

## • 专 论 •

## 空间代谢组学在中药研究中的应用

赵 杰<sup>1,2</sup>, 冯素香<sup>1\*</sup>

1. 河南中医药大学中医药科学院, 河南 郑州 450000

2. 河南中医药大学, 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450000

**摘 要:** 空间代谢组学是基于质谱成像和代谢组学技术发展而来的一门新兴组学技术, 通过原位检测生物体系中内源性小分子和外源性药物代谢物的分子结构、空间分布及含量变化, 精准地反映代谢物在组织整体或微区的代谢网络变化特征, 深度揭示中药的药效物质基础及作用机制。通过对近年来空间代谢组学技术在中药质量控制、中药在生物体内代谢及分布、中药药效机制和中药毒性机制中的研究成果进行综述, 为探索基于空间代谢组学技术的中药研究提供理论依据。

**关键词:** 空间代谢组学; 中药; 质量控制; 体内代谢及分布; 药效机制; 毒性机制

**中图分类号:** R285      **文献标志码:** A      **文章编号:** 0253-2670(2023)20-6569-11

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.20.001

## Application of spatial metabolomics in traditional Chinese medicine research

ZHAO Jie<sup>1,2</sup>, FENG Su-xiang<sup>1</sup>

1. Academy of Chinese Medical Sciences, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

2. Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine and Respiratory Diseases Co-constructed by Henan province &amp; Education Ministry of P. R., Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, China

**Abstract:** Spatial metabolomics is an emerging technology based on the development of mass spectrometry imaging and metabolomics technology, which accurately reflects the metabolic network changes of metabolites in the whole or micro regions of the tissue by detecting the molecular structure, spatial distribution, and content changes of endogenous small molecules and exogenous drug metabolites in biological systems *in-situ*, and reveals the efficacy material basis and mechanism of traditional Chinese medicine (TCM) in depth. This study aims to review the research achievements of spatial metabolomics technology in the quality control, metabolism and distribution in organism, pharmacodynamic mechanism, and the toxicity mechanism of TCM in recent years, providing a theoretical basis for exploring the research of TCM based on spatial metabolomics technology.

**Key words:** spatial metabolomics; traditional Chinese medicine; quality control; metabolism and distribution *in vivo*; pharmacodynamic mechanism; toxicity mechanism

中药在我国的应用已有数千年历史积淀, 在治疗众多复杂疾病方面具有丰富的临床经验和独特于西医的特色优势。中药是在中医理论基础指导下的遣方用药, 具有多成分、多靶点、多途径和整体性等特点。虽然中药临床疗效显著, 但一定程度上因药效物质不明、作用机制不清, 制约了其现代化发展。近年来, 以生物体内小分子代谢物为研究主体

的代谢组学技术飞速发展, 其基于检测整体代谢物动态变化的研究策略与中医药理论相切合, 为解决中医药发展的瓶颈问题带来了新机遇。目前已广泛应用于揭示中药物质基础与药效作用机制等方面的研究, 并初步取得了诸多令人鼓舞的成果<sup>[1-2]</sup>。但是, 由于中药成分在生物体内的代谢和分布往往具有精准的空间定位, 使得药效作用与其在生物组织整体

收稿日期: 2023-05-10

基金项目: 河南省中医药科学研究专项课题(2023ZY1029); 河南省科技攻关项目(232102311215); 中国博士后科学基金(2020M672244)

作者简介: 赵 杰, 博士, 讲师, 从事中药药效物质基础与作用机制研究。E-mail: jiezhao1702@163.com

\*通信作者: 冯素香, 博士生导师, 教授, 从事中药质量分析与新药研究。E-mail: fengsx221@163.com

或微区的空间分布密不可分。然而,传统代谢组学由于样本前处理方法的限制,导致代谢物在组织中的空间分布信息缺失,使中药的效应部位和药效机制难以得到全面、客观地诠释。

空间代谢组学是将质谱成像与代谢组学技术相结合的一种新兴组学技术,一方面通过质谱成像技术提供代谢物在组织整体或微区的精确分布,另一方面利用代谢组学技术对区域内的差异性成分进行深度挖掘与生物信息学分析,从而将代谢物及其生物学功能与生物组织解剖特征相关联,更为精准、科学地解析中药的药效成分及在生物体内对疾病的调控机制。因此,通过空间代谢组学技术构建“分子结构-空间分布-含量变化-代谢通路”相互关系,为寻找中药药效成分、治疗靶点和作用机制提供新思路。本文通过总结空间代谢组学技术在中药质量控制、中药在生物体内代谢及分布、中药药效机制和中药毒性机制中的研究进展,并对空间代谢组学在中药研究中存在的不足和未来的发展方向进行了思考和展望,为探索基于空间代谢组学技术的中药研究提供理论依据,促进中药的现代化、国际化进程。

