

# 复方血脂宁中4种药材对二苯乙烯苷稳定性的影响

李超, 任晓亮\*, 王萌, 孙立丽, 陈林

(天津中医药大学 中药学院, 中医药研究院, 天津 300193)

**[摘要]** **目的:**考察复方血脂宁中4种药材提取液对二苯乙烯苷稳定性的影响,探究该复方的配伍规律。**方法:**采用UPLC考察不同条件下二苯乙烯苷单体及其在复方各药材提取液中含量随时间的变化规律,流动相甲醇(A)-0.1%甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~2 min,10%~25% A;2~9 min,25%~35% A;9~12 min,35%~40% A;12~40 min,40%~90% A),流速0.2 mL·min<sup>-1</sup>,柱温45℃,检测波长280 nm。利用化学反应动力学方法计算二苯乙烯苷在不同环境下的降解反应动力学参数,表征其半衰期( $t_{1/2}$ )和降解活化能。**结果:**二苯乙烯苷单体及其在不同药材提取液中的降解均遵循一级反应动力学规律,在pH 8.3条件下,二苯乙烯苷单体的降解速率常数( $K$ )0.037 5 h<sup>-1</sup>, $t_{1/2}$  = 18.48 h,该成分在山楂提取液中的 $K$  = 0.012 3 h<sup>-1</sup>, $t_{1/2}$  = 56.35 h,其他3种药材提取液也在不同条件下表现出对二苯乙烯苷的促稳作用。**结论:**复方血脂宁中药材配伍可不同程度地提高二苯乙烯苷的稳定性,其中以山楂效果最为显著,从稳定性角度探究了中药复方配伍的合理性。

**[关键词]** 血脂宁; 二苯乙烯苷; 降解动力学; 配伍; 稳定性; 制何首乌; 活化能

**[中图分类号]** R283.6;R945;R284;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)02-0019-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018020019

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171102.1856.046.html>

**[网络出版时间]** 2017-11-02 18:56

## Effect of Four Medicinal Herbs on Stability of Stilbene Glucoside in Compound Xuezhining

LI Chao, REN Xiao-liang\*, WANG Meng, SUN Li-li, CHEN Lin

(School of Chinese Materia Medica, Institute of Traditional Chinese Medicine (TCM),  
Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study on the stability of stilbene glucoside in various extracts of medicinal materials from compound Xuezhining, and to explore compatibility rule of this compound. **Method:** The content of stilbene glucoside changed with time under different conditions was investigated by UPLC. Based on the chemical reaction kinetics, the parameters of degradation kinetics were calculated under different environments. The activation energy and half-time ( $t_{1/2}$ ) were investigated. **Result:** The degradations of stilbene glucoside in different conditions were followed the first-order reaction kinetics. The degradation rate constant ( $K$ ) of stilbene glucoside in aqueous solution and Crataegi Fructus extract were 0.037 5, 0.012 3 h<sup>-1</sup>, and  $t_{1/2}$  were 18.48, 56.35 h under pH 8.3, respectively. The other extracts also showed the stabilizing effect on stilbene glucoside under different conditions. **Conclusion:** The compatibility of Chinese medicines in compound Xuezhining can improve the stability of stilbene glucoside in different degrees. Among them, effect of Crataegi Fructus is the most significant.

**[Key words]** Xuezhining; stilbene glucoside; degradation kinetics; compatibility; stability; Polygoni Multiflori Radix Praeparata; activation energy

**[收稿日期]** 20170612(010)

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81473543)

**[第一作者]** 李超,在读硕士,从事中药质量控制研究,Tel:15822819915,E-mail:641586216@qq.com

**[通信作者]** \*任晓亮,博士,副教授,从事中药质量评价研究,Tel:022-59596221,E-mail:xiaoliang\_ren@sina.com

复方血脂宁<sup>[1]</sup>收载于2015年版《中国药典》(一部),由决明子、制何首乌、荷叶、山楂4味中药组成,具有活血行气、化浊降脂、润肠通便的功效,主用于痰浊阻滞型高脂血症。其主要降脂成分有二苯乙烯苷类、生物碱类、黄酮类和蒽醌类。其中2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(简称二苯乙烯苷)是制何首乌中主要活性成分,其具有良好的水溶性,同时具有抗氧化、抗肿瘤、降血脂等功能<sup>[2-3]</sup>。有文献报道二苯乙烯苷在高温条件下不稳定,随温度升高其浓度减小的速度增快<sup>[4-5]</sup>;除此之外,光照<sup>[6]</sup>、金属离子<sup>[7]</sup>对二苯乙烯苷的稳定性也有很大的影响。基于上述二苯乙烯苷药理作用广泛且不稳定的特性,本实验将复方血脂宁中制何首乌主要活性成分二苯乙烯苷作为研究的目标化合物。

