

番泻叶不同粉体的化学成分和泻下作用比较

张水寒¹, 邵怡¹, 易剑², 冯小燕¹, 梁雪娟¹, 蔡光先^{1,2*}

1. 湖南省中医药研究院, 湖南省中药粉体与创新药物省部共建重点实验室, 湖南省教育厅中药粉体技术创新团队, 湖南长沙 410013
2. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410007

摘要: 目的 研究番泻叶不同粉体的化学成分与泻下作用。方法 以燥结缺水便秘小鼠为模型, 运用色素流动法, 以黑便为指示, 通过观测小鼠首次排黑便的时间、稀便点数等指标来比较说明番泻叶不同粉体的泻下作用强弱。利用 HPLC 法测定番泻叶不同粉体致泻主要活性成分番泻苷 A、番泻苷 B, 比较各粉体中番泻苷 A、B 的量高低, 反映药理活性强弱。结果 通过小鼠动物实验观测到, 番泻叶超微饮片组首次排黑便的时间明显提前, 比饮片组提前了 76 min, 比超微粉组提前了 18 min; 稀便点数增多, 比药材饮片组多 3.7 个, 比超微粉组多 2.84 个。HPLC 法测定番泻苷 A、B 的量显示, 超微饮片中番泻苷 A 和 B 的质量分数为 0.43%, 是药材饮片中的 1.6 倍。结论 番泻叶 3 种粉体的水煎液都能明显增加小鼠腹泻的发生率, 尤其以番泻叶超微饮片的通便泻下作用最显著, 番泻苷 A、B 的量最高。

关键词: 番泻叶; 超微饮片; HPLC; 番泻苷 A; 番泻苷 B; 泻下

中图分类号: R975.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2011)05-0356-04

Comparison between chemical constituents and efficacy of different powder in *Sennae Folium*

ZHANG Shui-han¹, SHAO Yi¹, YI Jian², FENG Xiao-yan¹, LIANG Xue-juan¹, CAI Guang-xian^{1,2}

1. Medicine Powder Technology Innovation Team of Department of Education of Hunan Province, Province and Ministry Cooperation Lab of Traditional Chinese Medicine Powder and Innovation Drug, Ministry of Education, Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410013, China
2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of different powder in *Folium Sennae* and their cathartic effect. **Methods** The model of constipation on mice was established by water-deprivation but food-intaking, while pigment flow method was applied and black defecation was taken as the index. By observing the first time of black defecation and the loose stools points of mice, etc, we can explain the strength of making diarrhea by different powder in *Folium Sennae*. By HPLC to determine sennoside A and sennoside B which were the main ingredients to make diarrhea for comparing the content and reflect the intensity of pharmacological activity of different powder in *Sennae Folium*. **Results** For the constipation mice, *Sennae Folium* ultramicro pieces could shorten the first defecation time obviously, 76 min earlier than Chinese herbal pieces, 18 min earlier than superfine powder. It could also increase the points of loose stools, 3.7 more than Chinese herbal pieces, 2.84 more than superfine powder. Determination of sennoside A and sennoside B by HPLC showed that the content of *Sennae Folium* ultramicro pieces is 0.43%, 1.6 times as high as Chinese herbal pieces. **Conclusion** Three kinds of decoction of *Sennae Folium* powder could significantly increase the incidence of diarrhea in mice, and especially the cathartic effect of ultramicro-fine pieces, in which the content of sennoside A and B is the highest, is much more obvious than that of Chinese herbal pieces and ultra-fine powder of *Sennae Folium*.