## 1 空间代谢组学概述

### 1.1 空间代谢组学技术

代谢组学由英国 Nicholson 教授提出,最初用于测定由遗传或病理生理变化导致的生物体内小分子代谢物动态变化情况,目前已广泛用于寻找疾病生物标志物、揭示疾病发病及中药药效作用机制等研究<sup>[3-5]</sup>。代谢组学分析的样本检测前通常需要进行萃取、研磨或匀浆等前处理。但是,对待分析样本的均质化处理将使得代谢产物在原有组织中的空间分布信息丧失。由于生物组织器官因由多种类型细胞构成并具有异质性和复杂性,代谢物的空间分布与其病理生理功能改变紧密相关,有必要将代谢物动态变化与空间位置分布联系起来<sup>[6]</sup>。传统色谱-质谱联用技术的代谢组学方法已无法满足此类需求,同时随着分子原位成像技术的不断发展,促进了空间代谢组学的诞生。

空间代谢组学是组学研究的一个新技术,能够在样本复杂的空间结构背景下检测内源性小分子物质及药物及其代谢物,并揭示各类物质含量变化的潜在机制<sup>[7]</sup>。与传统代谢组学相比,空间代谢组学的特点主要表现在样本预处理操作简化,不破坏待测样本结构,保留代谢物在组织中的空间分布信息<sup>[8]</sup>。

空间代谢组学的发展,在很大程度上是由质谱成像技术的快速发展所推动的。质谱成像是一种新兴的分子成像技术,其能够利用质谱仪直接采集待测样本切片的离子信息,并通过专业数据处理软件将质谱数据可视化,获得内源性分子与外源性药物及其代谢物分子的结构、在组织切片中的空间分布和含量信息<sup>[9]</sup>。与其他可视化分析技术相比,质谱成像技术具有免标记、高覆盖、高灵敏度和检测范围广等特点<sup>[10]</sup>。目前,空间代谢组学中应用的质谱成像技术主要包括:二次离子质谱成像(secondary ion mass spectrometry mass spectrometry imaging, SIMS-MSI)、基质辅助激光解吸电离质谱成像(matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry imaging, MALDI-MSI)和解吸电喷雾电离质谱成像(desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging, DESI-MSI)等<sup>[11]</sup>。其中,现阶段以 MALDI-MSI 技术在空间代谢组学中的应用最为广泛。近年来,研究者针对 MALDI-MSI 质谱技术需要真空操作、样本处理复杂等问题,后续研发出了多种常压敞开式质谱成像技术并建立了相应的空间代谢组学方法,如激光消融电喷雾电离质谱成像技术和空气动力辅助解吸电喷雾离子化质谱成像技术(air-flow-assisted desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging, AFADESI-MSI)等<sup>[12-13]</sup>。常压敞开式质谱成像技术降低了对质谱采集环境的要求,简化了样本预处理操作,为空间代谢组学的发展提供了新的契机。

### 1.2 空间代谢组学的流程

空间代谢组学的研究流程主要包括组织样本获取、切片制备、质谱数据采集和成像数据分析(图1)。其中,样本获取和切片制备是影响质谱成像结果真实性和准确性的关键环节,此过程中样本的完整性和分子密度的细微差别都会对检测的分子类型、质谱响应强度或空间定位产生影响<sup>[14]</sup>。在切片制备过程中,样本通常快速冷冻于液氮后切片;而对于整体动物和不易于切片的组织样本则需要在切片之前进行包埋处理<sup>[15-16]</sup>。对于中药材样本,质地较为坚硬的根茎类药材一般需要利用适宜的介质进行包埋处理后冷冻切片;而花、叶类中药鲜品在质谱数据采集过程中容易变形或移位,则需要采用转印法间接分析<sup>[17-18]</sup>。冷冻或包埋处理的样本通常采用冷冻切片机制备厚度均一的组织切片,厚度一般控制在 5~20 μm<sup>[19]</sup>,随后采用融裱法、胶带法等方