研究表明中药复方配伍可使药材中某一药效成分含量增加或降低,从而达到增效减毒作用,复方血脂宁各药材配伍也可影响其活性成分的代谢过程<sup>[8-9]</sup>。而目前针对配伍对有效成分稳定性影响的报道较少,故本实验从复方血脂宁稳定性研究角度,分析制何首乌活性成分二苯乙烯苷在与不同药材配伍后的变化情况,以初步探究中药的配伍规律,为复方血脂宁的稳定性、安全性研究提供支持,并对中药复方的配伍合理性研究提供了新思路。

## 1 材料

ACQUITY型UPLC系统(美国Waters公司),BT125D型1/10万电子天平(德国Sartorius公司),JA31002型电子天平(上海精天电子仪器有限公司),TG16-WS型高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司),KDM型电热套(北京永兴精佳仪器有限公司),DELTA320型pH计(瑞士Mettler-Toledo公司)。

决明子、制何首乌、荷叶、山楂药材均购自亳州市京皖中药饮片厂,经天津中医药大学中药学院李天祥教授鉴定分别为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* 的干燥成熟种子,蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* 的干燥块根,睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* 的干燥叶,蔷薇科植物山楂 *Crataegus pinnatifida* 的干燥成熟果实;2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(二苯乙烯苷)对照品(中国食品药品检定研究院,批号110844-200606,纯度98%),水为超纯水,甲醇、甲酸为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液** 精密称取二苯乙烯苷对照品适量,加甲醇溶解并制成  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  对照品溶液,作为储备液。

**2.1.2 复方各药材提取液** 取决明子、制何首乌、荷叶、山楂药材,粉碎,过100目筛。分别称取决明子、制何首乌、荷叶、山楂粉末4.0 g,精密称定,分别置于250 mL圆底烧瓶中,加20倍量50%乙醇回流提取90 min,滤过,于50℃下减压浓缩至40 mL,经0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜滤过,得各药材浓缩液。

**2.1.3 供试品溶液** 取二苯乙烯苷0.7 mg,精密称定,共3份,分别置于10 mL棕色量瓶中,分别按复方比例加入决明子浓缩液(1:10)0.6 mL,荷叶浓缩液(1:10)0.3 mL,山楂浓缩液(1:10)0.2 mL;另精密量取制何首乌浓缩液(1:10)0.4 mL,置于10 mL棕色量瓶中。将上述4组溶液用不同降解条件溶液分别稀释至刻度,涡旋混匀,即得各供试品溶液。

**2.1.4 模拟体液** 精密量取浓盐酸9.0 mL,用水稀释至1 L,得模拟胃液(pH 1.2 盐酸溶液);量取  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸二氢钾溶液250 mL,加入浓度  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液118 mL,用水稀释至1 L,得模拟小肠液(pH 6.8 缓冲液);以pH 6.8 缓冲液为基础,继续加氢氧化钠溶液调制pH 8.3,得模拟大肠液(pH 8.3 缓冲液)。

