基于 UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid-MS 结合 DESI-MSI 技术探究何首乌不同炮制品的化学成分差异性

冯志毅[1]，王　琳[1]，孙淑仃[1,2]，李荣荣[1,2]，郑历史[1,2]，冯素香[1,2*]

1. 河南中医药大学，河南 郑州　450046
2. 河南省现代中药研发与应用工程研究中心，河南 郑州　450046

摘　要：目的　比较何首乌鲜品、生品、制品化学成分的差异性，揭示何首乌炮制过程中成分变化规律。**方法**　采用 UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid-MS/MS 技术对鲜何首乌及其炮制品的成分进行表征，根据峰面积计算炮制前后的变化指数（CI），评价成分含量的整体变化趋势。采用主成分分析（principal component analysis，PCA）、偏最小二乘判别分析（partial least squares discriminant analysis，PLS-DA）和正交偏最小二乘法判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA），以变量重要性投影（variable importance in projection，VIP）值＞1、P＜0.05、差异倍数（fold change，FC）＞2 或 FC＜0.5，筛选鲜何首乌、生何首乌和制何首乌炮制前后的差异标志物。利用解吸电喷雾电离质谱成像（desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging，DESI-MSI）技术可视化分析差异标志物的空间分布特征及变化趋势。**结果**　从鲜何首乌、生何首乌、制何首乌中共鉴定出 74 个化学成分，18 个差异成分，主要为蒽醌类、二苯乙烯苷类和黄酮类成分。DESI-MSI 结果发现，差异性标志物在何首乌各组织中呈现特征性分布，主要富集在“云锦花纹”的维管束，如大黄素、儿茶素和决明酮-8-*O*-葡萄糖苷等。**结论**　蒽醌类、二苯乙烯苷类、黄酮类等化合物是鲜何首乌、生何首乌、制何首乌的主要成分和差异性成分，主要分布在维管束及皮层中，在炮制过程中含量多表现为下降趋势。系统阐明了何首乌炮制过程中化学成分的变化规律，为何首乌炮制的科学内涵和质量控制提供了数据支撑。

关键词：何首乌；炮制；UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid-MS/MS；解吸电喷雾电离质谱成像；差异成分；大黄素；儿茶素；决明酮-8-*O*-葡萄糖苷

中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2026)21 - 8417 - 15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.21.004

Exploring chemical composition differences of different processed products of *Polygoni Multiflori Radix* based on UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid-MS combined with DESI-MSI

FENG Zhiyi[1], WANG Lin[1], SUN Shuding[1,2], LI Rongrong[1,2], ZHENG Lishi[1,2], FENG Suxiang[1,2]

1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China
2. Henan Engineering Research Center of Modern Chinese Medicine Research, Development and Application, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Objective　To compare the differences in chemical components between fresh, raw, and processed *Polygoni Multiflori Radix* (Heshouwu), and reveal the regularity of component changes during the processing of *Polygoni Multiflori Radix* . **Methods** UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid-MS/MS technology was used to characterize the components of fresh *Polygoni Multiflori Radix* and its processed products. The change index (CI) before and after processing was calculated based on the peak area to evaluate the overall change trend of component content. Principal component analysis (PCA), partial least squares discriminant analysis (PLS-DA), and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were employed to screen differential markers before and after processing of fresh, raw, and processed *Polygoni Multiflori Radix* based on variables importance in projection (VIP) values >1, P < 0.05, fold change (FC) >2, or FC < 0.5. Desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging (DESI-MSI) technology was used to visually analyze the spatial distribution characteristics and change trends of differential markers. **Results**　A total of 74

收稿日期：2026-01-24

基金项目：河南省中医药科研专项课题（2024ZY1033）

作者简介：冯志毅，男，博士，副教授，研究方向为临床中药学。E-mail: fengzy8@163.com

***通信作者：**冯素香，女，博士，教授，从事中药质量分析与中药新药研究。E-mail: fengsx221@163.com

chemical components were identified from fresh, raw, and processed *Polygoni Multiflori Radix*. Among them, 18 differential components were found, mainly including anthraquinones, stilbene glycosides, and flavonoids. DESI-MSI results revealed that differential markers exhibited characteristic distribution in various tissues of *Polygoni Multiflori Radix*, mainly enriched in the vascular bundles of the "cloud-patterned" region, such as emodin, catechin, and chrysin-8-glucoside. **Conclusion** Anthraquinones, stilbene glycosides, flavonoids, and other compounds are the main and differential components of fresh, raw and processed *Polygoni Multiflori Radix*, mainly distributed in the vascular bundles and cortex. Their content tends to decrease during the processing. This study systematically elucidates the changing patterns of chemical components during the processing of *Polygoni Multiflori Radix*, providing data support for the scientific connotation and quality control of *Polygoni Multiflori Radix* processing.

Key words: *Polygoni Multiflori Radix*; processing; UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid-MS; DESI-MSI; differential ingredients; emodin; catechin; chrysin-8-*O*-glucoside

何首乌 *Polygoni Multiflori Radix* 为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb.的干燥块根，含有二苯乙烯苷、蒽醌、黄酮等多类成分，是补益类中药的典型代表。鲜何首乌性寒，主要用于清热解毒、润肠通便；生何首乌保留泻下通便之功，兼能解毒截疟；而经黑豆汁蒸制后所得的制何首乌药性转温，具补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨、化浊降脂之功效[1-2]。现代研究表明，何首乌功效改变的物质基础源于炮制过程中化学成分的变化，从而影响其药理活性和毒性特征，主要表现为炮制后抗衰、调血脂、抗炎等作用增强，肝损伤明显减轻[3-5]。但目前关于何首乌不同炮制品的化学成分差异性研究，主要聚焦于生品与炮制品的比较[6]，并没有对鲜何首乌、生何首乌和制何首乌三者之间的差异性的动态变化进行研究。

本研究拟采用超高效液相色谱-四极杆-静电场轨道阱-线性离子阱质谱（UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid-MS）技术，结合多元统计分析方法，对鲜何首乌、生何首乌、制何首乌的化学成分进行定性鉴别，分析蒽醌类、黄酮类、二苯乙烯苷类等主要化学成分的裂解规律，全面解析鲜何首乌炮制为生何首乌，生何首乌进一步炮制为制何首乌的化学成分变化，探讨其物质基础的差异性。同时运用解吸电喷雾电离质谱成像（desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging，DESI-MSI）技术可视化呈现炮制后含量显著变化化学成分的空间分布特征及含量变化趋势，为阐明何首乌炮制的科学内涵及药效物质基础提供科学依据。探究鲜何首乌在炮制过程中，各类成分的动态变化及空间分布规律。

1 仪器与材料

Vanquish 型超高效液相色谱仪，Orbitrap Fusion Lumos Tribrid 型质谱联用仪，CryoStar NX50 型冷冻切片机，Multifuge XIR 型离心机（美国 Thermo Fisher Scientific 公司），DESI XS 型质谱成像系统（Waters 公司），SYNAPT XS 型高分辨率质谱仪（Waters 公司），MS105DU 型十万分之一分析天平，ME204E 型万分之一分析天平（瑞士 METTLER TOLEDO 公司），KQ5200DE 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司），DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱（上海精宏实验设备有限公司），FDU-1200 型冷冻干燥机（上海爱朗仪器有限公司），UPR-II-20L 型优普系列超纯水机（四川优普超纯科技有限公司）。

没食子酸（批号 110831-201605，质量分数 90.8%）、大黄素（批号 110756-201512，质量分数 98.7%）、大黄酚（批号 110796-201621，质量分数 99.2%）购自中国食品药品检定研究院，山柰酚（批号 MUST-23092219，质量分数 99.38%）、芦丁（批号 MUST-22022507，质量分数 99.51%）、槲皮素（批号 MUST-23112010，质量分数 99.34%）、金丝桃苷（MUST-16102605，质量分数 99.61%）购自成都曼斯特生物科技有限公司。甲醇、乙腈和甲酸均为质谱纯（美国 Thermo Fisher Scientific 公司），水为超纯水。

何首乌于 11 月份采自贵州黔西南地区兴义市，经河南中医药大学药学院陈随清教授鉴定为蓼科植物何首乌 *P. multiflorum* Thunb.的块根。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 何首乌样品的制备 分别取采集的 6 批何首乌，除去杂质，削去两端，洗净，即得鲜何首乌；取鲜何首乌，切 8～12 mm 的方块，60 ℃干燥，即得生何首乌；取鲜何首乌，切 8～12 mm 的方块，黑豆汁拌匀后蒸 8 h 至内外均呈棕褐色，切 2～4 mm 厚片，60 ℃干燥，即得制何首乌[7]，黑豆汁的

制法及何首乌的不同炮制法参考《中国药典》2025 年版。

2.1.2 供试品溶液的制备 分别取 6 批何首乌鲜品、生品、制品，粉碎，过四号筛，精密称定 0.5 g，置 50 mL 具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 25 mL，称定重量，密塞，超声处理（功率 500 W、频率 40 kHz）30 min，取出，放冷，再称定质量，用甲醇补足减失的质量，摇匀，滤过，得续滤液。精密量取续滤液 200 μL 于 1 mL 量瓶，加甲醇稀释定容至刻度，摇匀，取出，14 000 r/min 离心 15 min，取上清液，即得供试品溶液。

2.1.3 对照品溶液的制备 分别取山柰酚、芦丁、槲皮素、金丝桃苷、没食子酸、大黄素、大黄酚对照品适量，精密称定，加甲醇溶解，临用时取各对照品母液适量，制备质量浓度为 200 ng/mL 的混合对照品溶液。

2.1.4 切片的制备 取鲜何首乌，生何首乌和制何首乌（湿润），使用冰冻切片机−20 ℃下进行切片，厚度为 35 μm，将植物组织切片转移置带正电的载玻片上，真空冷冻干燥，即得。

2.2 检测条件

2.2.1 色谱条件 Hypersil GOLD^{TM}C$_{18}$ 色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.9 μm），以 0.1%甲酸水溶液（A）-乙腈（B）为流动相，梯度洗脱：0～1 min，95% A；1～17 min，95%～30% A；17～24 min，30%～20% A；24～28 min，20%～5% A；28～30 min，5% A；柱温 35 ℃，体积流量 0.3 mL/min，进样量 2 μL。