Key words: *Sennae Folium*; ultramicro pieces; HPLC; sennoside A; sennoside B; diarrhea

番泻叶为豆科植物狭叶番泻 *Cassia angustifolia* Vahl 或尖叶番泻 *C. acutifolia* Del. 的干燥小叶^[1], 具有泻热导滞、通便利水之功效^[2], 临床用于热结积滞、便秘腹痛、水肿胀满等症已有千余年的历史,

收稿日期: 2011-06-16

基金项目: 国家财政部社会公益类行业科研专项; 中医药行业科研专项 (200807054)

作者简介: 张水寒, 女, 研究员, 研究方向为中药新制剂与新技术。Tel: (0731)88881651 E-mail: zhangshuihan0220@126.com

*通讯作者 蔡光先 Tel: (0731)88854261 E-mail: qzyuan601@126.com

是全世界应用最广的导泻药之一，其主要导泻成分为番泻苷 A、B、C、D^[3]。目前关于番泻叶制剂的品种比较少，做为微粉化技术应用的主要开发剂型，番泻叶超微饮片具有节省药材、质量可控、方便服用等优点^[4]，对其进行探讨与研究有重要意义。本实验采用燥结缺水便秘小鼠为模型，观察几种番泻叶粉体的致泻通便作用，并结合 HPLC 法测定番泻叶致泻活性成分，比较说明番泻叶不同粉体药效作用强弱。为探讨番泻叶临床科学合理的用药形式，改进番泻叶临床用药剂型，提高药材的生物利用度等方面提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

BFM—T6BI 型贝利微粉机(济南倍力粉体技术工程有限公司)，Winner3001 干粉激光粒径仪，高效液相色谱仪(岛津 LC—10 ATVP 高效液相色谱仪，紫外检测器 SPD—IO AVP，岛津色谱工作站)，T—214 型电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.2 试剂

甲醇、乙腈和冰醋酸为色谱纯，其他试剂均为分析纯，水为重蒸馏水，墨汁(北京一得阁墨业有限公司，货号 6921512700032)。

1.3 对照品

番泻苷 A(批号 A0182，成都曼思特生物科技有限公司，质量分数≥98%，供定量测定用)，番泻苷 B(中国药品生物制品检定所，质量分数≥98%)。

1.4 药材

番泻叶药材购于广西玉林药材市场，批号为 20100501。经湖南中医药研究院温俊达副研究员鉴定为豆科植物狭叶番泻 *Cassia angustifolia* Vahl 的干燥叶。

1.5 实验动物

ICR 小鼠由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供，许可证号 SCXK(湘)2009-0004。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

2.1.1 超微粉体的制备 取番泻叶 200 g，超微粉碎后，检测粒径，结果中位径(D_{50} ，即累计分布百分数达 50%时所对应的粒径值)^[4]的平均值为 19.26 μm ，小于 75 μm 的颗粒累积在 98%以上。

2.1.2 超微饮片的制备 取超微粉体适量，加 80%乙醇适量制粒，干燥，整粒加工成超微饮片。

取上述番泻叶饮片、超微粉体和超微饮片各 80 g，分别煎煮两次。第一次加 8 倍量水，煎煮 15 min；第二次加 6 倍量水，煎煮 15 min，合并煎煮液，减压浓缩，定容至 1 000 mL 量瓶中，即得 0.08 g/mL 样品溶液^[5]，供定量测定及动物实验用。

2.2 样品测定

2.2.1 供试品溶液的制备 各取上述水煎液 10 mL 加 50%甲醇定容至 20 mL 量瓶中，微孔滤膜滤过，即得。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取对照品番泻苷 A 7.20 mg，番泻苷 B 4.46 mg，用 50%甲醇溶解并定容至 100 mL 量瓶中，配制成混合对照品溶液。

2.2.3 色谱条件 色谱柱为依利特 Hypersil ODS2 柱(250 mm×4.6 mm，5 μm)，流动相为乙腈(A)-1%冰醋酸溶液(B)，检测波长 270 nm，体积流量 1 mL/min，柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 。按表 1 进行梯度洗脱。

