

番泻叶化学成分分析及多成分定量测定

李 瑞, 王丹妮, 张潇予, 薛 澄, 王跃飞, 杨 静*

天津中医药大学中医药研究院, 天津市中药化学与分析重点实验室, 天津 301617

摘 要: 目的 阐明番泻叶 *Sennae Folium* 的化学成分, 并对主要化合物进行定量分析, 为番泻叶质量评价提供依据。方法 采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱 (UHPLC-Q-exactive-orbitrap-MS) 负离子模式对番泻叶中主要化学成分进行快速鉴定; 采用 UPLC-PDA 法对 6 个主要化合物进行定量分析, 并应用于多批次样品测定。结果 番泻叶鉴定了 29 个化合物, 其中蒽醌类化合物 12 个、黄酮类化合物 11 个、二苯甲酮类化合物 2 个及萘类化合物 4 个; 测定了 20 批番泻叶样品中 6 个主要成分 (新西兰牡荆苷、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、番泻苷 A、番泻苷 B、番泻苷 C、丁内未利葡萄糖苷) 的含量, 不同批次中各化合物含量存在差异。结论 对番泻叶中化学成分进行快速鉴定和主要成分定量分析, 为番泻叶的质量评价提供依据。

关键词: 番泻叶; 蒽醌类; 黄酮类; 新西兰牡荆苷; 芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷; 番泻苷 A; 番泻苷 B; 番泻苷 C; 丁内未利葡萄糖苷

中图分类号: R286.2

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)05-1773-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.05.026

Analysis of chemical composition and quantitation of multi-components in *Sennae Folium*

LI Rui, WANG Danni, ZHANG Xiaoyu, XUE Cheng, WANG Yuefei, YANG Jing

Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin Key Laboratory of TCM Chemistry and Analysis, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China

Abstract: Objective To clarify the chemical components and quantify the main components, so as to provide the basis for the quality evaluation of Fanxieye (*Sennae Folium*). **Methods** UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS was employed to quickly identify the main chemical components of *Sennae Folium* in negative ion mode. Furthermore, the quantitative analysis of six main chemical components was accomplished by ultra performance liquid chromatography with photo-diode array (UPLC-PDA) detection in *Sennae Folium*. **Results** A total of 29 components were identified, including 12 anthraquinones, 11 flavonoids, two benzophenones and four naphthalenes. The content of six main components (vicenin 2, aloe emodin-8-*O*-glucoside, sennoside A, sennoside B, sennoside C, and tinnevellin glucoside) were determined in 20 batches *Sennae Folium*, which varied obviously in different batches. **Conclusion** The rapid identification of chemical components and the quantitative analysis of six components were successfully accomplished in *Sennae Folium*, which provided the basis for the quality evaluation of *Sennae Folium*.

Key words: *Sennae Folium*; anthraquinones; flavonoids; vicenin 2, aloe emodin-8-*O*-glucoside; sennoside A; sennoside B; sennoside C; tinnevellin glucoside

番泻叶为豆科植物狭叶番泻 *Cassia angustifolia* Vahl 或尖叶番泻 *C. acutifolia* Delile 的干燥小叶^[1], 性寒, 味甘、苦, 归大肠经, 具有泻热导滞、通便利水的功效, 常用于治疗热结积滞、便秘腹痛、水肿胀满等症^[2]。现代研究表明番泻叶

中主要含有蒽醌、黄酮、多糖、挥发油等多种化学成分^[3-8], 具有泻下^[9]、抑菌、降血糖^[10]、止血、解痉等药理活性^[3]。

阐明番泻叶中化学成分并对主要成分进行定量分析, 对于保障番泻叶的临床疗效及用药安全具

收稿日期: 2024-10-05

基金项目: 国家中医药管理局中药标准化项目 (ZYBZH-C-JX-38)

作者简介: 李 瑞 (1995—), 女, 硕士, 主要从事中药药效物质及质量控制研究。Tel: (022)59596366 E-mail: lirui12282119@163.com

*通信作者: 杨 静 (1981—), 女, 高级实验师, 主要从事中药药效物质及质量控制研究。Tel: (022)59596366

E-mail: yangj0622@tjutcm.edu.cn

有重要意义。近年来,液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)常应用于番泻叶化学成分研究。Terreaux 等^[11]利用 NMR/LC-MS 对番泻叶 80% 甲醇提取物进行分析,鉴定了 21 个化合物;Frag 等^[12]利用 NMR/LC-MS 对狭叶番泻、尖叶番泻豆荚和叶中的化学成分进行了比较分析,结果显示,番泻叶中黄酮类、脂肪酸类成分较为丰富,豆荚中则含较多的番泻苷类。这些研究有助于阐明番泻叶中的化学成分,但也存在分析时间长、未进行定性分析与定量分析相结合研究等局限。而且,目前番泻叶的定量研究主要侧重于番泻苷 A、番泻苷 B^[13]。因此,构建一种定性、多成分定量相结合的分析方法,对更加全面、快速评价番泻叶的质量具有重要意义。

本研究拟采用 UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 方法,对番泻叶 50% 甲醇提取物进行定性分析,在此基础上,采用 UPLC-PDA 方法开展番泻叶样品中新西兰牡荆苷、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、番泻苷 A、番泻苷 B、番泻苷 C、丁内未利葡萄糖苷 6 种主要化学成分的含量测定,并应用于多批次的番泻叶质量研究中,以期为其质量评价提供参考依据。

1 仪器与试药

1.1 仪器

UltiMate 3000 超高效液相串联四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱(美国赛默飞世尔科技公司);ACQUITY UPLC® H class 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);MS105DU 型十万分之一电子天平、ME204 型万分之一电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);DL-720B 型超声波清洗器(上海之信仪器有限公司);TGL-16C 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂);Milli-Q 型超纯水仪(美国 Millipore 公司);FW80 型中药粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);HYC-310 型医用冷藏冰箱(青岛海尔特种电器有限公司)。

1.2 试药

对照品新西兰牡荆苷(批号 P01F9F54173)、番泻苷 C(批号 Y17D9Y77821)、丁内未利葡萄糖苷(批号 P23M10F84021)均购自上海源叶生物科技有限公司;芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷(批号 L-050-180424)购自成都瑞芬思生物科技有限公司;番泻苷 A(批号 110824-201702)、番泻苷 B(批号 110825-201603)购自中国食品药品检定研究院。所有对照品质量分数均大于 98%。