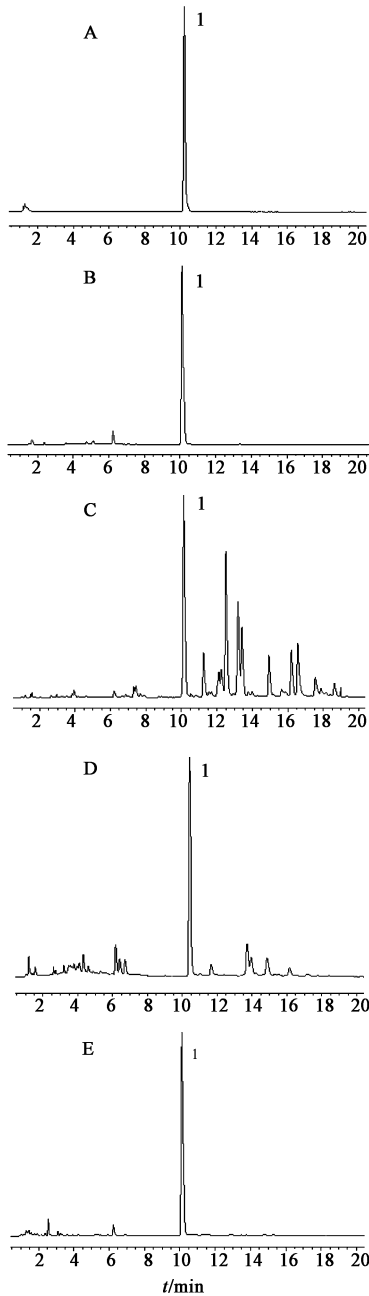
**2.2 色谱条件** ACQUITY UPLC BEH Shield RP18 色谱柱(2.1 mm  $\times$  100 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ),流动相甲醇(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0~2 min, 10%~25% A; 2~9 min, 25%~35% A; 9~12 min, 35%~40% A; 12~40 min, 40%~90% A),流速  $0.2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,柱温45℃,检测波长280 nm,进样量3  $\mu\text{L}$ 。见图1。

### 2.3 方法学考察

**2.3.1 线性关系考察** 精密吸取2.1.1项下二苯乙烯苷对照品储备液适量,加甲醇稀释成系列质量浓度的对照品溶液,按2.2项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,得标准曲线方程  $Y = 4.0 \times 10^7 X + 378\ 508$  ( $r = 0.999\ 8$ ),线性范围10~500  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**2.3.2 精密度试验** 精密吸取同一对照品溶液适量,按2.2项下色谱条件连续进样6次,结果二苯乙烯苷峰面积的RSD 0.5%,表明仪器的精密度良好。

**2.3.3 重复性试验** 取制何首乌粉末4.0 g,精密



A. 对照品; B. 山楂供试品; C. 决明子供试品; D. 荷叶供试品; E. 制何首乌供试品; 1. 二苯乙烯苷

图 1 复方血脂宁不同供试品溶液的 UPLC

Fig. 1 UPLC chromatograms of testing solutions of compound Xuezhining

称定,按 2.1.2 项下方法制备 6 份制何首乌提取液,按 2.2 项下色谱条件测定,结果二苯乙烯苷的平均质量分数  $0.946 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,RSD 0.6%,表明该方法的重复性良好。

**2.3.4 稳定性试验** 取同一制何首乌提取液,分别于 0,2,4,8,12,18,24 h 按 2.2 项下色谱条件测定,结果二苯乙烯苷峰面积的 RSD 0.1%,表明供试品

溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.3.5 加样回收试验** 取制何首乌粉末约 1.0 g,精密称定,按大致 1:1 的比例精密加入二苯乙烯苷对照品储备液,按 2.1.2 项下方法平行制备 6 份供试品溶液,按 2.2 项下色谱条件测定,计算平均加样回收率 100.13%,RSD 0.8%,表明该方法的准确度良好。

**2.4 二苯乙烯苷在复方提取液中的 pH 稳定性试验** 精密吸取 2.1.1 项下二苯乙烯苷对照品储备液和 2.1.3 项下供试品溶液适量,分别稀释于 pH 1.2,6.8,8.3 的模拟体液中,按 2.2 项下色谱条件测定,以  $\ln(C_t/C_0)$  对时间  $t$  作图,方程为  $\ln(C_t/C_0) = -Kt$ ,式中  $C_t$  为  $t$  时刻药物质量浓度, $C_0$  为初始时刻药物质量浓度, $t$  为反应时间, $K$  为降解速率常数,通过化学反应动力学方法计算  $K$  和半衰期( $t_{1/2}$ ),结果见表 1。