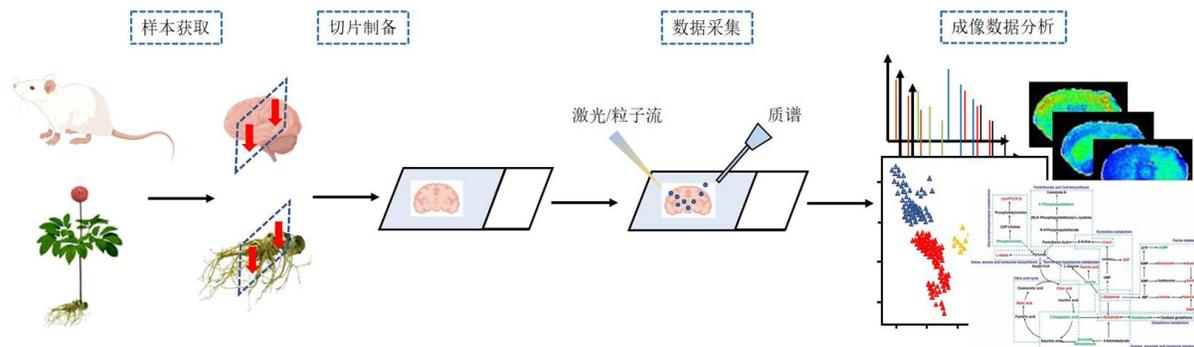


图1 空间代谢组学研究流程图

Fig. 1 Research procedures of spatial metabolomics

式将冷冻切片转移至质谱靶上。在质谱成像仪扫描采集质谱数据之前,需要根据采用的质谱成像技术对切片进行相应的预处理。在MALDI-MSI技术中,为了提高检测离子响应强度需要对样本切片涂覆基质,通常分析氨基酸、核苷酸类低相对分子质量化合物选用2,5-二羟基苯甲酸;分析蛋白质、低聚糖类化合物选用芥子酸;对于相对分子质量500以下的小分子化合物选用3,4-二甲氧基肉桂酸和纳米材料等新型基质<sup>[20]</sup>。采用SIMS-MSI、DESI-MSI和其他敞开式离子化质谱成像技术则无需预处理即可上机。

样本数据经质谱扫描仪采集后,需要对数据进行批量读取、背景扣除、数据筛选及生成图像等,常用的软件包有MassImager、MSiReader和ImageQuest等<sup>[21-22]</sup>。利用成像软件将成像离子图谱与组织切片的光学图像或连续切片的病理染色图像相结合,提取不同微区的质谱数据,进行多元统计分析,随后根据变量投影重要性指标、独立样本 $t$ 检验和倍率变化筛选差异代谢物。差异代谢物通过HMDB和METLIN等在线数据库进行二级碎片离子匹配后,经在线网站MetaboAnalyst进行代谢通路分析。

## 2 空间代谢组学在中药质量控制中的应用

中药质量控制是确保中药临床疗效的重要保障。中药药用部位的成分组成、含量和分布情况能够直观地反映中药质量,但传统分析方法难以实现。空间代谢组学利用质谱成像技术对成分进行原位表征,从而对中药品种、产地、生长年限、采摘时期和炮制加工等环节进行评价,在中药质量控制中具有广阔的应用前景。近年来,空间代谢组学在中药质量控制中的研究见表1。

Li等<sup>[23]</sup>基于MALDI-MSI技术对芍药和牡丹根

进行鉴别,对单萜类、丹皮酚苷类和鞣质酸等成分进行空间分布表征,其中芍药苷及其衍生物主要聚集在2种药材根的木质部和韧皮部,而牡丹皮苷和牡丹皮苷A等成分主要见于芍药根皮层和木质部及牡丹根的皮层和韧皮部。该研究首次可视化了没食子鞣质生物合成途径主要中间体的空间分布,发现没食子酸、没食子酰葡萄糖等13个主要中间体在2种药材根部的空间分布存在明显差异,为药用成分在不同药材中的空间分布及生物合成途径的研究具有指导意义。Nie等<sup>[24]</sup>首次采用DESI-MSI技术鉴定了板蓝根中包括生物碱、核苷和氨基酸类等在内的102个代谢物,并对其中19个代谢物在药材中的空间分布进行研究,其中优质板蓝根药材横截面皮部占比多于木部,且皮部中代谢物离子强度较高。该研究随后对不同品质板蓝根药材进行了正交偏最小二乘判别分析,发现精氨酸、3-甲酰基吲哚和紫丁香苷等11个代谢物可以作为区分优质和劣质板蓝根的质量控制标志物。与传统的板蓝根质量评价方法相比,该研究将板蓝根的形态特征与化学成分特征直接联系起来,进一步完善了板蓝根药材的质量控制方法。Liu等<sup>[25]</sup>建立了双层介质嵌入样品制备方法,并采用SIMS-MSI首次对天然和人工冬虫夏草的虫体进行原位化学成分分析和成像,鉴定并成像的成分超过200个,其中大多数成分在虫体中分布均匀,而三酰甘油、甘油二酯、髓鞘相关糖蛋白和脂肪酸类成分只在虫体的消化室外分布。该研究发现,除脂肪酸、甘油和甘油磷脂类成分外,2种冬虫夏草的氨基酸、核苷、单糖、鞘脂和甾醇类成分比例相当。相较于传统的冬虫夏草质量控制方法,仅能分析特定溶剂在特定条件下提取的一类或几类成分,该研究提供了一种无需溶剂萃取即可同时测定和评估各类成分的方法,为冬虫夏草的鉴别提供

