

# 射干根茎中黄酮类成分的空间分布特征研究

吴王琪, 邓爱平, 刘合钢, 余 坤, 汪文杰\*  
(湖北中医药大学, 湖北 武汉 430065)

**摘要:** **目的** 研究射干根茎中黄酮类成分的空间分布特征。**方法** 采用光学显微镜分析射干根茎横切面的显微结构, 紫外可见分光光度法检测内皮层内、外总黄酮含量, 结合质谱成像数据定位其黄酮类成分的空间分布, 最后采用 UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 进行验证。**结果** 射干根茎内皮层外部分总黄酮的含量远高于内皮层内, 且黄酮苷元主要分布于内皮层外, 如次野鸢尾黄素、鸢尾黄素等, 而黄酮苷主要分布在内皮层内, 如射干苷、鸢尾黄酮新苷 A、鸢尾黄酮新苷 B 等。UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 数据与质谱成像数据吻合。**结论** 本研究首次揭示了射干根茎中黄酮类成分的空间分布特征, 可为射干品质评价及质量控制提供科学依据。  
**关键词:** 射干; 质谱成像; 黄酮; UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup>; 空间分布  
**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)11-3835-09  
**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.11.046

射干为鸢尾科射干属植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 干燥根茎, 主要化学成分有黄酮类、三萜类、有机酸类、挥发油类等<sup>[1-6]</sup>, 主要活性成分为黄酮或异黄酮苷元及其相应的糖苷<sup>[7]</sup>。

在射干质量控制指标的研究过程中, 除 2020 年版《中国药典》<sup>[8]</sup> 中规定的次野鸢尾黄素外, 还发现野鸢尾黄素、射干苷、鸢尾黄素等可作为射干潜在的质量控制指标<sup>[9-12]</sup>。在这些研究中, 主要采用色谱和色谱-质谱联用技术<sup>[13]</sup>, 如 HPLC<sup>[14]</sup>、UPLC<sup>[15]</sup>、GC-MS<sup>[16]</sup>、HPLC-MS<sup>[17-18]</sup> 等。而这些方法都对样品进行了均质处理<sup>[19]</sup>, 完全丢失代谢物的空间分布信息。空间分布特征有助于了解药用植物的形态学结构和功能<sup>[20]</sup>。目前, 对射干根茎中代谢物的空间分布研究较少, 故需要一种无需繁杂前处理的分析方法来揭示代谢物的空间分布<sup>[21]</sup>。质谱成像作为新兴的分子成像技术, 能够直接获得代谢物的空间分布信息<sup>[22]</sup>, 并将药材的品质与化学信息相关联, 为其质量评价和开发利用提供新手段。

本研究先解析射干根茎的显微结构, 并测定其根茎内皮层内、外的总黄酮含量, 再利用解吸电喷雾电离高分辨质谱成像 (DESI Xevo G2-XS Q-TOF MSI) 和 UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 分析黄酮类成分的空间分布特征, 以期探索射干根茎中黄酮类成分的合成与积累提供研究基础, 为射干品质评价及质量控制提供科学依据。

## 1 材料

1.1 药材 2023 年 10 月采自湖北中医药大学黄家湖校区药园, 经湖北中医药大学药学院汪文杰副教授鉴定为鸢尾

科射干属植物射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC.。射干根茎永久石蜡切片购自河南雨林教育工程有限公司。

1.2 试剂 射干苷、野鸢尾黄素 (纯度 ≥ 98%, 批号 WP23082905、WP23112707, 四川省维克奇生物科技有限公司); 芦丁、鸢尾黄素、次野鸢尾黄素、芒果苷、白射干素 (纯度 ≥ 97%, 批号 D13HB202516、M10IB209382、Y30N10H104711、C21M9Y61363、A06HB190913, 上海源叶生物科技有限公司)。甲醇、乙腈、甲酸 (德国 Merck 公司); 无水乙醇 (分析纯)、亚硝酸钠、氯化铝、氢氧化钠 (批号 20220711、20190408、20161129, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.3 仪器 DESI Xevo G2-XS Q-TOF 质谱成像仪、UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 质谱仪 (美国 Waters 公司); DFC7000T 正置荧光显微镜、Cm3600 冷冻切片仪 (德国 Leica 公司); 紫外可见分光光度计 (上海元析仪器有限公司); 打粉机 (瑞安市百信制药机械有限公司); 纯水仪 (武汉吉百瑞科技有限公司); ABB5-S/TACT 电子天平 (十万分之一, 瑞士 Mettler Toledo 公司)。

## 2 方法

2.1 射干根茎冷冻切片制备 选取直径在 0.5~1.5 cm 范围内的新鲜射干根茎, 除去须根和表层泥土, 洗净后吸取表层水分, 4 ℃ 保存备用。将新鲜的射干根茎样品切成 0.5 cm 厚的切片。于液氮中速冻, 再用冷冻切片仪 (切片温度 -20 ℃) 将其切成厚度为 20 μm 的切片, 置于载玻片上, 保存于 4 ℃ 冰箱中, 备用。

2.2 DESI Xevo G2-XS Q-TOF 成像高分辨质谱条件 喷雾

收稿日期: 2025-03-20  
基金项目: 刘合钢全国名老中医药专家传承工作室项目 (国中医药人教函【2022】75 号); 湖北省自然科学基金计划项目 (2025AFD476); 湖北卫尔康现代中药有限公司研究生工作站项目 (湖北中医药大学中医校【2022】125 号)  
作者简介: 吴王琪 (2001—), 女, 硕士生, 从事中药资源及其品质研究。Tel: 15792398849, E-mail: wu15792398849@163.com  
\* 通信作者: 汪文杰 (1979—), 男, 硕士, 副教授, 从事中药资源及其品质研究。Tel: 13995669061, E-mail: 1053944087@qq.com

溶剂 90% 甲醇（含 0.1% 甲酸），体积流量 3 L/min；离子化模式 DESI<sup>-</sup>、DESI<sup>+</sup>；MS 数据采集范围 50~1 500 Da；毛细管电压 4.0 kV；离子源温度 150 ℃；气体压力 450 kPa。

2.3 射干根茎总黄酮含量测定 趁鲜用刀片和打孔器分离射干根茎内皮层内、外 2 个部分，共 8 株生物学重复。阴干后粉碎，过 60 目筛，备用。

根据文献 [23] 方法，配制成 1.0 mg/mL 的标准芦丁母液，用去离子水稀释成系列溶液，质量浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 mg/mL。以 60% 乙醇为空白进行校正，采用紫外可见分光光度法于 510 nm 波长处测定吸光度。以芦丁质量浓度为横坐标 (*X*)，吸光度为纵坐标 (*A*) 进行回归，得到回归方程。精密称取粉末 0.1 g，加入 2 mL 60% 乙醇，超声（70 ℃，80 W）提取 1 h，5 000 r/min 离心 3 min，取上清液，按照上述方法测定吸光度，平行测定 8 次，计算样品的总黄酮含量。