色谱纯甲醇、乙腈(美国 Sigma-Aldrich 公司);色谱纯甲酸(上海阿拉丁生化科技有限公司);超纯水(Milli-Q 制备)。20 批番泻叶均由南昌济顺制药有限公司提供(批号 F20180701~F20180720,编号 S1~S20),经天津中医药大学李先宽副教授鉴定为狭叶番泻 *C. angustifolia* Vahl 的干燥小叶。

2 方法

2.1 UPLC 色谱条件

Waters ACQUITY UPLC® H class 超高效液相色谱仪,ACQUITY UPLC® BEH C₁₈(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)色谱柱;流动相为 0.1% 甲酸水-乙腈,梯度洗脱:0~5 min, 5%~12% 乙腈;5~11 min, 12% 乙腈;11~16 min, 12%~20% 乙腈;16~23 min, 20%~45% 乙腈;23~24 min, 45%~67.5% 乙腈;体积流量 0.3 mL/min;进样量 2 μL;柱温 60 °C;检测波长 254 nm。

2.2 液相色谱-质谱分析条件

UltiMate 3000 超高效液相串联四级杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪;液相条件同 UPLC 色谱条件;质谱条件:采用加热电喷雾离子源(HESI)负离子检测模式;离子源温度 350 °C;毛细管温度 350 °C;辅助气和鞘气均为 N₂,辅助气流量为 10 arb,鞘气流量为 35 arb;喷雾电压 3.8 kV;碰撞能量 30 eV;扫描方式采用 Full MS/dd-MS² 模式,包括一级全扫描(分辨率为 70 000 FWHM)和数据依赖的二级扫描(分辨率为 17 500 FWHM);全扫描范围为 150~2 000 *m/z*。将 UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 所得数据导入 Xcalibur 4.2 软件(美国赛默飞世尔科技公司)进行分析和处理。

2.3 对照品溶液的制备

分别取新西兰牡荆苷、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、番泻苷 A、番泻苷 B、番泻苷 C、丁内未利葡萄糖苷对照品适量,精密称定,加甲醇配制成质量浓度依次为 1.000、0.503、2.016、2.067、1.592、1.000 mg/mL 的对照品储备液。

精密吸取上述各对照品储备液适量,置于 10 mL 量瓶中,加 50% 甲醇配制成分别含 100.000 μg/mL 新西兰牡荆苷、15.090 μg/mL 芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、181.440 μg/mL 番泻苷 A、310.050 μg/mL 番泻苷 B、111.440 μg/mL 番泻苷 C、40.000 μg/mL 丁内未利葡萄糖苷的混合对照品储备液,取上述混合对照品储备液适量,用 50% 甲醇逐级稀释成 6 个质量浓度的对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

取番泻叶粉末约 0.2 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 密塞, 称定质量, 超声处理 (功率 600 W, 35 kHz) 25 min, 放冷, 再次称定质量, 用 50% 甲醇补足减失的质量, 摇匀, 14 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 供定量分析用。取上述供试品溶液加 50% 甲醇稀释 2 倍, 用于质谱分析。

3 结果

3.1 番泻叶中化学成分的鉴定

采用 UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 分析番泻

叶 50% 甲醇提取物的化学成分, 发现大多数化合物在负离子模式的响应较好, 因此选择负离子模式分析番泻叶中化合物。

分别精密吸取番泻叶供试品溶液及混合对照品溶液各 2 μ L, 经 UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 系统分析, 番泻叶供试品溶液负离子模式总离子流图 (TIC) 如图 1 所示。根据准分子离子 $[M-H]^-$ 获得化合物的相对分子质量, 根据二级质谱碎片离子信息并结合相关文献及对照品对比结果鉴定了 29 个化合物, 其中蒽醌类成分 12 个、黄酮类成分 11 个、二苯甲酮类成分 2 个、萜类成分 4 个, 结果见表 1。

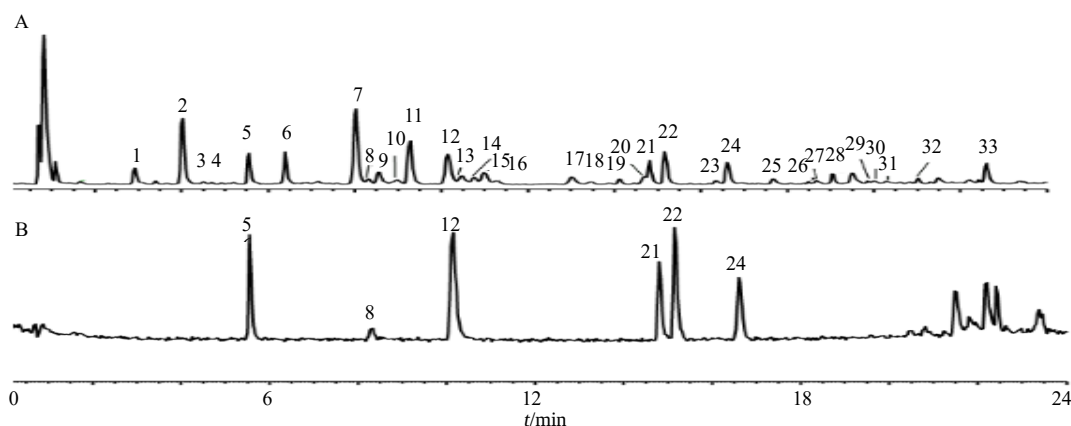


图 1 番泻叶供试品溶液 (A) 和混合对照品 (B) 负离子模式下总离子流图

Fig. 1 TIC of *Sennae Folium* sample solution (A) and mixed reference (B) in negative ion mode

表 1 基于 UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 方法的番泻叶化学成分研究结果

Table 1 Identification of chemical constituents in *Sennae Folium* by UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS

