

# 基于化学模式识别的桃仁及其炮制品差异性研究

郑蓉慧<sup>1,2</sup>, 孙冬梅<sup>1</sup>, 段志文<sup>1</sup>,  
刘晓霞<sup>1</sup>, 冯涌微<sup>1</sup>, 位翠杰<sup>1</sup>, 陈向东<sup>1</sup>, 李振雨<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>广东一方制药有限公司, 佛山 528244; <sup>2</sup>广州中医药大学, 广州 510006

**摘要:** 基于超高压液相色谱法建立桃仁及其炮制品的指纹图谱及含量测定方法, 并结合化学模式识别法比较分析其差异性。采用 ACQUITY UPLC HSS T3 (150 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱, 以乙腈-0.1% 磷酸溶液为流动相进行梯度洗脱, 流速为 0.30 mL/min, 柱温为 20 °C, 进样体积为 2 μL, 检测波长为 210 nm, 建立其指纹图谱及 *D*-苦杏仁苷含量测定方法。采用方差分析 (variance analysis, VA)、聚类分析 (hierarchical clustering analysis, HCA) 和偏最小二乘法-判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 对桃仁及其炮制品进行差异性分析。结果显示 18 批桃仁及其炮制品饮片 UPLC 指纹图谱相似度均在 0.990 以上, 桃仁和燻桃仁的指纹图谱确认 8 个共有峰, 炒桃仁确认 7 个共有峰, 指认 3 个成分。通过化学模式识别分析, 桃仁及其炮制品之间存在显著性差异, 可聚为桃仁、燻桃仁、炒桃仁三类。含量测定结果显示桃仁、燻桃仁、炒桃仁饮片 *D*-苦杏仁苷含量的平均值分别为 3.194%、3.048%、2.250%。本研究所建立的 UPLC 指纹图谱及含量测定方法专属性强, 稳定性高, 分离度良好, 可用于桃仁、燻桃仁、炒桃仁的鉴别及 *D*-苦杏仁苷含量的准确测定。

**关键词:** 桃仁; 燻桃仁; 炒桃仁; 指纹图谱; *D*-苦杏仁苷; 化学模式识别

中图分类号: R283.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)10-1751-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.10.012

## Study on the differences of Persicae Semen and its processed products based on chemical pattern recognition

ZHENG Rong-hui<sup>1,2</sup>, SUN Dong-mei<sup>1</sup>, DUAN Zhi-wen<sup>1</sup>,  
LIU Xiao-xia<sup>1</sup>, FENG Yong-wei<sup>1</sup>, WEI Cui-jie<sup>1</sup>, CEHN Xiang-dong<sup>1</sup>, LI Zhen-yu<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Guangdong Yifang Pharmaceutical Co., Ltd., Foshan 528244, China;

<sup>2</sup>Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

**Abstract:** The UPLC fingerprint and content determination combined with chemical pattern recognition were developed to compare and analyze the differences in Persicae Semen and its processed products. The Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (150 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) was used for the analysis, with a acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution serving as the mobile phase, a volume flow rate of 0.30 mL/min, a column temperature of 20 °C, a injection volume of 2 μL, and a detective wavelength of 210 nm. Variance analysis (VA), hierarchical clustering analysis (HCA), and partial least squares discrimination analysis (PLS-DA) were used to analyze the fingerprint. The results showed that the similarity of UPLC fingerprint of 18 batches of Persicae Semen and its processed products was above 0.990. Three common peaks were identified out of eight common peaks in Persicae Semen, Chan Persicae Semen and seven common peaks in stir-baked Persicae Semen. Persicae Semen and its processed products were divided into three groups with significant differences under the chemical pattern recognition analysis. The results also indicated that the average content of *D*-amygdalin in samples of Persicae Semen, Chan Persicae Semen and stir-baked Persicae Semen were 3.194%, 3.048%, 2.250%, respectively. The established method, which has strong specificity, high stability and good separation, can efficiently identify Persicae Semen, Chan Persicae Semen and stir-baked

收稿日期: 2024-01-26

接受日期: 2024-08-21

基金项目: 国家工信部 2022 年产业技术基础公共服务平台项目-中药全产业链质量技术服务平台 (2022-230-221); 2022 年佛山市南海区重点领域科技攻关专项 (2023-20-18)

\* 通信作者 E-mail: lzy1083656123@126.com

Persicae Semen, and accurately determine *D*-amygdalin content.

**Key words:** Persicae Semen; Chan Persicae Semen; stir-baked Persicae Semen; fingerprint; *D*-amygdalin; chemical pattern recognition

桃仁为蔷薇科植物桃 *Prunus persica* (L.) Batsch 或山桃 *Prunus davidiana* (Carr.) Franch. 的干燥成熟种子。具有活血祛瘀,润肠通便,止咳平喘的功效。临床主要用于经闭痛经,癥瘕痞块,肺痈肠痈,跌扑损伤,肠燥便秘,咳嗽气喘<sup>[1]</sup>。山桃仁主产于山西、陕西、甘肃、山东等地。桃仁中含有多种化学成分,主要包括挥发油类、黄酮苷类、氰苷类及蛋白质等。现代研究表明,桃仁具有心脑血管保护、抑制动脉粥样硬化、调节免疫等药理作用<sup>[2-7]</sup>。