2.4 UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 分析

2.4.1 溶液制备 取“2.3”项下粉末 0.1 g，加入 1 mL 75% 甲醇，超声（100 W，40 Hz）提取 1 h，12 000 r/min 离心 6 min，取上清液，经 0.22 μm 微孔滤膜过滤，即得样品溶液（终质量浓度为 100 mg/mL）。为确保质谱的稳定性和一致性，样品溶液各取 100 μL 混合，制备质量控制（QC）样品溶液，并重复测定 5 次。取各对照品适量，75% 甲醇溶解，分别配制成 2 mg/mL 的射干苷、野鸢尾黄素、鸢尾黄素、次野鸢尾黄素、芒果苷和 1 mg/mL 的白射干素贮备液。取各贮备液适量，混匀，配制成对照品溶液。

2.4.2 色谱条件 参考文献 [24] 方法，ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱（2.1 mm×100 mm，1.8 μm）；流动相水（含 0.1% 甲酸）（A）-乙腈（含 0.1% 甲酸）（B），梯度洗脱（0~1 min，99%~80% A；1~15 min，80%~60% A；15~20 min，60%~0% A；20~22 min，0%~99% A；22~25 min，99% A）；体积流量 0.35 mL/min；柱温 40 ℃；样品室温度 20 ℃；进样量 1 μL。

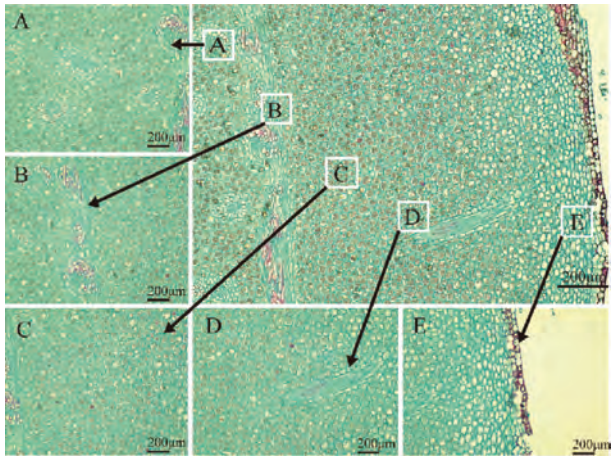
2.4.3 质谱条件 电喷雾离子源（ESI）；正离子扫描；毛细管电压 2.0 kV；采样锥电压 40.0 kV；源温度 100 ℃；去溶剂化温度 400 ℃；锥孔气体体积流量 100.0 L/h；脱溶剂气体体积流量 800 L/h；扫描范围 *m/z* 500~1 200。

2.5 数据分析 采用 Masslynx V4.1 软件采集质谱原始数据，HDIImaging V1.5 软件进行质谱成像，Mateboanalyst 平台进行液质联用数据分析。

3 结果

3.1 射干根茎横切面显微结构 表皮残存，木栓细胞多层，常与皮层分离（图 1E）；皮层细胞多层（图 1C），偶有根迹维管束（图 1D）。内皮层存在，2~3 层细长细胞，不明显（图 1B）。在中心，维管束散布在薄壁细胞之间，多为周木型，靠外侧排列较紧密（图 1A）。射干根茎横切面可由内向外分为中心、内皮层、皮层和木栓层 4 个部分，以内皮层为界线，分为内皮层外（包括皮层和木栓层，图

1C~1E）和内皮层内（中心，图 1A）。



注：A 为周木型维管束及薄壁细胞（×200）；B 为内皮层（×400）；C 为皮层薄壁细胞（×400）；D 为皮层及根迹维管束（×400）；E 为木栓层及残存的表皮（×400）。