编号	tr/min	$[M-H]^-$ m/z		误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	分子式	化合物
		实验值	理论值				
1	2.93	465.104 19	465.102 75	3.1	285.040 56 $[M-H-Glc]^-$, 241.050 43 $[M-H-Glc-CO_2]^-$	$C_{21}H_{22}O_{12}$	cassiaaphenone A-2-glucoside ^[11]
2	4.03	479.083 44	479.082 02	3.0	299.019 62 $[M-H-Glc]^-$, 255.029 79 $[M-H-Glc-C_{21}H_{20}O_{13}]^-$, 211.039 46 $[M-H-Glc-2CO_2]^-$	$C_{21}H_{20}O_{13}$	cassiaaphenone B-2-glucoside ^[14]
3	4.50	771.199 83	771.197 83	2.6	609.145 63 $[M-H-Glcr]^-$, 447.092 22 $[M-H-C_{33}H_{40}O_{21}]^-$, 285.040 22 $[M-H-3Glcr]^-$, 255.029 59 $[M-H-3Glcr-HCHO]^-$	$C_{33}H_{40}O_{21}$	kaempferol-O-tri-glucoside ^[12]
4	4.66	457.135 77	457.134 05	3.8	163.039 15, 119.049 05	$C_{20}H_{26}O_{12}$	未鉴定
5*	5.54	593.151 79	593.150 10	2.8	473.109 25 $[M-H-C_4H_8O_4]^-$, 383.077 18 $[M-H-C_{27}H_{30}O_{15}]^-$, 353.066 74 $[M-H-C_4H_8O_4-C_3H_6O_3]^-$, 297.076 60 $[M-H-2C_4H_8O_4-2CO]^-$	$C_{27}H_{30}O_{15}$	新西兰牡荆苷 ^[15]
6	6.39	625.141 36	625.139 93	2.3	301.034 03 $[M-H-Genr]^-$, 271.024 78 $[M-H-Genr-C_{27}H_{30}O_{17}]^-$, 243.029 51 $[M-H-Genr-HCHO-CO]^-$	$C_{27}H_{30}O_{17}$	槲皮素-3-O-龙胆二糖苷 ^[11,16]
7	8.01	609.146 67	609.145 01	2.7	285.040 31 $[M-H-Genr]^-$, 255.029 71 $[M-H-Genr-C_{27}H_{30}O_{16}]^-$, 227.034 50 $[M-H-Genr-HCHO-CO]^-$	$C_{27}H_{30}O_{16}$	山柰酚-3-O-龙胆二糖苷
8*	8.28	431.098 82	431.097 27	3.6	269.045 68 $[M-H-Glcr]^-$, 240.042 54 $[M-H-Glc-CHO]^-$	$C_{21}H_{20}O_{10}$	芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷
9	8.58	445.078 19	445.076 54	3.7	283.024 72 $[M-H-Glcr]^-$, 239.034 62 $[M-H-Glcr-C_{21}H_{18}O_{11}]^-$, 211.039 49 $[M-H-Glcr-CO_2-CO]^-$	$C_{21}H_{18}O_{11}$	大黄酸-8-O-葡萄糖苷 ^[11,17]
10	9.04	579.136 23	579.134 45	3.1	285.040 04, 255.029 71, 227.034 39	$C_{26}H_{28}O_{15}$	未鉴定

表 1 (续)