2.2.2 质谱条件 电喷雾电离源（ESI），正、负离子模式下采集数据。离子源温度 350 ℃，离子传输管温度 300 ℃，载气氮气，鞘气体积流量 35 arb，辅助气体积流量 12 arb，碰撞能量分别为 20、40、60 V，喷雾电压＋3.5 kV、−3.00 kV，扫描方式为一级质谱全扫描和数据依赖的二级质谱全扫描（Full MS/dd-MS^2）模式，一级分辨率 120 000，二级分辨率 60 000，扫描范围 *m*/*z* 100～1 000。

2.2.3 质谱成像条件 采用 Masslynx V4.1 软件进行数据采集，HDI v1.8 软件进行方法建立和成像数据处理，正、负离子模式扫描，扫描范围 *m*/*z* 100～1 000，电喷雾溶剂为 98%甲醇-0.1%甲酸水-200 pg/μL 的亮氨酸脑啡肽，体积流量 5 μL/min，喷雾电压 1.0 kV，离子源温度 150 ℃，传输管温度 250 ℃，喷雾器入射角 60°，收集角 10°，喷雾器喷嘴到表面的距离 2 mm，喷雾器喷嘴到离子入口管孔的距离 5 mm，离子传输管临近表面但不摩擦，扫描方式采用灵敏度模式，像素尺寸为 200 μm×200 μm。

3 结果

3.1 成分鉴定

通过 Xcalibur 软件采集数据，通过与对照品、数据库及文献等综合对比解析，在正、负离子模式下共鉴定出 74 个化合物，其中蒽醌类 23 个、黄酮类 24 个、二苯乙烯类 11 个、羧酸类 10 个、氨基酸类 2 个、糖类 3 个、吡啶类 1 个。正、负离子模式下总离子流图见图 1，化学成分鉴定信息见表 1。

3.2 化学成分鉴定解析及裂解途径研究

3.2.1 蒽醌类 本研究从鲜何首乌、生何首乌、制何首乌中共鉴定出 23 个蒽醌类化合物，蒽醌类化合物的特征裂解方式之一是逐级裂解脱去 CO 和 CO_2 等中性分子，故此裂解规律作为本研究鉴定蒽

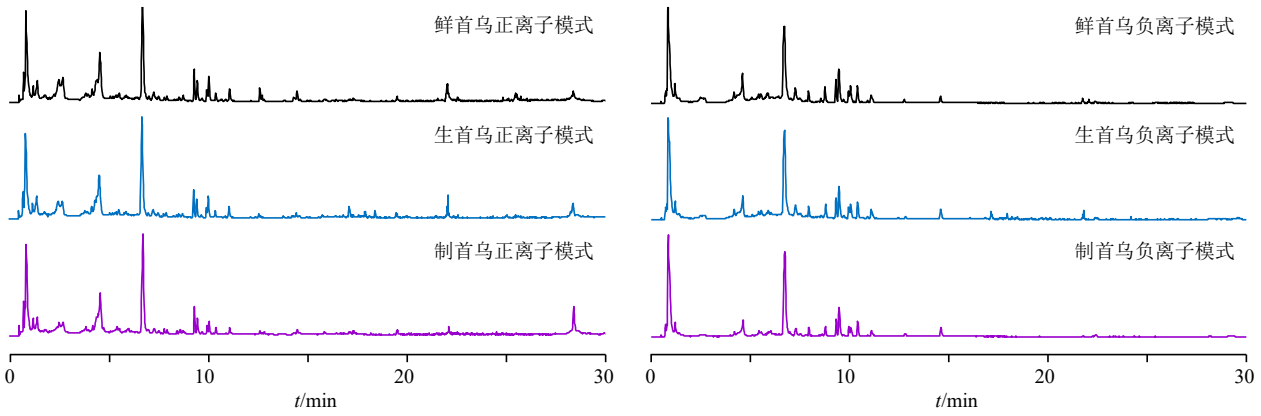


图 1 鲜何首乌及其不同炮制品在正、负离子模式下的总离子流图

Fig. 1 Total ion current diagrams of fresh *Polygoni Multiflori Radix* and its different processed products in positive and negative ion modes

表 1 鲜何首乌及其不同炮制品化学成分鉴定

Table 1 Identification results of chemical constituents of fresh *Polygoni Multiflori Radix* and its different processed products

编号	t_R/min	分子式	离子模式	理论值 (*m*/*z*)	测量值 (*m*/*z*)	误差 ($\times10^{-6}$)	二级碎片 (*m*/*z*)	化学成分	分类	鲜何首乌	生何首乌	制何首乌
1	0.84	$C_{12}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	341.108 93	341.108 46	1.38	341.108 46, 179.056 17, 71.013 86, 59.013 86	蔗糖#[8]	糖类	+	+	+
2	0.86	$C_{12}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	341.108 93	341.108 49	1.29	341.108 49, 119.035 04, 59.013 86	α,α-海藻糖#	糖类	+	+	+
3	1.09	$C_6H_8O_7$	$[M-H]^-$	191.019 72	191.019 33	2.04	191.019 33, 111.008 71, 87.008 67	柠檬酸#[8]	羧酸	+	+	+
4	2.63	$C_{15}H_{14}O_7$	$[M-H]^-$	305.066 67	305.066 59	0.26	305.066 59, 261.076 93, 219.066 12, 125.024 48	没食子儿茶素[8]	黄酮	+	+	+
5	10.42	$C_{22}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	445.114 02	445.112 00	4.54	445.112 00, 283.061 34, 269.046 63, 241.046 14	大黄素甲醚-1-*O*-β-*D*-葡萄糖苷[8]	蒽醌	+	+	+
6	10.48	$C_{21}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	431.098 37	431.098 60	−0.53	431.098 60, 269.045 56, 241.050 16, 225.055 69	大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷[8]	蒽醌	+	+	+
7	12.79	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$	269.045 54	269.045 53	0.04	269.045 66, 241.050 78, 225.055 68, 197.060 62	芦荟大黄素[8]	蒽醌	+	+	+
8	9.37	$C_{23}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	473.108 93	473.108 61	0.68	473.108 61, 283.060 91, 269.045 62, 241.049 30	大黄素-8-*O*-(6′-*O*-乙酰基)葡萄糖苷[8]	蒽醌	+	+	+
9	0.88	$C_5H_9NO_2$	$[M+H]^+$	116.070 60	116.070 59	0.09	116.070 59, 70.065 19	脯氨酸[9]	氨基酸	+	+	+
10	0.90	$C_6H_{14}N_4O_2$	$[M+H]^+$	175.118 95	175.118 91	0.23	175.118 91, 158.092 74, 72.081 14	精氨酸[9]	氨基酸	+	+	+
11	0.91	$C_7H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	191.056 11	191.056 87	−3.98	191.056 87, 111.008 84, 87.008 76	奎尼酸#	羧酸	+	+	+
12	1.01	$C_6H_{13}O_9P$	$[M-H]^-$	259.022 44	259.022 31	0.50	259.022 31, 223.000 43, 168.990 80, 96.969 56	α-*D*-甘露糖-1-磷酸#	糖类	+	+	+
13	1.21	$C_6H_8O_7$	$[M-H]^-$	191.019 72	191.019 74	−0.10	191.019 74, 111.008 75, 87.008 71	异柠檬酸#	羧酸	+	+	+
14	1.21	$C_6H_6N_2O$	$[M+H]^+$	123.055 29	123.055 28	0.08	123.055 28, 106.028 62, 96.044 46, 78.033 82	烟酰胺#	吡啶	+	+	+
15	1.22	$C_6H_6O_6$	$[M-H]^-$	173.009 16	173.009 02	0.81	173.009 02, 111.008 71, 85.029 69	顺乌头酸#	羧酸	+	+	+
16	1.23	$C_4H_4O_5$	$[M-H]^-$	130.998 60	130.998 57	0.23	130.998 57, 87.008 62	草乙酸#	羧酸	+	+	+
17	1.23	$C_5H_4O_3$	$[M-H]^-$	111.008 77	111.008 80	−0.27	111.008 8, 67.019	糠酸#	羧酸	+	+	+
18	1.23	$C_5H_6O_4$	$[M-H]^-$	129.019 33	129.019 35	−0.16	129.019 35, 111.008 60, 85.029 42, 67.018 97	衣康酸#	羧酸	+	+	+
19	1.35	$C_4H_6O_4$	$[M-H]^-$	117.019 33	117.019 37	−0.34	117.019 37, 99.008 73, 73.029 48	琥珀酸#	羧酸	+	+	+
20	4.24	$C_{15}H_{14}O_7$	$[M-H]^-$	305.066 67	305.066 16	1.67	305.066 16, 219.065 90, 167.035 45, 125.024 25	gallocatechol#	黄酮	+	+	+
21	4.62	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	273.075 75	273.075 78	−0.11	273.075 78, 255.065 80, 227.070 05	pinobaksin#	黄酮	+	+	+
22	4.62	$C_{15}H_{14}O_6$	$[M-H]^-$	289.071 76	289.071 59	0.59	289.071 59, 245.081 82, 203.071 37, 123.045 22	儿茶素[10]	黄酮	+	+	+
23	5.44	$C_{15}H_{14}O_6$	$[M-H]^-$	289.071 76	289.071 84	−0.28	289.071 84, 245.081 94, 203.071 37, 151.039 96, 125.024 44, 109.029 49	表儿茶素[10]	黄酮	+	+	+