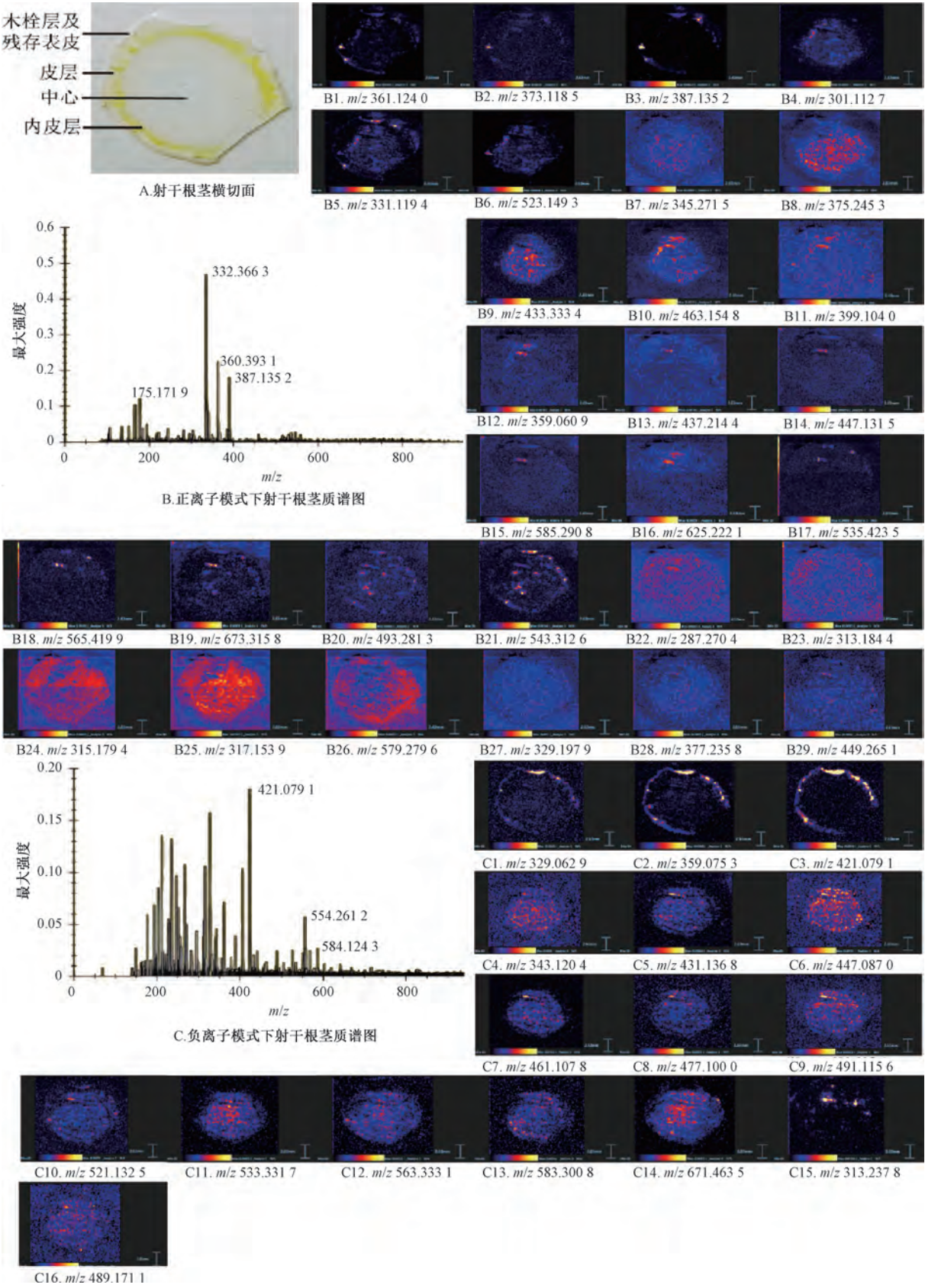
图 1 射干根茎横切面的显微结构

3.2 射干根茎总黄酮含量测定 芦丁回归方程为  $A = 0.7784X + 0.0281$  ( $r = 0.9997$ )，在 0.05~0.9 mg/mL 范围内线性关系良好。射干根茎内皮层内、外 2 个部分的总黄酮平均含量分别为  $(0.147 \pm 0.021)$ 、 $(0.275 \pm 0.035)$  mg/mL。其中内皮层外的总黄酮含量大于内皮层内，约为内皮层内的 2 倍，表明射干根茎 2 个部分的总黄酮含量差异较大。

3.3 射干根茎中黄酮类成分的空间分布 根据文献 [2, 3, 9, 24-28] 报道，将 62 种黄酮类成分的化学特征与质谱成像数据对比分析，再将质谱成像热图与射干根茎横切面显微结构图进行对比分析，得出空间分布特征，见表 1、图 2。

在正离子模式下，结合离子信号强度（图 2B）和不同成分的  $[M+H]^+$  值，*m/z* 361.124 0 为野鸢尾黄素（16）及其同分异构体的  $[M+H]^+$  离子，推测 *m/z* 373.118 5 为 nonirisfioerentin（48）的  $[M+H]^+$  离子，*m/z* 387.135 2 为次野鸢尾黄素（49）的  $[M+H]^+$  离子，主要分布于内皮层外，见图 2B1~2B3。推测 *m/z* 301.112 7 为鸢尾黄素（1）及其同分异构体的  $[M+H]^+$  离子，*m/z* 463.154 8 为射干苷（24）及其同分异构体的  $[M+H]^+$  离子，主要分布于内皮层内，见图 2B4、2B10。推测 *m/z* 299.104 0 为德鸢尾苷元（43）或 kanzakiflavone-2（44）的  $[M+H]^+$  离子，*m/z* 359.060 9 为 belamcandin（15）或白射干素（47）的  $[M+H]^+$  离子，主要在内皮层内有高强度分布，见图 2B11~2B12。推测 *m/z* 523.149 3 为野鸢尾苷（31）或 isoirigenin7-*O*-β-*D*-glucoside（30）的  $[M+H]^+$  离子，*m/z* 493.281 3 为鸢尾黄酮新苷 A（28）/鸢尾黄酮新苷 B（29）的  $[M+H]^+$  离子，*m/z* 331.119 4 为鸢尾黄酮甲素（12）/鸢尾黄酮乙素（13）及其同分异构体的  $[M+H]^+$  离子，在内皮层内、外均有分布，见图 2B6、2B20、2B5。