目前中国药典及地方标准收录的桃仁炮制品主要有桃仁、燂桃仁、炒桃仁等品规。部分地方中药饮片炮制规范还收录了麸炒桃仁、桃仁霜等炮制品<sup>[8]</sup>。桃仁在唐朝时出现多种炮制方式,从宋朝开始以去皮炒制为主<sup>[8]</sup>。现代研究表明,桃仁燂制后去皮可在一定程度上降低其毒性,但也有研究发现桃仁种皮具有活血抗炎的药理作用。不同的炮制方法可对桃仁的化学成分产生较大的影响,从而影响其药理作用及疗效。现对桃仁及其炮制品的研究多基于苦杏仁苷含量的测定,缺乏对桃仁及其炮制品的全面质量评价。

Zhang 等<sup>[9]</sup>建立了桃仁指纹图谱用于比较桃仁炮制前后的质量差异以及桃仁与种皮的差异,其中桃仁生品、燂桃仁、炒桃仁 HPLC 指纹图谱均含 8 个共有峰,种皮 HPLC 指纹图谱含有 6 个共有峰,对桃仁及其不同炮制品进行了化学计量学分析,表明了桃仁种皮 HPLC 指纹图谱与饮片有明显的差异,但在该研究中,燂桃仁和炒桃仁不能区分,无法比较这两种炮制方式导致的差异。Zhang 等<sup>[10]</sup>建立了桃仁特征图谱方法比较桃仁生品及不同炮制品的差异,桃仁生品的特征图谱有 7 个共有峰,炮制品均有 9 个共有峰,对桃仁及其不同炮制品进行了化学模式识别分析,在聚类分析和主成分分析中均存在部分批次燂桃仁与炒桃仁区域重叠,无法较好实现两种不同炮制品的区分,且峰 6 与峰 7 未能达到较好基线分离效果,在数据积分处理中可能存在误差,无法准确表达桃仁炮制前后的差异性。

现代研究表明,桃仁中含有 *D* 型和 *L* 型 2 种苦杏仁苷异构体,*D* 型具有止咳平喘的作用,而 *L* 型无明显药理活性,且 *D* 型受热易向 *L* 型转化,因此将 *L*

型和 *D* 型进行分离以准确测定 *D*-苦杏仁苷含量对于桃仁质量控制及不同炮制品间差异比较具有重要意义。但在 2020 版《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)——桃仁含量测定方法<sup>[1]</sup>和文献<sup>[10-13]</sup>方法中,均未对两种苦杏仁苷进行分离测定,结果显示苦杏仁苷含量在桃仁及其炮制品间无明显差异。文献<sup>[14-16]</sup>方法对 *D*-苦杏仁苷含量进行了单独测定,实现了对桃仁质量的准确控制,但由于 *D*-苦杏仁苷和 *L*-苦杏仁苷互为差向异构体,结构相似,分离难度较大,两种成分的峰分离效果不佳,存在一定局限性。

本研究采用 UPLC 法建立桃仁、燂桃仁、炒桃仁的指纹图谱,应用化学模式识别方法比较其差异性,并准确测定 *D*-苦杏仁苷含量,探究其物质基础变化,为桃仁及其不同炮制品的质量评价和临床应用提供参考。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器与试剂

Thermo 超高效液相色谱仪(Vanquish,赛默飞世尔科技有限公司);Waters 超高效液相色谱仪(H-Class Plus,沃特世公司);Agilent 超高效液相色谱仪(1290,安捷伦公司),Waters ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱(150 mm × 2.1 mm, 1.8 μm);数控超声波清洗器(KQ-500DE,昆山市超声仪器有限公司);万分之一天平(ME204E,梅特勒-托利多公司);百万分之一天平(XP26,梅特勒-托利多公司);水为实验室自制超纯水(Milli-Q Direct,默克股份有限公司)。

乙醇、甲醇(分析纯,天津市富宇精细化工有限公司);乙腈、甲醇(色谱纯,默克股份有限公司);磷酸(色谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司);超纯水(实验室自制);*D*-苦杏仁苷对照品(批号:110820-201808,含量:88.2%),色氨酸对照品(批号:140686-201904,含量99.9%)均购自中国食品药品检定研究院。

### 1.2 材料

本次研究所用的 18 批桃仁药材经中国科学院中药研究所孟祥霄助理研究员鉴定为蔷薇科山桃 *Prunus davidiana* (Carr.) Franch. 的干燥成熟种子。实验用 18 批桃仁样品来源信息见表 1。

表 1 18 批桃仁样品来源信息

Table 1 Source information of 18 batches of Persicae Semen samples

编号 No.	产地 Place of origin	编号 No.	产地 Place of origin
R1	甘肃省平凉市	R10	河北省承德市
R2	甘肃省平凉市	R11	河北省承德市
R3	甘肃省平凉市	R12	河北省承德市
R4	陕西省宝鸡市	R13	辽宁省阜新市
R5	陕西省宝鸡市	R14	辽宁省阜新市
R6	陕西省宝鸡市	R15	辽宁省阜新市
R7	甘肃省定西市	R16	辽宁省阜新市
R8	陕西省宝鸡市	R17	辽宁省阜新市
R9	陕西省宝鸡市	R18	辽宁省阜新市

### 1.3 样品制备

桃仁饮片:按 2020 年版《中国药典》桃仁项下饮片炮制方法<sup>[1]</sup>,取桃仁药材,除去杂质,得净桃仁(R1~R18)。

燂桃仁饮片:取净桃仁,按照燂法(2020 年版《中国药典》四部通则 0213)去皮,得燂桃仁(C1~C18)。

炒桃仁饮片:取燂桃仁,按照清炒法(2020 年版《中国药典》四部通则 0213)炒至黄色,得炒桃仁(S1~S18)。

## 2 方法与结果

### 2.1 指纹图谱方法的建立

#### 2.1.1 色谱条件

采用 Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (150 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) 色谱柱,以乙腈(A)-0.1% 磷酸溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0~3 min, 3% A; 3~5 min, 3% → 4% A; 5~25 min, 4% → 6% A; 25~50 min, 6% A),流速 0.30 mL/min,检测波长 210 nm,柱温 20 °C,进样体积 2 μL。