表 1 不同 pH 下二苯乙烯苷在各药材提取液中的降解动力学参数  
Table 1 Degradation kinetic parameters of stilbene glucoside in various extracts of medicinal materials with different pH

| 样品    | pH  | $K/\text{h}^{-1}$ | $t_{1/2}/\text{h}$ | $r$     |
|-------|-----|-------------------|--------------------|---------|
| 山楂    | 1.2 | 0.000 6           | 1 155.25           | 0.998 1 |
|       | 6.8 | 0.000 6           | 1 155.25           | 0.992 6 |
|       | 8.3 | 0.012 3           | 56.35              | 0.999 4 |
| 决明子   | 1.2 | 0.001 1           | 630.13             | 0.985 3 |
|       | 6.8 | 0.001 3           | 533.19             | 0.986 1 |
|       | 8.3 | 0.021 5           | 32.24              | 0.999 5 |
| 荷叶    | 1.2 | 0.001 3           | 533.19             | 0.997 7 |
|       | 6.8 | 0.001 1           | 630.13             | 0.997 2 |
|       | 8.3 | 0.249 4           | 2.78               | 0.986 7 |
| 制何首乌  | 1.2 | 0.007 7           | 90.02              | 0.993 4 |
|       | 6.8 | 0.002 7           | 256.72             | 0.998 6 |
|       | 8.3 | 0.038 4           | 18.05              | 0.999 6 |
| 二苯乙烯苷 | 1.2 | 0.000 7           | 990.20             | 0.986 8 |
|       | 6.8 | 0.002 8           | 247.55             | 0.992 2 |
|       | 8.3 | 0.037 5           | 18.48              | 0.998 0 |

由表 1 可知,各样品中二苯乙烯苷在所有实验条件下的一级反应动力学曲线的相关系数( $r$ )均  $> 0.98$ ,证明其在不同 pH 下的降解符合一级反应过程。根据线性回归结果发现,在 pH 1.2 模拟胃液条件下,二苯乙烯苷单体相对稳定<sup>[10]</sup>,与山楂提取液中的稳定性相近,而在制何首乌(二苯乙烯苷成分药材来源),决明子和荷叶提取液中的降解速率较单体成分加快,其中以制何首乌提取液中降解速率

达到最大;在 pH 6.8 模拟小肠液条件下,二苯乙烯苷单体会发生部分降解,4 种药材提取液均可提高二苯乙烯苷的稳定性,且以山楂效果最显著;在室温 pH 8.3 模拟大肠液条件下,二苯乙烯苷单体成分相对不稳定,其在各药材提取液中的含量随时间变化关系见图 2,表明除了荷叶提取液以外,其他药材提取液均可提高二苯乙烯苷稳定性,且以山楂效果最显著。提示在中性及弱碱性环境中,山楂提取液可明显提高二苯乙烯苷的稳定性。

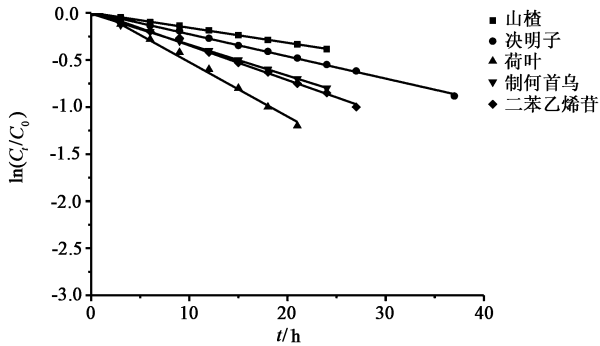


图 2 pH 8.3 条件下二苯乙烯苷在各药材提取液中的降解动力学曲线

Fig. 2 Degradation kinetic curves of stilbene glucoside in various extracts of medicinal materials with pH of 8.3