注：B1~B29 为正离子模式下热图；C1~C16 为负离子模式下热图。比例尺 2.63 mm。

图 2 射干根茎黄酮类成分质谱成像热图

表 1 射干根茎中黄酮类成分化学特征

编号	名称	分子式	$m/z$	$[M+H]^+$ 理论值 $m/z$	$[M+H]^+$ 测量值 $m/z$	$[M-H]^-$ 理论值 $m/z$	$[M-H]^-$ 测量值 $m/z$	内皮层内、外 分布特征
1	鸢尾黄素	$C_{16}H_{12}O_6$	300.063 4	301.071 2	301.112 7	299.055 6	—	内皮层内
2	异鸢尾黄素	$C_{16}H_{12}O_6$	300.063 4	301.071 2	301.112 7	299.055 6	—	内皮层内
3	6-hydroxybiochanin A	$C_{16}H_{12}O_6$	300.063 4	301.071 2	301.112 7	299.055 6	—	内皮层内
4	irilin A	$C_{17}H_{14}O_6$	314.079 0	315.086 9	315.179 4	313.071 2	313.237 8	均有分布,多为内皮层内
5	irilin D	$C_{16}H_{12}O_7$	316.058 3	317.066 1	317.153 9	315.050 5	—	均有分布
6	3',4',5,7-tetrahydroxy-4'-methoxy-isoflavone	$C_{16}H_{12}O_7$	316.058 3	317.066 1	317.153 9	315.050 5	—	均有分布
7	5,6,7,3'-tetrahydroxy-4'-methoxy-isoflavone	$C_{16}H_{12}O_7$	316.058 3	317.066 1	317.153 9	315.050 5	—	均有分布
8	5,6,7,3'-tetrahydroxy-8-methoxy-isoflavone	$C_{16}H_{12}O_7$	316.058 3	317.066 1	317.153 9	315.050 5	—	均有分布
9	5,7,8,4'-tetrahydroxy-6-methoxyisoflavone	$C_{16}H_{12}O_7$	316.058 3	317.066 1	317.153 9	315.050 5	—	均有分布
10	dimethyl tectorigenin	$C_{18}H_{16}O_6$	328.094 7	329.102 5	329.197 9	327.086 9	—	均有分布,主要为内皮层内
11	2,3-dihydroirigenin	$C_{18}H_{16}O_6$	328.094 7	329.102 5	329.197 9	327.086 9	—	均有分布
12	鸢尾黄酮甲素	$C_{17}H_{14}O_7$	330.074 0	331.081 8	331.119 4	329.066 1	329.062 9	均有分布,主要为内皮层外
13	鸢尾黄酮乙素	$C_{17}H_{14}O_7$	330.074 0	331.081 8	331.119 4	329.066 1	329.062 9	均有分布,主要为内皮层外
14	5,7,3'-trihydroxy-8,4'-dimethoxy-isoflavone	$C_{17}H_{14}O_7$	330.074 0	331.081 8	331.119 4	329.066 1	329.062 9	均有分布,主要为内皮层外
15	belameandin	$C_{19}H_{18}O_7$	358.105 3	359.113 1	359.060 9	357.097 4	—	内皮层内有高强度分布
16	野鸢尾黄素	$C_{18}H_{16}O_8$	360.084 5	361.092 3	361.124 0	359.076 7	359.075 3	内皮层外
17	异野鸢尾黄素	$C_{18}H_{16}O_8$	360.084 5	361.092 3	361.124 0	359.076 7	359.075 3	内皮层外
18	5,7,3'-trihydroxy-6,2',5'-trimethoxy-isoflavone	$C_{18}H_{16}O_8$	360.084 5	361.092 3	361.124 0	359.076 7	359.075 3	内皮层外
19	5,7,4'-trihydroxy-6,3',5'-trimethoxy-isoflavone	$C_{18}H_{16}O_8$	360.084 5	361.092 3	361.124 0	359.076 7	359.075 3	内皮层外
20	5,7-dihydroxy-6,3',4',5'-tetramethoxy-isoflavone	$C_{19}H_{18}O_8$	374.100 2	375.108 0	375.245 8	373.092 3	—	内皮层内
21	5,6,7,3'-tetrahydroxy-8,4',5'-trimethoxy-isoflavone	$C_{18}H_{16}O_9$	376.079 4	377.087 3	377.235 8	375.071 6	—	均有分布
22	5,6,7,3'-tetrahydroxy-8,4',5'-trimethoxy-isoflavone	$C_{18}H_{16}O_9$	376.079 4	377.087 3	377.235 8	375.071 6	—	均有分布
23	luteolin-6-C- $\beta$ -D-glucoside	$C_{21}H_{20}O_{11}$	448.100 6	449.108 4	449.265 1	447.092 7	447.087 0	均有分布,主要为内皮层内
24	射干苷	$C_{22}H_{22}O_{11}$	462.116 2	463.124 0	463.154 8	461.108 4	461.107 8	内皮层内
25	tectorigenin-4'-glucoside	$C_{22}H_{22}O_{11}$	462.116 2	463.124 0	463.154 8	461.108 4	461.107 8	内皮层内
26	4'-methoxy-5,6-dihydroxyisoflavone-7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside	$C_{22}H_{22}O_{11}$	462.116 2	463.124 0	463.154 8	461.108 4	461.107 8	内皮层内
27	3'-hydroxy tectoridin	$C_{22}H_{22}O_{12}$	478.111 1	479.119 0	—	477.103 3	477.100 0	内皮层内
28	鸢尾黄酮新苷 A	$C_{23}H_{24}O_{12}$	492.126 8	493.134 6	493.281 3	491.119 0	491.115 6	均有分布,主要为内皮层内
29	鸢尾黄酮新苷 B	$C_{23}H_{24}O_{12}$	492.126 8	493.134 6	493.281 3	491.119 0	491.115 6	均有分布,主要为内皮层内
30	isorigenin-7-O- $\beta$ -D-glucoside	$C_{24}H_{26}O_{13}$	522.137 3	523.145 2	523.149 3	521.129 5	521.132 5	均有分布
31	野鸢尾苷	$C_{24}H_{26}O_{13}$	522.137 3	523.145 2	523.149 3	521.129 5	521.132 5	均有分布

续表 1

编号	名称	分子式	$m/z$	$[M+H]^+$ 理论值 $m/z$	$[M+H]^+$ 测量值 $m/z$	$[M-H]^-$ 理论值 $m/z$	$[M-H]^-$ 测量值 $m/z$	内皮层内、外 分布特征
32	tectorigenin-7- <i>O</i> -glucosyl-4'- <i>O</i> -glucoside	$C_{28}H_{32}O_{16}$	624. 169 0	625. 176 9	625. 222 1	623. 161 2	—	内皮层内有高强度分布
33		$C_{28}H_{32}O_{16}$	624. 169 0	625. 176 9	625. 222 1	623. 161 2	—	内皮层内有高强度分布
34		$C_{29}H_{34}O_{17}$	654. 179 6	655. 187 4	—	653. 171 8	—	—
35		$C_{15}H_{10}O_6$	286. 047 7	287. 05 5 6	287. 270 4	285. 039 9	—	均有分布
36	粗毛豚草素	$C_{16}H_{12}O_6$	300. 063 4	301. 071 2	301. 112 7	299. 055 6	—	内皮层内
37		$C_{16}H_{12}O_6$	300. 063 4	301. 071 2	301. 112 7	299. 055 6	—	内皮层内
38	异鼠李素	$C_{16}H_{12}O_7$	316. 058 3	317. 066 1	317. 153 9	315. 050 5	—	均有分布
39		$C_{17}H_{14}O_7$	330. 074 0	331. 081 8	331. 119 4	329. 066 1	329. 062 9	均有分布,主要为内皮层外
40	5, 7, 4'-trihydroxy-3', 5'-dimethoxy-flavone	$C_{17}H_{14}O_7$	330. 074 0	331. 081 8	331. 119 4	329. 066 1	329. 062 9	均有分布,主要为内皮层外
41		$C_{18}H_{16}O_7$	344. 089 6	345. 097 4	345. 271 5	343. 081 8	343. 120 4	内皮层内
42	3, 5, 3'-trihydroxy-7, 4', 5'-trimethoxy-flavone	$C_{18}H_{16}O_8$	360. 084 5	361. 092 3	361. 124 0	359. 076 7	359. 075 3	内皮层外
43		$C_{16}H_{10}O_6$	298. 047 7	299. 056 6	299. 104 0	297. 039 9	—	内皮层内有高强度分布
44	kanzakiflavone-2	$C_{16}H_{10}O_6$	298. 047 7	299. 056 6	299. 104 0	297. 039 9	—	内皮层内有高强度分布
45		$C_{17}H_{12}O_6$	312. 055 6	313. 071 2	313. 184 4	311. 055 6	—	均有分布
46	5, 4'-dihydroxy-6, 7-methylenedioxy-3'-methoxyflavone	$C_{17}H_{12}O_7$	328. 058 3	329. 066 1	329. 197 9	327. 050 5	—	均有分布
47		$C_{18}H_{14}O_8$	358. 068 9	359. 078 4	359. 060 9	357. 061 0	—	内皮层内有高强度分布
48	nonisflorientin	$C_{19}H_{16}O_8$	372. 084 5	373. 092 3	373. 118 5	371. 076 7	—	内皮层外
49		$C_{20}H_{18}O_8$	386. 100 2	387. 108 0	387. 135 2	385. 092 3	—	内皮层外
50	irifloside	$C_{23}H_{22}O_{12}$	490. 111 1	491. 119 0	—	489. 103 3	489. 171 1	内皮层内
51		$C_{25}H_{26}O_{13}$	534. 137 3	535. 145 2	535. 423 5	533. 129 5	533. 331 7	均有点状高强度分布,主要为内皮层内
52	芒果苷	$C_{19}H_{18}O_{11}$	422. 084 9	423. 092 7	—	421. 077 1	421. 079 1	内皮层外
53		$C_{19}H_{18}O_{11}$	422. 084 9	423. 092 7	—	421. 077 1	421. 079 1	内皮层外
54	7- <i>O</i> -甲基芒果苷	$C_{20}H_{20}O_{11}$	436. 100 6	437. 108 4	437. 214 4	435. 092 7	—	内皮层内有高强度分布
55		$C_{20}H_{20}O_{11}$	436. 100 6	437. 108 4	437. 214 4	435. 092 7	—	内皮层内有高强度分布
56	新芒果苷	$C_{25}H_{28}O_{16}$	584. 137 7	585. 145 6	585. 290 8	583. 129 9	583. 300 8	内皮层内有高强度分布,主要为内皮层内
57		$C_{31}H_{30}O_{15}$	642. 158 5	643. 166 3	643. 312 6	641. 150 6	—	均有分布
58	6''- <i>O</i> -vanilloyliridin	$C_{32}H_{32}O_{16}$	672. 169 0	673. 176 9	673. 315 8	671. 161 2	671. 463 5	都有点状高强度分布,主要为内皮层内
59		$C_{21}H_{20}O_{10}$	432. 105 6	433. 113 5	433. 333 4	431. 097 8	431. 136 8	内皮层内
60	2''- <i>O</i> -rhamnosyl-swertisin	$C_{22}H_{22}O_{10}$	446. 121 3	447. 129 1	447. 131 5	445. 113 5	—	内皮层内有高强度分布
61		$C_{26}H_{28}O_{14}$	564. 147 9	565. 155 7	565. 419 9	563. 140 1	563. 333 1	均有点状高强度分布,主要为内皮层内
62	isovitexin	$C_{27}H_{30}O_{14}$	578. 163 6	579. 171 4	579. 279 6	577. 155 7	—	内皮层外