表1 空间代谢组学在中药质量控制中的应用

Table 1 Applications of spatial metabolomics in quality control research of traditional Chinese medicine

| 中药      | 组织部位          | 分析技术      | 分析成分   | 文献    |
|---------|---------------|-----------|--|-------|
| 芍药、牡丹   | 根             | MALDI-MSI | 单萜苷类、芍药苷类、鞣质酸、黄酮类、糖类和脂类                        | 23    |
| 板蓝根     | 根             | DESI-MSI  | 精氨酸、前告伊春/表原告伊春、3-甲酰基咪唑、紫丁香苷、腺苷、苹果酸、腺嘌呤、异牡荆素等   | 24    |
| 冬虫夏草    | 虫体            | SIMS-MSI  | 脂肪酸、甘油脂类和甘油磷脂类等                                | 25    |
| 丹参      | 根、茎           | MALDI-MSI | 氨基酸、酚酸、脂肪酸、低聚糖、胆碱、丹参酮和磷脂类                      | 26    |
| 姜黄      | 根             | AP-MALDI  | 姜黄素及次级代谢物                                      | 27    |
| 三七      | 根茎、主根、分支根和纤维根 | MALDI-MSI | 三七皂苷、人参皂苷、氨基酸、水杨花碱、葡萄糖酸和低相对分子质量有机酸             | 28    |
| 黄连      | 根、茎           | SIMS-MSI  | 小檗碱、表小檗碱、黄连碱、黄藤素、非洲防己碱、药根碱、四去氢碎叶紫堇碱和氧化小檗碱      | 29    |
| 石斛      | 茎             | MALDI-MSI | 生物碱、倍半萜烯、石斛碱等                                  | 30    |
| 银杏      | 叶、幼茎、根        | MALDI-MSI | 黄酮类、类黄酮二聚体、银杏酚酸、腰果酚、糖类、磷脂类和叶绿素                 | 31    |
| 林下山参、园参 | 新鲜根           | LACFI-MSI | 单酰基甘油酯类、二酰基甘油酯类、三酰基甘油酯类、有机酸类和人参皂苷类             | 32    |
| 枸杞      | 新鲜果实          | MALDI-MSI | 胆碱、甜菜碱、柠檬酸、己糖和蔗糖                               | 33    |
| 人参      | 根             | MALDI-MSI | 人参皂苷类  | 34-35 |
|         | 新鲜根           | DESI-MSI  | 原人参三醇类、原人参二醇类等                                 | 36    |
| 连翘      | 果实            | MALDI-MSI | 松脂醇、连翘苷元、连翘苷 A、连翘苷 E、芦丁、咖啡酸、苹果酸、柠檬酸、硬脂酸、油酸和亚油酸 | 37    |
| 蒸制附子    | 新鲜根           | DESI-MSI  | 乌头属生物碱类  | 39    |
| 丹参      | 新鲜根           | MALDI-MSI | 丹参酮、丹酚酸、多胺、酚酸、氨基酸和低聚糖类                         | 38    |
| 蒸制天麻    | 茎             | MALDI-MSI | 巴利森苷类及其降解产物                                    | 40    |
| 酒制女贞子   | 果实            | MALDI-MSI | 烯酸、红景天苷、新女贞苷/异构体、毛蕊花苷/异构体和木犀草素等                | 41    |
| 蒸制三七    | 新鲜根           | MALDI-MSI | 人参皂苷类  | 42    |

了新方案。此外，研究者对丹参<sup>[26]</sup>、姜黄素<sup>[27]</sup>、三七<sup>[28]</sup>、黄连<sup>[29]</sup>、石斛<sup>[30]</sup>和银杏<sup>[31]</sup>等药材成分的空间分布均进行了表征，为该类药材的质量控制和成分特征部位的分离提取提供参考。

生长环境和年限能够对中药成分组成及含量产生直接影响，是中药材质量控制的主要考察指标。Lu 等<sup>[32]</sup>建立了高灵敏度的激光烧蚀碳纤维离子化质谱成像 (laser ablation carbon fiber ionization mass spectrometry imaging, LACFI-MSI) 分析方法，对不同年限林下山参和园参新鲜根中活性代谢物的空间分布进行了表征。该研究利用碳碳双键广泛存在于人参皂苷类、聚乙烯类和萜烯类等活性成分中，采用 $[d_0]/[d_{10}]$ -双(吡啶)四氟硼化碘作为碳碳双键衍生化试剂增强代谢物响应度，同时可视化了 52 种