表1（续）

编号	t_R/min	分子式	离子模式	理论值 (*m*/*z*)	测量值 (*m*/*z*)	误差 ($\times10^{-6}$)	二级碎片 (*m*/*z*)	化学成分	分类	鲜何首乌	生何首乌	制何首乌
24	7.48	$C_{27}H_{26}O_{12}$	$[M-H]^-$	541.135 14	541.134 70	0.81	541.134 70, 313.056 46, 227.071 38, 169.014 21	白藜芦醇-4′-*O*-(6″-*O*-没食子酰)-葡萄糖苷[10]	二苯乙烯	+	+	+
25	7.56	$C_{22}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	445.114 02	445.113 95	0.16	445.113 95, 297.075 10, 269.044 77, 241.046 57	大黄素甲醚-8-*O*-葡萄糖苷[10]	蒽醌	+	+	+
26	10.41	$C_{16}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	283.061 19	283.061 10	0.32	283.061 10, 254.057 31, 241.046 25, 212.047 65	大黄素甲醚[10]	蒽醌	+	+	+
27	5.89	$C_{16}H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	299.056 11	299.056 03	0.27	299.056 03, 255.066 27, 241.046 46, 213.051 06	迷人醇#	蒽醌	+	+	+
28	6.17	$C_{16}H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	299.056 11	299.056 98	−2.91	299.056 98, 255.066 24, 241.048 29	ω-羟基大黄素-8-甲醚[11]	蒽醌	+	+	+
29	6.67	$C_{20}H_{22}O_9$	$[M-H]^-$	405.119 11	405.118 74	0.91	405.118 74, 243.066 28, 225.055 72, 173.060 80	2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷[11]	二苯乙烯	+	+	+
30	9.50	$C_{21}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	431.098 37	431.098 45	−0.19	431.098 45, 293.046 33, 269.045 65, 225.055 85, 186.431 2	牡荆素[11]	黄酮	+	+	+
31	10.23	$C_{17}H_{14}O_7$	$[M-H]^-$	329.066 67	329.066 80	−0.40	329.066 80, 299.019 78, 227.035 60, 161.024 63, 110.182 83	苜蓿素[11]	黄酮	+	+	+
32	6.76	$C_{26}H_{32}O_{14}$	$[M+H]^+$	569.186 48	569.186 28	0.35	569.186 48, 245.081 48	2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2,3-*O*-β-*D*-二葡萄糖苷[11]	二苯乙烯	+	+	+
33	6.34	$C_{21}H_{20}O_{11}$	$[M-H]^-$	447.093 28	447.093 29	−0.02	447.093 29, 285.040 46, 243.066 28, 73.060 80	紫云英苷[12]	黄酮	+	+	+
34	6.48	$C_{44}H_{34}O_{20}$	$[M-H]^-$	881.157 06	881.156 31	0.85	881.156 31, 729.146 42, 559.124 27, 407.076 81, 269.045 41, 125.024 44	原花青素 B2-3,3′-2-*O*-没食子酸酯#	黄酮	+	+	+
35	6.49	$C_{27}H_{30}O_{16}$	$[M-H]^-$	609.146 11	609.145 45	1.08	609.145 45, 284.032 64, 255.087 41, 227.056 11	芦丁*[12]	黄酮	+	+	+
36	6.62	$C_{20}H_{22}O_8$	$[M-H]^-$	389.124 19	389.123 40	2.03	389.123 40, 260.571 66, 227.071 37, 185.060 81	虎杖苷#	二苯乙烯	+	+	+
37	6.63	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	273.075 75	273.075 74	0.04	273.075 75, 255.065 19, 163.038 97, 147.044 06	pseudosindorin#	黄酮	+	+	+
38	6.72	$C_{14}H_{12}O_4$	$[M-H]^-$	243.066 28	243.066 24	0.16	243.066 24, 225.056 05, 215.070 37	白皮杉醇[13]	二苯乙烯	+	+	+
39	9.76	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M-H]^-$	285.040 46	285.040 56	−0.35	285.040 56, 241.050 75, 197.060 87	羟基大黄素[13]	蒽醌	+	+	+
40	9.47	$C_{21}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	431.098 37	431.098 24	0.30	431.098 24, 269.045 50, 241.050 06, 225.055 76	大黄素-1-*O*-葡萄糖苷[13]	蒽醌	+	+	+
41	7.30	$C_7H_6O_5$	$[M+H]^+$	171.028 80	171.029 12	−1.87	171.029 12, 125.023 23, 81.033 45	没食子酸*[14]	羧酸	+	+	+
42	8.01	$C_{21}H_{24}O_9$	$[M+H]^+$	419.134 75	419.133 00	4.18	419.133 00, 257.080 72, 239.070 37	土大黄苷[14]	二苯乙烯	+	+	+
43	12.47	$C_{15}H_8O_6$	$[M-H]^-$	283.024 81	283.021 04	2.72	283.021 04, 254.988 97, 241.046 11	大黄酸[14]	蒽醌	+	+	+
44	7.24	$C_{14}H_{12}O_3$	$[M-H]^-$	227.071 36	227.071 44	−0.35	227.071 44, 185.061 07, 157.065 22, 143.050 40	反式-白藜芦醇[15]	二苯乙烯	+	+	+

表1（续）

编号	t_R/min	分子式	离子模式	理论值 (*m*/*z*)	测量值 (*m*/*z*)	误差 ($\times10^{-6}$)	二级碎片 (*m*/*z*)	化学成分	分类	鲜何首乌	生何首乌	制何首乌
45	14.61	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$	269.045 54	269.045 53	0.04	269.045 53, 241.050 81, 225.055 77, 213.055 08, 210.031 65, 197.060 56, 181.065 70, 153.071 27	大黄素*[8,15]	蒽醌	+	+	+
46	6.65	$C_{21}H_{20}O_{12}$	$[M-H]^-$	463.088 20	463.088 11	0.19	463.088 32, 300.027 65, 271.024 96, 151.003 72	金丝桃苷*[16,17]	黄酮	+	+	+
47	6.67	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	273.075 75	273.076 08	−1.21	273.076 08, 225.066 31, 153.018 52	柚皮素#	黄酮	+	+	+
48	6.68	$C_{22}H_{18}O_{10}$	$[M+H]^+$	443.097 27	443.097 26	0.02	443.097 26, 291.086 31, 153.018 24, 139.038 97, 123.044 06, 95.049 14	表阿福豆素-3-*O*-没食子酸酯#	黄酮	+	+	+
49	6.82	$C_{15}H_{10}O_7$	$[M-H]^-$	301.035 38	301.035 37	0.03	301.035 37, 257.045 55, 213.055 72, 185.060 80	槲皮素*	黄酮	+	+	+
50	6.96	$C_{21}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	431.098 37	431.099 21	−1.95	431.099 21, 269.046 13, 241.048 62, 225.055 75	芦荟大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷#	蒽醌	+	+	+
51	7.09	$C_{21}H_{22}O_{10}$	$[M-H]^-$	433.114 02	433.114 72	−1.62	433.114 72, 271.061 16, 253.050 43	柚皮素-*O*-葡萄糖苷#	黄酮	+	+	+
52	7.24	$C_{27}H_{26}O_{12}$	$[M-H]^-$	541.135 14	541.135 07	0.13	541.135 07, 313.056 67, 227.071 44, 169.014 28	3,5,4″-三羟基二苯乙烯-4″-*O*-β-*D*-(6″-*O*-没食子酸酯)-吡喃葡萄糖苷#	二苯乙烯	+	+	+
53	6.69	$C_{14}H_{12}O_3$	$[M-H]^-$	227.071 36	227.071 38	−0.09	227.071 38, 185.061 28, 157.065 56, 143.050 49	白藜芦醇[15,18]	二苯乙烯	+	+	+
54	7.58	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M-H]^-$	284.040 46	284.040 56	−0.35	284.040 56, 241.050 58, 226.027 07	2-羟基大黄素#	蒽醌	+	+	+
55	7.75	$C_{28}H_{28}O_{13}$	$[M-H]^-$	571.145 71	571.145 26	0.79	571.145 26, 327.072 63, 243.066 15, 183.029 85	rhaponticin-2″-*O*-gallate#	二苯乙烯	+	+	+
56	7.94	$C_{16}H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	299.056 11	299.056 09	0.07	299.056 09, 255.066 48, 213.055 73, 211.076 35	2-羟基-大黄素-1-甲醚#	蒽醌	+	+	+
57	7.95	$C_{21}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	431.098 37	431.097 99	0.88	431.097 99, 269.045 38, 241.047 55, 225.055 62	芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-葡萄糖苷#	蒽醌	+	+	+
58	8.01	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$	285.040 46	285.040 31	0.53	285.040 31, 241.050 78, 235.191 70	protoapigenone#	黄酮	+	+	+
59	8.57	$C_{15}H_{14}O_3$	$[M+H]^+$	243.101 50	243.101 30	0.82	243.101 30, 215.069 05, 183.080 11, 149.059 48	去氧土大黄苷#	二苯乙烯	+	+	−
60	8.63	$C_{15}H_{10}O_4$	$[M-H]^-$	253.050 63	253.050 57	0.24	253.050 57, 224.047 58, 208.052 86, 197.060 39	大黄酚*	蒽醌	+	+	+
61	8.79	$C_{21}H_{20}O_{10}$	$[M-H]^-$	431.098 37	431.098 42	−0.12	431.098 42, 269.045 59, 241.050 14, 225.055 82	芦荟大黄素-1-*O*-β-*D*-葡萄糖苷#	蒽醌	+	+	+
62	8.81	$C_{15}H_{10}O_5$	$[M-H]^-$	269.045 54	269.045 72	−0.67	269.045 72, 241.050 40, 225.055 66	芹菜素#	黄酮	+	+	+
63	8.83	$C_{17}H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	311.056 11	311.057 43	−4.24	311.057 43, 283.062 04, 255.067 25, 241.048 98	乙酰芦荟大黄素#	蒽醌	+	+	+
64	8.85	$C_{23}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	473.108 93	473.107 94	2.09	473.107 94, 269.045 41, 241.047 62, 225.055 86	芦荟大黄素-8-*O*-(6′-*O*-乙酰基)葡萄糖苷#	蒽醌	+	+	+