注:—表示未检出。



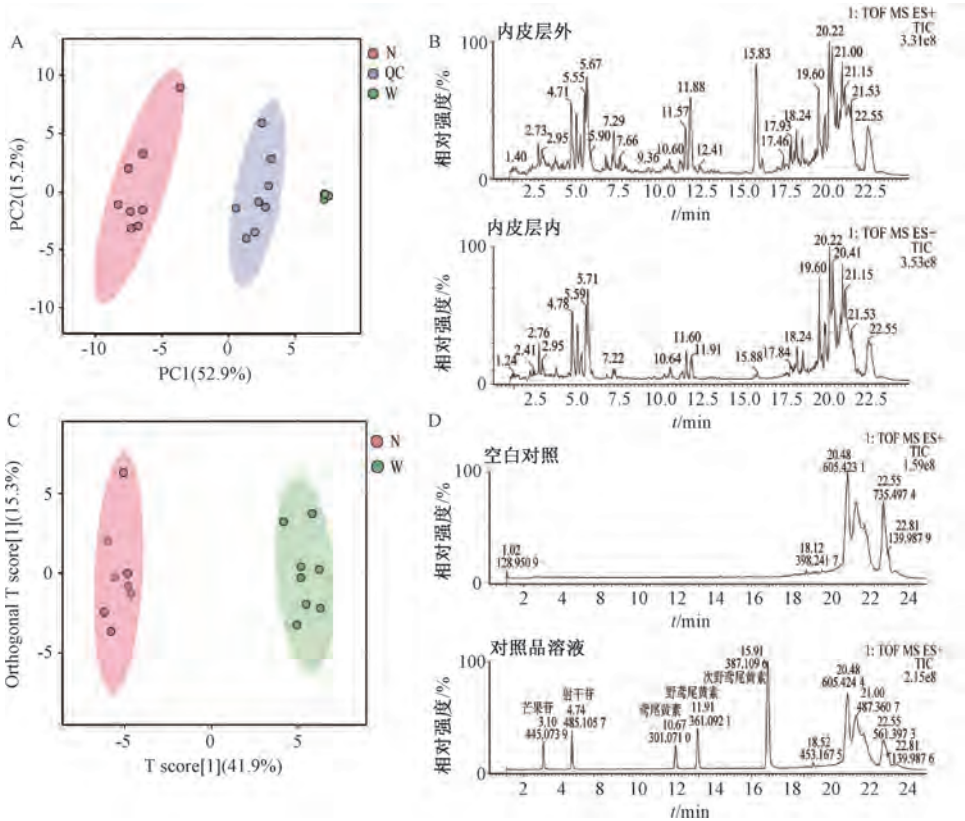
负离子模式下, 推测  $m/z$  329.062 9 为鸢尾黄酮甲素 (12) / 鸢尾黄酮乙素 (13) 及其同分异构体的  $[M-H]^-$  离子,  $m/z$  359.075 3 为野鸢尾黄素 (16)、异野鸢尾黄素 (17) 及其同分异构体的  $[M-H]^-$  离子,  $m/z$  421.079 1 为芒果苷 (52) 或异芒果苷 (53) 的  $[M-H]^-$  离子, 主要分布于内皮层外, 见图 2C1~2C3。推测  $m/z$  461.107 8 为射干苷 (24) 及其同分异构体的  $[M-H]^-$  离子,  $m/z$  491.115 6 为鸢尾黄酮新苷 A (28) / 鸢尾黄酮新苷 B (29) 的  $[M-H]^-$  离子,  $m/z$  583.300 8 为新芒果苷 (56) 的  $[M-H]^-$  离子, 主要分布于内皮层内, 见图 2C7、2C9、2C13。推测  $m/z$  521.132 5 为野鸢尾苷 (31) 或 isoirigenin-7-*O*- $\beta$ -D-glucoside (30) 的  $[M-H]^-$  离子, 在内皮层内、外均有分布, 见图 2C10。

3.4 UPLC-Q-TOF-MSE 分析

3.4.1 稳定性和对照品分析 由主成分分析 (PCA) 可知, QC 样本分布较密集, 说明系统稳定性好, 数据准确性和可靠性高。射干根茎内皮层内、外 2 个部分的分离程度大, 各样本间分布距离较大, 说明 2 个部位黄酮类含量差异显著, 且各个样本间差异性较大, 见图 3A。由图 3B 可知, 总离子流图上射干根茎 2 个部分的重叠峰很多, 但在代谢物的种类和含量方面存在差异性, 特别在峰面积上有较明显区别, 且内皮层外所含化学成分的种类和含量比内皮层内多。

