

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，紫外可见光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^E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^E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^E；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^[1-6]，主要活性成分为黄酮或异黄酮苷元及其相应的糖苷^[7]。

在射干质量控制指标的研究过程中，除2020年版《中国药典》^[8]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^[9-12]。在这些研究中，主要采用色谱和色谱-质谱联用技术^[13]，如HPLC^[14]、UPLC^[15]、GC-MS^[16]、HPLC-MS^[17-18]等。而这些方法都对样品进行了均质处理^[19]，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^[20]。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^[21]。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^[22]，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^E 分析黄酮类成分的空间分布特征，以期为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^E 质谱仪（美国Waters公司）；DFC7000T 正置荧光显微镜、Cm3600 冷冻切片机（德国Leica公司）；紫外可见光分光光度计（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，再用冷冻切片机（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⁻、DESI⁺; 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^E 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。

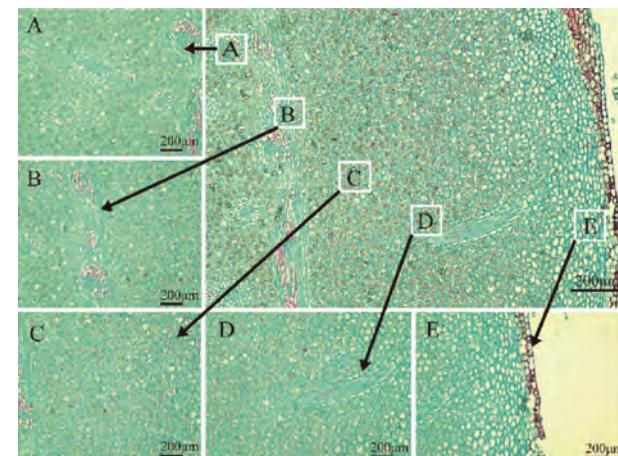
2.4.3 质谱条件 电喷雾离子源 (ESI); 正离子扫描; 毛细管电压 2.0 kV; 采样锥电压 40.0 kV; 源温度 100 ℃; 去溶剂化温度 400 ℃; 锥孔气体积流量 100.0 L/h; 脱溶剂气体积流量 800 L/h; 扫描范围 *m/z* 500~1 200。

2.5 数据分析 采用 Masslynx V4.1 软件采集质谱原始数据, HDImaging 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)。



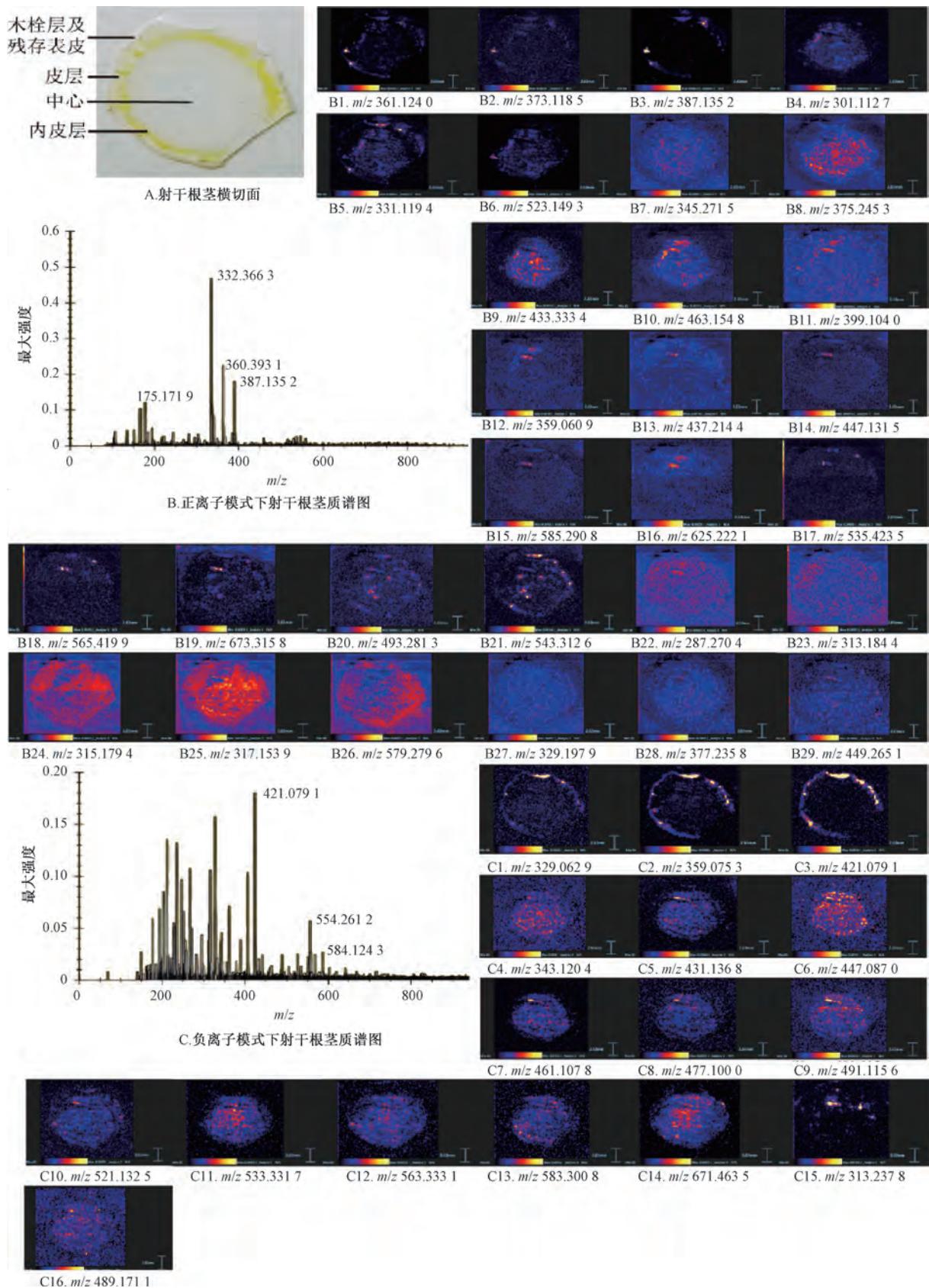
注: A 为周木型维管束及薄壁细胞 ($\times 200$); B 为内皮层 ($\times 400$); C 为皮层薄壁细胞 ($\times 400$); D 为皮层及根迹维管束 ($\times 400$); E 为木栓层及残存的表皮 ($\times 400$)。