表 1 梯度洗脱程序表

Table 1 Procedure of gradient elution

时间/min	A/%	B/%
0	5	95
5	10	90
25	15	85
40	19	81
45	25	75
55	5	95

2.2.4 线性关系考察 精密量取配制好的番泻苷 A 和番泻苷 B 混合对照品的不同浓度溶液，进样测定，以番泻苷 A 和番泻苷 B 的质量(X)为横坐标，峰面积(Y)为纵坐标，绘标准曲线，番泻苷 A 回归方程为 $Y=1\ 116.2 X+14\ 596$ ($r=0.999\ 8$)，番泻苷 B 回归方程为 $Y=2\ 294.7 X+12\ 950$ ($r=0.999\ 6$)，结果表明，番泻苷 A 在 72~1 440 ng，番泻苷 B 在 46~920 ng 与峰面积线性关系良好。

2.2.5 精密度试验 精密吸取混合对照品 10 μL ，连续进样 5 次，结果番泻苷 A 峰面积的 RSD 为 1.10%，番泻苷 B 峰面积的 RSD 为 1.26%。

2.2.6 稳定性试验 取番泻叶超微粉适量，称取一份，按上述方法制备，分别在制备后 0、2、4、6、8、12 h 精密吸取 10 μL ，注入液相色谱仪，测峰面积，结果番泻苷 A 的 RSD 为 1.38%，番泻苷 B 的 RSD 为 1.57%，表明供试品溶液在 12 h 稳定。

2.2.7 重现性试验 精密量取番泻叶超微粉样品溶

液5份,按上述方法测定,结果番泻苷A质量分数RSD为1.54%,番泻苷B质量分数RSD为1.87%。

2.2.8 回收率测定 精密量取已测定番泻苷A、B的超微粉样品溶液6份,每份5 mL,分别加入0.14 mg/mL番泻苷A,0.06 mg/mL番泻苷B对照品溶液各5 mL,按“2.2.1”项下方法处理。制得加样回收供试品溶液,准确吸取供试液10 μ L,进样,在上述色谱条件下测定、计算。结果番泻苷A回收率的平均值为97.69%,RSD为1.91%,番泻苷B回收率的平均值为98.12%,RSD为1.76%。

2.2.9 样品测定 精密吸取供试品溶液10 μ L,注入高效液相色谱仪,测定峰面积,计算。结果见表2,图谱见图1。

表2 番泻叶不同样品定量测定结果

Table 2 Determination of main ingredients in three samples

样品	番泻苷 A/ %	番泻苷 B/ %	番泻苷 A 和番泻苷 B/ %
番泻叶饮片	0.169	0.095	0.264
番泻叶超微粉	0.275	0.148	0.423
番泻叶超微饮片	0.280	0.154	0.434