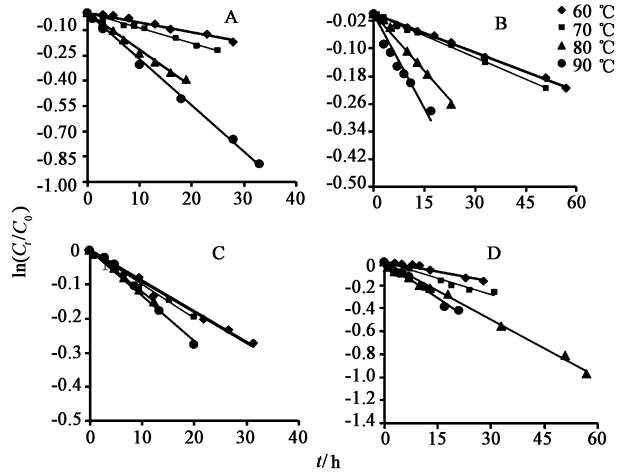
**2.5 二苯乙烯苷在复方提取液中的温度稳定性试验** 精密吸取 2.1.1 项下二苯乙烯苷对照品储备液和 2.1.3 项下供试品溶液适量,均用中性水溶液稀释至刻度,并分别放置于 60,70,80,90 °C 恒温水浴中,每隔一定时间取样,按 2.2 项下色谱条件测定,二苯乙烯苷在复方各药材提取液中含量随时间的变化情况见图 3。二苯乙烯苷在复方各药材提取液中的  $K$ ,  $t_{1/2}$  及根据 Arrhenius 公式 ( $\ln K = \ln A - E_a/rT$ ) 计算二苯乙烯苷的降解活化能 ( $E_a$ ) 见表 2 和图 4。

线性回归结果发现,二苯乙烯苷在各提取液中的降解反应呈现一级动力学规律,降解反应速率随温度的升高而加快。在高温条件下,二苯乙烯苷在山楂、决明子、制何首乌提取液中的稳定性均明显高于二苯乙烯苷单体的稳定性。

### 3 讨论

中药复方稳定性研究<sup>[11]</sup>是中药新药研究与开发一项重要内容,是保证中药制剂有效性和安全性的重要基础。中药在制备和储存过程中,常受到温度、湿度、光线、微生物和 pH 等因素的影响,进而影响药品的安全性和有效性<sup>[12]</sup>。

本研究比较了复方血脂宁中活性成分二苯乙烯苷配伍前后在不同 pH 和温度条件下的含量变化情



A. 山楂; B. 决明子; C. 荷叶; D. 制何首乌

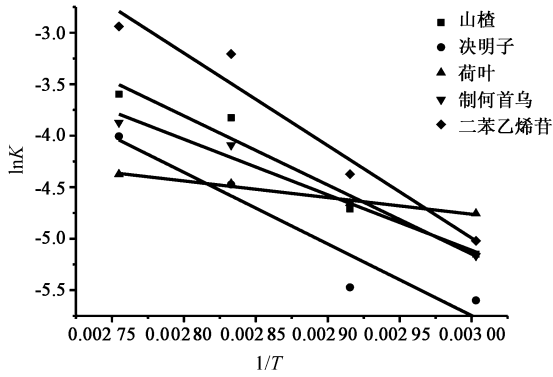
图 3 不同温度条件下二苯乙烯苷在各药材提取液中的降解动力学曲线

Fig. 3 Degradation kinetic curves of stilbene glucoside in various extracts of medicinal materials under different temperatures

表 2 不同温度下二苯乙烯苷在各药材提取液中的降解动力学参数  
Table 2 Degradation kinetic parameters of stilbene glucoside in various extracts of medicinal materials under different temperatures