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 $A = 0.7784 X + 0.0281$ ($r = 0.9997$), 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 ± 0.021) 、 (0.275 ± 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 nonirisfiorentin (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] ⁺		[M-H] ⁻		内皮层内、外分布特征
				理论值 m/z	测量值 m/z	理论值 m/z	测量值 m/z	
1	弯尾黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.063 4	301.071 2	301.112 7	299.055 6	—	内皮层内
2	异弯尾黄素	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	弯尾黄酮甲素	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	弯尾黄酮乙素	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	helancandin	C ₁₉ H ₁₈ O ₇	358.105 3	359.113 1	359.060 9	357.097 4	—	内皮层内有高强分布
16	野弯尾黄素	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	异野弯尾黄素	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-β-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-β-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	弯尾黄酮新苷 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	弯尾黄酮新苷 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-β-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	野弯尾苷	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	<i>m/z</i>	[M+H] ⁺ 理论值 <i>m/z</i>	[M+H] ⁺ 测量值 <i>m/z</i>	[M-H] ⁻ 理论值 <i>m/z</i>	[M-H] ⁻ 测量值 <i>m/z</i>	内皮层内外 分布特征
32	tectorigenin-7-O-glucosyl-4'-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₂ O ₆	624.169 0	625.176 9	625.222 1	623.161 2	—	内皮层内有高强度分布
33	tectorigenin-7-O-β-glucosyl(1→6) glucoside	C ₂₈ H ₃₂ O ₆	624.169 0	625.176 9	625.222 1	623.161 2	—	内皮层内有高强度分布
34	ristectorigeninA-7-O-β-glucosyl(1→6) glucoside	C ₂₉ H ₃₄ O ₇	654.179 6	655.187 4	—	653.171 8	—	—
35	木犀草素	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286.047 7	287.055 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	鼠李糖苷	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	rhamnazin	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	5,3'-dihydroxy-7,4',5'-trimethoxy-flavonol	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	德弯尾苷元	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
45	isolone	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	—	内皮层内有高强度分布
47	白射干素	C ₁₈ H ₁₄ O ₈	358.068 9	359.078 4	359.060 9	357.061 0	—	内皮层外
48	nonisflorentin	C ₁₉ H ₁₆ O ₈	372.084 5	373.092 3	373.118 5	371.076 7	—	内皮层外
49	次野鸢尾黄素	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	3',5'-dimethoxy-isolone-4'-O-β-D-glucoside	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	异芒果苷	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	422.084 9	423.092 7	—	421.077 1	421.079 1	内皮层外
54	7-O-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	7-O-甲基异芒果苷	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
56	新芒果苷	C ₂₅ H ₂₈ O ₆	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	6"-O-vanillyliridin	C ₃₁ H ₃₀ O ₅	642.158 5	643.166 3	643.312 6	641.150 6	—	均有分布
58	6"-O-p-hydroxy-benzyliridin	C ₃₂ H ₃₂ O ₆	672.169 0	673.176 9	673.315 8	671.161 2	671.463 5	都有点状高强分布, 主要为内皮层内
59	swertisin	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"-O-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	2"-O-rhamnosyl-isovitexin	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。