#### 2.1.2 对照品溶液的制备

取色氨酸对照品、*D*-苦杏仁苷对照品适量,精密称定,加 70% 甲醇制成每 1 mL 含色氨酸 1.636 μg、*D*-苦杏仁苷 84.105 μg 的混合溶液,即得。

#### 2.1.3 供试品溶液的制备

取桃仁、燂桃仁、炒桃仁饮片粗粉约 0.3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 70% 甲醇 50 mL,称定重量,超声处理(功率 250 W,频率 40 kHz) 30 min,取出,放冷,再称定重量,用 70% 甲醇补足减失

的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

#### 2.1.4 方法学考察

##### 2.1.4.1 精密度的试验

取桃仁供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件重复进样 6 次,以 *D*-苦杏仁苷为参照峰 S,计算各共有峰与 S 峰的相对保留时间相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.00% ~ 0.66%,相对峰面积 RSD 为 1.4% ~ 3.0%,表明仪器精密度高。

##### 2.1.4.2 重复性试验

精密称取同一批桃仁供试品,按“2.1.3”项下方法制备供试品溶液,各 6 份。按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,以 *D*-苦杏仁苷为参照峰 S,计算各共有峰与 S 峰的相对保留时间 RSD 为 0.18% ~ 0.68%,相对峰面积 RSD 为 0.00% ~ 2.8%,表明该方法重复性良好。

##### 2.1.4.3 稳定性试验

精密吸取同一批桃仁供试品溶液,分别于 0、3、7、12、20、24 h 按照“2.1.1”项下色谱条件进样测定,以 *D*-苦杏仁苷为参照峰 S,计算各共有峰与 S 峰的相对保留时间 RSD 为 0.14% ~ 0.68%,相对峰面积 RSD 为 1.3% ~ 2.1%,表明同一批供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

#### 2.1.5 桃仁炮制前后指纹图谱的建立和分析

分别取 18 批桃仁、燂桃仁、炒桃仁饮片,按“2.1.3”项下确定的供试品制备方法制备供试品溶液,按“2.1.1”项下色谱条件进样测定并记录色谱图,数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012 版)”,分别以编号 R1、C1、S1 样品指纹图谱为参照图谱,进行多点校正和色谱峰匹配,桃仁、燂