表1（续）

编号	t_R/min	分子式	离子模式	理论值 (*m/z*)	测量值 (*m/z*)	误差 ($\times10^{-6}$)	二级碎片 (*m/z*)	化学成分	分类	鲜何首乌	生何首乌	制何首乌
65	9.04	$C_{17}H_{12}O_6$	$[M-H]^-$	311.056 11	311.056 43	−1.03	311.056 43, 283.061 83, 269.046 11, 241.051 01	2-乙酰基大黄素#	蒽醌	+	+	+
66	9.34	$C_{20}H_{24}O_9$	$[M-H]^-$	407.134 75	407.134 67	0.20	407.134 67, 245.081 82, 215.034 70, 205.499 33	决明酮-8-葡萄糖苷#	蒽醌	+	+	+
67	9.69	$C_{17}H_{14}O_5$	$[M-H]^-$	297.076 84	297.076 84	0.00	297.076 84, 279.067 11, 254.058 76, 211.038 76	异新巴法查耳酮#	黄酮	+	+	+
68	9.98	$C_{15}H_{12}O_5$	$[M+H]^+$	273.075 75	273.075 68	0.25	273.065 64, 255.050 77, 227.610 58, 155.368 41	naringenin chalcone#	黄酮	+	+	+
69	10.12	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M-H]^-$	285.040 46	285.040 56	−0.35	285.040 56, 241.050 75, 197.060 87	木犀草素#	黄酮	+	+	+
70	10.50	$C_{15}H_{10}O_6$	$[M-H]^-$	285.040 46	285.039 43	3.61	285.039 43, 269.039 89, 257.045 84, 241.046 74	山柰酚*	黄酮	+	+	+
71	10.69	$C_{23}H_{22}O_{11}$	$[M-H]^-$	473.108 93	473.108 46	0.99	473.108 46, 269.045 44, 241.049 88, 225.055 71	6″-*O*-acetylgenistin#	黄酮	+	+	+
72	11.11	$C_{16}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	283.061 19	283.061 10	0.32	283.061 31, 254.057 60, 241.046 25	大黄素-8-甲醚#	蒽醌	+	+	+
73	12.26	$C_{16}H_{12}O_5$	$[M-H]^-$	283.061 19	283.061 22	−0.11	283.061 22, 268.037 11, 241.046 63, 212.047 65	黄豆黄素#	黄酮	−	−	+
74	17.34	$C_{14}H_{28}O_3$	$[M-H]^-$	243.196 57	243.196 56	0.04	243.196 56, 59.013 85	3-羟基肉豆蔻酸#	羧酸	+	+	+

+检测到该化学成分；–未检测到该化学成分；*与对照品比对；#与数据库比对。

+ the chemical composition was detected; − the chemical composition was not detected; *compared with reference standards; # compared with the database.

醌类化合物及分析其裂解途径的关键[8,15]。

以化合物 **45** 大黄素为例对蒽醌类化合物裂解途径进行阐述。在负离子模式下其准分子离子峰为 *m/z* 269.045 53 $[M-H]^-$，保留时间为 14.61 min，推测其分子式为 $C_{15}H_{10}O_5$，二级质谱图中显示 *m/z* 269.045 53、241.050 81、225.055 77、213.055 08、210.031 65、197.060 56、181.065 70、153.071 27 的碎片离子峰。通过所得的离子碎片信息，推测该化合物有 2 种可能的裂解途径。裂解途径 1：准分子离子 *m/z* 269.045 53 $[M-H]^-$失去 1 分子 CO，形成碎片 *m/z* 241.050 81 $[M-H-CO]^-$，接着再次失去 1 分子 CO，形成碎片 *m/z* 213.055 08 $[M-H-CO-CO]^-$；或者碎片 *m/z* 241.050 81 $[M-H-CO]^-$损失 1 分子 CO_2，生成碎片 *m/z* 197.060 56 $[M-H-CO-CO_2]^-$，接着再损失 1 分子 CO_2，得到 *m/z* 153.071 27 $[M-H-CO-CO_2-CO_2]^-$的碎片离子峰。裂解途径 2：准分子离子 *m/z* 269.045 53 $[M-H]^-$失去 1 分子 CO_2，形成碎片 *m/z* 225.055 77 $[M-H-CO_2]^-$，继续脱去 1 分子 CH_3，获得离子碎片 *m/z* 210.031 65 $[M-H-CO_2-CH_3]^-$；或者碎片 *m/z* 225.055 77 $[M-H-CO_2]^-$丢失 1 分子 CO，形成碎片 *m/z* 197.060 56 $[M-H-CO_2-CO]^-$；或者碎片 *m/z* 225.055 77 $[M-H-CO_2]^-$失去 1 分子 CO_2，获得 *m/z* 181.065 70 $[M-H-CO_2-CO_2]^-$碎片离子，鉴定化合物 **45** 为大黄素。

3.2.2 黄酮类 从鲜何首乌、生何首乌、制何首乌中共鉴定出 24 个黄酮类化合物。黄酮类化合物的母核为 2-苯基色原酮，含有 C_6-C_3-C_6 单元，大部分以游离形式或与糖结合形成苷的形式存在；经高能碰撞，糖苷键容易断裂产生黄酮苷元和糖基碎片，黄酮苷元的 C 环易发生逆狄尔斯-阿尔德（RDA）裂解形成碎片[9]。失去中性碎片 H_2O、CO、CO_2 或糖基碎片是黄酮类化合物的主要裂解途径，这些特征碎片能反映该类化合物的结构信息。

以化合物 **46** 金丝桃苷为例对黄酮类化合物裂解途径进行阐述。金丝桃苷在负离子检测模式下准分子离子峰为 *m/z* 463.088 11 $[M-H]^-$，保留时间为 6.65 min，预测其分子式为 $C_{21}H_{20}O_{12}$，二级质谱图中显示 *m/z* 463.088 11、300.027 65、271.024 96、151.003 72 的碎片离子峰。通过所得的离子碎片信息，此化合物的裂解途径可能为：准分子离子 *m/z* 463.088 11 $[M-H]^-$失去糖基 $C_6H_{11}O_5$ 形成黄酮苷元碎片离子 *m/z* 300.027 65 $[M-H-C_6H_{11}O_5]^-$，继续

失去 1 分子 CO 和 1 分子 H 形成离子碎片 *m/z* 271.024 96 [M－2H－$C_6H_{11}O_5$－CO]$^-$，再经高能碰撞，发生逆 RDA 裂解，获得碎片离子 *m/z* 151.003 72[11]。根据以上碎片离子信息，以及与对照品质谱信息和文献裂解方式比对，鉴定化合物 **46** 为金丝桃苷[16-17]。

3.2.3 二苯乙烯类 从鲜何首乌、生何首乌、制何首乌中共鉴定出 11 个二苯乙烯类化合物。二苯乙烯类化合物主要以游离形式或与糖结合形成苷的形式存在；主要裂解途径是脱去糖基碎片，接着失去苯环上对位，即 4 位上的取代基，再依次脱去苯环间位，即 3、5 位上的取代基，最终苯环发生裂解[19]。故在 ESI-MS 谱图中裂解失去小分子中性分子和自由基可作为研究该类化合物裂解途径的关键方法。

以化合物 **53** 白藜芦醇为例，根据其离子碎片信息对二苯乙烯类化合物裂解途径进行分析。化合物 **53** 在负离子模式下准分子离子峰为 *m/z* 227.071 38 [M－H]$^-$，保留时间为 6.69 min，推测其组成为 $C_{14}H_{12}O_3$，二级质谱图中显示 *m/z* 227.071 38、185.061 28、157.065 56、143.050 49 的碎片离子峰。根据所得裂解碎片信息，该化合物的裂解途径可能为：准分子离子 *m/z* 227.071 38 [M－H]$^-$，失去 1 分子 $C_4H_4O_2$，获得碎片离子峰 *m/z* 143.050 49 [M－H－$C_4H_4O_2$]$^-$；准分子离子还可以断裂苯环上 2、3 位和 4、5 位之间的化学键而失去 1 分子 C_2H_2O，生成碎片离子 *m/z* 185.061 28 [M－H－C_2H_2O]$^-$，接着再失去 1 分子 C_2H_2O，生成碎片 *m/z* 143.050 49 [M－H－C_2H_2O－C_2H_2O]$^-$；或碎片离子 *m/z* 185.061 28 [M－H－C_2H_2O]$^-$损失 1 分子 CO，形成 *m/z* 157.065 56 [M－H－C_2H_2O－CO]$^-$的碎片离子。通过与质谱信息比对及文献查阅，鉴定化合物 **53** 为白藜芦醇[15,18]。

3.3 炮制后化学成分含量的变化趋势

在正、负离子模式下，何首乌及其炮制品的色谱峰保留时间、准分子离子峰及二级质谱碎片信息均呈现良好的一致性，基于各色谱峰面积的变化指数进行量化评估，可有效表征相应化学成分的含量变化规律。变化指数（change index，CI）＝炮制品离子峰的峰面积/鲜品对应保留时间离子峰的峰面积[20]。CI＞1 表示该化学成分在炮制后含量增加，CI＜1 表示该化学成分在炮制后含量降低，CI＝1 表示炮制前后该化学成分含量无变化。

结果发现，何首乌炮制前后同时具有成分含量和种类的变化。制何首乌新增 1 个黄酮类成分黄豆黄素，且缺失 1 个二苯乙烯类成分去氧土大黄苷，其余化学成分在炮制前后仅存在成分含量高低的变化。鲜何首乌经干燥为生首乌后，10 个化合物含量显著升高（CI＞1.50，P＜0.01），分别是蔗糖、α,α-海藻糖、脯氨酸、烟酰胺、rhaponticin-2″-*O*-gallate、木犀草素、苜蓿素、山柰酚、大黄酸、大黄素；21 个成分含量显著降低（CI＜0.67，P＜0.01），分别为奎尼酸、α-*D*-甘露糖-1-磷酸、异柠檬酸、柠檬酸、没食子儿茶素、儿茶素、表儿茶素、紫云英苷、2-羟基-大黄素-1-甲醚、芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、土大黄苷、去氧土大黄苷、大黄酚、芦荟大黄素-1-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、芹菜素、乙酰芦荟大黄素、芦荟大黄素-8-*O*-(6′-*O*-乙酰基)葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-(6′-*O*-乙酰基)葡萄糖苷、羟基大黄素、大黄素-8-甲醚、芦荟大黄素。经黑豆蒸制后，9 个化合物含量显著升高（CI＞1.50，P＜0.01），分别是蔗糖、烟酰胺、顺乌头酸、芦丁、芦荟大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、苜蓿素、6″-*O*-acetylgenistin、大黄素、3-羟基肉豆蔻酸；大黄酚、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素等 19 个蒽醌类，白藜芦醇、白藜芦醇 4′-*O*-(6″-*O*-没食子酰)-葡萄糖苷、土大黄苷等 6 个二苯乙烯类，没食子儿茶素、儿茶素、金丝桃苷、槲皮素等 17 个黄酮类、4 个羧酸类以及 α-*D*-甘露糖- 1-磷酸含量显著降低（CI＜0.67，P＜0.01）。综上发现鲜何首乌炮制后多数的蒽醌、二苯乙烯、黄酮类化合物峰面积呈现下降趋势，且以制何首乌的峰面积下降更为明显。鲜何首乌及其不同炮制品在正、负离子模式下离子峰面积的变化指数见表 2。