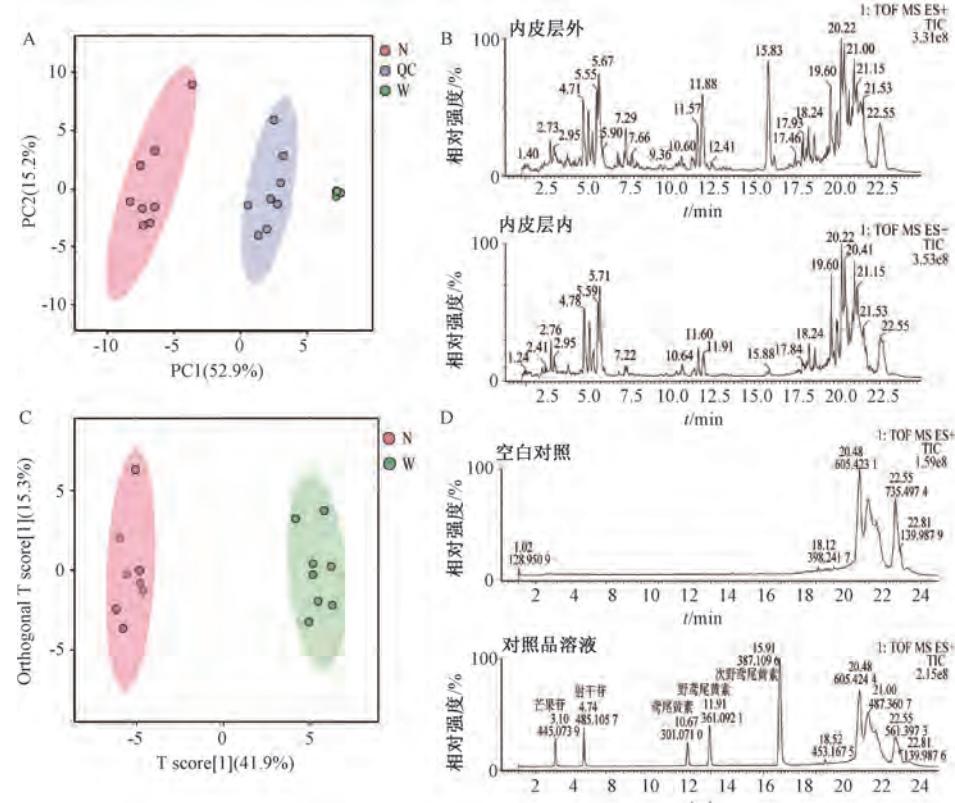
负离子模式下, 推测 m/z 329.062 9 为鸢尾黄酮甲素 (12) / 鸢尾黄酮乙素 (13) 及其同分异构体的 $[M-H]^-$ 离子, m/z 359.075 3 为野鸢尾黄素 (16)、异野鸢尾黄素 (17) 及其同分异构体的 $[M-H]^-$ 离子, m/z 421.079 1 为芒果苷 (52) 或异芒果苷 (53) 的 $[M-H]^-$ 离子, 主要分布于内皮层外, 见图 2C1~2C3。推测 m/z 461.107 8 为射干苷 (24) 及其同分异构体的 $[M-H]^-$ 离子, m/z 491.115 6 为鸢尾黄酮新苷 A (28) / 鸢尾黄酮新苷 B (29) 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- β -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- β -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'-hydorxytectoridin、iristectorigeninA-7-O- β -glucosyl ($1 \rightarrow 6$) glucoside、tectorigenin-7-O- β -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^E 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	t _{R'} /min	离子峰 m/z
49	次野鸢尾黄素	C ₂₀ H ₁₇ O ₈ Na	1.35	15.79	409.088 9, 387.107 6
16	野鸢尾黄素	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	1.29	11.88	361.092 7
2	异鸢尾黄素	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	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 ₁₇ H ₁₄ O ₇	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 ₁₆ H ₁₂ O ₆	0.23	10.64	301.070 9
47	白射干素	C ₁₈ H ₁₄ O ₈	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 ₁₆ H ₁₀ O ₆	1.19	15.17	299.054 6, 273.166 7, 189.517 2, 169.004 1
61	2'-O-rhamnosylisovitexin	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₄	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 ₁₉ H ₁₈ O ₇	1.18	9.31	543.111 7, 359.076 2, 297.240 3, 280.040 9
5	irilin D	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	1.17	7.85	317.065 7, 283.223 9, 198.522 7
19	5,7,4'-trihydroxy-6,3',5'-trimethoxyisoflavone	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	1.47	10.76	361.092 1, 331.080 6, 316.057 1, 303.049 4
48	nonirisflorentin	C ₁₉ H ₁₆ O ₈	1.47	12.40	373.092 5, 358.068 5, 331.082 4, 313.208 1
23	luteolin-6-C-β-D-glucoside	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁ Na	1.44	8.50	471.220 7, 449.188 9, 361.092 2, 313.201 0, 283.224 3
45	irisolone	C ₁₇ H ₁₁ O ₆ Na	1.46	12.72	335.052 4, 313.070 3, 283.224 0
24	射干苷	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₁ 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 ₂₃ H ₂₃ O ₁₂ Na	1.24	5.02	515.116 6, 493.134 6, 331.081 5, 316.057 6
27	3'-hydroxy tectoridin	C ₂₂ H ₂₁ O ₁₂ 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'-O-β-D-glucoside	C ₂₅ H ₂₅ O ₁₃ 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 ₁₉ H ₁₇ O ₁₁ 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-O-甲基芒果苷/7-O-甲基异芒果苷	C ₂₀ H ₁₉ O ₁₁ 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-O-β-glucosyl (1→6) glucoside	C ₂₈ H ₃₁ O ₁₆ 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-O-β-glucosyl (1→6) glucoside	C ₂₉ H ₃₃ O ₁₇ Na	1.09	4.00	677.170 4, 655.188 5, 575.210 8, 485.199 3, 331.081 0
32	tectorigenin-7-O-glucosyl-4'-O-glucoside	C ₂₈ H ₃₁ O ₁₆ 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