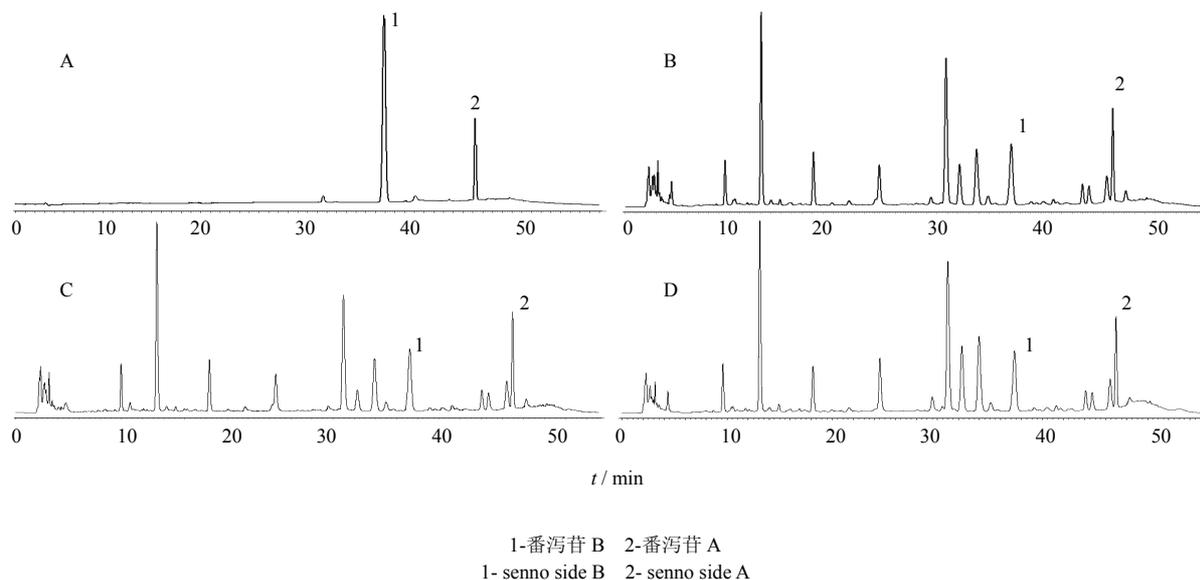


图1 番泻苷混合对照品(A)、番泻叶药材水煎液(B)、超微粉体水煎液(C)、超微饮片水煎液(D) HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of mixed aennosides A and B reference substance (A), *Sennae Folium* decoction (B), ultramicro powder decoction (C), and ultramicro piece decoction (D)

2.3 泻下作用

取ICR小鼠50只,体质量18~22 g,雌雄各半,按性别、体质量分层,随机分为5组,每组10只,分别为正常对照组、缺水模型组、番泻叶饮片组、番泻叶超微粉组、番泻叶超微饮片组。除正常对照组外,其余各组禁水不禁食,用干饲料喂养3 d,造缺水便秘模型。3 d后观察到小鼠外观干瘪瘦小,尿色深黄,体质量下降,大便干结成圆珠状,粪便颗粒细小^[6-7]。各组动物ig给予含2%墨汁的药汁^[8],正常对照组和模型组ig给予2%墨汁的蒸馏水,给药体积25 mL/kg,质量浓度为0.08 g/mL的番泻叶样品溶液。给药后将小鼠置于铺有滤纸的小笼中,观察首次排黑便时间、干粪粒数、干粪质量和稀粪点数^[9],连续6 h(实验前动物禁食禁水12 h)。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,SPSS15.0统计软件进行统计学处

理。多组间比较采用ANOVA方差分析,组间比较采用独立样本t检验,以双侧 $P < 0.05$ 判断为有统计学意义。结果见表3、4,造模后体质量与造模前差异有显著性($P < 0.01$),各组与对照组比较差异

表3 小鼠造模前后体质量变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Weight change of mice before and after building model ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	造模前体质量/g	造模后体质量/g
对照组	20.93 \pm 1.53	22.72 \pm 1.40
缺水模型组	20.77 \pm 1.00	16.34 \pm 0.84**
番泻叶饮片组	21.62 \pm 1.28	16.52 \pm 0.53**
番泻叶超微粉组	20.65 \pm 1.04	16.86 \pm 1.13**
番泻叶超微饮片组	21.03 \pm 1.43	16.40 \pm 0.83**

与本组造模前比较:** $P < 0.01$;与对照组比较:** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs before building model; ** $P < 0.01$ vs control group

表4 番泻叶对缺水性便秘模型小鼠排便作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of *Sennae Folium* on defecation function in deaquaation constipation model mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	首次排黑便时间/min	干粪粒数	干粪质量/mg	稀粪点数
正常对照组	111.86 ± 3.34	23.43 ± 3.26	1.09 ± 0.07	0
缺水模型对照组	285.29 ± 15.40**	16.00 ± 2.83**	0.52 ± 0.20**	0
番泻叶饮片组	208.13 ± 10.47**	17.00 ± 4.14	0.41 ± 0.16	3.00 ± 1.93**
番泻叶超微粉组	149.71 ± 20.71**	23.57 ± 4.04**	0.49 ± 0.08	3.86 ± 2.12**
番泻叶超微饮片组	131.60 ± 6.22**	21.40 ± 6.43**	0.48 ± 0.27	6.70 ± 2.50**