桃仁分别标识出 8 个共有峰(见图 1、图 2),炒桃仁标识出 7 个共有峰(见图 3)。采用平均数法,生成桃仁、燂桃仁、炒桃仁指纹图谱共有模式(见图 4A ~

4C),并计算各批样品指纹图谱与对照指纹图谱的相似度,结果见表 2。各样品指纹图谱相似度均在 0.990 以上,表明桃仁及炮制品质量均较稳定。

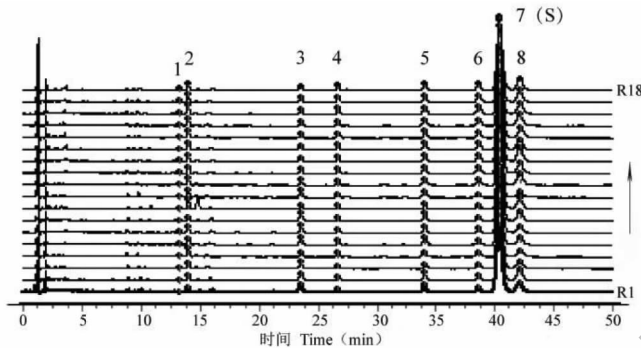


图 1 18 批桃仁 UPLC 叠加图谱

Fig. 1 UPLC fingerprint of 18 batches of Persicae Semen

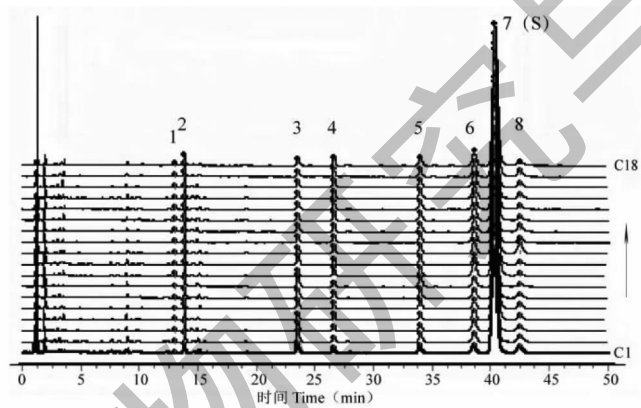


图 2 18 批燂桃仁 UPLC 叠加图谱

Fig. 2 UPLC fingerprint of 18 batches of Chan Persicae Semen

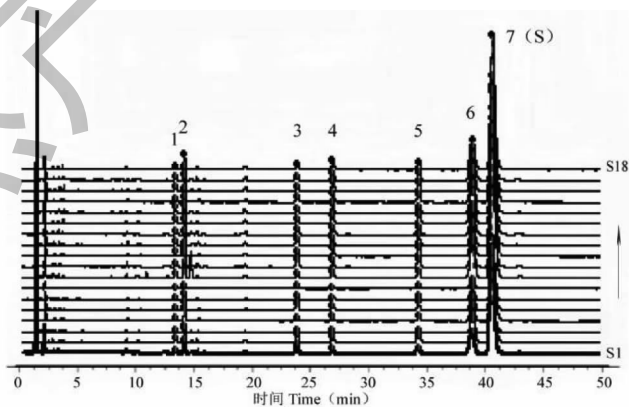


图 3 18 批炒桃仁 UPLC 叠加图谱

Fig. 3 UPLC fingerprint of 18 batches of stir-baked Persicae Semen

#### 2.1.6 共有峰指认

取“2.1.2”项下对照品溶液,按照“2.1.1”项下色谱条件进样分析,根据保留时间并结合紫外光谱

图,确定峰 3 为色氨酸;峰 7 为 *D*-苦杏仁苷。根据文献<sup>[11,12]</sup>推测峰 6 为苦杏仁苷的差向异构体 *L*-苦杏仁苷,结果见图 4D。

表2 桃仁、燂桃仁、炒桃仁饮片指纹图谱相似度评价结果

Table 2 Evaluation results of similarity in fingerprint of Persicae Semen, Chan Persicae Semen and stir-baked Persicae Semen

桃仁 Persicae Semen	相似度 Similarity	燂桃仁 Chan Persicae Semen	相似度 Similarity	炒桃仁 Stir-baked Persicae Semen	相似度 Similarity
R1	1.000	C1	0.999	S1	0.998
R2	1.000	C2	0.999	S2	0.999
R3	1.000	C3	1.000	S3	0.999
R4	0.999	C4	1.000	S4	1.000
R5	0.999	C5	1.000	S5	0.999
R6	0.999	C6	1.000	S6	1.000
R7	0.999	C7	0.999	S7	0.996
R8	0.997	C8	1.000	S8	0.999
R9	0.999	C9	1.000	S9	0.999
R10	0.999	C10	0.999	S10	0.999
R11	1.000	C11	1.000	S11	1.000
R12	0.997	C12	1.000	S12	0.998
R13	1.000	C13	1.000	S13	0.999
R14	1.000	C14	1.000	S14	0.995
R15	1.000	C15	1.000	S15	0.999
R16	1.000	C16	1.000	S16	0.997
R17	1.000	C17	1.000	S17	0.998
R18	0.999	C18	1.000	S18	0.998

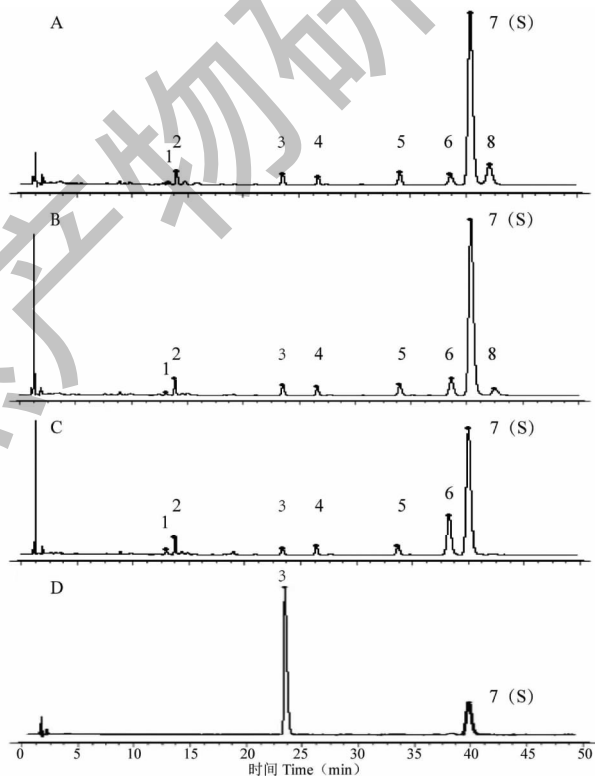


图4 桃仁(A)、燂桃仁(B)和炒桃仁(C)对照指纹图谱及混合对照品(D)的UPLC色谱图

Fig. 4 UPLC fingerprint of Persicae Semen(A), Chan Persicae Semen(B), stir-baked Persicae Semen(C) and mixed reference standards(D)

注:3. 色氨酸;6. *L*-苦杏仁苷;7(S). *D*-苦杏仁苷。Note:3. Tryptophan;6. *L*-Amygdalin;7(S). *D*-Amygdalin.

## 2.1.7 化学模式识别分析

### 2.1.7.1 单因素方差分析

以 *D*-苦杏仁苷为参照峰 S, 运用 SPSS 20.0 对“2.1.5”项下 18 批桃仁、燂桃仁、炒桃仁饮片各

共有峰的峰面积数据进行单因素方差分析, 结果见表 3。由方差分析结果可知, 除峰 2、峰 4 外, 其余各共有峰在桃仁生品与炮制品之间均具有明显差异性, 其中峰 5、6、8 差异最大。

表 3 桃仁、燂桃仁、炒桃仁饮片指纹图谱色谱峰峰面积方差分析 ( $\bar{x} \pm s, n = 18$ )

Table 3 Analysis of variance of peak area in fingerprint of Persicae Semen, Chan Persicae Semen and stir-baked Persicae Semen ( $\bar{x} \pm s, n = 18$ )