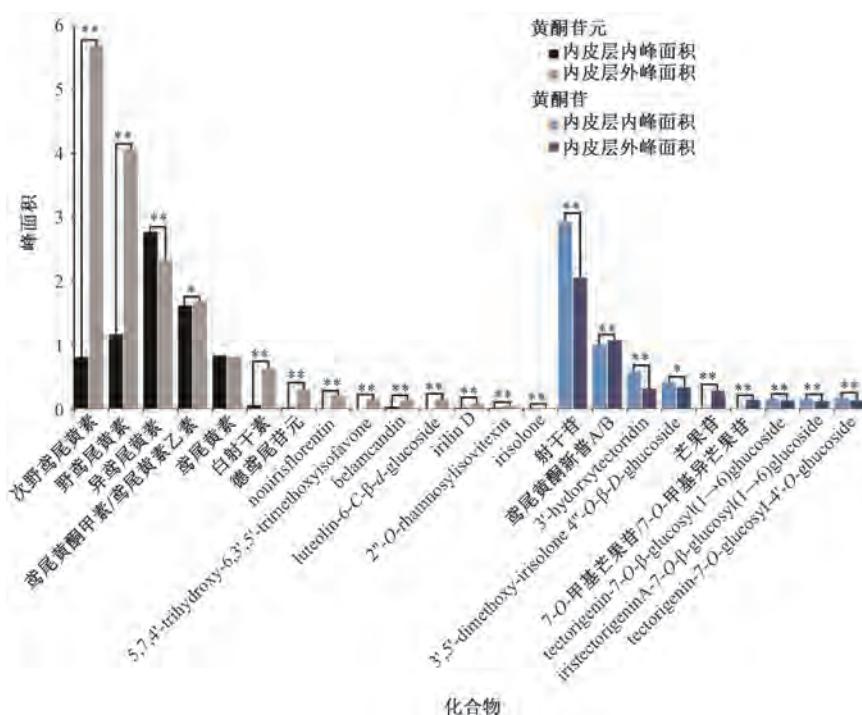
本研究发现, 射干根茎内皮层内、外2个部分的总黄酮含量具有明显差异。采用DESI Xevo G2-XS Q-TOF质谱成像技术初步得出, 次野鸢尾黄素、鸢尾黄素、异鸢尾黄素、鸢尾黄酮甲素/鸢尾黄酮乙素等黄酮苷元主要分布于内皮层外, 而射干苷、鸢尾黄酮新苷 A/鸢尾黄酮新苷 B 等黄酮苷主要分布于内皮层内。利用液质联用技术对射干根茎内皮层内、外2个部分的黄酮类成分进行对比分析发现, 大多数黄酮类成分在二者中的分布具有显著差异, 次野鸢尾黄素、野鸢尾黄素、德鸢尾苷元、白射干素、nonirisflorentin、belamcandin、luteolin-6-C-β-D-glucoside、irilin D 等黄酮苷元主要分布于内皮层外, 射干苷、3'-hydroxytectoridin、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^[29]。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^[30], 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》^[31]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^[32]。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^[33], 射干根茎颜色偏黄的原因可能是含有黄酮类成分^[7], 其独特的黄色被证实与芒果苷、异芒果苷、新芒果苷等有关^[34]。基于“色—质”^[35-36]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^[37]。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 ‘irisflorentin’ 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, 曾铖, 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 amoena* 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 irisflorentin 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, 吴滩, 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.