3.4 多元统计分析

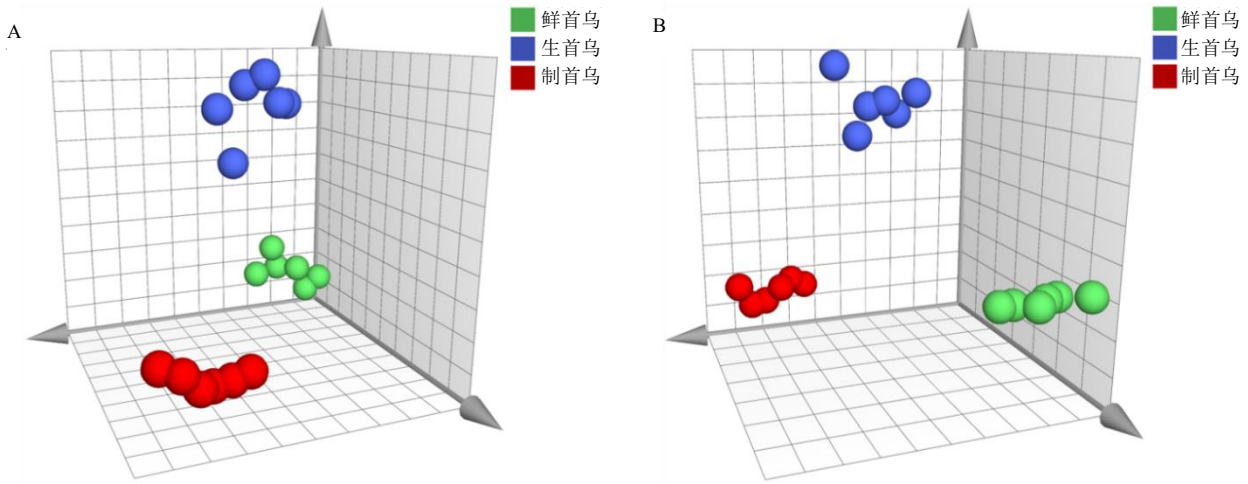
3.4.1 主成分分析（principal component analysis，PCA） 74 个化合物的峰面积采用 MetaboAnalyst 6.0 平台进行归一化处理，所得数据导入 SIMCA 14.1 软件进行 PCA 和偏最小二乘判别分析（partial least squares discriminant analysis，PLS-DA）（图 2）。PCA 模型中 R^2_X（累积解释能力参数）为 0.747，Q^2（预测能力参数）为 0.665；PLS-DA 模型中 R^2_X（累计解释能力参数）值为 0.935，Q^2（预测能力参数）值为 0.981，均高于 0.5，说明该模型稳定性和预测性良好，能较为全面地反映样品间的差异。组内不同样本点紧密聚在一起，离散较小，说明样品组内均一性较高。鲜何首乌、生何首乌、制何首乌样品各自聚在某个区域内，具有明显分离趋势，提示何首乌炮制前后其总体化学特征产生明显改变，化学成分含量存在差异。

表 2 鲜何首乌及其不同炮制品离子峰面积炮制前后变化指数

Table 2 Change indexes of ion peak area of fresh *Polygoni Multiflori Radix* and its different processed products

编号	化学成分	变化指数		编号	化学成分	变化指数	
		生/鲜	制/鲜			生/鲜	制/鲜
1	蔗糖	1.94	1.67	38	白皮杉醇	0.85	0.67
2	α,α-海藻糖	2.09	1.42	39	羟基大黄素	0.60	0.35
3	柠檬酸	0.62	0.39	40	大黄素-1-*O*-葡萄糖苷	0.70	0.45
4	没食子儿茶素	0.60	0.29	41	没食子酸	0.77	0.46
5	大黄素甲醚-1-*O*-β-*D*-葡萄糖苷	0.81	0.67	42	土大黄苷	0.64	0.37
6	大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷	0.67	0.37	43	大黄酸	3.07	1.40
7	芦荟大黄素	0.65	0.37	44	反式-白藜芦醇	1.05	0.74
8	大黄素-8-*O*-(6′-*O*-乙酰基)葡萄糖苷	0.62	0.45	45	大黄素	2.42	1.82
9	脯氨酸	1.66	0.79	46	金丝桃苷	0.79	0.48
10	精氨酸	0.81	1.02	47	柚皮素	0.82	0.52
11	奎尼酸	0.52	0.56	48	表阿福豆素-3-*O*-没食子酸酯	0.71	0.45
12	α-*D*-甘露糖-1-磷酸	0.18	0.34	49	槲皮素	0.75	0.44
13	异柠檬酸	0.63	0.38	50	芦荟大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖苷	1.08	18.48
14	烟酰胺	1.98	21.11	51	柚皮素-*O*-葡萄糖苷	0.88	0.46
15	顺乌头酸	1.44	1.79	52	3,5,4″-三羟基二苯乙烯-4″-*O*-β-*D*-(6″-*O*-没食子酸酯)-吡喃葡萄糖苷	0.83	0.38
16	草乙酸	1.48	0.78	53	白藜芦醇	0.87	0.35
17	糠酸	0.82	0.80	54	2-羟基大黄素	0.75	0.34
18	衣康酸	1.32	1.11	55	rhaponticin-2″-*O*-gallate	1.73	1.45
19	琥珀酸	1.23	1.25	56	2-羟基-大黄素-1-甲醚	0.65	0.21
20	gallocatechol	0.67	0.56	57	芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-葡萄糖苷	0.61	0.40
21	pinobaksin	0.75	0.57	58	protoapigenone	1.31	0.89
22	儿茶素	0.64	0.36	59	去氧土大黄苷	0.63	缺失成分
23	表儿茶素	0.57	0.38	60	大黄酚	0.66	0.36
24	白藜芦醇 4′-*O*-(6″-*O*-没食子酰)-葡萄糖苷	0.92	0.42	61	芦荟大黄素-1-*O*-β-*D*-葡萄糖苷	0.66	0.35
25	大黄素甲醚-8-*O*-葡萄糖苷	0.81	0.61	62	芹菜素	0.66	0.24
26	大黄素甲醚	0.77	0.57	63	乙酰芦荟大黄素	0.54	0.22
27	迷人醇	0.84	0.36	64	芦荟大黄素-8-*O*-(6′-*O*-乙酰基)葡萄糖苷	0.45	0.24
28	ω-羟基大黄素-8-甲醚	0.85	0.52	65	2-乙酰基大黄素	0.90	0.43
29	2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷	0.78	0.68	66	决明酮-8-葡萄糖苷	0.70	0.51
30	牡荆素	0.79	0.47	67	异新巴法查耳酮	0.89	0.66
31	苜蓿素	1.76	1.89	68	naringenin chalcone	0.78	0.46
32	2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2,3-*O*-β-*D*-二葡萄糖苷	0.85	0.67	69	木犀草素	1.71	1.20
33	紫云英苷	0.61	0.68	70	山柰酚	2.15	1.04
34	原花青素 B2-3,3′-2-*O*-没食子酸酯	0.74	0.27	71	6″-*O*-acetylgenistin	0.80	2.34
35	芦丁	0.87	5.69	72	大黄素-8-甲醚	0.66	0.50
36	虎杖苷	1.07	0.66	73	黄豆黄素	—	新增成分
37	pseudosindorin	0.86	0.45	74	3-羟基肉豆蔻酸	0.98	4.58

3.4.2 正交偏最小二乘法-判别分析（orthogonal partial least squares discriminant analysis，OPLS-DA）为进一步明确样品之间的差异，再对鲜何首乌、生何首乌、制何首乌进行两两组间 OPLS-DA。图 3-A、D、G 显示，鲜何首乌 *vs* 生何首乌模型的累积解释能力参数 R^2_X、R^2_Y 及预测能力参数 Q^2 的值分别为 0.917、0.997、0.994，鲜何首乌 *vs* 制何首乌模型的 R^2_X、R^2_Y、Q^2 分别为 0.953、0.998、0.996，



A-PCA 得分图；B-PLS-DA 得分图。

A-PCA score plot; B-PLS-DA score plot.