峰号 Peak number	桃仁 Persicae Semen	燂桃仁 Chan Persicae Semen	炒桃仁 Stir-baked Persicae Semen
1	0.060 ± 0.020 <sup>b</sup>	0.068 ± 0.017 <sup>b</sup>	0.168 ± 0.065 <sup>a</sup>
2	0.597 ± 0.160 <sup>a</sup>	0.567 ± 0.091 <sup>a</sup>	0.636 ± 0.240 <sup>a</sup>
3	0.680 ± 0.211 <sup>a</sup>	0.572 ± 0.190 <sup>a</sup>	0.377 ± 0.157 <sup>b</sup>
4	0.457 ± 0.106 <sup>a</sup>	0.446 ± 0.096 <sup>a</sup>	0.493 ± 0.183 <sup>a</sup>
5	0.959 ± 0.121 <sup>a</sup>	0.767 ± 0.109 <sup>b</sup>	0.633 ± 0.185 <sup>c</sup>
6	1.034 ± 0.315 <sup>c</sup>	1.445 ± 0.337 <sup>b</sup>	3.585 ± 1.212 <sup>a</sup>
7	17.316 ± 3.138 <sup>a</sup>	17.070 ± 2.099 <sup>a</sup>	12.584 ± 4.553 <sup>b</sup>
8	2.345 ± 0.592 <sup>a</sup>	0.711 ± 0.239 <sup>b</sup>	0.000 ± 0.000 <sup>c</sup>

注: 同一行中不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著; 炒桃仁样品中无色谱峰 8, 其峰面积按 0 计算。

Note: Different lowercase letters in the same line indicated significant differences at the 0.05 level; There were no peak 8 in the stir-baked Persicae Semen samples, and their peak area was calculated as 0.

### 2.1.7.2 热图聚类分析

运用 Hplot 软件对 54 批样品的 8 个共有峰的峰面积数据进行热图聚类分析, 结果见图 5。由聚类分析树状图可知, 炒桃仁单独聚为一类, 10 批桃仁生品和 10 批燂桃仁各聚为一类, 除 R3、R4、R7、

R9 外, 剩余 4 批桃仁生品与燂桃仁各聚为一类。由热图可知, 炒桃仁色谱峰 1、6 峰面积明显高于桃仁生品和燂桃仁, 桃仁生品中色谱峰 5、8 峰面积明显高于燂桃仁和炒桃仁。与单因素方差分析结果一致。

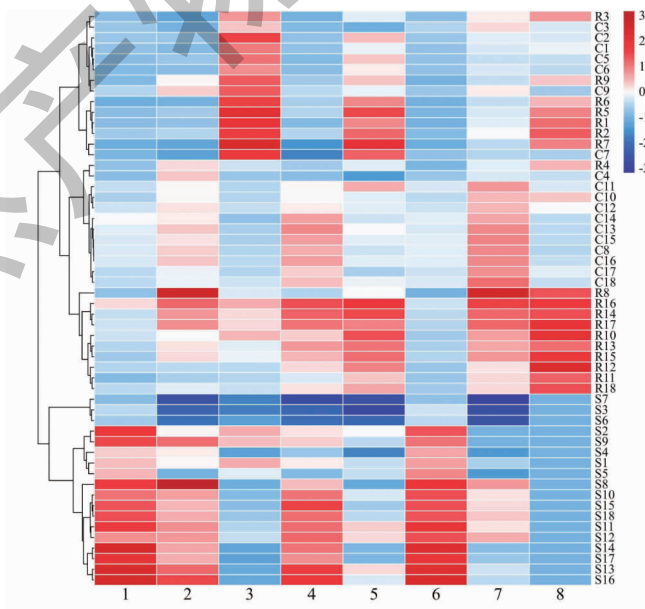


图 5 桃仁、燂桃仁、炒桃仁饮片共有峰热图聚类分析树状图

Fig. 5 Heatmap clustering analysis tree diagram of common peak of Persicae Semen, Chan Persicae Semen and stir-baked Persicae Semen

### 2.1.7.3 偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)

运用 SIMCA 14.1 软件对 54 批样品的 8 个共有峰的峰面积数据进行偏最小二乘法判别分析(PLS-DA),筛选 8 个共有峰中差异贡献较大的成分,结果见图 6、图 7。在 PLS-DA 模型中,模型拟合参数  $R^2 X_{(cum)} = 0.854$ ,  $R^2 Y_{(cum)} = 0.770$ , 预测能力参数  $Q^2_{(cum)} = 0.728 > 0.5$ , 提示所建立的 PLS-DA 数学模

型稳定且预测能力较好。由 PLS-DA 图可知 54 批桃仁生品及其炮制品分为 3 类,炒桃仁可完全区分,桃仁生品与焯桃仁除少部分重叠外,也可区分。以  $VIP > 1$  为原则,得出色谱峰 8、7、6、1 可能是区分样品最关键的色谱峰,对样品分类作用较大。除色谱峰 2、3、4 外,其余色谱峰 VIP 值均在 0.90 以上。与单因素方差分析结果一致。

