

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

李 欠, 姬党通, 高 慧

甘肃农业大学农学院, 省部共建干旱生境作物学国家重点实验室, 甘肃 兰州 730070

摘 要: 目的 基质辅助激光解吸质谱成像技术是一种新型的分子成像和原位检测技术, 具有免标记, 高灵敏度和高通量等优势。采用质谱成像技术研究独活 *Angelica pubescens* 中香豆素类化合物的空间分布特征。**方法** 以蛇床子素和二氢欧山芹醇当归酸酯等为对照品分别在正、负 2 种离子检测模式下对基质 2,5-二羟基苯甲酸、9-氨基吡啶和 α -氰基-4-羟基肉桂酸进行筛选。根据质谱信号确定 α -氰基-4-羟基肉桂酸为基质, 并在正离子模式下进行成像分析。以收获期独活作为研究对象, 将基质喷涂于 25 μm 的独活根组织切片上进行质谱成像分析, 研究了根和根皮中香豆素类化合物的空间分布信息及特征。**结果** 通过质谱成像分析, 在独活根和根皮中分别鉴别出 25 和 28 个香豆素类成分。其中蛇床子素、东莨菪内酯、白花前胡醇、紫花前胡素、佛手酚和川白芷素 6 种成分主要分布在韧皮部分泌腔和分泌道等分泌组织中, 二氢欧山芹醇乙酸酯、二氢欧山芹醇当归酸酯、白当归素和新比克白芷内酯 4 种主要分布在除分泌腔以外的木质部和韧皮部, 其他成分在根中均匀分布, 无明显特征。**结论** 建立的质谱成像方法能简便、快速和直接的对独活中的香豆素类活性成分进行原位分析, 对观察植物组织中代谢物的空间分布具有独特的效果。

关键词: 质谱成像; 基质; 独活; 香豆素; 蛇床子素; 东莨菪内酯; 白花前胡醇

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)11-3438-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.11.006

Spatial distribution of coumarins in *Angelica pubescens* fresh roots by MALDI-MSI

LI Qian, JI Dang-tong, GAO Hui

State Key Laboratory of Aridland Crop Science, College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

Abstract: Objective Matrix assisted laser desorption mass spectrometry imaging (MALDI-MSI) is a new molecular imaging and in-situ detection technology, which has the advantages of label free, high sensitivity and high throughput. In this study, the spatial distribution characteristics of coumarins in *Angelica pubescens* roots were studied by MALDI-MSI. **Methods** In this study, osthol and columbianadin were used as the control substances to detect matrix α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (CHCA), 2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB) and 9-aminoacridine (9-AA) were screened under positive and negative modes. CHCA was used as the matrix and imaging analysis was carried out in positive ion mode, which were determined by mass spectrum signal. In this paper, *A. pubescens* in harvest period was taken as the research object, and the substrate was sprayed on root tissue section (25 μm) for mass spectrometry imaging, and the spatial distribution information and characteristics of coumarins in roots and root bark were obtained. **Results** By mass spectrometry imaging analysis, 25 and 28 coumarins were identified in root and root bark of *A. pubescens*, respectively. Among them, osthol, scopolactone, ulopterol, decursin, bergamol and angelicol are mainly distributed in the secretory tissues of phloem, such as secretory cavities and secretory ducts, while dihydroparsley acetate, dihydroparsley angelic acid ester, angelicin leucin and neobik angelicolide are mainly distributed in xylem and phloem except secretory cavities. Other components are evenly distributed in roots without obvious characteristics. **Conclusion** The established mass spectrometry imaging method could be used for simple, rapid and direct in-situ analysis of coumarins in *A. pubescens* roots, and has a unique effect on observing the spatial distribution of metabolites in plant tissues.

Key words: MALDI-MSI; matrix; *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan; coumarins; osthol; scopolactone; ulopterol

收稿日期: 2022-10-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31860102); 甘肃农业大学青年导师扶持基金 (GAU-QDFC-2020-2); 陇原青年创新创业人才 (个人) 项目 (2023-1); 甘肃省优秀研究生“创新之星”项目 (2021CXZX-399)

作者简介: 李 欠 (1984—), 男, 安徽宿州人, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中药分析及质量评价。E-mail: liqian1984@gsau.edu.cn

独活为伞形科当归属药用植物, 根据《中国药典》记载, 其为重齿毛当归 *Angelica pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan 的干燥根^[1]。独活作为中国传统中药, 始载于东汉时期的《神农本草经》, 已有几千年的用药历史, 具有祛风除湿、通痹止痛、解表等功效。独活药材已在医疗、保健、植保和美容化妆等领域取得广泛应用。研究表明, 独活含有香豆素、挥发油、多糖和有机酸等多种成分, 其中香豆素类成分为其主要成分, 具有抗炎、抗凝血、抗癌多种药理活性^[2-7]。《中国药典》2020 年版将蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯作为独活质量控制的指标性成分。