代谢物的空间分布，并通过相关性分析发现林下山参中代谢物的相关性高于园参。该研究避免了利用单一生物活性成分作为区分林下山参和园林参的不足。Zhao 等<sup>[33]</sup>基于 MALDI-MSI 技术对枸杞果实发育过程中内源性分子的空间分布进行了可视化，结果显示在此过程中内源性分子空间分布差异较大。其中，胆碱、甜菜碱和柠檬酸均呈均匀分布，己糖主要分布在内果皮和果肉组织中，蔗糖主要分布在种子组织中。随着果实的发育，柠檬酸的信号强度降低，而胆碱、甜菜碱、己糖和蔗糖的信号强度增加。该研究填补了传统技术无法呈现的内源性分子空间分布信息，为深入了解内源性分子生物合成和积累过程提供了新思路。此外，研究者对不同生长年限的人参<sup>[34-36]</sup>、不同收获阶段的连翘<sup>[37]</sup>和连作丹

参<sup>[38]</sup>的成分空间分布进行分析,结果显示生长年限和收获阶段及种植方式不同中药所含成分会发生较大变化,为提高种植中药质量及中药材质量控制提供重要依据。

中药炮制是我国特有的药材加工环节,对中药药性转变、减毒增效等方面具有独特作用,运用空间代谢组学技术能够直观反映出炮制前后中药所含成分的变化,可为炮制的工艺优化提供科学指导。Liu等<sup>[39]</sup>通过结合 DESI-MSI 和代谢组学技术,对不同时间蒸制的附子中乌头属生物碱类化合物进行质谱成像和分析,发现生附子和制附子内乌头碱类成分明显不同,且蒸制 4 h 对毒性成分的减弱及药效成分的保留效果最佳。同时,筛选了 42 个代谢标志物用于区分蒸制 4、8 h 的附子,并揭示了蒸制中的减毒过程主要是二酯二萜生物碱水解为单酯二萜生物碱再水解为非酯化二萜生物碱。该研究简化了传统分析方法中复杂的样本制备过程,从原始药材样本中直接分析和识别毒性成分变化,为确定附子的最佳炮制时间提供了理论依据。Ma 等<sup>[40]</sup>利用 MALDI-MSI 技术对天麻在蒸制过程中 13 个酚类内源性分子的

“空间-时间-含量”进行表征,并通过整合巴利森苷类成分与相应水解酶的空间分布信息,揭示了蒸制能够导致水解酶失活进而保护巴利森苷类成分,为天麻炮制工艺的改进和标准化奠定了基础。另外,通过分析女贞子<sup>[41]</sup>和三七<sup>[42]</sup>药材炮制过程中成分的空间分布情况发现,炮制过程中中药成分发现明显变化,为从宏观角度阐明中药炮制机制提供理论支撑。

### 3 空间代谢组学在中药的生物体内代谢及分布研究中的应用

中药活性成分在动物各组织中的分布和代谢情况对明确中药的靶器官、药效物质基础、作用机制和评估潜在不良反应具有重要作用。然而,传统分析技术在样本制备过程中会破坏组织结构,难以清晰表征中药活性成分及代谢物在区域内分布情况。空间代谢组学依托质谱成像技术,结合多变量统计分析手段,能够同时表征中药活性成分及其代谢物在不同组织器官整体或微区的空间代谢分布,呈现更为完整的代谢过程。近年来,空间代谢组学在中药的生物体内代谢分布中的研究见表 2。

Gao 等<sup>[43]</sup>采用 DESI-MSI 技术对 7 种钩藤生物

表 2 空间代谢组学在中药的生物体内代谢及分布研究中的应用

Table 2 Applications of spatial metabolomics in metabolism and distribution research of traditional Chinese medicine in organism