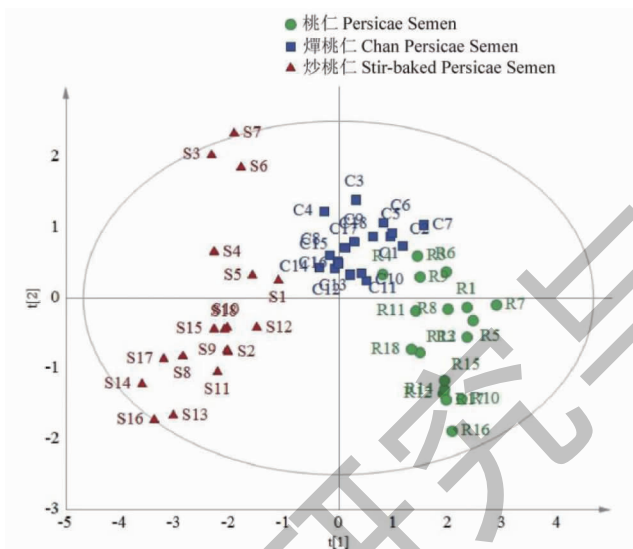


图 6 桃仁、焯桃仁、炒桃仁共有峰 PLS-DA 得分图

Fig. 6 PLS-DA score plot diagram of common peak of Persicae Semen, Chan Persicae Semen and stir-baked Persicae Semen

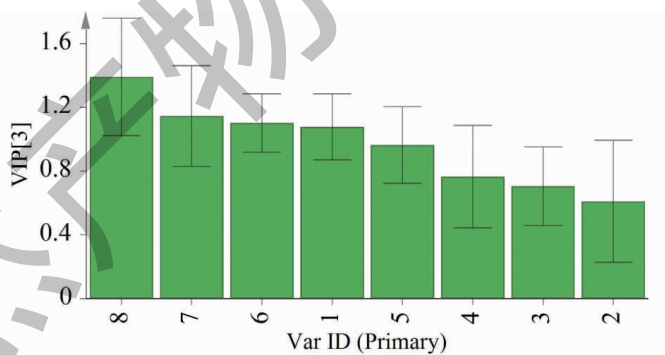


图 7 桃仁、焯桃仁、炒桃仁共有峰 VIP 图

Fig. 7 The VIP diagram of common peak of Persicae Semen, Chan Persicae Semen and stir-baked Persicae Semen

## 2.2 含量测定方法的建立

### 2.2.1 线性关系考察

精密称定 *D*-苦杏仁苷对照品适量,加 70% 甲醇制成每 1 mL 含对照品 9.737、24.341、60.854、121.707、243.414、486.829、730.243、1217.072  $\mu\text{g}$  的对照品溶液,分别精密吸取上述对照品溶液,按照“2.1.1”项下色谱条件进行测定,记录色谱峰面积。以对照品溶液的浓度为横坐标( $X$ ),峰面积为纵坐

标( $Y$ )进行线性回归,得到线性回归方程为: $y = 0.2064x + 2.8298$ ,  $R^2 = 0.9999$ ,表明 *D*-苦杏仁苷在 9.737 ~ 1217.072  $\mu\text{g/mL}$  的浓度范围内与峰面积线性关系良好。

### 2.2.2 精密度试验

精密吸取 *D*-苦杏仁苷对照品溶液(浓度分别为 97.351  $\mu\text{g/mL}$ )2  $\mu\text{L}$ ,按“2.1.1”项下色谱条件连续进样 6 次,测定峰面积,计算得到 RSD 值为 0.28%,

表明仪器精密度良好。

### 2.2.3 重复性试验

取同一批桃仁饮片粗粉约 0.3 g,精密称定,平行称定 6 份,按“2.1.3”项下确定的供试品溶液制备方法,制备供试品溶液 6 份。按“2.1.1”项下色谱条件测定,测定供试品溶液中 *D*-苦杏仁苷含量,计算得到 *D*-苦杏仁苷含量 RSD 值为 1.5%,表明该方法重复性良好。

### 2.2.4 稳定性试验

取同一批桃仁饮片粗粉约 0.3 g,精密称定,按“2.1.3”项下确定的供试品溶液制备方法,制备供试品溶液。于室温下放置,按“2.1.1”项下色谱条

件测定,分别在制备后 0、3、5、8、12、24 h 后进样测定,记录 *D*-苦杏仁苷峰面积,计算得到 RSD 值为 0.61%,表明该方法制备的供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

### 2.2.5 加样回收率试验

采用加样回收法,按对照品加入量与供试品待测成分的含量之比控制在 0.5:1、1:1、1.5:1 左右设计 3 组实验,每组平行 3 份。精密称取 *D*-苦杏仁苷(纯度:88.2%)对照品适量于具塞锥形瓶中,再取已测定含量的桃仁药材粗粉约 0.15 g 于锥形瓶中,精密称定,按照“2.1.3”项下方法制备供试品溶液。按“2.1.1”项下色谱条件进样测定,结果见表 4。

表 4 加样回收率试验结果

Table 4 The result of recovery rate test

组别 Group	称样量 Sample weight (g)	原有量 Original amount (mg)	测得量 Found amount (mg)	加入量 Added amount (mg)	回收率 Recovery rate (%)	平均回收率 Average recovery rate (%)	RSD (%)
桃仁 Persicae Semen	0.151 8	3.604	6.086	2.492	99.62	99.10	1.3
	0.152 3	3.616	6.069	2.453	100.0		
	0.153 6	3.646	6.083	2.416	100.9		
	0.158 8	3.770	8.099	4.348	99.55		
	0.154 7	3.673	8.089	4.408	100.2		
	0.155 2	3.684	8.025	4.419	98.24		
	0.156 4	3.713	9.702	6.074	98.60		
	0.153 9	3.654	9.503	6.028	97.04		
燂桃仁 Chan Persicae Semen	0.152 7	3.271	4.818	1.602	96.58	97.56	1.8
	0.153 6	3.290	4.819	1.572	97.27		
	0.153 3	3.284	4.861	1.647	95.80		
	0.157 6	3.376	6.724	3.375	99.19		
	0.151 4	3.243	6.643	3.407	99.80		
	0.150 6	3.226	6.696	3.474	99.89		
	0.157 3	3.369	7.912	4.670	97.26		
	0.152 7	3.271	7.846	4.707	97.20		
炒桃仁 Stir-baked Persicae Semen	0.153 3	3.284	7.772	4.720	95.08	100.1	0.79
	0.151 9	3.993	6.093	2.109	99.58		
	0.153 6	4.038	6.109	2.089	99.14		
	0.153 3	4.030	6.091	2.058	100.1		
	0.153 6	4.038	8.046	3.968	101.0		
	0.155 5	4.088	8.007	3.938	99.50		
	0.158 7	4.172	8.189	3.952	101.6		
	0.154 2	4.054	10.010	5.968	99.79		
0.157 1	4.130	10.086	5.955	100.0			
0.155 6	4.091	10.037	5.908	100.7			