目前, 常采用色谱和色谱-质谱联用等技术对药材中的化学成分进行定性、定量分析和质量控制^[8-10], 在药材样品前处理过程中, 样品提取液中的部分代谢物会损失, 导致在使用该技术进行分析时, 造成化学成分检出程度低。除此之外, 常用的技术手段也无法实现对药材中代谢物的组织空间分布特征的可视化分析。基质辅助激光解吸质谱成像技术是一种新型的分子成像和原位检测技术, 具有免标记, 高灵敏度和高通量等优势, 被广泛应用于植物代谢物分析和组织分布研究等方面^[11-15]。本课题组在前期的研究中采用一测多评法, 定量核磁共振波谱法和荧光成像法分析了独活中香豆素类化合物含量和分布特征^[16-18]。本研究采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱成像 (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry imaging, MALDI-TOF-MS) 技术探讨建立一种可视化原位分析独活根组织中香豆素类化学成分空间分布特征的新方法, 为独活代谢物的提取分离、鉴定及探索代谢物的空间信息提供一定的参考。

1 材料与仪器

1.1 仪器

iMScope TRIO 型质谱成像显微镜 (日本岛津公司), iMLayer 基质喷涂仪 (Shimadzu, Kyoto, 日本), 氧化铟锡 (ITO) 导电载玻片 (德国 Bruker 公司), CM1950 冷冻切片机 (德国 Leica 公司), Agilent 7890B-7000D 型三重四极杆气相色谱质谱联用仪 (美国安捷伦公司)。

1.2 试剂

2,5-二羟基苯甲酸 (2,5-dihydroxybenzoic acid, DHB)、9-氨基吡啶 (9-aminoacridineare, 9AA)、 α -氰基-4-羟基肉桂酸 (α -cyano-4-hydroxycinnamic

acid, CHCA) 购于美国 Sigma 公司, OCT 包埋剂, 蛇床子素 (批号 18032005, 质量分数 $\geq 98\%$)、二氢欧山芹醇当归酸酯 (批号 19091001, 质量分数 $\geq 98\%$)、欧前胡素 (批号 18051502, 质量分数 $\geq 98\%$)、氧化前胡素 (批号 1y27s9s65152, 质量分数 $\geq 98\%$), 均购于成都普菲德生物技术有限公司; 甲醇 (色谱醇)。

1.3 样品

新鲜独活药材采集于甘肃省华亭市马峡镇赵庄村两年生人工栽培独活, 经甘肃农业大学农学院陈垣教授鉴定为伞形科植物重齿毛当归 *A. pubescens* Maxim. f. *biserrata* Shan et Yuan。前期通过荧光成像分析研究^[18], 10 月份是独活根中香豆素含量相对较高的时期, 因此本研究选择该时期的独活根进行质谱分析和成像研究。

2 方法

2.1 质谱成像样品的制备

将新鲜独活根清洗干净, 取独活主根中段横切成小段 (约 0.5 cm)。然后将其用 OCT 包埋胶包埋。采用冷冻切片机将其切成厚度为 25 μm 的独活根组织切片^[18]。再单独剥下独活的根皮, 最终将切片和根皮负载至 ITO 导电玻璃上, 真空干燥。

2.2 GC-MS 实验样品的制备

将独活根在 40 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行干燥处理, 粉碎后过 40 目筛。取独活药材粉末约 5 g, 精密称定后置于 250 mL 蒸馏瓶中, 加入甲醇 50 mL 后称定总质量。药材粉末经甲醇浸泡 30 min 后, 采用超声波辅助提取 40 min, 超声波仪器功率为 400 W, 频率为 40 kHz, 经过滤得提取液。提取液经 0.22 μm 微孔滤膜滤过后用于 GC-MS 分析。

2.3 基质和对照品溶液的制备

以 70% 的甲醇水溶液为溶剂, 将 CHCA、DHB 和 9AA 分别配制成 10 mg/mL 的基质溶液; 将蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、欧前胡素和氧化前胡素等对照品配制成 1 mg/mL 对照品混合溶液。

取 1 μL 混合对照品溶液滴加至靶板上, 待样品点溶剂挥发干燥后, 然后分别滴加 1 μL 基质溶液, 使之覆盖样品点, 干燥后进行 MALDI-TOF-MS 分析。

2.4 基质的喷涂

采用升华喷涂的方法将基质喷涂于组织切片上, 条件如下: 基质 DHB、9-AA 和 CHCA 质量为 300 mg, 厚度为 0.5 μm , 温度分别为 180、220、250 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.5 MALDI-TOF-MS 分析

首先将组织切片放置于图像扫描仪中进行拍照和成像定位,然后将喷涂基质的组织切片置于 MALDI-TOF-MS 型质谱成像仪中分别在正离子和负离子模式进行成像分析研究。

MALDI-TOF-MSI 数据是使用成像质谱仪(岛津 iMScope TRIO)获得的,该质谱仪配备有内部光学显微镜和 355 nm Nd: YAG 激光源。

使用 Imaging MS Solution version 1.30 软件(岛津)记录和分析分子图像。经条件优化后,在正电离模式下测量 m/z 100~500 的离子。激光直径设置为 1 (约 10 μm , 是 iMScope 的任意单位)。MALDI-TOF-MSI 的其他相关参数如下:探测器电压 1.87 kV;采样电压 3.50 kV;累计 1 次/像素;激光重复频率 1000 Hz;激光射击 80 次;间距为 (35×35) μm^2 ;激光强度为 25。