根据文献 [5, 10, 15], 选择 6 个质量控制指标成分,

对比分析得出,  $t_R=3.10$  min 的峰为芒果苷的  $[M+Na]^+$  峰;  $t_R=4.74$  min 的峰为射干苷的  $[M+Na]^+$  峰;  $t_R=10.67$  min 的峰为鸢尾黄素的  $[M+H]^+$  峰;  $t_R=11.91$  min 的峰为野鸢尾黄素的  $[M+H]^+$  峰;  $t_R=15.91$  min 的峰为次野鸢尾黄素的  $[M+H]^+$  峰, 白射干素因浓度过低未被检出, 见图 3D。3.4.2 差异代谢物 为了最大程度的查看组间差异, 对其采用正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA)。首先, 对模型进行验证,  $R^2X$ 、 $R^2Y$  和  $Q^2$  分别为 0.419、0.972、0.94, 后两者均大于 0.5, 且  $R^2Y>Q^2$ , 说明该模型具有很好的解释性和预测能力。由图 3C 可知, 两组有较好的聚集性, 组间差异明显。利用变量重要性参数 (VIP) 进行进一步筛选, 选取 VIP 值>1 的差异化合物和已有对照品对比发现, 大多数黄酮类化合物在内皮层内、外均有分布。对其峰面积进行归一化处理后再进行统计学分析发现, 除鸢尾黄素在内皮层内、外的分布没有显著性差异外, 其他黄酮类成分均有显著性差异, 见表 2、图 4。由此可知, 次野鸢尾黄素、野鸢尾黄素、白射干素、德鸢尾苷元、5,7,4'-trihydroxy-6, 3', 5'-trimethoxyisoflavone、nonirisflorentin、belamcandin、luteolin-6-*C*- $\beta$ -D-glucoside、irilin D、irisolone、芒果苷、7-*O*-甲基芒果苷/7-*O*-甲基异芒果苷等主要分布于内皮层外, 异鸢尾黄素、射干苷、3'-hydroxytectoridin、iristectorigeninA-7-*O*- $\beta$ -glucosyl (1 $\rightarrow$ 6) glucoside、tectorigenin-7-*O*- $\beta$ -glucosyl (1 $\rightarrow$ 6) glucoside、tectorigenin-7-*O*-glucosyl-4'-*O*-glucoside 主要分布于内皮层内。



注: A 为主成分分析图; B、D 为各成分总离子流图, C 为正交偏最小二乘判别分析图。N 为内皮层内, W 为内皮层外, QC 为质量控制样品。

图 3 射干根茎 UPLC-Q-TOF-MS<sup>E</sup> 分析结果

表 2 射干根茎中黄酮类化合物鉴定结果

编号	名称	分子式	VIP 值	<i>t</i> <sub>R</sub> /min	离子峰 <i>m/z</i>
49	次野鸢尾黄素	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> O <sub>8</sub> Na	1.35	15.79	409.088 9,387.107 6
16	野鸢尾黄素	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	1.29	11.88	361.092 7
2	异鸢尾黄素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	1.45	4.78	301.071 0,286.046 7,168.005 1
12/13	鸢尾黄酮甲素/鸢尾黄酮乙素	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	0.92	5.59	331.081 7,316.057 4,301.035 2,273.038 8,245.044 0
1	鸢尾黄素	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	0.23	10.64	301.070 9
47	白射干素	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>	1.41	16.19	359.077 5,318.300 0,297.240 1,219.528 0,199.014 9
43	德鸢尾苷元	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	1.19	15.17	299.054 6,273.166 7,189.517 2,169.004 1
61	2''- <i>O</i> -rhamnosylisovitexin	C <sub>26</sub> H <sub>28</sub> O <sub>14</sub>	1.20	3.38	565.155 3,501.173 3,485.199 0,409.182 9,355.282 4,313.200 9,297.239 8
15	belamcandin	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>	1.18	9.31	543.111 7,359.076 2,297.240 3,280.040 9
5	irilin D	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	1.17	7.85	317.065 7,283.223 9,198.522 7
19	5,7,4'-trihydroxy-6,3',5'-trimethoxyisoflavone	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	1.47	10.76	361.092 1,331.080 6,316.057 1,303.049 4
48	nonirisflorentin	C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>8</sub>	1.47	12.40	373.092 5,358.068 5,331.082 4,313.208 1
23	luteolin-6- <i>C</i> -β- <i>D</i> -glucoside	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>11</sub> Na	1.44	8.50	471.220 7,449.188 9,361.092 2,313.201 0,283.224 3
45	irisolone	C <sub>17</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub> Na	1.46	12.72	335.052 4,313.070 3,283.224 0
24	射干苷	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub> Na	1.42	4.71	485.105 7,463.123 6,301.070 6,286.047 0
28/29	鸢尾黄酮新苷 A/鸢尾黄酮新苷 B	C <sub>23</sub> H <sub>23</sub> O <sub>12</sub> Na	1.24	5.02	515.116 6,493.134 6,331.081 5,316.057 6
27	3'-hydorxy tectoridin	C <sub>22</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub> Na	1.32	5.21	501.100 6,479.117 8,331.081 2,317.065 6,259.035 7,177.055 0
51	3',5'-dimethoxy-irisolone-4'- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucoside	C <sub>25</sub> H <sub>25</sub> O <sub>13</sub> Na	1.02	7.19	557.127 7,535.145 3,373.091 7,352.154 4,282.056 4
52	芒果苷	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> O <sub>11</sub> Na	1.47	3.10	445.074 2,423.092 3,405.081 5,387.070 8,327.049 4,303.049 8,273.039 1
54/55	7- <i>O</i> -甲基芒果苷/7- <i>O</i> -甲基异芒果苷	C <sub>20</sub> H <sub>19</sub> O <sub>11</sub> Na	1.48	3.88	459.089 6,437.107 5,419.096 7,401.086 0,383.075 7,371.075 6,341.065 3,317.065 1
33	tectorigenin-7- <i>O</i> -β-glucosyl (1→6) glucoside	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub> Na	1.09	4.47	647.159 3,625.177 1,545.221 6,523.144 5,463.124 8,361.091 5,301.070 5
34	iristectorigeninA-7- <i>O</i> -β-glucosyl (1→6) glucoside	C <sub>29</sub> H <sub>33</sub> O <sub>17</sub> Na	1.09	4.00	677.170 4,655.188 5,575.210 8,485.199 3,331.081 0
32	tectorigenin-7- <i>O</i> -glucosyl-4'- <i>O</i> -glucoside	C <sub>28</sub> H <sub>31</sub> O <sub>16</sub> Na	1.05	3.81	647.159 4,625.176 6,559.142 9,523.144 0,487.214 4,463.122 6,301.070 4,259.036 1