图 2　鲜何首乌及其不同炮制品的化学成分差异性分析

Fig. 2　Difference analysis of chemical compositions of fresh *Polygoni Multiflori Radix* and its different processed products

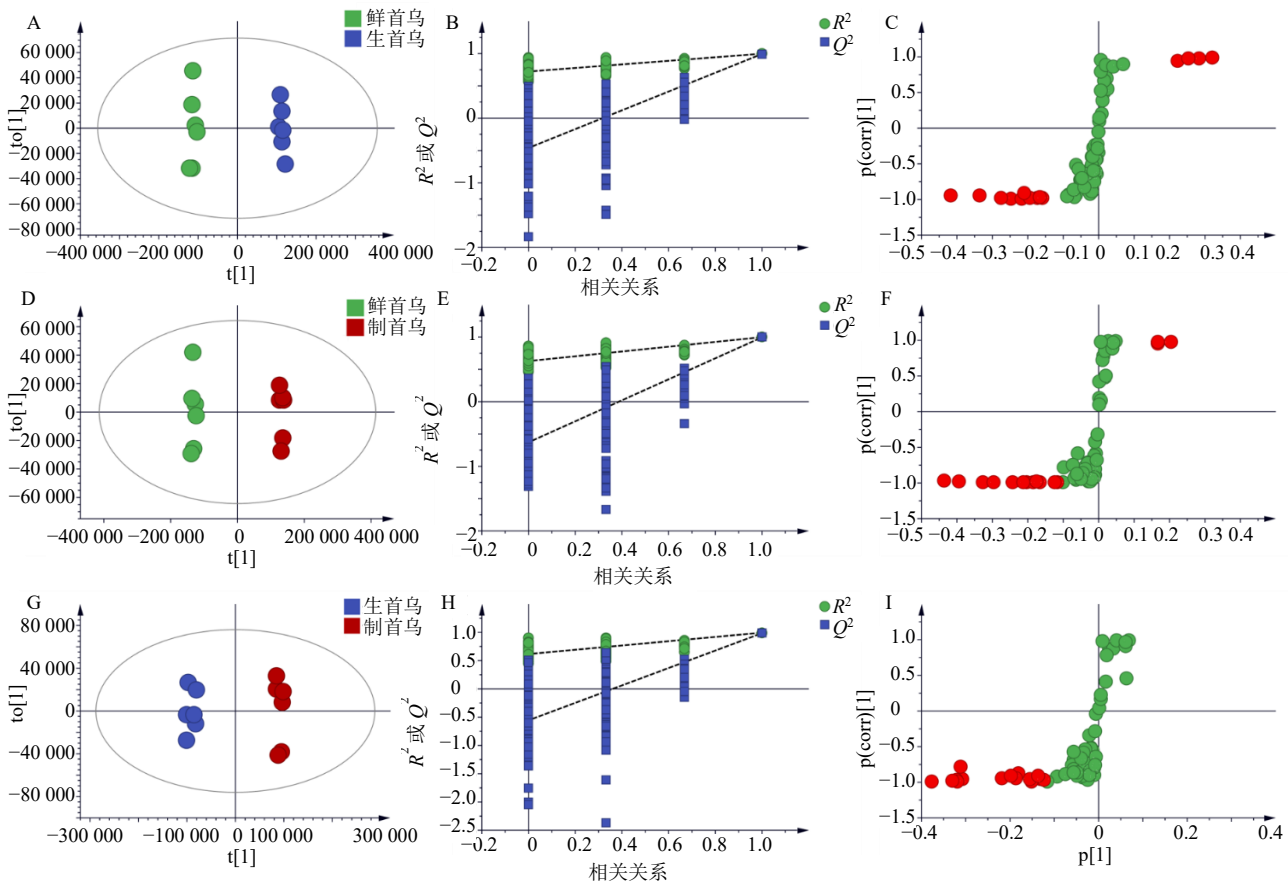


图 3　鲜何首乌 *vs* 生何首乌 (A～C)、鲜何首乌 *vs* 制何首乌 (D～F)、生何首乌 *vs* 制何首乌 (G～I) 的 OPLS-DA 图、200 次置换检验和 S-plot 图

Fig. 3　OPLS-DA plots, 200 permutation tests, and S-plots of fresh *Polygoni Multiflori Radix* and raw *Polygoni Multiflori Radix* (A—C), fresh *Polygoni Multiflori Radix* and processed *Polygoni Multiflori Radix* (D—F), raw *Polygoni Multiflori Radix* and processed *Polygoni Multiflori Radix* (G—I)

生何首乌 *vs* 制何首乌模型的 R^2_X、R^2_Y、Q^2 分别为 0.883、0.994、0.985，均大于 0.5，说明建立的模型稳定性和预测性均良好[21]。同时利用 *Y* 矩阵变量随机排列 200 次进行置换检验，置换检验图见图 3-B、E、H，斜率＞0，Q^2＜0，说明鲜何首乌 *vs* 生何首乌、鲜何首乌 *vs* 制何首乌、生何首乌 *vs* 制何首乌样品区分明显，该检验模型稳定有效，能准确描述数据，可预测能性良好，不存在过拟合现象[22]。各两组（鲜何首乌 *vs* 生何首乌、鲜何首乌 *vs* 制何首乌、生何首乌 *vs* 制何首乌）之间显著性分离，表明何首乌的不同炮制方法能明显改变其化学成分和相对含量。

3.4.3 差异标志物的筛选 在 OPLS-DA 的基础上进一步生成模型的 S-plot 图，用红色圆圈标注 VIP＞1、*P*＜0.05、FC＞2 或 FC＜0.5 的化学成分记为潜在差异性成分。鲜何首乌 *vs* 生何首乌、鲜何首乌 *vs* 制何首乌、生何首乌 *vs* 制何首乌模型分别得到 14、17、17 个潜在标志物（图 3-C、F、I）。鲜何首乌干燥后 4 个成分含量升高（蔗糖、α,α-海藻糖、脯氨酸、大黄素），10 个成分含量降低（奎尼酸、异柠檬酸、儿茶素、表儿茶素、2,3,5,4′-四羟基苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、决明酮-8-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、牡荆素、大黄素-8-甲醚）；鲜何首乌使用黑豆蒸制后 4 个成分含量升高（蔗糖、α,α-海藻糖、黄豆黄素、大黄素），13 个成分含量降低（奎尼酸、白皮杉醇、3,5,4″-三羟基二苯乙烯-4″-*O*-β-*D*-(6″-*O*-没食子酸酯)-吡喃葡萄糖苷、异柠檬酸、儿茶素、表儿茶素、2,3,5,4′-四羟基苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、去氧土大黄苷、决明酮-8-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、牡荆素、大黄素-8-甲醚）；与生何首乌比较，制何首乌中 4 个成分含量升高，除奎宁酸外，13 个成分包括脯氨酸含量降低，与鲜何首乌和制何首乌比较差异成分变化趋势基本一致。共计 18 个差异性成分，包括蔗糖、α,α-海藻糖、脯氨酸、奎尼酸、异柠檬酸、儿茶素、表儿茶素、2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷、白皮杉醇、3,5,4″-三羟基二苯乙烯-4″-*O*-β-*D*-(6″-*O*-没食子酸酯)-吡喃葡萄糖苷、芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、去氧土大黄苷、决明酮-8-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、牡荆素、大黄素-8-甲醚、黄豆黄素、大黄素。共有差异性成分 12 个，分别是蔗糖、α,α-海藻糖、异柠檬酸、儿茶素、表儿茶素、2,3,5,4′-四羟基苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、决明酮-8-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、牡荆素、大黄素-8-甲醚、大黄素。

3.5 差异标志物的聚类分析

将 18 个差异性成分的数据导入 Metware Cloud 平台进行聚类分析，聚类结果见图 4。热图分析显示，样品中化合物含量越高所显示的颜色越红，含量越低则越绿，直观呈现了同一成分在不同样品中的分布差异。聚类分析结果显示何首乌鲜品、生品和制品各自形成独立聚类，表明 3 类样品在化学成分上具有显著差异且可明确区分。这一分析证实炮制过程可明显改变其化学成分含量，且不同炮制方法的影响具有显著差异。生何首乌和制何首乌聚为一类，而鲜何首乌单独成类，提示生何首乌与制何首乌的化学特征及变化规律更为接近。在化合物聚类分析中，儿茶素、表儿茶素、2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷、白皮杉醇、决明酮-8-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-甲醚等 13 个化学成分聚为一类，这些成分在鲜何首乌干燥成生何首乌及生何首乌蒸制成制何首乌的过程中，表现为降低趋势；而蔗糖、α,α-海藻糖、脯氨酸、黄豆黄素、大黄素 5 个化学成分聚为另一类，可反映出这些化合物在炮制过程中的含量变化呈现相似趋势，其中生何首乌中的含量较高。

3.6 炮制后含量显著变化化学成分的质谱成像

图 5 为何首乌横切面结构示意图，皮部有维管束环列，云锦花纹特征明显。采用 HDI v1.8 软件观察炮制后含量显著变化化学成分在何首乌横切面上各组织的空间分布，DESI-MSI 结果显示以上成分在鲜、生、制何首乌的含量具有显著差异（图 6）。化学成分的丰度用不同颜色表示，丰度强度为黄色＞红色＞蓝色。其中决明酮-8-葡萄糖苷、白皮杉醇、2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷在木栓层、皮层、维管束富集；大黄素、大黄素-8-甲醚、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、牡荆素、去氧土大黄苷主要分布于韧皮部维管束；α,α-海藻糖、蔗糖在皮层和维管束的信号强度较高；异柠檬酸、儿茶素、表儿茶素主要存在于木栓层和维管束。大黄素-8-甲醚、决明酮-8-葡萄糖苷、白皮杉醇、2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷、去氧土大黄苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、芦荟大黄素-ω-*O*-β-*D*-葡萄糖苷、牡荆素、儿茶素、表儿茶素、异柠檬酸在鲜何首乌含量最高，炮制后含量均下降，且用黑豆汁蒸法炮制后含量最低；大黄素、α,α-海藻糖、