| 中药                   | 给药方式 | 样本类型              | 分析技术      | 代谢及分布   | 文献 |
|----------------------|------|-------------------|-----------|---|----|
| 钩藤生物碱                | iv   | 大鼠脑组织             | DESI-MSI  | 在大脑矢状面呈弥漫性分布,松果体中钩藤生物碱浓度高于其他脑区  | 43 |
| 野黄芩苷                 | ip   | 小鼠肾脏              | MALDI-MSI | 主要分布于肾皮质和髓质区且浓度较高,部分代谢产物出现在皮质区且丰度较低   | 44 |
| 消渴丸                  | 浸泡   | 斑马鱼               | DESI-MSI  | 检测到原型成分 13 个, I 或 II 相代谢产物 36 个,其中芒柄花黄素体内形成芒柄花黄素葡萄糖醛酸结合物,广泛分布,以头部和胃肠道居多         | 45 |
| 人参皂苷 Rg <sub>1</sub> | iv   | 大鼠脑、心脏、肝脏、肾脏、肺和胰腺 | DESI-MSI  | 在肾脏浓度最高,随后依次为肝脏、肺、胰腺、心脏和大脑,1 h 内在体内迅速消除;主要聚集于肾盂部分,且给药 15 min 后可到达大脑脑桥和延髓区       | 46 |
| 红景天苷                 | iv   | 小鼠脑、心脏、肝脏、肾脏、肺和脾脏 | MALDI-MSI | 主要分布于肝脏、肾脏和肺中,且在肝脏和肺中呈均匀分布,而在肾脏中则呈不均匀分布;给药后 5 min 内经肾脏迅速消除                      | 47 |
| 紫杉醇、紫杉醇前体药物          | iv   | 整体裸小鼠、肿瘤组织        | VC-QMSI   | 广泛分布于裸小鼠的全身组织切片中,胃肠道部位蓄积明显高于其他组织器官,且肾脏和脑中几乎不分布;紫杉醇前体药物给药 24 h 后显著蓄积于肿瘤组织,随后为肺和肠 | 48 |

碱在大鼠大脑的分布情况进行定量成像,发现7种生物碱在大鼠大脑存在相似的分布特征且呈弥漫分布,分布趋势分别为单萜吡啶生物碱>单萜氧化吡啶生物碱,*R*型异构体>*S*型异构体。该研究首次在松果体中检测到钩藤生物碱,对今后该类成分的药效学研究具有指导意义。Wang等<sup>[44]</sup>结合MALDI-MSI技术成功建立了针对野黄芩苷和其代谢物在小鼠肾脏的成像方法,优化了氧化石墨烯和咖啡酸的二元基质检测条件,提高野黄芩苷及3个代谢物在小鼠肾组织切片中的检测效率。此外,相较于传统代谢组学技术无法提供活性成分在组织内的空间分布信息,该研究在小鼠ip野黄芩苷后,发现野黄芩苷及其代谢物野黄芩素2种成分主要分布在肾皮质和髓质区且丰度较高,提示其可能具有预防和治疗肾脏疾病的潜能。Zhu等<sup>[45]</sup>通过超高效液相色谱-高分辨质谱和DESI-MSI技术,结合内部非目标精确和彻底背景扣除数据处理技术,用于消渴丸在斑马鱼体内的药动学分析。该研究在斑马鱼体内共检测出消渴丸相关的13种原型成分和36种代谢物。随后对芒柄花黄素在斑马鱼体内代谢分布的研究发现,其能够进入斑马鱼体循环,并与体内葡萄糖醛酸结合形成芒柄花黄素葡萄糖醛酸结合物,在体内广泛分布,尤以头部和胃肠道居多。该研究为快速分析中药复方在生物体内的药动学特征及有效活性成分的高通量筛选提供了参考。Wei等<sup>[46]</sup>建立了基于液相色谱串联质谱联合DESI技术,用于分析大鼠iv人参皂苷Rg<sub>1</sub>后不同时间点在各组织切片内的空间分布情况,其中人参皂苷Rg<sub>1</sub>在肾脏浓度最高,随后依次为肝脏、肺、胰腺、心脏和大脑,并在1h内迅速清除。同时,该研究亦发现人参皂苷Rg<sub>1</sub>在肾脏主要集中在肾盂段,而在大脑则分布于脑桥和延髓区。此项研究真实地反映了人参皂苷Rg<sub>1</sub>在各组织中的空间分布信息,为进一步探究其疗效及药物开发提供了参考。Meng等<sup>[47]</sup>使用MALDI-MSI技术对红景天苷在小鼠肾脏、肝脏和脾脏等多个组织器官切片中的分布情况进行成像表征,该研究发现小鼠iv红景天苷后,主要分布于肝脏、肾脏和肺中,且在肝脏和肺中呈均匀分布,而在肾脏中则呈不均匀分布,推测可能与不同组织区域的血流灌注差异及葡萄糖共同转运体的不均匀表达有关。同时该研究证实MALDI-MSI技术与传统技术分析结果一致,但能够将红景天苷在组织中的分布情况可视化,促进其对各器官的生物活性