4 讨论

本研究发现，射干根茎内皮层内、外 2 个部分的总黄酮含量具有明显差异。采用 DESI Xevo G2-XS Q-TOF 质谱成像技术初步得出，次野鸢尾黄素、鸢尾黄素、异鸢尾黄素、鸢尾黄酮甲素/鸢尾黄酮乙素等黄酮苷元主要分布于内皮层外，而射干苷、鸢尾黄酮新苷 A/鸢尾黄酮新苷 B 等黄酮苷主要分布于内皮层内。利用液质联用技术对射干根茎内皮层内、外 2 个部分的黄酮类成分进行对比分析发现，大多数黄酮类成分在二者中的分布具有显著差异，次野鸢尾黄素、野鸢尾黄素、德鸢尾苷元、白射干素、nonirisflorentin、belamcandin、luteolin-6-*C*-β-*D*-glucoside、irilin D 等黄酮苷元主要分布于内皮层外，射干苷、3'-hydorxytectoridin、iristectorigeninA-7-*O*-β-glucosyl (1→6) glucoside 等黄酮苷主要分布于内皮层内，与质谱成像结果一致。

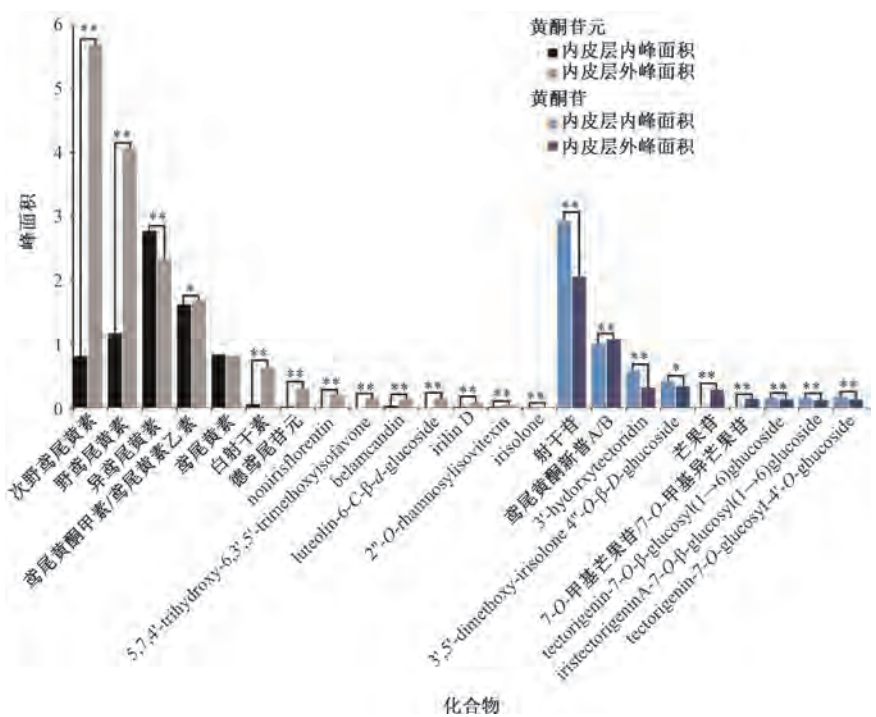
射干根茎最外层的木栓层由疏水性成分构成，是水和溶质在根中径向运输的重要扩散屏障，可减少有效成分的损失，同时起到抗氧化、抵抗病虫害及环境胁迫的作用<sup>[29]</sup>。皮层密布薄壁细胞，起储存作用，并有根迹维管束，可运输水分等。内皮层能分化建立双向扩散屏障，包括形成凯氏带和木栓层。执行内皮层对水分和养分的选择性吸收，防止其从中柱向外渗出<sup>[30]</sup>，并可防止病虫害及有

毒成分的入侵。内皮层内散布维管束，是水分运输的主要通道，亲水成分更容易通过水在导管内快速运输。而苷元低水溶性，*O*-糖基化合成苷类可提高水溶性。综上所述，射干根茎的结构有利于黄酮苷元在内皮层外积累，而黄酮苷更多在内皮层内分布。

《中华本草》<sup>[31]</sup>等典籍中描述射干根茎“色黄者为佳”，而中药颜色往往与化学成分有关<sup>[32]</sup>。射干根茎横切面的内皮层内呈淡黄白色，内皮层外呈黄色。研究发现，药材黄色形成与类黄酮含量和代谢有关<sup>[33]</sup>，射干根茎颜色偏黄的原因可能是含有黄酮类成分<sup>[7]</sup>，其独特的黄色被证实与芒果苷、异芒果苷、新芒果苷等有关<sup>[34]</sup>。基于“色—质”<sup>[35-36]</sup>理论和上述现象，内皮层外的黄酮类成分的种类和含量应比内皮层内多，与本研究结果吻合。

次野鸢尾黄素、鸢尾黄素、鸢尾黄酮甲素/鸢尾黄酮乙素、芒果苷等黄酮类成分在内皮层外分布多，与前人研究成果一致。

质谱成像揭示了药用植物代谢物的空间分布特征，而组织中成分分布信息对理解和推断其作用和机制至关重要<sup>[37]</sup>。获得射干根茎中黄酮类成分的空间原位信息，有利于探索其生物合成机制和积累规律，研究差异代谢物的基因及其代谢通路，进而为培育优良品种和提高射干品质提供科学依据，为射干药材质量控制及开发利用提供参考。



注：与内皮层内峰面积比较，\*  $P < 0.05$ ，\*\*  $P < 0.01$ 。

图 4 射干根茎黄酮苷元和苷类成分峰面积对比图

参考文献:

[ 1 ] Zhang L, Wei K H, Xu J P, et al. *Belamcanda chinensis* (L.) DC—An ethnopharmacological, phytochemical and pharmacological review[J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 186: 1-13.

[ 2 ] 凌悦, 陈金鹏, 叶晴, 等. 射干的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. *中草药*, 2022, 53(5): 1595-1608.

[ 3 ] 张孝宇, 孟凡娟, 韩辉, 等. 射干的化学成分、生物活性及分子研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(9): 179-183.

[ 4 ] 李秋慧, 单晓晓, 叶卫东, 等. 射干麻黄汤的研究进展及质量标志物的预测分析[J]. *中国中药杂志*, 2023, 48(8): 2068-2076.