编号	t_R/min	[M-H] ⁺ m/z		误差 ($\times 10^{-6}$)	碎片离子 (m/z)	分子式	化合物
		实验值	理论值				
11	9.25	639.157 04	639.155 58	2.3	315.050 99 [M-H-Genr] ⁺ 、300.027 10 [M-H-Genr-C ₂₈ H ₃₂ O ₁₇ CH ₃] ⁺ 、271.024 78 [M-H-Genr-CO ₂] ⁺ 、243.029 66 [M-H-Genr-CO ₂ -CO] ⁺		异鼠李素-3-O-龙胆二糖苷 ^[12,18]
12*	10.13	861.189 51	861.187 27	2.6	699.135 56 [M-H-Glcr] ⁺ 、537.083 50 [M-H-C ₄₂ H ₃₈ O ₂₀ 2Glcr] ⁺ 、389.087 74 [M-H-Glcr-C ₁₅ H ₉ O ₅ -C ₂ HO] ⁺ 、227.034 53 [M-H-2Glcr-C ₁₅ H ₉ O ₅ -C ₂ HO] ⁺		番泻苷B ^[11]
13	10.35	847.209 96	847.208 01	2.3	685.156 80 [M-H-Glcr] ⁺ 、389.087 98 [M-H-Glcr-C ₄₂ H ₄₀ O ₁₉ C ₁₅ H ₁₁ O ₄ -C ₂ HO] ⁺ 、227.034 47 [M-H-2Glcr-C ₁₅ H ₁₁ O ₄ -C ₂ HO] ⁺		番泻苷D ^[11]
14	10.76	847.210 14	847.208 01	2.5	685.153 81 [M-H-Glcr] ⁺ 、389.087 62 [M-H-Glcr-C ₄₂ H ₄₀ O ₁₉ C ₁₅ H ₁₁ O ₄ -C ₂ HO] ⁺ 、227.034 50 [M-H-2Glcr-C ₁₅ H ₁₁ O ₄ -C ₂ HO] ⁺		番泻苷D ₁ ^[11]
15	10.93	593.151 55	593.150 10	2.4	285.040 07 [M-H-Rutr] ⁺ 、255.029 79 [M-H-Rutr-C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅ HCHO] ⁺ 、227.034 64 [M-H-Rutr-HCHO-CO] ⁺		山柰酚-3-O-芸香糖苷 ^[19]
16	11.32	447.093 96	447.092 19	4.0	285.039 31 [M-H-Glcr] ⁺ 、255.029 75 [M-H-Glcr-C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁ HCHO] ⁺ 、227.034 55 [M-H-Glcr-HCHO-CO] ⁺		山柰酚-3-O-葡萄糖苷 ^[12,20]
17	13.01	623.162 17	623.160 66	2.4	315.050 96 [M-H-Neor] ⁺ 、271.024 90 [M-H-Neor-C ₂₈ H ₃₂ O ₁₆ CO ₂] ⁺ 、243.029 59 [M-H-Neor-CO ₂ -CO] ⁺		异鼠李素-3-O-新橙皮苷 ^[12,21]
18	13.50	477.104 34	477.102 75	3.3	315.048 86 [M-H-Glcr] ⁺ 、271.024 81 [M-H-Glcr-C ₂₂ H ₂₂ O ₁₂ CO ₂] ⁺ 、243.029 54 [M-H-Glcr-CO ₂ -CO] ⁺		异鼠李素-3-O-葡萄糖苷 ^[12,22]
19	14.12	847.210 33	847.208 01	2.7	685.155 82 [M-H-Glcr] ⁺ 、389.087 89 [M-H-Glcr-C ₄₂ H ₄₀ O ₁₉ C ₁₅ H ₁₁ O ₄ -C ₂ HO] ⁺ 、227.034 48 [M-H-2Glcr-C ₁₅ H ₁₁ O ₄ -C ₂ HO] ⁺		番泻苷C isomer ^[11]
20	14.68	393.119 63	393.118 01	4.1	231.065 84 [M-H-Glcr] ⁺	C ₁₉ H ₂₂ O ₉	6-hydroxymusizin glucoside ^[12]
21*	14.82	847.210 39	847.208 01	2.8	685.157 41 [M-H-Glcr] ⁺ 、389.087 92 [M-H-Glcr-C ₄₂ H ₄₀ O ₁₉ C ₁₅ H ₁₁ O ₄ -C ₂ HO] ⁺ 、227.034 53 [M-H-2Glcr-C ₁₅ H ₁₁ O ₄ -C ₂ HO] ⁺		番泻苷C ^[11]
22*	15.17	861.189 64	861.187 27	2.8	699.130 25 [M-H-Glcr] ⁺ 、537.082 70 [M-H-C ₄₂ H ₃₈ O ₂₀ 2Glcr] ⁺ 、389.087 74 [M-H-Glcr-C ₁₅ H ₉ O ₅ -C ₂ HO] ⁺ 、227.034 59 [M-H-2Glcr-C ₁₅ H ₉ O ₅ -C ₂ HO] ⁺		番泻苷A ^[11]
23	16.33	593.152 10	593.150 10	3.4	269.045 56 [M-H-Sopr] ⁺ 、241.049 67 [M-H-Sopr-C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅ CO] ⁺ 、225.055 10 [M-H-Sopr-CO ₂] ⁺		大黄素-8-O-槐糖苷 ^[12]
24*	16.61	407.135 13	407.133 66	3.6	245.081 59 [M-H-Glcr] ⁺ 、230.057 60 [M-H-Glcr-C ₂₀ H ₂₄ O ₉ CH ₃] ⁺ 、215.070 80 [M-H-Glcr-CH ₃ -H ₃] ⁺		丁内未利葡萄糖苷 ^[18]
25	17.65	815.205 70	815.201 92	4.0	609.146 24 [M-H-芥子酰基] ⁺ 、285.040 28 [M-H-芥C ₃₈ H ₄₀ O ₂₀ 子酰基-2Glcr] ⁺ 、255.029 77 [M-H-芥子酰基-2Glcr-HCHO] ⁺ 、227.034 59 [M-H-芥子酰基-2Glcr-HCHO-CO] ⁺		山柰酚-3-O-[(6"-O-芥子酰基)-β-D-吡喃葡萄糖基]-β-D-吡喃葡萄糖苷 ^[23]
26	18.50	873.153 87	873.150 88	3.4	711.098 33、549.046 51、461.066 59	C ₄₂ H ₃₄ O ₂₁	未鉴定
27	18.67	873.153 81	873.150 88	3.4	711.098 33、549.046 51、461.066 59	C ₄₂ H ₃₄ O ₂₁	未鉴定
28	19.07	449.145 90	449.144 22	3.7	245.081 50 [M-H-acetyl Glcr] ⁺ 、230.057 60 [M-H-C ₂₂ H ₂₆ O ₁₀ acetyl Glcr-CH ₃] ⁺		torachryson-O-acetyl-glucose ^[24]
29	19.86	699.136 66	699.134 45	3.2	537.083 01 [M-H-Glcr] ⁺ 、389.087 46 [M-H-C ₁₅ H ₉ O ₅ -C ₃₆ H ₂₈ O ₁₅ C ₂ HO] ⁺ 、227.034 59 [M-H-Glcr-C ₁₅ H ₉ O ₅ -C ₂ HO] ⁺		sennidin glucoside B ^[11]
30	20.06	699.136 60	699.134 45	3.1	537.085 69 [M-H-Glcr] ⁺ 、389.087 80 [M-H-C ₁₅ H ₉ O ₅ -C ₃₆ H ₂₈ O ₁₅ C ₂ HO] ⁺ 、227.034 56 [M-H-Glcr-C ₁₅ H ₉ O ₅ -C ₂ HO] ⁺		sennidin glucoside A ^[11]
31	20.24	315.051 45	315.049 93	4.8	300.027 53 [M-H-CH ₃] ⁺	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	异鼠李素
32	21.02	245.081 89	245.080 84	4.3	230.058 15 [M-H-CH ₃] ⁺ 、215.034 47 [M-H-CH ₃ -CH ₃] ⁺	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	决明柯酮 ^[12]
33	22.61	283.024 90	283.023 71	4.2	239.034 76 [M-H-CO ₂] ⁺ 、183.044 40 [M-H-CO ₂ -2CO] ⁺	C ₁₅ H ₈ O ₆	大黄酸 ^[12]

*表示化合物经过对照品比对确认; Glc-葡萄糖; Glcr-葡萄糖残基; Genr-龙胆二糖残基; Rutr-芸香糖残基; Sopr-槐糖残基; Neor-新陈皮糖残基。

* Compounds were confirmed with reference standards; Glc-glucose; Glcr-glucose residues; Genr-gentiobiose residues; Rutr-rutinose residues; Sopr-sophorose residues; Neor-neohesperidose residues.

3.1.1 黄酮类 黄酮类指具有 2-苯基色原酮结构的一系列化合物，在自然界中广泛存在，黄酮类化合物在负离子模式下响应较好，该类化合物在质谱裂解中易发生糖苷键的断裂、环的 RDA 裂解及 CO、HCHO、CH₃ 等中性分子的丢失^[25]。本研究共鉴定了 11 个黄酮类成分（化合物 3、5、6、7、11、15、16、17、18、25、31），主要为异鼠李素、山柰酚、槲皮素及其糖苷类化合物，其中苷类成分以氧苷和碳苷 2 种形式存在。在质谱裂解中黄酮氧苷的糖苷键易发生断裂，产生失去 1 个或多个单糖的次级苷和苷元的碎片离子；碳苷在

二级质谱中则主要产生丢失 C₃H₆O₃（相对分子质量 90）和 C₄H₈O₄（相对分子质量 120）的碎片离子峰。

以化合物 5 为例，该化合物的保留时间为 5.54 min，准分子离子 m/z 593.150 10 [M-H]⁻，其碎片离子主要有 m/z 473.109 25 [M-H-C₄H₈O₄]⁻、 m/z 383.077 18 [M-H-C₄H₈O₄-C₃H₆O₃]⁻、 m/z 353.066 74 [M-H-2C₄H₈O₄]⁻、 m/z 297.076 60 [M-H-2C₄H₈O₄-2CO]⁻，符合黄酮碳苷类化合物的裂解规律。通过与对照品的保留时间及二级碎片离子信息对比，鉴定其为新西兰牡荆苷，化合物 5 裂解见图 2。