| 样品    | T/°C | K/h <sup>-1</sup> | t <sub>1/2</sub> /h | r       | E <sub>a</sub> /kJ·mol <sup>-1</sup> |
|-------|------|-------------------|---------------------|---------|--------------------------------------|
| 山楂    | 60   | 0.005 8           | 119.51              | 0.987 5 | 55.79                                |
|       | 70   | 0.009 0           | 77.02               | 0.995 3 |                                      |
|       | 80   | 0.021 8           | 31.80               | 0.996 1 |                                      |
|       | 90   | 0.027 4           | 25.30               | 0.998 7 |                                      |
| 决明子   | 60   | 0.003 7           | 187.33              | 0.998 4 | 57.83                                |
|       | 70   | 0.004 2           | 165.04              | 0.998 5 |                                      |
|       | 80   | 0.011 4           | 60.80               | 0.995 2 |                                      |
|       | 90   | 0.018 2           | 38.09               | 0.967 2 |                                      |
| 荷叶    | 60   | 0.008 6           | 80.60               | 0.993 6 | 13.43                                |
|       | 70   | 0.009 5           | 72.96               | 0.995 0 |                                      |
|       | 80   | 0.011 5           | 60.27               | 0.999 0 |                                      |
|       | 90   | 0.012 6           | 55.01               | 0.991 0 |                                      |
| 制何首乌  | 60   | 0.005 7           | 121.60              | 0.975 8 | 44.84                                |
|       | 70   | 0.009 5           | 72.96               | 0.979 9 |                                      |
|       | 80   | 0.016 7           | 41.51               | 0.995 5 |                                      |
|       | 90   | 0.020 8           | 33.32               | 0.990 2 |                                      |
| 二苯乙烯苷 | 60   | 0.006 6           | 105.02              | 0.996 2 | 74.66                                |
|       | 70   | 0.012 6           | 55.01               | 0.997 4 |                                      |
|       | 80   | 0.040 5           | 17.11               | 0.996 8 |                                      |
|       | 90   | 0.052 9           | 13.10               | 0.995 0 |                                      |

况,结果发现二苯乙烯苷在山楂提取液中的稳定性明显高于其在单体水溶液中的稳定性,其他 3 种药



注:横坐标参数中  $T$  的单位为开尔文

图 4 二苯乙烯苷在各药材提取液中  $\ln K$  与  $1/T$  的关系  
Fig.4 Relationship between  $\ln K$  and  $1/T$  of stilbene glucoside in various extracts of medicinal materials

材提取液也在不同条件下可提高二苯乙烯苷的稳定性,说明复方血脂宁 4 种药材配伍可对二苯乙烯苷起到了促稳作用,进而从稳定性角度证实了其配伍的合理性。同时发现二苯乙烯苷在酸性条件下相对稳定,这可能是由于山楂中含有的多糖、有机酸等物质可促进其保持稳定。因此本研究从稳定性研究角度,揭示了复方血脂宁配伍对活性成分稳定性变化的影响,探究其配伍规律,并对中药复方配伍合理性提供了新的实验思路和方法,后期将对其配伍促稳的机制进行研究。

[参考文献]

[ 1 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:856-857.

[ 2 ] 谢岚. 何首乌及二苯乙烯苷的研究进展[J]. 天津药学,2010,22(3):70-73.

[ 3 ] 黄世琼,张毅,杨军宣. 何首乌主要成分二苯乙烯苷的研究进展[J]. 海峡药学,2016,28(6):37-39.

[ 4 ] 郭志烨,韩丽,杨明,等. 制何首乌中二苯乙烯苷对光和热的不稳定性[J]. 中成药,2014,36(11):2280-2285.

[ 5 ] REN X L, WANG G F, WANG M, et al. Kinetics and mechanism of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O- $\beta$ -D-glycoside (THSG) degradation in aqueous solutions [J]. J Pharm Biomed Anal,2011,55(1):211-215.

[ 6 ] 王贵芳,任晓亮,欧阳慧子,等. 化学动力学法研究 4 种光源对二苯乙烯苷稳定性的影响[J]. 药物分析杂志,2011,31(3):458-462.

[ 7 ] 李瑞煜,冯五文,李晓菲,等. 金属离子对何首乌中二苯乙烯苷稳定性的影响[J]. 药学学报,2016,51(1):116-121.

[ 8 ] 唐蓉,张依人,陈叶童,等. 不同剂量配伍对黄芪-当归中 5 种化学成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(23):1-5.

[ 9 ] 王玉霞,刘斌,周在富. 配伍何首乌对荷叶碱在 Beagle 犬体内药代动力学的影响[J]. 中华中医药杂志,2014,29(10):3236-3238.

[ 10 ] 任晓亮,欧阳慧子,王贵芳,等. 二苯乙烯苷  $\beta$ -环糊精包合物的制备及其稳定性研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(1):195-197.

[ 11 ] 梁锦杰,吴燕红,张燕梅,等. 中药制剂稳定性研究中含量测定的问题分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(12):253-258.

[ 12 ] 王萌,任晓亮,刘虹. 中药注射剂稳定性研究进展[J]. 辽宁中医杂志,2014,41(6):1294-1297.

[责任编辑 刘德文]