[ 5 ] Song Y Y, Liu Y, Yan Y M, et al. Phenolic compounds from *Belamcanda chinensis* seeds[J]. *Molecules*, 2018, 23(3): 580.

[ 6 ] Kumar D P. Medicinal importance, pharmacological activity and analytical aspects of flavonoid ‘irisfloreintin’ from *Belamcanda chinensis* (L.) DC. [J]. *Curr Drug Res Rev*, 2023, 15(3): 222-227.

[ 7 ] Chen J Y, Liang T Z, Zhu Y, et al. Tissue-specific metabolites profiling and quantitative analyses of flavonoids in the rhizome of *Belamcanda chinensis* by combining laser-microdissection with UHPLC-Q/TOF-MS and UHPLC-QqQ-MS[J]. *Talanta*, 2014, 130: 585-597.

[ 8 ] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 297.

[ 9 ] 邓迪, 赵欢, 李佩华, 等. 射干研究进展[J]. *四川农业科技*, 2020, 398(11): 84-86.

[ 10 ] 卞娅, 刘孟生, 张丽媛, 等. 射干、鸢尾不同部位 6 种活性成分定量分析及抗炎作用初探[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(1): 119-122.

[ 11 ] 普冰清, 朱艳, 许方云, 等. 射干不同采收期黄酮类成分的动态变化规律[J]. *药学与临床研究*, 2014, 22(3): 212-215.

[ 12 ] 张杰, 曾铨, 常义生, 等. 射干化学成分研究[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(24): 57-59.

[ 13 ] 李欠, 姬党通, 高慧. 基于质谱成像技术的独活鲜根中香豆素类成分的空间分布特征研究[J]. *中草药*, 2023, 54(11): 3438-3445.

[ 14 ] 吴佳, 王珊. 不同产地射干药材水溶性成分的 HPLC 指纹图谱及其含量差异[J]. *沈阳药科大学学报*, 2023, 40(5): 593-600.

[ 15 ] 姜鸿, 王光函, 辛旭阳, 等. UPLC 法测定射干药材中 10 个异黄酮类成分的含量[J]. *中国药房*, 2019, 30(23): 3216-3220.

[ 16 ] 武英杰, 王歆彤, 张丹, 等. 基于 HS-GC-MS 对射干、川射干中挥发性成分的差异性研究[J]. *中药材*, 2023, 46(6): 1434-1438.

[ 17 ] Hu T, Ge X Y, Wang J Y, et al. Metabolite identification of iridin in rats by using UHPLC-MS/MS and pharmacokinetic study of its metabolite irigenin[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2021, 1181: 122914.

[ 18 ] Shi W Q, Wu Z H, Wu J P, et al. A comprehensive quality control evaluation for standard decoction of *Smilax glabra* roxb based on HPLC-MS-UV/CAD methods combined with chemometrics analysis and network pharmacology[J]. *Food Chem*, 2023, 410: 135371.



[ 19 ]

Huang L Y, Nie L X, Dong J, *et al.* Differential distribution of phytochemicals in scutellariae radix and scutellariae amoenae radix using microscopic mass spectrometry imaging[J]. *Arab J Chem*, 2023, 16(5): 104590.

[ 20 ]

聂黎行, 黄烈岩, 钱秀玉, 等. 基于 AP-MALDI-IT-TOF/MS 和 DESI-Q-TOF/MS 的板蓝根全质谱成像及品质相关指标成分群的研究[J]. 中国药学杂志, 2023, 58(9): 823-830.

[ 21 ]

Guo N, Fang Z Y, Zang Q C, *et al.* Spatially resolved metabolomics combined with bioactivity analyses to evaluate the pharmacological properties of two *Radix Puerariae* species[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 313: 116546.

[ 22 ]

何诗瑜, 曾仲大, 李博岩. 空间分辨代谢组学在疾病诊断研究中的应用进展[J]. 生物技术通报, 2024, 40(1): 145-159.

[ 23 ]

王 倩, 康钰溥, 杨利博, 等. 射干总黄酮提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 河北农业科学, 2022, 26(5): 102-108.

[ 24 ]

左 芳. 基于肠道菌群和代谢组学探讨射干米泔水炮制后减毒增效作用[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2022.

[ 25 ]

Zhang X, Qiao G X, Zhao G F, *et al.* Characterization of the metabolites of irisfloreantin by using ultra-high performance liquid chromatography combined with quadrupole/orbitrap tandem mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 203 (prepublish): 114222.

[ 26 ]

Tian M, Zhag X, Zhu Y, *et al.* Global transcriptome analyses reveal differentially expressed genes of six organs and putative genes involved in (iso) flavonoid biosynthesis in *Belamcanda chinensis*[J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 1160.

[ 27 ]

冯 超, 周婷婷, 范国荣, 等. 射干异黄酮类化学成分的 HPLC-DAD/ESI-MS 分析[J]. 第二军医大学学报, 2009, 30(7): 817-820.

[ 28 ]

Zhou H X, Zhang Y, Liang H, *et al.* A novel multidimensional strategy to evaluate *Belamcanda chinensis* (L). DC and *Iris tectorum* Maxim based on plant metabolomics, digital reference standard analyzer and biological activities evaluation[J]. *Chin Med*, 2021, 16(1): 85.

[ 29 ]

张 标, 吴 健, 张 杨, 等. 木栓层在水和溶质运输中的生理功能研究进展[J]. 植物学报, 2023, 58(6): 1008-1018.

[ 30 ]

张 标, 朱莹莹, 孙光军, 等. 植物根内皮层分化及其可塑性研究进展[J]. 天津农业科学, 2023, 29(2): 1-10.

[ 31 ]

国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 256-260.

[ 32 ]

张 燕, 吴 潍, 陈 芳, 等. 中药颜色的特点与应用[J]. 中医药管理杂志, 2020, 28(3): 227-228.

[ 33 ]

廉 雪, 张耀文. 不同种皮色绿豆黄酮类含量的初步研究[J]. 山西农业科学, 2020, 48(1): 55-57; 113.

[ 34 ]

艾 强. 射干对干旱胁迫的响应及异黄酮合成分子调控机制研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2023.

[ 35 ]

袁 媛, 黄璐琦. 道地药材分子生药学研究进展和发展趋势[J]. 科学通报, 2020, 65(12): 1093-1102.

[ 36 ]

钱锦秀. 基于传统鉴别经验的中药材现代品质评价研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2023.

[ 37 ]

申 夺, 闵建新, 陈 杰, 等. 质谱成像技术在中药分析领域中的研究与应用[J]. 中国科学: 化学, 2025, 55(3): 661-677.