及潜在毒性的研究。Zhang等<sup>[48]</sup>利用虚拟校准定量质谱成像(virtual calibration quantitative mass spectrometry imaging, VC-QMSI)和AFADESI-MSI方法对紫杉醇和其前体药物在整体裸小鼠和其皮下移植肿瘤组织切片中的分布情况进行定量分析,发现在注射紫杉醇或其脂质体后,药物分布在裸小鼠的多个器官内,并且在胃肠道部位积累明显,而肾脏几乎无分布,提示紫杉醇主要通过胆汁排泄到粪便中。而注射紫杉醇前体药物后,其与代谢后产生的紫杉醇则主要分布在肿瘤组织部位,并且在肿瘤内低分化区和坏死区存在明显特异性聚集。该研究为寻找中药靶器官、预测中药药效及安全性具有指导意义。

#### 4 空间代谢组学在中药药效机制研究中的应用

中药及中药复方因其多成分、多靶点特性在治疗复杂疾病方面具有突出优势,但也为阐明药效机制带来了挑战。空间代谢组学技术能够对代谢物在组织整体或微区的分布进行原位表征,并且与组织病理学结果相关联,更为深入地揭示药效与代谢物之间的相互作用,为中药药效机制赋予科学内涵。近年来基于空间代谢组学的中药药效及作用机制研究见表3。

Huang等<sup>[49]</sup>基于DESI-MSI的空间代谢组学方法,研究人参和西洋参对大鼠脑内神经化学物质分布的影响。采用DESI-MSI技术对大鼠脑组织切片进行数据采集,随后通过偏最小二乘判别分析对温性和寒性相关的神经化学物质进行区分,筛选并鉴定出与人和西洋参不同特性相关的神经化学标志物。该研究共鉴定了25个神经化学物质,并对其进行了质谱成像分析,均主要分布于大脑矢状面和冠状面,其中17个归类为温性标志物,8个归类为凉性标志物。该研究根据神经化学物质的贡献度证明人参具有温性,而西洋参具有凉性。同时发现温性和凉性神经化学物质在大脑不同区域的分布及含量变化均会影响机体功能和代谢的变化,为揭示大鼠脑内小分子神经化学物质的空间分布和代谢提供了一种快速有效地可视化方案。Li等<sup>[50]</sup>利用基于液体萃取表面采样方法和纳米喷雾DESI-MSI(nano-spray DESI-MSI, nanoDESI-MSI)的空间代谢组学技术对外伤性脑损伤(traumatic brain injury, TBI)发病机制及血府逐瘀汤治疗作用机制进行了研究。采用脂质代谢组学分析空白组、TBI组和血府逐瘀汤治疗组大鼠不同脑区组织的差异脂质物质,随后

表 3 空间代谢组学在中药药效及作用机制研究中的应用

Table 3 Applications of spatial metabolomics in efficacy and mechanism research of traditional Chinese medicine

| 中药       | 疾病       | 样本类型    | 分析技术         | 药效机制                                  | 文献 |
|----------|----------|---------|--------------|---------------------------------------|----|
| 人参、西洋参   | 神经系统     | 大鼠脑组织   | DESI-MSI     | 通过影响大脑中温性和凉性标志物的含量和空间分布而发挥神经调节作用      | 49 |
| 血府逐瘀汤    | 外伤性脑损伤   | 大鼠脑组织   | nanoDESI-MSI | 调节磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰酸和二酰甘油等类代谢途径        | 50 |
| 蟾毒灵、华蟾蜍精 | 肿瘤疾病     | 裸小鼠肿瘤组织 | MALDI-MSI    | 调节鞘脂、甘油磷脂代谢途径                         | 51 |
| 百里酞      | 脑缺血再灌注损伤 | 大鼠脑组织   | MALDI-MSI    | 调节能量代谢和兴奋性氨基酸、磷脂、抗氧化分子和金属离子水平         | 52 |
| 聚果榕果提取物  | 糖尿病并发症   | 大鼠肝脏    | DESI-MSI     | 调节嘌呤代谢、糖酵解/糖异生、精氨酸生物合成、组氨酸代谢和三羧酸循环等途径 | 53 |