2.6 GC-MS 分析

2.6.1 气相色谱条件 色谱柱 HB-23 毛细管色谱柱 (30 m×0.25 mm, 0.25 μm),载气为氦气,分流比 5:1,体积流量 1 mL/min。35~150 $^{\circ}\text{C}$,升温速度为 8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$,升至 150 $^{\circ}\text{C}$ 后保持 1 min;150~250 $^{\circ}\text{C}$,升温速度为 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$,升温至 250 $^{\circ}\text{C}$ 后保持 12 min。

2.6.2 质谱条件 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$,四极杆温度 150 $^{\circ}\text{C}$;电离方式为 EI 源,电子能量为 70 eV;离子检测模式:选择性离子检测(selected ion monitor, SIM);扫描范围 m/z 50~650。

3 结果与分析

3.1 基质的选择与优化

在基质辅助的质谱成像研究过程中,基质的选

择是至关重要的。基质不仅会影响待分析物的解析、离子化,还会影响成像效果。根据文献报道^[5]独活富含香豆素类化合物,其中蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯、欧前胡素、氧化前胡素、异欧前胡素等成分含量较高。本研究以上述化合物为对照品分别在正、负 2 种离子检测模式下对基质 DHB、9-AA 和 CHCA 进行筛选。由图 1 可知,DHB 和 9-AA 基质会影响蛇床子素的离子化程度,并且对分析物的质谱信号产生干扰。结果表明 CHCA 适合蛇床子素和其他香豆素类化合物的质谱成像分析。由图 2 可知,正、负 2 种离子模式检测条件下,正离子模式下检出的化合物种类多,分析物离子峰的相对峰强度更高。因此本研究在正离子检测模式下选择 CHCA 进行独活质谱成像分析。

3.2 独活根组织中香豆素类化合物的 MALDI-TOF-MS 质谱成像分析

本研究在正离子模式下对独活根和根皮进行 MALDI-TOF-MS 质谱成像分析,质谱图见图 3。

由表 1 可知,在 CHCA 作为基质,正离子模式下经 MALDI 质谱成像分析,独活根及根皮分别鉴

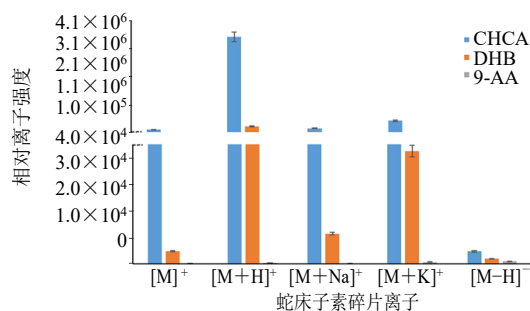


图 1 蛇床子素在不同基质下的信号强度

Fig. 1 Signal intensity of osthol in different substrates

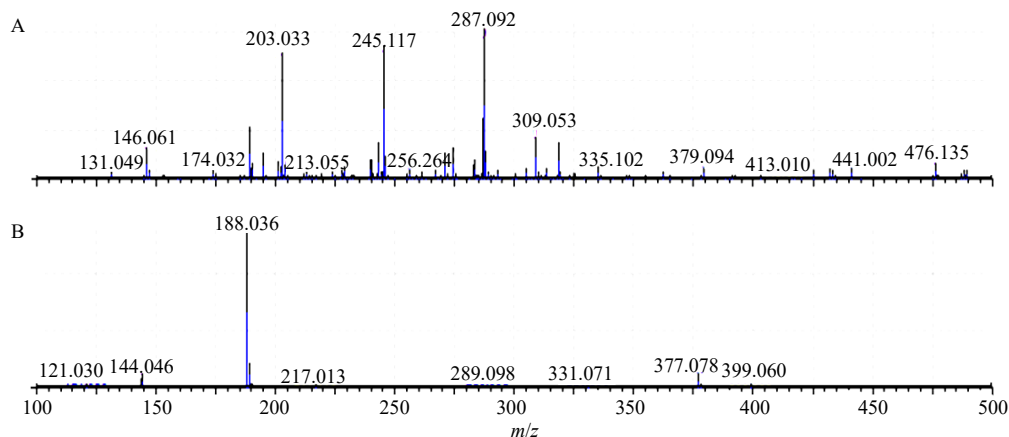


图 2 CHCA 基质辅助下混合对照品在正 (A) 和 负 (B) 离子模式下质谱图

Fig. 2 Mass spectrum of mixed reference substance in positive (A) and negative (B) ion modes assisted by CHCA matrix