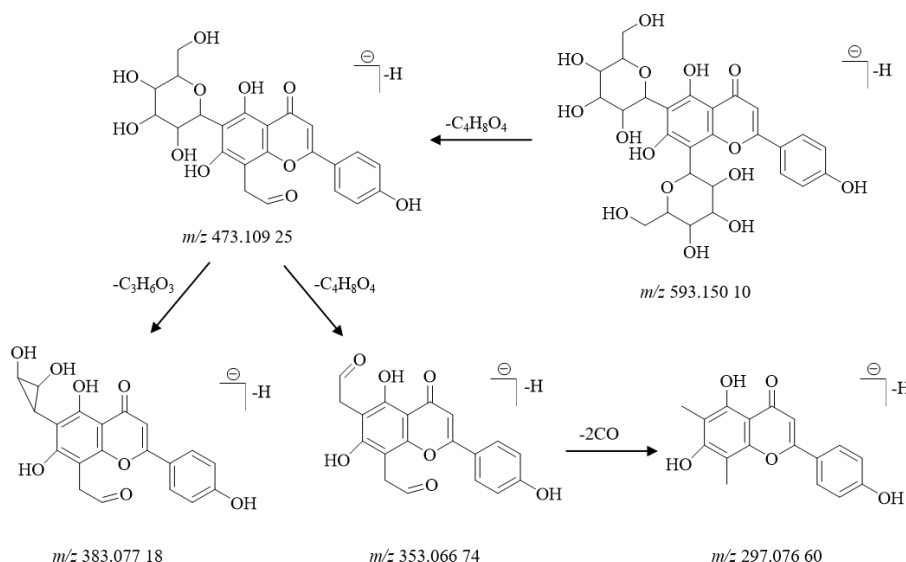


图 2 新西兰牡荆苷负离子模式裂解途径

Fig. 2 Cleavage pathways of vicenin 2 in negative ion mode

3.1.2 蒽醌类 蒽醌类化合物被认为是番泻叶泻下作用的主要活性成分^[26]。此类化合物在质谱裂解过程中蒽醌母核主要发生 CO、CO₂ 的丢失，侧链取代基易丢失 O、H₂O、CH₃、CO₂ 等中性小分子，蒽醌苷类则易发生糖苷键的断裂生成苷元离子^[27-28]。本研究共鉴定了 12 种蒽醌类化合物，其中单蒽醌类主要为芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷、大黄酸-8-O-葡萄糖苷、大黄素-8-O-槐糖苷、大黄酸（化合物 8、9、23、33）。大黄素和芦荟大黄素为同分异构体，在质谱裂解中大黄素丢失 CO 产生 m/z 241 的碎片离子，芦荟大黄素主要在 m/z 240 [M-H-CHO]⁻ 处产生碎片离子峰，据此鉴别 2 种化合物^[29]。此外，利用特征性的 C₁₀-C_{10'} 断裂及在色谱柱上的出峰顺序鉴定番泻叶提取物中 8 个番泻苷类成分（化合物 12、13、14、19、21、22、29、30）。

以化合物 22 为例，该化合物保留时间为 15.17

min，准分子离子 m/z 861.189 64 [M-H]⁻，由于 2 个葡萄糖残基的逐步丢失可得到 m/z 699.130 25 [M-H-Glcr]⁻ 和 m/z 537.082 70 [M-H-2Glcr]⁻ 的碎片离子峰，而 m/z 389.087 74、 m/z 227.034 59 则分别由 m/z 699.130 25 和 m/z 537.082 70 经 C₁₀-C_{10'} 断裂后进一步丢失 C₂H₂O 产生，结合相关文献数据^[11]并经对照品比对，鉴定为番泻苷 A，化合物 22 裂解见图 3。

3.1.3 二苯甲酮类 二苯甲酮类是由 2 个苯环通过 1 个羰基相连而构成的具有 13 个碳原子骨架母核的一类化合物，天然的二苯甲酮类多见于藤黄科、桑科、鸢尾科、蔷薇科、瑞香科、樟科、桃金娘科等植物中，在生物合成途径中作为酮的生物合成前体，具有抗过敏及抗炎等活性^[30]。本研究共鉴定出 2 个二苯甲酮类成分（化合物 1、2），在质谱裂解中表现出相似的裂解规律，主要以葡萄糖和 CO₂ 的丢失为主。

以化合物 **1** 为例, 在负离子模式下, 该化合物保留时间为 2.93 min, 准分子离子 m/z 465.104 19 $[M-H]^-$, 其碎片离子主要有 m/z 285.040 56 $[M-H-Glc]^-$ 、 m/z 241.050 43 $[M-H-Glc-CO_2]^-$, 结合相关文献报道^[11], 鉴定为 cassiaphenone A-2-glucoside。化合物 **1** 裂解见图 4。