### 2.2.6 含量测定样品测定

分别取 18 批桃仁、燂桃仁和炒桃仁饮片,按“2.1.3”项下方法制备样品溶液,按“2.1.1”项下色

谱条件进样测定计算样品中苦杏仁苷的含量,结果见图 8。

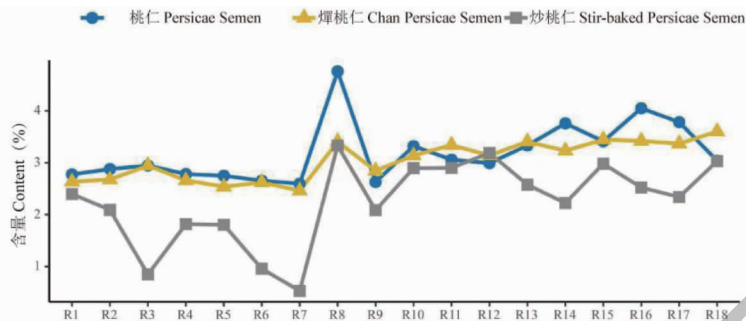


图 8 *D*-苦杏仁苷的含量测定结果

Fig. 8 Determination results of *D*-amygdalin content

### 2.2.7 方差分析

运用 SPSS 20.0 软件对“2.2.6”项下 18 批桃仁、燂桃仁、炒桃仁饮片中 *D*-苦杏仁苷含量数据进

行单因素方差分析,结果见表 5,桃仁、燂桃仁、炒桃仁的 *D*-苦杏仁苷含量具有显著性差异,炒桃仁中 *D*-苦杏仁苷含量最低,燂桃仁次之,桃仁最高。

表 5 桃仁、燂桃仁、炒桃仁饮片 *D*-苦杏仁苷含量方差分析

Table 5 Analysis of variance of *D*-amygdalin content of Persicae Semen, Chan Persicae Semen and stir-baked Persicae Semen

类别 Group	均值 Average value	标准差 Standard deviation	标准误 Standard error	均值的 95% 置	均值的 95% 置	<i>P</i> 值
				信区间下限 Lower limit of 95% confidence interval for average	信区间上限 Upper limit of 95% confidence interval for average	
桃仁 Persicae Semen	3.194	0.579	0.136	2.906	3.482	0.000
燂桃仁 Chan Persicae Semen	3.048	0.375	0.088	2.861	3.234	
炒桃仁 Stir-baked Persicae Semen	2.250	0.814	0.192	1.845	2.655	

## 3 讨论与结论

本研究通过对不同填料色谱柱、流动相洗脱梯度、柱温等多方面因素进行研究,建立的指纹图谱方法不仅实现了桃仁及不同炮制品间的明显区分,而且实现了对 *D*-苦杏仁苷和 *L*-苦杏仁苷的较好分离用于准确测定 *D*-苦杏仁苷含量。

前期研究中,考察了不同提取溶剂(甲醇、70% 甲醇、50% 甲醇、乙醇、70% 乙醇、50% 乙醇),结果表明 70% 甲醇提取的色谱峰信息丰富,峰面积响应值高,峰型与分离度较好;考察了不同提取方式(超声、回流),结果表明超声方式提取的色谱峰信息更为丰富;考察了不同提取时间(15、30、45 min),结果表明 15 min 已提取完全,为保证提取充分,选择 30 min 提取时间。又考察了 Thermo Vanquish、Waters H-Class Plus、Agilent 1290 三种不同品牌超高压相色谱仪和 3 种不同品牌的色谱柱(Waters、Thermo、YMC)对桃仁饮片指纹图谱方法耐用性的影响,以

*D*-苦杏仁苷为参照峰 S,计算各共有峰与 S 峰的相对保留时间 RSD 为 0.21% ~ 3.0%,相对峰面积 RSD 为 0.85% ~ 2.9%,结果表明该方法耐用性良好。

桃仁生品和燂桃仁饮片的指纹图谱有 8 个共有峰,炒桃仁饮片有 7 个共有峰,色谱峰 8 经过炒制后丢失,本研究同时进行了前处理考察,桃仁生品加入 70% 甲醇水溶液在加热回流和超声条件下均存在 8 个色谱峰,加入甲醇、乙醇溶液在超声条件下几乎不存在色谱峰 8,加入 70% 甲醇水、50% 甲醇水、70% 乙醇水、50% 乙醇水溶液在超声条件下均存在 8 个色谱峰。燂桃仁饮片加入 70% 甲醇水溶液在加热回流条件下几乎不存在色谱峰 8,加入甲醇、乙醇溶液在超声条件下几乎不存在色谱峰 8,加入 70% 甲醇水、50% 甲醇水、70% 乙醇水、50% 乙醇水溶液在超声条件下均存在 8 个色谱峰,且随着水的比例增大,色谱峰 8 的峰面积也相应增大。炒桃仁饮片在