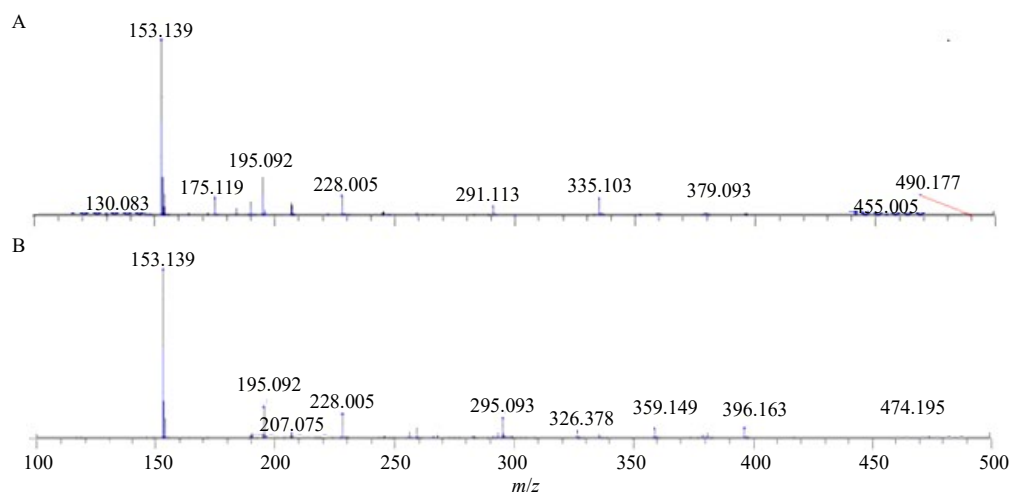


图 3 独活鲜根 (A) 和根皮 (B) 的质谱图

Fig. 3 Mass spectra of roots (A) and root bark (B) of *Angelica pubescens*

表 1 独活鲜根及根皮中香豆素类化学成分

Table 1 Chemical constituents of coumarins in the roots and roots bark at *A. pubescens*

编号	化合物或同分异构体名称	分子式	部位	离子类型	理论值 (m/z)	实验值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)
1	欧前胡素	$C_{16}H_{14}O_4$	根皮	$[M+Na]^+$	293.079 0	293.078 3	-2.39
			根	$[M]^+$	270.089 2	270.091 1	7.03
2	氧化前胡素	$C_{16}H_{14}O_5$	根皮	$[M+K]^+$	325.047 8	325.050 4	7.99
			根	$[M+H]^+$	289.098 6	289.098 9	1.04
3	蛇床子素	$C_{15}H_{16}O_3$	根皮	$[M+K]^+$	283.073 6	283.072 9	-2.47
			根	$[M+H]^+$	245.117 7	245.117 6	-4.08
4	二氢欧山芹醇当归酸酯	$C_{19}H_{20}O_5$	根皮	$[M+Na]^+$	352.124 2	352.125 5	3.69
			根	$[M+H]^+$	329.138 9	329.140 2	3.95
5	二氢欧山芹醇	$C_{14}H_{14}O_4$	根皮	$[M+H]^+$	247.092 6	247.094 0	5.67
			根	-	-	-	-
6	二氢欧山芹醇乙酸酯	$C_{16}H_{16}O_5$	根皮	$[M+K]^+$	329.067 7	329.067 5	-6.08
			根	$[M+H]^+$	291.111 8	291.113 0	4.12
7	二氢山芹醇- β -D-葡萄糖苷	$C_{20}H_{24}O_9$	根皮	$[M+K]^+$	447.105 7	447.106 0	6.71
			根	$[M+Na]^+$	433.138 5	433.140 4	4.39
8	angelidiol	$C_{14}H_{14}O_5$	根皮	$[M+Na]^+$	285.069 8	285.072 6	9.82
			根	$[M+H]^+$	265.097 8	265.096 4	-5.28
9	angelmarin	$C_{23}H_{20}O_6$	根皮	$[M]^+$	392.130 0	392.132 3	5.87
			根	$[M+Na]^+$	415.119 8	415.117 0	-6.75
10	花椒毒素	$C_{12}H_8O_4$	根皮	$[M+H]^+$	217.050 1	217.048 5	-7.37
			根	$[M+K]^+$	255.006 0	255.006 4	1.57
11	佛手酚	$C_{11}H_6O_4$	根皮	$[M+H]^+$	203.034 4	203.033 7	-3.45
			根	$[M+K]^+$	240.990 3	240.989 1	-4.98
12	补骨脂素	$C_{11}H_6O_3$	根皮	$[M+H]^+$	187.039 5	187.040 6	5.88
			根	$[M+K]^+$	226.138 3	226.138 4	4.42
13	栓翅芹烯醇	$C_{17}H_{16}O_4$	根皮	$[M+K]^+$	323.203 2	323.204 7	4.64
			根	$[M+K]^+$	323.203 2	323.201 0	-6.81
14	水合氧化前胡素	$C_{16}H_{16}O_6$	根皮	$[M]^+$	305.098 0	305.095 2	-9.18
			根	$[M+H]^+$	307.109 2	307.110 1	2.93