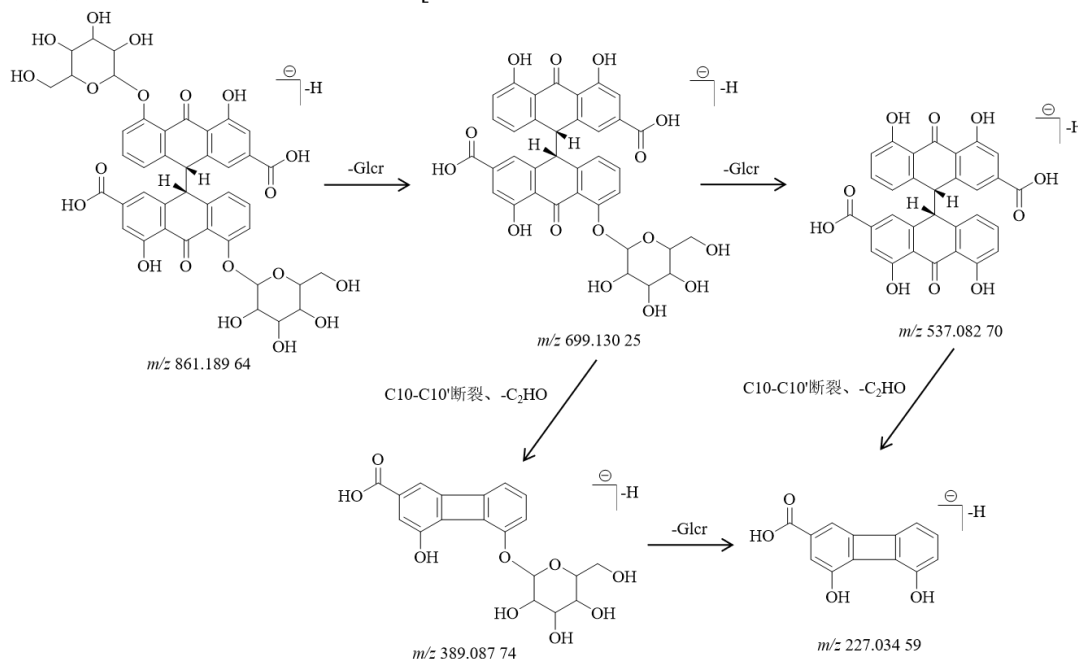


图 3 番泻苷 A 负离子模式裂解途径

Fig. 3 Cleavage pathways of sennoside A in negative ion mode

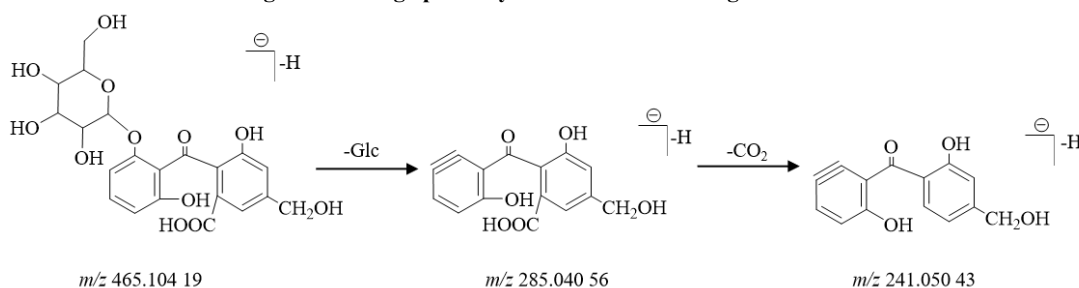


图 4 cassiaphenone A-2-glucoside 负离子模式裂解途径

Fig. 4 Cleavage pathways of cassiaphenone A-2-glucoside in negative ion mode

3.1.4 萘类 番泻叶中 4 个萘类化合物分别为 6-hydroxymusizin glucoside、Torachryson-O-acetyl-glucose、丁内未利葡萄糖苷及决明柯酮(化合物 **20**、**24**、**28**、**32**)，质谱裂解中以糖苷键的断裂、 $\cdot CH_3$ 的逐步丢失为主。

以化合物 **24** 为例, 在负离子模式下出现 m/z

m/z 241.050 43 $[M-H-Glc-CO_2]^-$, 结合相关文献报道^[11], 鉴定为 cassiaphenone A-2-glucoside。化合物 **1** 裂解见图 4。

407.135 13 $[M-H]^-$ 的准分子离子峰, 二级质谱中由于糖苷键的断裂产生 m/z 245.081 59 $[M-H-Glc]^-$ 的苷元离子, 苷元离子逐步失去 2 个 $\cdot CH_3$ 得到 m/z 230.057 60 $[M-H-Glc-CH_3]^-$ 、 m/z 215.034 47 $[M-H-CH_3-CH_3]^-$ 的碎片离子峰, 结合相关文献^[18]并与对照品比对, 鉴定为丁内未利葡萄糖苷, 化合物 **24** 裂解见图 5。

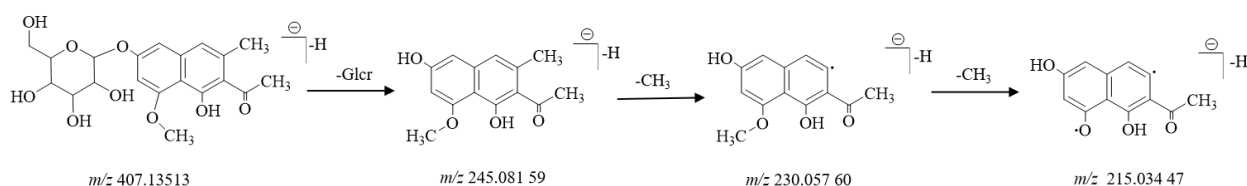


图 5 丁内未利葡萄糖苷负离子模式裂解途径

Fig. 5 Cleavage pathways of tinnevellin glucoside in negative ion mode

3.2 番泻叶中多成分定量分析

3.2.1 线性方程的绘制 取系列浓度的混合对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样分析,以化合物对照品浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,得出线性回归方程;以信噪比 $S/N=3$ 为检测限(LOD)、 $S/N=10$ 为定量限(LOQ),结果见表 2。

3.2.2 精密度试验 取番泻叶粉末,按“2.4”项下

表 2 6 个化学成分线性回归方程、线性范围、检测限及定量限

Table 2 Regression equations, linear ranges, LOD and LOQ of six components

化合物	线性方程	线性范围/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	r	LOD/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	LOQ/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
新西兰牡荆苷	$Y=8\,881.5\,X-3\,322.3$	3.125~100.000	1.000 0	0.039	0.116
芦荟大黄素-8- <i>O</i> -葡萄糖苷	$Y=24\,746.3\,X-1\,755.9$	0.472~15.090	1.000 0	0.017	0.052
番泻苷 B	$Y=7\,679.7\,X-12\,092.7$	9.689~310.050	1.000 0	0.120	0.359
番泻苷 C	$Y=6\,543.8\,X-3\,057.6$	3.483~111.440	1.000 0	0.129	0.387
番泻苷 A	$Y=7\,756.0\,X-4\,585.5$	5.670~181.440	1.000 0	0.070	0.210
丁内未利葡萄糖苷	$Y=14\,086.3\,X-3\,358.0$	1.250~40.000	0.999 9	0.046	0.139