与空白对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs blank control group; ** $P < 0.01$ vs model group

有显著性 ($P < 0.01$); 6 h 内首次排黑便时间、干粪粒数、干粪量模型组与正常对照组相比有显著性差异 ($P < 0.01$), 表明建立便秘模型成功; 除番泻叶饮片组干粪粒数外, 模型组与番泻叶饮片组、番泻叶超微粉组、番泻叶超微饮片组相比小鼠首次排黑便时间、干粪粒数和稀粪点数有显著性差异 ($P < 0.01$)。

3 讨论

首次排黑便时间番泻叶饮片组 > 番泻叶超微粉组 > 番泻叶超微饮片组, 说明番泻叶药材经超微粉碎后, 细胞破壁率增加, 其比表面积显著增大, 有效成分在胃肠道的溶解度明显提高。而番泻叶超微饮片效果更明显, 可能是制粒后消除了粉体的团聚现象。稀粪点数逐渐增加, 也说明了番泻叶超微粉体和番泻叶超微饮片的导泻作用比番泻叶饮片强。二者的显著药效表明了超微粉碎技术是提高药物的生物利用度, 降低临床应用剂量, 减少药用资源消耗, 简化制剂工艺的有效途径之一, 也为提高药品附加值, 促进中药传统产业改造作出了突出的贡献。

中药有效成分是药理研究的物质基础, 番泻苷测定结果和番泻叶的动物药效结果吻合。定量测定结果显示, 在同等条件下, 番泻叶超微饮片的水煎液中番泻苷 A 和番泻苷 B 的量最高, 番泻叶超微粉次之, 番泻叶饮片最少。致泻作用药效实验表明, 致泻作用强弱顺序为番泻叶超微饮片组 > 番泻叶超微粉组 > 番泻叶饮片组。二者共同说明了番泻叶超微饮片的优势——较高的有效成分量和良好的通便

致泻作用。其定量测定结果正好为药效学实验结论提供了物质理论依据, 而番泻叶药效学实验也进一步论证了番泻苷 A、B 的药理活性。

实验中番泻叶供试品的制备比较了温浸和煎煮两种方法提取其有效成分, 以番泻苷 A 为指标, 对番泻叶饮片温浸和煎煮提取量分别为 0.12% 和 0.17%, 结果以煎煮提取为好。番泻叶属于后下药, 煎煮时间比较了 10、15、20 min 的番泻苷 A 的提取量, 分别为 0.09%、0.17%、0.11%, 故选择了 15 min。

参考文献

- [1] 张贵君. 中药鉴定学 [M] 第 2 版. 北京: 科学出版社, 2009.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [3] 曹蔚. 番泻叶的化学成分及体内代谢研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2003, 14(10): 642-643.
- [4] 蔡光先. 中药粉体工程学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008.
- [5] 山丽梅, 赵艳玲, 肖小河, 等. 桃花止泻冲剂的药效学研究 [J]. 中药材, 2003, 26(6): 420-422.
- [6] 赵党生, 王凤仪, 楚惠媛, 等. 通便胶囊泻下、止血作用的实验研究. 中国中医药信息, 2005, 12(10): 27-29.
- [7] 陈勤, 孔小卫, 刘颖, 等. 一捻金胶囊泻下通便作用的实验研究 [J]. 中国中医医药科技, 2004, 11(3): 151-153.
- [8] 黄艳, 钟正贤, 肖振球, 等. 润肠通便汤治疗便秘的实验研究 [J]. 广西中医学院学报, 2008, 11(3): 1-3.
- [9] 秦书芝, 肖洪彬, 赵成国, 等. 止秘胶囊治疗便秘的实验研究 [J]. 中国医药导报, 2009, 6(14): 59-60.