续表 1

编号	化合物或同分异构体名称	分子式	部位	离子类型	理论值 (m/z)	实验值 (m/z)	误差 ($\times 10^{-6}$)
15	异珊瑚菜素	$C_{17}H_{16}O_5$	根皮	$[M+H]^+$	301.103 1	301.104 5	4.65
			根	$[M+H]^+$	301.103 1	301.102 2	-2.99
16	白当归素	$C_{17}H_{18}O_7$	根皮	$[M]^+$	334.105 3	334.105 7	1.19
			根	$[M]^+$	336.109 5	336.106 4	-9.22
17	新比克白芷内酯	$C_{17}H_{16}O_6$	根皮	$[M+H]^+$	317.097 8	317.095 1	-8.51
			根	$[M+H]^+$	317.097 8	317.095 2	-8.19
18	异茴芹内酯	$C_{13}H_{10}O_5$	根皮	$[M+K]^+$	285.013 7	285.011 7	-7.02
			根	$[M+H]^+$	247.057 8	247.130 9	2.90
19	东莨菪内酯	$C_{10}H_8O_4$	根皮	$[M+Na]^+$	216.039 8	216.037 9	-8.79
			根	$[M+K]^+$	231.138 3	231.137 8	-2.16
20	白花前胡醇	$C_{15}H_{18}O_5$	根皮	$[M+Na]^+$	301.105 2	301.104 5	-2.32
			根	$[M+Na]^+$	301.105 2	301.102 2	-9.96
21	欧芹酚	$C_{14}H_{14}O_3$	根皮	$[M+H]^+$	231.102 1	231.100 1	-8.65
			根	$[M+Na]^+$	254.087 4	254.085 1	-9.05
22	月橘香豆素	$C_{16}H_{18}O_4$	根皮	$[M]^+$	274.120 0	274.122 2	8.03
			根	-	-	-	-
23	橙皮内酯水合物	$C_{15}H_{18}O_5$	根皮	$[M]^+$	278.120 0	278.118 5	-5.39
			根	-	-	-	-
24	紫花前胡昔元	$C_{14}H_{14}O_4$	根皮	$[M+K]^+$	285.188 3	285.188 2	-3.51
			根	$[M+Na]^+$	271.089 8	271.091 4	5.90
25	当归醇 A	$C_{20}H_{24}O_7$	根皮	$[M+H]^+$	377.160 0	377.158 6	-3.71
			根	$[M+H]^+$	377.160 0	377.159 0	-2.65
26	紫花前胡素	$C_{19}H_{20}O_5$	根皮	$[M+Na]^+$	352.124 2	352.125 5	3.69
			根	$[M+H]^+$	329.138 9	329.140 2	3.95
27	川白芷素	$C_{14}H_{12}O_3$	根皮	$[M+H]^+$	229.087 8	229.086 2	-6.98
			根	$[M+H]^+$	229.087 8	229.088 3	2.18
28	彼西丹醇	$C_{14}H_{16}O_5$	根皮	$[M]^+$	264.100 0	264.101 1	4.17
			根	$[M+Na]^+$	289.099 8	289.098 9	-3.11

- 未检测到

- not detected

定出 25 和 28 个香豆素类成分^[5,18-28]。其中欧前胡素和异欧前胡素、补骨脂素和异补骨脂素、花椒毒素和佛手苷内酯分别为同分异构体,由文献报道^[28]可知,这些同分异构体均存在于独活中,仅仅通过质谱技术无法区分它们,必须与核磁共振等技术手段结合才能鉴别。在鉴定出的 28 个化学成分中,二氢欧山芹醇、月橘香豆素、异茴芹内酯和橙皮内酯水合物仅在根皮中检测到,未在根横切片组织切片中检测到上述化合物的特征离子。独活根组织在制备切片过程中受到了一定程度的破坏,影响了切片

的完整度,导致未检测出部分化合物的质谱信号。本研究还采用 GC-MS 分析手段分析了独活根的提取物中的成分。根中分析鉴定出了 59 种化合物,包括香豆素类化合物、醇酚类化合物、酯类化合物、烯炔类化合物和脂肪酸类化合物。其中香豆素类化合物为主要化合物(表 2),蛇床子素、二氢欧山芹素、二氢欧山芹醇当归酸酯、花椒毒素、补骨脂素和橙皮内酯等与质谱成像分析结果一致。面积归一法定量结果表明,蛇床子素为最主要成分,占 31.62%,总香豆素占比超过 40%。

表 2 独活化学成分分析

Table 2 Chemical composition analysis of *A. pubescens*

编号	化合物名称	分子式	相对百分含量/%
1	蛇床子素	C ₁₅ H ₁₆ O ₃	31.62
2	二氢欧山芹醇当归酸酯	C ₁₉ H ₂₀ O ₅	4.89
3	二氢欧山芹醇	C ₁₄ H ₁₄ O ₄	1.72
4	橙皮内酯	C ₁₅ H ₁₆ O ₄	0.95
5	花椒毒素	C ₁₂ H ₈ O ₄	0.69
6	7-羟基-4-甲基-3-丙基-2 <i>H</i> -色烯-2-酮	C ₁₃ H ₁₄ O ₃	0.66
7	邪蒿素	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	0.28
8	(异) 补骨脂素	C ₁₁ H ₆ O ₃	0.02