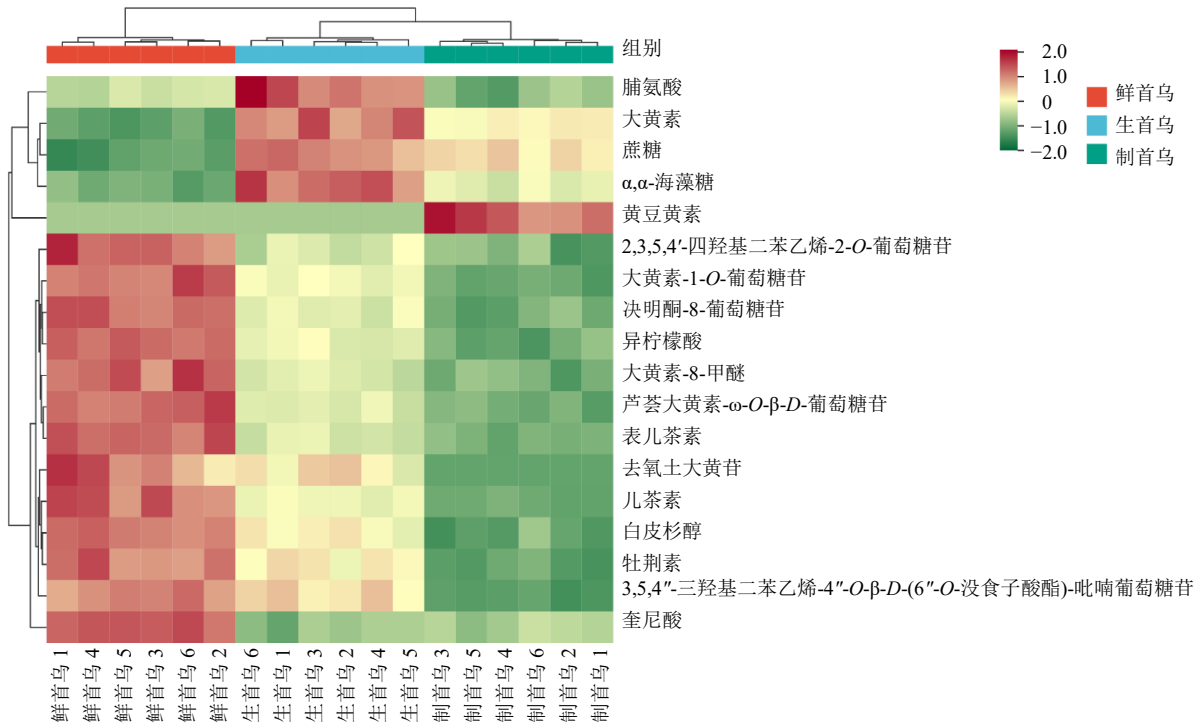


图 4　鲜何首乌炮制后含量显著变化化学成分的聚类热图

Fig. 4　Cluster heat map of chemical components with significant changes in content after processing of fresh *Polygoni Multiflori Radix*

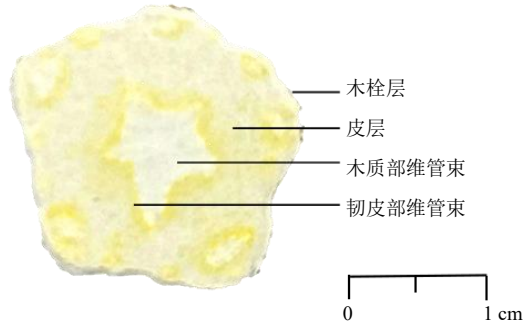


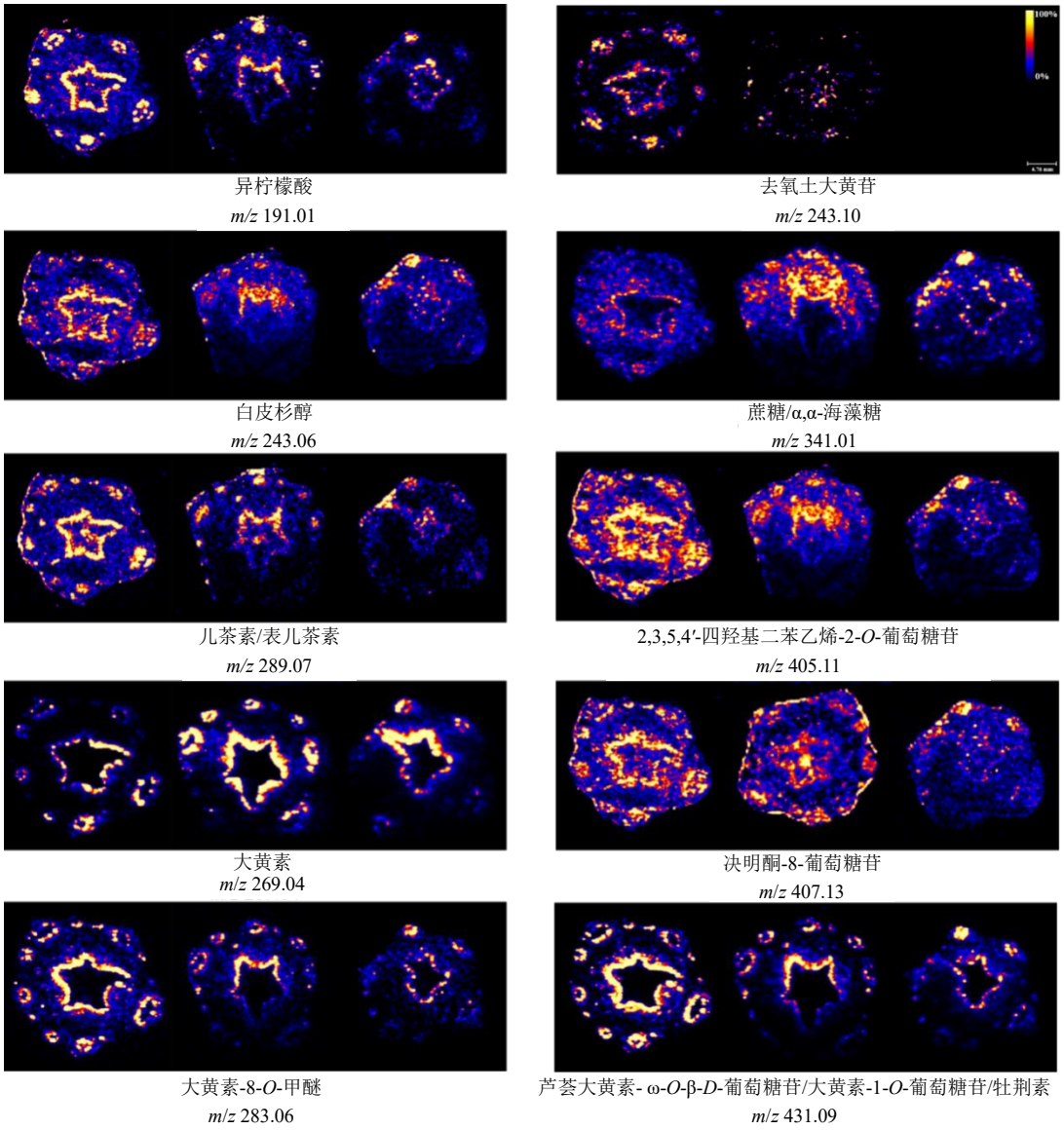
图 5　鲜何首乌横切面结构示意图

Fig. 5　Structure schematic diagram of transverse section of fresh *Polygoni Multiflori Radix*

蔗糖在生何首乌含量最高，在鲜何首乌含量最低，这与液质检测结果变化趋势基本一致。

4　讨论

本研究运用高分辨质谱技术对鲜何首乌、生何首乌、制何首乌的化学成分进行检测，分别在正、负离子模式下对鲜何首乌及其不同炮制品进行测定，共鉴定出 74 个化学成分，这些化合物具有抗炎、抗氧化、抗衰老、益智、调血脂、增强免疫等一系列生物活性[23-25]。同时，何首乌又是一味有毒中药，能够引起肝损伤及消化系统、神经系统、呼吸系统等不良反应[26]。其毒性与二苯乙烯苷类、蒽醌类等成分相关，而这两类化合物又是何首乌的主要成分，兼具药效和毒性；蒽醌和二苯乙烯苷类成分进入体内循环，在肠道和肝脏中经历 I 相和 II 相代谢转化，所产生的代谢产物也兼具药效和毒性[27-28]。中药炮制作为中国独有的传统制药工艺，对中药的药性和功效具有重要影响，炮制方法与中药的药效、毒性及化学成分之间存在密切的关联。《本草汇言》记载：“制非九次，勿寝其毒。非黑豆，勿杀其势”，提示可经过黑豆炮制降低何首乌的毒性。有研究者比较清蒸何首乌与黑豆汁蒸制何首乌的化学成分的差异，发现其蒽醌和二苯乙烯苷类成分无显著性差别[29]，由此表明黑豆并不会引起何首乌中的化学成分发生反应。此外，陈庆堂等[30]研究发现，炮制后二苯乙烯苷类和蒽醌类的含量整体呈现下降趋势。李玥等[31]发现生、制何首乌醇提物的 LD_{50} 分别为 287.87 g/kg 和 606.88 g/kg。李晓菲等[5]研究何首乌对大鼠肝脏的损伤与炮制的关系，发现生何首乌在临床等效剂量即可引起肝功能损害和组织病理学改变，而制何首乌表现出肝损伤的剂量是生何首乌的 4 倍，证明炮制对降低何首乌毒性影响显著。以上结果与本研究炮制后蒽醌类和二苯乙烯类成



从左往右依次为鲜何首乌、生何首乌、制何首乌。

From left to right: fresh *Polygoni Multiflori Radix*, raw *Polygoni Multiflori Radix*, processed *Polygoni Multiflori Radix*.