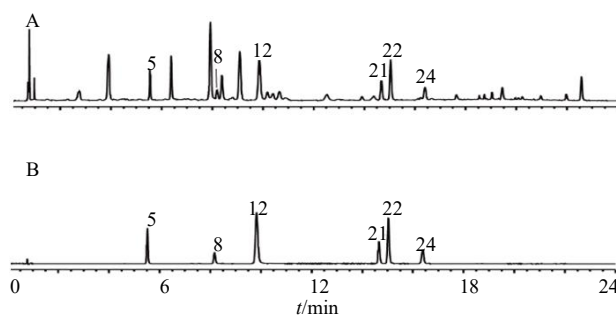
3.2.3 稳定性试验 按“2.4”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件分别于 0、2、4、6、8、10、12 h 进样,考察各成分的稳定性,计算得到新西兰牡荆苷、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、番泻苷 B、番泻苷 C、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷峰面积的 RSD 分别为 0.3%、0.5%、0.5%、0.3%、0.3%、0.3%,表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

3.2.4 重复性试验 按“2.4”项下方法制备供试品溶液 6 份,按“2.1”项下色谱条件进样测定,测得新西兰牡荆苷、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、番泻苷 B、番泻苷 C、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷的平均质量分数 RSD 值均小于 2.2%,表明该方法的重复性良好。

3.2.5 加样回收率试验 取已知成分含量的番泻叶粉末 6 份,每份 0.1 g,精密称定,准确加入与样品中各成分质量相当的混合对照品溶液,按“2.4”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定,计算得到新西兰牡荆苷、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、番泻苷 B、番泻苷 C、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷的加样回收率分别为 99.3%、92.5%、96.9%、103.9%、101.6%、100.9%,RSD 值均小于 1.3%,表明各化合物加样回收率良好。

3.2.6 样品含量测定 取 20 批番泻叶样品,按照“2.4”项下方法制备供试品溶液,按照“2.1”项下色谱条件进样测定,番泻叶中多成分含量测定的色谱图见图 6。20 批番泻叶中 6 个化合物的质量分数分别为新西兰牡荆苷 1.780~3.494 mg/g、芦荟大

方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件连续进样 6 次作为日内精密度,连续进样 3 d 作为日间精密度,测得新西兰牡荆苷、芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷、番泻苷 B、番泻苷 C、番泻苷 A、丁内未利葡萄糖苷日内精密度峰面积的 RSD 分别为 0.3%、0.4%、0.2%、0.3%、0.3%、0.3%,日间精密度峰面积的 RSD 分别为 1.7%、1.8%、0.5%、1.0%、1.0%、0.4%,表明仪器精密度良好。



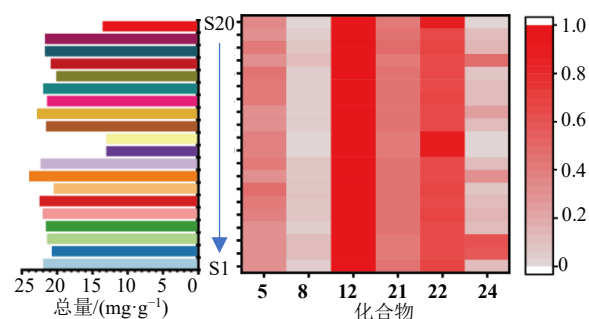
5-新西兰牡荆苷; 8-芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷; 12-番泻苷 B; 21-番泻苷 C; 22-番泻苷 A; 24-丁内未利葡萄糖苷。
5-vicenin 2; 8-aloe emodin-8-*O*-glucoside; 12-sennoside B; 21-sennoside C; 22-sennoside A; 24-tinnevellin glucoside.

图 6 番泻叶供试品溶液 (A) 及混合对照品 (B) UPLC 色谱图

Fig. 6 UPLC chromatograms of *Sennae Folium* sample solution (A) and mixed reference (B)

素-8-*O*-葡萄糖苷 0.058~0.916 mg/g、番泻苷 B 4.557~8.789 mg/g、番泻苷 C 1.974~4.071 mg/g、番泻苷 A 4.129~5.579 mg/g、丁内未利葡萄糖苷 0.468~2.363 mg/g,不同批次间 6 个化合物的含量存在差异。20 批番泻叶样品中以芦荟大黄素-8-*O*-葡萄糖苷波动最大,其含量最大值与最小值的比值约为 16 倍;其次为丁内未利葡萄糖苷,其比值约为 5 倍;其余化合物的含量波动较小,约为 2 倍左右。

为了更直观的展示不同批次间 6 个化合物的含量差异,采用热图和柱状图分别描述不同批次番泻叶中 6 个化合物相对含量变化趋势及其总含量情况,如图 7 所示。从热图中可看出,20 批番泻叶样品中



5-新西丹杜荆苷; 8-芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷; 12-番泻苷 B;
21-番泻苷 C; 22-番泻苷 A; 24-丁内未利葡萄糖苷。
5-vicenin 2; 8-aloe emodin-8-O-glucoside; 12-sennoside B; 21-sennoside C; 22-sennoside A; 24-tinnevellin glucoside.

图 7 20 批番泻叶中 6 个化合物含量变化趋势图

Fig. 7 Trend graph of six compounds content in 20 batches

Sennae Folium

均以番泻苷 B 的含量最高, 芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷、丁内未利葡萄糖苷含量相对较少。结合柱状图可知, 批次 S10、S11、S20 中的番泻叶指标成分总量较低, 其余批次化合物总量较高。分析结果表明, 药材质量差异可能受生长环境、来源、采收时间以及贮存条件等因素的影响^[31], 该研究为番泻叶药材质量的研究提供了有效的分析方法。

4 讨论

4.1 提取条件优化

本研究从提取溶剂、提取时间 (10、15、20、25、30 min)、提取料液比 (1:50、1:125、1:250)、提取温度 (25、40、50、60 °C) 考察了提取的不同影响因素对新西丹杜荆苷、芦荟大黄素-8-O-葡萄糖苷、番泻苷 A、番泻苷 B、番泻苷 C、丁内未利葡萄糖苷提取效率的影响。考虑到番泻叶中羟基蒽醌类成分较多, 酚羟基的存在可使其易溶于碱性溶液, 因此, 在前期提取溶剂优化中选择水、0.1% NaHCO₃ 溶液及不同比例甲醇进行提取溶剂考察。结果表明, 50% 甲醇的提取效率相对较高, 选为最终提取溶剂; 不同超声温度对番泻叶指标成分的提取效率影响较小, 为操作简单, 选择室温下提取; 料液比为 1:125 时各成分含量较高, 且相对节约提取溶剂; 超声时间为 25 min 时, 各成分提取较完全。综上, 选用料液比为 1:125, 50% 甲醇超声提取 25 min 作为供试品溶液的制备方法。