3.3 独活根组织中香豆素类成分的空间分布特征

独活中化学成分的研究集中于香豆素类化合物, 主要包括: 以蛇床子素、二氢欧山芹醇当归酸酯和二氢欧山芹醇乙酸酯等为代表的化学成分。在优化的条件下, 将制备好的独活根组织切片喷涂基

质后进行 MALDI 质谱成像分析, 在分析软件中靶向提取香豆素类化合物的离子类型, 离子峰通过质谱成像图的构建, 其中香豆素类化合物代表性成分的质谱成像图如图 4~6 所示。由图 4 可知, 独活根中以蛇床子素为代表性香豆素类化合物的分布与荧

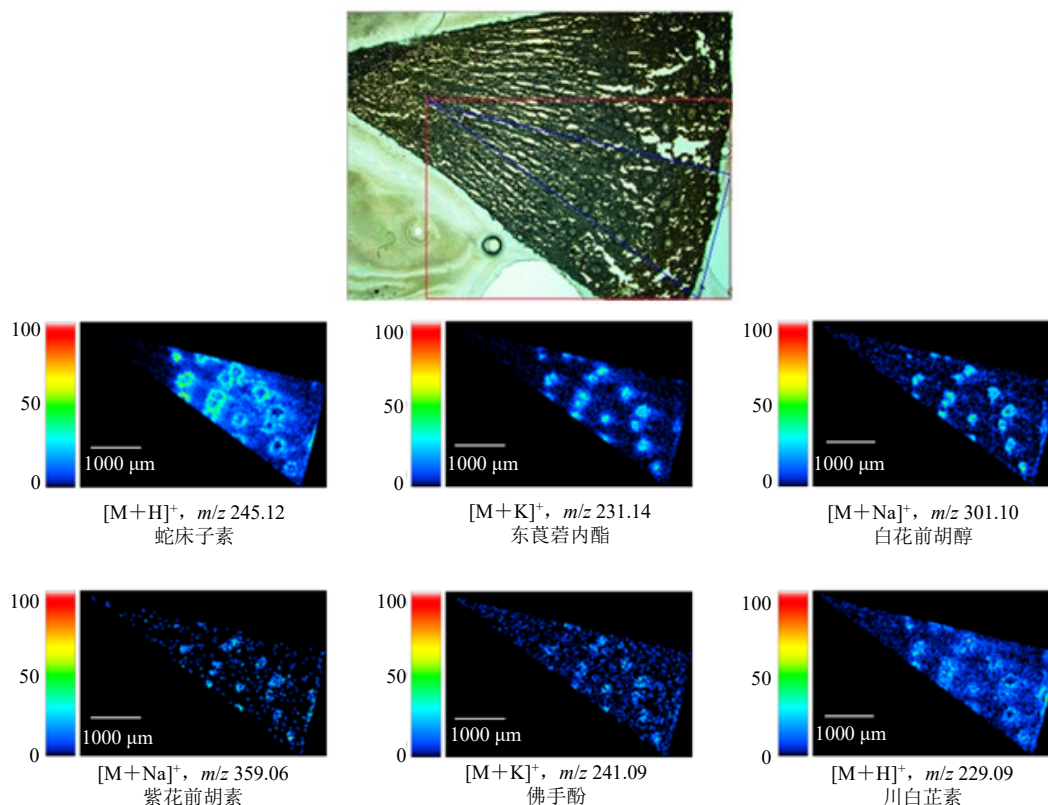


图 4 独活鲜根切片和分泌腔中香豆素类化合物的质谱成像图

Fig. 4 Section of *A. pubescens* and mass spectrometry image of coumarin compounds in secretory cavity

光成像分析结果基本一致, 主要分布在分泌腔、分泌道等分泌组织中。其中蛇床子素 ([M+H]⁺, *m/z* 245.12)、东莨菪内酯 ([M+K]⁺, *m/z* 231.14)、白花前胡醇 ([M+Na]⁺, *m/z* 301.10)、紫花前胡素 ([M+Na]⁺, *m/z* 359.06)、佛手酚 ([M+K]⁺, *m/z* 241.09)

和川白芷素 ([M+H]⁺, *m/z* 229.09) 等在韧皮部分泌腔中的强度最高, 在其他部位也有少量分布。

由图 5 可知, 二氢欧山芹醇当归酸酯 ([M+Na]⁺, *m/z* 245.12)、二氢欧山芹醇乙酸酯 ([M+H]⁺, *m/z* 291.11)、白当归素 (M, *m/z* 336.11) 和新比克

白芷内酯 ($[M+H]^+$, m/z 317.10) 与上述化合物不同, 在分泌腔中强度最低, 主要分布在除分泌腔以外的木质部和韧皮部。此外, 这 4 种成分根皮部位