图 6 鲜何首乌炮制后含量显著变化化学成分的质谱成像图

Fig. 6 Mass spectrometry imaging of chemical components with significant changes in content after processing of fresh *Polygoni Multiflori Radix*

分含量降低结果一致，鲜何首乌经干燥、黑豆汁蒸制后，2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷、白皮杉醇、决明酮-8-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、大黄素-8-*O*-甲醚等成分含量降低，呈现鲜品＞生品＞制品的递减趋势，且以制何首乌的降幅最为明显。

何首乌的主要成分包括蒽醌类、二苯乙烯苷类、黄酮类等成分，其中蒽醌类可能是何首乌的主要致肝毒性的物质成分[32]。鲜何首乌外用具有清热解毒、消肿疗疮、活血化瘀的作用，适合治疗疮疡、肿毒、皮肤溃疡等[33-34]。蒽醌类化合物具有润肠通便的药效，本研究发现鲜何首乌富含大量蒽醌类化合物，干燥后在生品含量整体降低，在炮制过程中这些成分发生生物转化或降解，是生何首乌润肠通便作用较鲜何首乌相对温和的潜在因素；使用黑豆汁蒸制后蒽醌类含量降低趋势相比于生品更加明显，可能是其肝毒性降低的潜在原因之一[35]。赵荣华等[36]研究发现生何首乌和制何首乌对肝中毒小

鼠均具有抗氧化作用，但制何首乌效果相对降低；此外，有研究者通过长期体内实验，探究何首乌中的化学成分在体内各组织的分布和蓄积以揭示何首乌肝毒性来源，结果发现何首乌的毒性作用与2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-β-*D*-葡萄糖苷(二苯乙烯苷类)和大黄素（蒽醌类）在肝脏中的累积[37]。由生首乌和制首乌化学成分差异结果比较，发现大黄素在生首乌中含量增加，进一步推测大黄素可能是生首乌肝毒性强的毒性成分。二苯乙烯苷类具有延缓衰老、抗氧化、抗炎、增强免疫力、调血脂、抗动脉粥样硬化等药理作用，黄酮类成分具有抗炎、抗氧化、心血管保护、保肝等药理作用，是何首乌中的主要活性成分。随着炮制，2 类化合物多有降低趋势，但制首乌中增加了来自黑豆汁的黄豆黄素，推测可能增强保肝作用。此外，炮制导致鲜何首乌中白皮杉醇、2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷、儿茶素、大黄素-8-甲醚等含量降低，基于其药理活性，推测炮制可能减弱何首乌的抗衰老、调血脂等功效，同时降低其肝毒性[38-39]。由此可见，筛选得到的 18 个差异性化合物包涵了何首乌中的主要有效成分和毒性成分。二苯乙烯苷类和蒽醌类的含量变化与其不耐湿、热等因素有关，可能是何首乌炮制时经过长时间的加热，其苷类成分的糖苷键发生断裂转变为游离苷元成分，从而呈现整体含量降低的趋势。糖类对治疗痴呆具有一定疗效，本研究结果显示鲜何首乌炮制后 α,α-海藻糖和蔗糖的含量升高，证实炮制后何首乌益智作用增强[40]。

综上所述，本研究采用 UPLC-Orbitrap Fusion Lumos Tribrid-MS 及 DESI-MSI 技术评价不同炮制方法对何首乌中化学成分的影响。鲜何首乌、生何首乌、制何首乌能得到明显区分，炮制前后总体化学特征产生变化，初步认为蔗糖、α,α-海藻糖、儿茶素、2,3,5,4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-葡萄糖苷、白皮杉醇、3,5,4″-三羟基二苯乙烯-4″-*O*-β-*D*-(6″-*O*-没食子酸酯)-吡喃葡萄糖苷、决明酮-8-葡萄糖苷、大黄素-1-*O*-葡萄糖苷、牡荆素、大黄素-8-甲醚等 18 个成分是鲜何首乌及其炮制品的差异标志物。应用 DESI-MSI 直观地表征了差异标志物在何首乌不同组织区域的空间分布特征，同时验证了其在鲜何首乌及其炮制品中的含量变化趋势，为何首乌的鉴定、质量控制及药效研究奠定了数据支撑和研究基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 林艳, 肖榕, 李春, 等. 生/制/发酵何首乌化学成分、药理作用及肝毒性研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(5): 661-672.

[2] 王一俊, 王丽明, 刘霁虹, 等. 基于 CiteSpace 的何首乌炮制历史沿革及现代研究进展分析 [J]. 中草药, 2024, 55(17): 6089-6106.

[3] 南宗焕. 不同蒸制时间制首乌对亚急性衰老大鼠抗衰老作用的影响 [D]. 延吉: 延边大学, 2006.

[4] Li N, Chen Z, Mao X J, *et al*. Effects of lipid regulation using raw and processed *Radix Polygoni multiflori* in rats fed a high-fat diet [J]. *Evid Based Complement Altern Med ECAM*, 2012, 2012: 329171.

[5] 李晓菲, 李娜, 涂灿, 等. 基于内毒素特异质模型的生首乌与制首乌肝毒性比较研究 [J]. 中草药, 2015, 46(10): 1481-1486.

[6] 何秀娟, 王璇, 黄蓉, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 法分析何首乌不同炮制品化学成分及其抗衰老作用 [J]. 中医药导报, 2025, 31(2): 35-40.

[7] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 189-190.

[8] 黄孟秋, 孙连娜, 董志颖, 等. 产地加工炮制一体化与传统何首乌饮片化学成分的比较研究 [J]. 中草药, 2022, 53(17): 5293-5304.

[9] 朱赟斐, 谭善忠, 王洪兰, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术的益气健脾颗粒化学成分分析 [J]. 中草药, 2022, 53(12): 3601-3613.

[10] 罗益远, 刘娟秀, 刘训红, 等. 超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱分析不同加工何首乌中差异化学成分 [J]. 分析测试学报, 2017, 36(1): 73-79.

[11] 王艳霓, 邹宏, 骆利平, 等. 基于 UPLC-Q/TOF-MS 法研究“建昌帮”炆何首乌主成分差异 [J]. 中南药学, 2022, 20(9): 2052-2058.

[12] 罗益远, 刘娟秀, 刘廷, 等. UPLC-MS/MS 法同时测定何首乌中二苯乙烯、蒽醌、黄酮及酚酸类成分 [J]. 质谱学报, 2016, 37(4): 327-335.

[13] 母乃匀, 周琳, 范新玉, 等. 基于离线二维色谱-质谱联用技术的何首乌化学成分表征研究 [J]. 中南药学, 2025, 23(1): 23-31.

[14] 罗益远, 蔡中齐, 刘训红, 等. 基于 UPLC-Triple TOF-MS/MS 技术分析同基源何首乌和首乌藤中差异化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(12): 2068-2074.

[15] 牛燕燕, 陈光英, 罗由萍, 等. 密度泛函理论辅助研究大黄素型蒽醌化合物电喷雾质谱的裂解过程 [J]. 分析科学学报, 2017, 33(3): 367-372.

[16] 陈宁, 郝俊菊, 殷康明, 等. 高效液相色谱-质谱联用鉴定黄芩总苷元提取物中黄酮类成分 [J]. 药学与临床研究, 2024, 32(3): 209-217.

[17] Wu T, Liu Y, Dong H, *et al*. Rapid identification of

chemical constituents of Chaihu-Jia-Longgu-Muli decoction based on ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry coupled with the UNIFI platform [J]. *Separation Science Plus*, 2023, 6(11): 2300103.

[18] 刘青. 拉萨大黄生药学研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2021.

[19] 刘一, 李媛, 赵立波, 等. 4 种白藜芦醇类化合物的电喷雾多级质谱裂解规律研究 [J]. 中国药房, 2013, 24(1): 33-36.

[20] 卢兴美, 钟凌云, 王硕, 等. 基于 UHPLC-LTQ-Orbitrap MS 分析不同炮制工艺对地黄化学成分的影响 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48(2): 399-414.

[21] Yuan Z Y, Li J, Zhou X J, *et al*. HS-GC-IMS-Based metabonomics study of Baihe Jizihuang Tang in a rat model of chronic unpredictable mild stress [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2020, 1148: 122143.

[22] 唐瑞, 吴杭莎, 李亚飞, 等. 基于液质联用技术结合化学计量法分析杜仲盐制前后差异性成分 [J]. 中草药, 2024, 55(5): 1518-1531.

[23] 王浩, 杨健, 周良云, 等. 何首乌化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(13): 192-205.

[24] 陈冰冰, 姜爱玲, 张岩. 何首乌有效成分二苯乙烯苷的药理活性研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(6): 710-715.

[25] 杨红莉, 葛珍珍, 孙震晓. 何首乌药理研究新进展 [J]. 中药材, 2013, 36(10): 1713-1717.

[26] 付琼怡, 齐玉濮, 郇宇, 等. 何首乌毒性特点探讨及合理用药分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2026, 32(3): 222-231.

[27] 商佳, 郑彬茹, 陶倩倩, 等. 含蒽醌、二苯乙烯苷类中药效-毒转换物质基础及作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(19): 6482-6496.

[28] Yang L, Xing W, Xiao W Z, *et al*. 2, 3, 5, 4′-Tetrahydroxystilbene-2-*O*-beta-d-glucoside induces autophagy-mediated apoptosis in hepatocytes by upregulating miR-122 and inhibiting the PI3K/Akt/mTOR pathway: Implications for its hepatotoxicity [J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 806-814.

[29] 解奉江, 赵荣华, 赵声兰, 等. 清蒸与黑豆汁蒸何首乌中有效成分的比较 [J]. 中草药, 2005, 36(7): 1004-1006.

[30] 陈庆堂, 卓丽红, 徐文, 等. 何首乌炮制过程中 5 种化学成分的含量变化 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 66-71.

[31] 李玥, 徐立, 刘若囡, 等. 炮制对何首乌小鼠急性毒性的影响 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(5): 248-249.

[32] Yang J B, Li W F, Liu Y, *et al*. Acute toxicity screening of different extractions, components and constituents of *Polygonum multiflorum* Thunb. on zebrafish (*Danio* rerio) embryos *in vivo* [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99: 205-213.

[33] 赵盼盼, 佟继铭, 田沂凡, 等. 蒽醌类化合物药理作用研究进展 [J]. 承德医学院学报, 2016, 33(2): 152-155.

[34] 谢海州. 鲜药应用一得 [J]. 北京中医, 1991, 10(2): 31-33.

[35] 全云云, 周忆梦, 刘美辰, 等. 斑马鱼模型评价何首乌中 18 种成分的肝脏毒性 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(5): 744-752.

[36] 赵荣华, 赵声兰, 刘珍珍, 等. 何首乌不同炮制品抗氧化作用的研究 [J]. 食品科技, 2009, 34(1): 68-70.

[37] 李红品. 基于体内成分积累和肝内转运体功能障碍初步探讨何首乌肝毒性成分和机制 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2018.

[38] 徐先祥. 儿茶素的药理作用研究综述 [J]. 郑州轻工业学院学报: 自然科学版, 2012(4): 60-64.

[39] 王亭, 龚千锋. 何首乌炮制后化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(2): 220-226.

[40] 梁永枢, 马麟. 制何首乌多糖对老年性痴呆模型小鼠的影响 [J]. 内蒙古医学杂志, 2007, 39(1): 15-17.

[责任编辑 王文倩]