4.2 色谱条件优化

为了实现更好的色谱分离, 本研究优化了柱温箱温度 (40、45、50、55、60 °C), 发现随着柱温的升高, 化合物山柰酚-3-O-龙胆二糖苷与芦荟大黄

素-8-O-葡萄糖苷的分离较好, 当柱温为 60 °C 时, 两者实现完全分离, 且其余色谱峰分离度和峰形较好。此外, 利用 PDA 检测器进行了 210~400 nm 全波长扫描, 考察不同波长下各类化合物紫外吸收情况, 当波长为 254 nm 时, 各化合物均具有较好吸收, 因此选择 254 nm 作为化合物检测波长。

本实验采用 UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap-MS 鉴定了番泻叶中 29 个化合物, 并以其中 6 个化学成分作为指标, 建立了番泻叶多成分定量分析方法, 应用此方法对 20 批番泻叶样品进行了分析, 阐明了各成分在不同批次样品中的含量分布规律及差异情况。本研究为番泻叶物质基础研究及质量评价提供了依据。

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: 365.
- [2] 萧惠来. EMA 番泻叶和番泻果评估报告及草药专论介绍 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(2): 182-188.
- [3] 孙森凤, 张颖颖. 番泻叶成分及药理作用研究进展 [J]. 山东化工, 2017, 46(13): 44-45.
- [4] Nakajima K, Yamauchi K, Kuwano S. Isolation of a new Aloe-emodin dianthrone diglucoside from *Senna* and its potentiating effect on the purgative activity of sennoside A in mice [J]. *J Pharm Pharmacol*, 1985, 37(10): 703-706.
- [5] 米丽, 李敬超, 张夏华, 等. 番泻叶的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 西南军医, 2009, 11(4): 727-728.
- [6] Lemli J. *Senna*: An old drug in modern research [J]. *Pharmacology*, 1988, 36(Suppl 1): 3-6.
- [7] Kinjo J, Ikeda T, Watanabe K, et al. An anthraquinone glycoside from *Cassia angustifolia* leaves [J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(6): 1685-1687.
- [8] 郁桂云, 陈虹, 寇佳慧, 等. 番泻叶有机溶剂分级萃取物的 GC/MS 分析研究 [J]. 江苏中医药, 2005, 37(3): 42-43.
- [9] 侯磊. 番泻叶在危重患者便秘治疗中的应用分析 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2020, 18(5): 142-144.
- [10] Malematja R O, Bagla V P, Njanje I, et al. Potential hypoglycaemic and antiobesity effects of *Senna italica* leaf acetone extract [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2018, 2018: 5101656.
- [11] Terreaux C, Wang Q, Ioset J R, et al. Complete LC/MS analysis of a Tinneveli *Senna* pod extract and subsequent isolation and identification of two new benzophenone glucosides [J]. *Planta Med*, 2002, 68(4): 349-354.
- [12] Farag M A, Porzel A, Mahrous E A, et al. Integrated comparative metabolite profiling via MS and NMR

- techniques for *Senna* drug quality control analysis [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2015, 407(7): 1937-1949.
- [13] 毕海林, 肖裕章, 胡军, 等. 番泻叶的研究概况 [J]. 中国兽医杂志, 2017, 53(4): 108-111.
- [14] Takahashi M, Sakurai K, Fujii H, *et al.* Discrimination of cassia plants in health tea [J]. *Jpn J Food Chem Saf*, 2012, 19(2): 149-154.
- [15] 刘建群, 舒积成, 张锐, 等. 新西兰牡荆苷等 4 种碳苷黄酮的电喷雾质谱裂解规律研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8): 72-76.
- [16] 束彤, 丁丽娜, 王茜, 等. 超高效液相色谱-质谱联用技术解析黑果枸杞超临界 CO₂ 萃取物中黄酮类天然产物结构 [J]. 食品科学, 2020, 41(10): 206-212.
- [17] Zhu T T, Liu X, Wang X L, *et al.* Profiling and analysis of multiple compounds in rhubarb decoction after processing by wine steaming using UHPLC-Q-TOF-MS coupled with multiple statistical strategies [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(15): 3081-3090.
- [18] Takahashi M, Sakurai K, Fujii H, *et al.* Identification of indicator components for the discrimination of *Cassia* plants in health teas and development of analytical method for the components [J]. *J AOAC Int*, 2014, 97(4): 1195-1201.
- [19] 叶永华. 盐肤木抗冠心病活性部位筛选及化学成分研究 [D]. 福州: 福建中医药大学, 2018.
- [20] 聂佳慧. 红芸豆抗黑色素瘤活性成分及机制研究 [D]. 太原: 山西大学, 2019.
- [21] 温学逊. 承气汤类方化学物质组成的分析研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [22] 丁丽娜. 青海特色食品资源沙棘、黑青稞、枸杞、黑枸杞中的黄酮类与脂肪酸类组分分析 [D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
- [23] Wu Q P, Wang Z J, Tang L Y, *et al.* A new flavonoid glucoside from *Cassia angustifolia* [J]. *Chin Chem Lett*, 2009, 20(3): 320-321.
- [24] 张立. 基于 HRMS 的大鼠体内大黄药源性成分分析方法研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2015.
- [25] Hashimoto M, Suzuki T, Iwashina T. New acylated anthocyanins and other flavonoids from the red flowers of *Clematis* cultivars [J]. *Nat Prod Commun*, 2011, 6(11): 1631-1636.
- [26] Cao Y X, He Y, Wei C, *et al.* Aquaporins alteration profiles revealed different actions of *Senna*, sennosides, and sennoside A in diarrhea-rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10): 3210.
- [27] 刘丽伟, 周霖, 孙志, 等. 基于 UHPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术的芪参益气滴丸中主要化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(24): 5761-5771.
- [28] 雍潘, 刘圆, 吕露阳, 等. 基于 UPLC-ESI-HRMSⁿ 技术的藏药塔黄的化学成分分析 [J]. 中草药, 2019, 50(5): 1066-1074.
- [29] Ye M, Han J, Chen H B, *et al.* Analysis of phenolic compounds in rhubarbs using liquid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2007, 18(1): 82-91.
- [30] 李赛谋, 戚进, 寇俊萍. 来源于植物的天然二苯甲酮类化合物的研究现状 [J]. 药学进展, 2012, 36(10): 452-458.
- [31] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念 [J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.

[责任编辑 时圣明]