各种前处理方式中均只有7个共有峰。色谱峰8在桃仁生品中峰面积明显大于燂桃仁饮片中峰面积。基于此研究,推测色谱峰8为水溶性的化合物,且易受高温影响转化。在桃仁指纹图谱中,桃仁炮制前后,指纹图谱中色谱峰8、7、6、1、5峰面积均明显改变。峰7、峰6分别为D-苦杏仁苷和L-苦杏仁苷,两者可相互转化,受热导致L-苦杏仁苷含量增高,对峰7、峰6的峰面积加和后进行单因素方差分析比较均值,结果显示燂桃仁、炒桃仁无明显差异,表明桃仁中苦杏仁苷燂制后再炒制的主要影响为异构体转化,苦杏仁苷酶解的影响较小,与燂制“杀酶保苷”理论相符。峰8通过前期研究发现是易受高温影响转化的水溶性成分,经过炮制后峰面积明显下降,峰1经过炒制后峰面积明显增高,峰5在桃仁生品中具有较高峰面积。这三个成分是否具有相互转化的关系,有待下一步通过质谱和对照品成分指认进行研究。

古籍医案和现中医处方中均极少注明桃仁炮制要求,而在实际应用中趋向于以净桃仁生用、捣碎入药为主流<sup>[7]</sup>,2020版《中国药典》中收载含有桃仁的成方制剂与单味制剂中净桃仁占八成以上。现代研究表明,桃仁炮制能够降低毒性,通过灭活苦杏仁苷酶减少苦杏仁苷降解生成毒性成分氢氰酸。古人认为桃仁连皮尖生用行血,去皮尖炒用则润燥。现代临床报道也表明生桃仁泻血热、祛瘀滞能力强,而炮制后的桃仁则偏润燥滑肠通便。桃仁生品主要在血府逐瘀丸、化癥回生片、桂枝茯苓片、丹红化瘀口服液等方剂中用于气滞血瘀所致急症,燂桃仁主要在颈复康颗粒、根痛平颗粒等方剂中用于风湿痹阻所致的颈、腰椎病,炒桃仁主要在冠脉宁胶囊、醒脑再造胶囊等方剂中用于风痰闭阻所致神志不清、胸痛心悸等症。

本研究含量测定结果显示桃仁生品、燂桃仁、炒桃仁饮片中D-苦杏仁苷含量的平均值分别为3.194%、3.048%、2.250%,由此推测,桃仁炮制后药效变温可能与D-苦杏仁苷含量降低有关。但现代研究表明,D-苦杏仁苷主要药理作用是止咳平喘,而桃仁主要功效还包括活血化瘀,润肠通便,有研究认为桃仁油脂脂肪酸中的棕榈酸、油酸、亚油酸等可能是桃仁活血化瘀、润肠通便功效的主要活性成分<sup>[11]</sup>。经过炮制的桃仁药效更加温和,也可能与桃仁油脂脂肪酸成分的流失有关。桃仁炮制可以减少因苦杏仁苷酶降解导致的不良反应,在长期贮存中也能发挥保苷作用<sup>[12]</sup>,但是药效受到影响,因此临

床应用桃仁及其不同炮制品时应根据入药目的进行选择。

综上所述,本研究建立的桃仁生品及其炮制品的指纹图谱及含量测定方法,可实现对桃仁生品、燂桃仁、炒桃仁的快速区分以及D-苦杏仁苷含量的准确测定,为桃仁及其炮制品的质量控制提供一些参考意义,也为桃仁及相关炮制品的临床应用提供了更好的依据。

#### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol. I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 290.
- 2 Bai JR, You SH, Yin HY, et al. Predicting the target of peach kernel in the treatment of Parkinson's disease based on network pharmacology [J]. Acta Neuropharm (神经药理学报), 2023, 13: 31-38.
- 3 Guan YH, Wang FR. An analysis of the mechanism of Danshen and Taoren in the treatment of stable angina pectoris based on network pharmacology [J]. Clin J Chin Med (中医临床研究), 2023, 15: 106-111.
- 4 Wu J, Wu RZ, Ge SW, et al. Mechanism of action of peach seed-*Carthamus tinctorius* in treatment of knee osteoarthritis based on network pharmacology and molecular docking [J]. Hunan J Tradit Chin Med (湖南中医杂志), 2022, 38: 162-171.
- 5 Zhang YY, Wei JH, Lu CS, et al. Chemical components and pharmacological action for Taoren (*Persicae Semen*) and predictive analysis on Q-marker [J]. Chin Arch Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2022, 40: 234-241.
- 6 Shi YL, Wang X, Sheng P, et al. Prescription rules and mechanism of core drugs in the treatment of diabetic cognitive dysfunction based on data mining and network pharmacology [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2021, 33: 1223-1235.
- 7 Deng J, Ye MQ, Peng J, et al. The historical evolution and modern research progress of peach kernel processing [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2023, 45: 3713-3717.
- 8 Xu XH, Li T, Wang YT, et al. Research progress in *Persicae Semen* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2015, 46: 2649-2655.
- 9 Zhang XN, Wei HZ, Zhang D, et al. Study on fingerprint of *Persicae Semen* before and after processing based on stoichiometric analysis [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2020, 37: 971-976.