Guangxi Zhuang Autonomous Region. Standards of Guangxi Chinese Materia Medica(广西中药材标准) [M]. Guangxi: Guangxi Science and Technology Press, 1990: 88-89.
- Guangxi Zhuang Autonomous Region Food and Drug Inspection Institute, Guangxi Zhuang Autonomous Region Food and Drug Administration. Quality Standards for Zhuang Drugs of Guangxi Zhuang Autonomous Region: Vol II (2011 edition) (广西壮族自治区壮药质量标准第二卷(2011 版)) [M]. Guangxi: Guangxi Science and Technology Press, 2013: 289.
- Hunan Food and Drug Administration. Hunan Standard for Traditional Chinese Medicinal Materials(湖南省中药材标准) [M]. Hunan: Hunan Science and Technology Press, 2010: 642-643.
- Sichuan Food and Drug Administration. Processing Specifications of Sichuan Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces (2015 edition) (四川省中药饮片炮制规范(2015 版)) [M]. Sichuan: Sichuan Science and Technology Press, 2016: 112.
- Hunan Food and Drug Administration. Processing Specifications of Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces in Hunan Province (2010 Edition) (湖南省中药饮片炮制规范(2010 年版)) [M]. Hunan: Hunan Science and Technology Press, 2010: 174.
- Zhu XA, Ouyang W, Lan YQ, et al. Anti-hyperglycemic and liver protective effects of flavonoids from *Psidium guajava* L. (guava) leaf in diabetic mice [J]. Food Biosci, 2020, 35: 1-8.
- Pinho AI, Oliveira CS, Luis F, et al. Antioxidant and mercury chelating activity of *Psidium guajava* var. *pomifera* L. leaves hydrofatty extract [J]. J Toxicol Environ Health, 2017, 80: 1301-1313.
- Xu JR, Hou FL, Huang JR, et al. Extraction and antioxidation of polyphenols from leaves of guava [J]. Food Res Dev(食品研究与开发), 2016, 37: 38-41.
- Du YJ, Wang SY, Li CR, et al. Study on the antidiabetic activities of flavonoids and polysaccharides from the guava leaves [J]. Food Res Dev(食品研究与开发), 2011, 32: 56-59.
- Li CB, Sun G, Zheng ZH, et al. Determination of two flavonoid glycosides in the leaves of guava in different areas of Guizhou Province by HPLC [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族民间医药), 2017, 26: 19-21.
- Fu Y, Zheng Y, Tao ZW, et al. Simultaneous determination of 4 flavonoids in *Psidium guajava* leaves from different habitats by HPLC [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2017, 34: 1585-1588.
- Liang JH, Gong ZQ. Assaying of total flavonoids in leaves of guajava by different areas of Guangxi [J]. J Snake(蛇志),

- 2015,27:106-107.
- 16 Wang DH, Liang YF, Zhang XX, et al. UPLC fingerprint analysis of *Acanthopanax Cortex* from different origins[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2020,26: 138-143.
- 17 Li C, YU H, Liu Y, et al. Analysis of HPLC fingerprint and multi-component chemical pattern recognition of plantaginis semen from different producing areas in Jiangxi Province [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2019,25:161-167.
- 18 Yang YY, Zhang DD, LUO XY, et al. Quality evaluation of *Cyclocarya paliurus* from different habitats by fingerprint and multi-component quantification combined with chemical pattern recognition [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2020,51:1082-1088.
- 19 Wang YY, Wang XF, Liu J, et al. Fingerprint of epimedii wushanense based on principal component, factor and cluster analysis[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2019,25:165-172.
- 20 Fang H, Xiong SQ, Yan NN, et al. Simultaneous determination of six flavonoids in *Psidium guajava* Linn. by QAMS [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2019,31: 1559-1566.

致谢:对以下合作单位参与本刊的学术建设表示由衷的感谢!

昆明医科大学药学院

西南交通大学生命科学与工程学院

西南交通大学期刊社