的离子强度较大, 含量较高。

如图 6 所示, 欧芹酚 ($[M+Na]^+$, m/z 254.09) 等其他成分在整个根部分布较为均匀, 无明显差异。

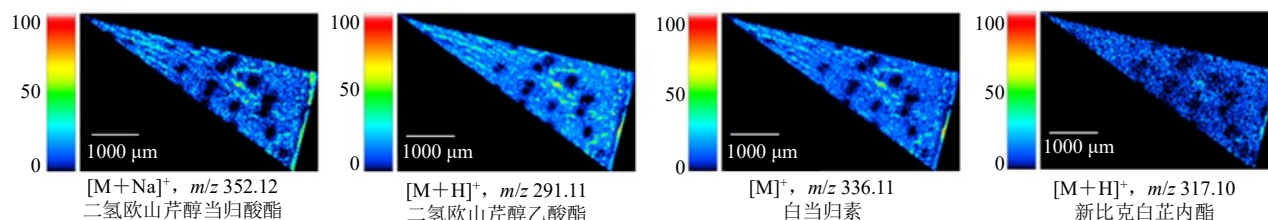


图 5 分泌腔外香豆素类化合物的质谱成像图

Fig. 5 Mass spectrometry image of coumarin compounds out of secretory cavity

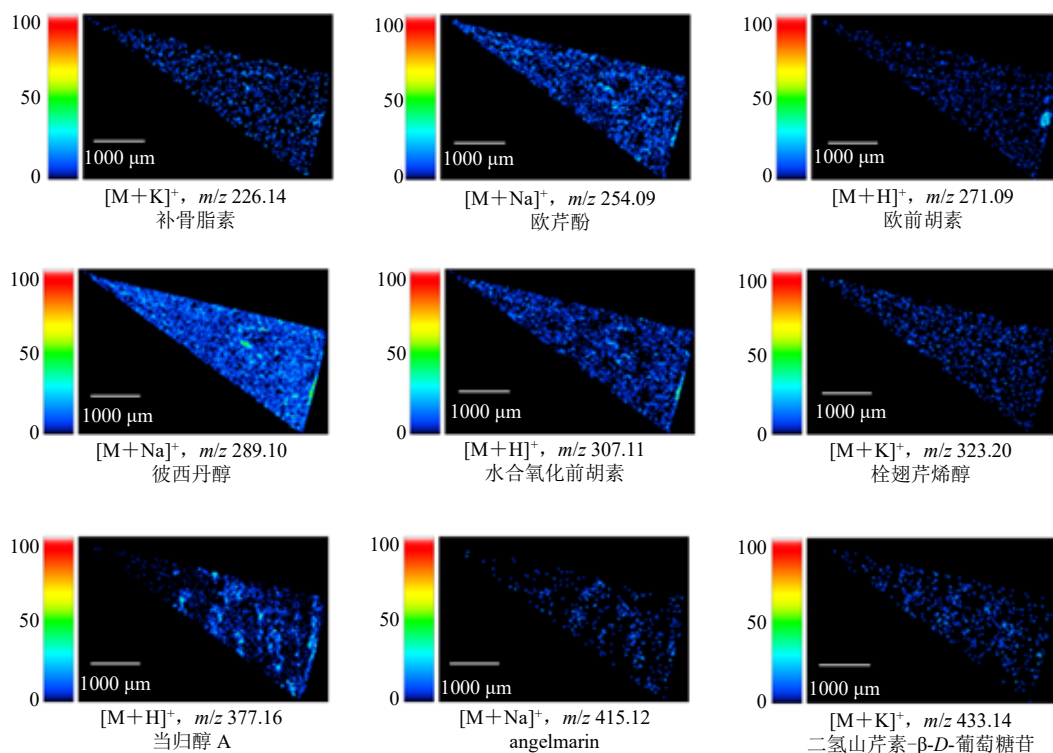


图 6 独活鲜根中香豆素类化合物的质谱成像图

Fig. 6 Mass spectrometry image of coumarin compounds in *A. pubescens* fresh roots

4 讨论

传统的 GC/LC-MS 技术需要对待测样品进行匀浆, 导致被分析物的空间信息丢失; 此外, 天然活性成分通常需要使用有机溶剂从植物中提取出来进行分析, 耗时耗力, 还容易造成不稳定成分的分解。MALDI-TOF-MSI 技术作为一种重要的分子成像技术, 具有样品前处理简单、免标记、高覆盖、高灵敏度和高通量等优势, 被广泛应用于蛋白质、多肽和小分子代谢物的组织分布研究。本实验通过采用 CHCA 作为基质, 正离子模式下实现了独活根中香

豆素类成分的质谱成像分析, 检测到 28 个香豆素类成分, 并得到其空间分布信息。通过质谱成像可以实现对单个香豆素化合物空间分布特征的研究, 为独活的鉴定、提取分离等研究提供指导。

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: 274.
- [2] Yang L, Hou A J, Wang S, *et al.* A review of the botany, traditional use, phytochemistry, analytical methods, pharmacological effects, and toxicity of angelicae

- pubescentis Radix [J]. *Evid Based Complement Altern Med*, 2020, 2020: 1-28.
- [3] 姚丽, 冯红玄, 霍红, 等. 独活活性成分蛇床子素的药理学研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2012, 30(10): 2221-2225.
- [4] Lu Y Q, Wu H W, Yu X K, *et al*. Traditional Chinese medicine of *Angelicae Pubescentis Radix*: A review of phytochemistry, pharmacology and pharmacokinetics [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 335.
- [5] 周璐丽, 曾建国. 独活化学成分及药理活性研究进展 [J]. *中国现代中药*, 2019, 21(12): 1739-1748.
- [6] Qin H L, Zhang Z W, Ravindar L, *et al*. Antibacterial activities with the structure-activity relationship of coumarin derivatives [J]. *Eur J Med Chem*, 2020, 207: 112832.
- [7] Annunziata F, Pinna C, Dallavalle S, *et al*. An overview of coumarin as a versatile and readily accessible scaffold with broad-ranging biological activities [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(13): 4618.
- [8] Wang B, Liu X H, Zhou A, *et al*. Simultaneous analysis of coumarin derivatives in extracts of *Radix Angelicae Pubescentis* (Duhuo) by HPLC-DAD-ESI-MSⁿ technique [J]. *Anal Methods*, 2014, 6(19): 7996-8002.
- [9] Alaerts G, Matthijs N, Smeyers-Verbeke J, *et al*. Chromatographic fingerprint development for herbal extracts: A screening and optimization methodology on monolithic columns [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1172(1): 1-8.
- [10] Yu X A, Li J, Teye Azieta J, *et al*. A single standard to determine multi-components method coupled with chemometric methods for the quantification, evaluation and classification of *Notopterygii Rhizoma* et *Radix* from different regions [J]. *Molecules*, 2019, 24(19): 3574.
- [11] Caprioli R M, Farmer T B, Gile J. Molecular imaging of biological samples: Localization of peptides and proteins using MALDI-TOF MS [J]. *Anal Chem*, 1997, 69(23): 4751-4760.
- [12] 孙成龙, 刘伟, 郭兰萍, 等. 基于 MALDI 质谱成像技术分析莲子中代谢物的组织分布 [J]. *分析测试学报*, 2021, 40(1): 86-91.
- [13] 彭蕾, 陈华国, 周欣. 质谱成像技术及其在药用植物研究中的应用 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(5): 1023-1033.
- [14] 刘芳, 张琳, 张志信, 等. 基质辅助激光解吸质谱成像在药用植物分析中的应用 [J]. *分析化学*, 2019, 47(8): 1125-1133.
- [15] 葛均悦, 胡德俊, 张颖, 等. MALDI 质谱成像技术在药用植物研究中的应用 [J]. *药学报*, 2019, 54(7): 1179-1189.
- [16] Feng Y M, Li Q, Yang L, *et al*. Simultaneous determination of osthol, columbianadin, and isoimperatorin in *Angelicae pubescentis Radix* by high-performance liquid chromatography (HPLC) using a quantitative analysis of multi-components by single marker (QAMS) calibration method [J]. *Instrum Sci Technol*, 2020, 48(5): 550-560.
- [17] Feng Y M, Li Q, Yang L, *et al*. The use of ¹H-qNMR method for simultaneous determination of osthol, columbianadin, and isoimperatorin in *Angelicae Pubescentis Radix* [J]. *J AOAC Int*, 2020, 103(3): 851-856.
- [18] 姬党通, 陈玉莹, 李欠. 荧光成像技术用于独活根中香豆素类成分积累规律研究 [J]. *世界中医药*, 2022, 17(24): 3431-3435.
- [19] 赵富春, 廖双泉, 梁志群, 等. 蛇床子挥发性成分的 GC/MS 分析 [J]. *质谱学报*, 2008, 29(6): 361-366.
- [20] 刘红梅, 张明贤. 白芷中香豆素类成分的超临界流体萃取和 GC-MS 分析 [J]. *中国中药杂志*, 2004, 29(3): 241-244.
- [21] 张才煜, 张本刚, 杨秀伟. 独活化学成分的研究 [J]. *解放军药学报*, 2007, 23(4): 241-245.
- [22] 蔡正军, 但飞君, 程凡, 等. 白根独活抗菌有效部位的化学成分研究 [J]. *中药材*, 2008, 32(8): 1160-1162.
- [23] 宋更申, 徐艳梅, 周丽, 等. GC-MS 法同时测定蛇床子中 7 种香豆素类活性成分 [J]. *药学报*, 2016, 51(4): 626-630.
- [24] 高阳, 杨敏飞, 苏娅萍, 等. 老山芹根中亲脂性化学成分的 GC-MS 分析 [J]. *西北药学杂志*, 2014, 29(4): 344-347.
- [25] 李玲, 李祖伦, 何宇新, 等. 川白芷香豆素有效部位的气相色谱-质谱分析 [J]. *时珍国医国药*, 2009, 20(2): 306-307.
- [26] 严志宏, 黄秀珍, 顿珠次仁, 等. 高速逆流色谱分离制备裂叶独活中香豆素类成分 [J]. *中草药*, 2015, 46(20): 3023-3027.
- [27] 钱沉鱼, 陈啸天, 肖雪, 等. 基于全二维气相色谱-四极杆飞行时间质谱高通量检测独活挥发油化学成分 [J]. *分析测试学报*, 2022, 41(1): 78-90.
- [28] 陈宇. 独活化学成分研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2014, 16(5): 255-256.

[责任编辑 王文倩]