利用微液节点采样质谱成像技术分析大鼠脑组织切片, 获取目标脂质物质在不同组大鼠各脑区的定量空间分布情况, 进而揭示疾病进程及治疗响应机制。该研究发现 TBI 后损伤区域外弥漫性变化最大的是中脑区, 并且在在中脑和丘脑中多种磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰酸和二酰甘油类代谢物含量在血府逐瘀汤治疗后显著升高, 这与神经炎症在 TBI 慢性期激活的“自我修复”机制有关。另外, 脑损伤后大部分脑区内的糖鞘脂类含量显著升高, 并且包括脂肪酸、氨基酸和嘌呤等在内的小分子代谢物在 TBI 后均发生明显变化, 涉及 10 条代谢通路, 其中 6 个血府逐瘀汤的靶蛋白与上述通路相关。Zhang 等<sup>[51]</sup>利用脂质组学和 MALDI-MSI 技术对蟾毒灵、华蟾蜍精及联合治疗作用后的裸鼠肿瘤组织及切片进行分析, 阐明蟾毒灵联合华蟾蜍精抗癌的药效作用机制。研究发现蟾毒灵联合华蟾蜍精使用主要引起肿瘤细胞中鞘脂和甘油磷脂类脂质代谢物的改变, 进一步证实其影响了相关代谢酶的表达, 从而导致肿瘤细胞线粒体驱动的细胞凋亡和生物膜的系统性破坏。同时, 该研究通过对抗癌脂质标志物进行空间分布可视化, 发现卵磷脂 (20:1/18:2) 和磷脂酰甘油 (16:0/18:2) 等 4 个显著变化的脂质代谢物主要分布在肿瘤的实质区和间质区。该研究为揭示脂质重编程在蟾毒灵联合华蟾蜍精抗癌中的作用及临床应用提供了理论依据。Tian 等<sup>[52]</sup>首次利用 MALDI-MSI 技术对百里酞治疗大鼠脑缺血再灌注损伤的作用机制进行了研究, 发现百里酞能够改善模型大鼠神经行为评分, 减少脑梗死面积及脑水肿, 增加损伤后正常神经元数量。进一步对大鼠脑组织切片的质谱成像研究发现, 大鼠脑缺血区

主要位于受损伤侧的皮层和纹状体区域, 并且百里酞能够升高损伤区能量代谢、抗氧化和磷脂类等分子代谢物的含量, 揭示了百里酞药效机制可能与调节能量代谢和小分子基底物质代谢有关。Liu 等<sup>[53]</sup>基于代谢组学和 DESI-MSI 技术研究了聚果榕果治疗糖尿病大鼠的潜在药效机制。发现聚果榕果提取物能够抑制血糖水平并改善组织损伤程度, 通过血清和肝脏代谢学组及肝脏组织切片质谱成像分析结果相互印证, 明确聚果榕果的药效作用机制与调节氨基酸代谢和能量代谢有关。该研究为阐明中药药效作用机制提供了新思路。

### 5 空间代谢组学在中药毒性机制研究中的应用

由于中药中部分药材存在严重的多器官毒性, 使含毒性药材的中药复方安全性备受质疑。然而, 中药毒性成分往往是其药效成分, 并具有其他中药无法替代的独特疗效。因此, 明确中药毒性物质基础及作用机制对有毒中药的减毒增效、临床合理应用及低毒新药研发意义重大。空间代谢组学能够研究毒性中药成分及其代谢物在组织器官内的分布及生物代谢过程情况, 为确定毒性靶器官并揭示毒性分子机制提供科学依据。

Wang 等<sup>[54]</sup>采用基于 AFADESI-MSI 技术的空间代谢组学方法, 研究了马兜铃酸 I 给药后大鼠肾脏切片的空间代谢谱变化情况并揭示了其肾毒性作用机制, 筛选出了包括肌酸酐、肌酸和精氨酸等在内的 38 个差异代谢物, 涉及通路包括精氨酸-肌酸酐代谢通路、尿素循环、丝氨酸合成通路、脂类、胆碱、组胺、赖氨酸和三磷酸腺苷的代谢通路。通过质谱成像与相邻组织的病理切片对比发现, 涉及代谢物主要分布在肾组织形态改变的病理病变区

域。此外,发现给予马兜铃酸 I 后大鼠肾皮质的代谢变化比肾外髓质和肾内髓质的代谢变化更显著,提示肾皮质对马兜铃酸 I 毒性更为易感。与传统代谢组学技术分析结果相比,该研究可视化了差异代谢物在组织内的空间分布情况,更有利于筛选与药物毒性密切相关的原位生物标志物,揭示潜在的毒性分子机制。Li 等<sup>[55]</sup>通过空间代谢组学和脂质组学方法对鱼藤酮致小菜虫毒性作用机制进行了研究。通过对小菜虫整体切片的质谱成像分析发现,单磷酸腺苷和肌苷在小菜蛾全身分布且在鱼藤酮暴露后水平显著升高,而鸟苷-5'-单磷酸和色氨酸则显著下调,提示鱼藤酮能够影响小菜蛾体内嘌呤和氨基酸代谢。空间脂质组学结果表明,鱼藤酮可显著破坏小菜蛾细胞膜中的甘油磷脂,抑制脂肪酸生物合成,消耗甘油二酯,促进脂肪氧化。该研究表明空间代谢组学不仅能够发现代谢变化,而且亦可揭示代谢变化涉及的特定组织区域及关键代谢途径,为中药的毒性作用机制研究提供了新方案。Jiang 等<sup>[56]</sup>采用空间代谢组学与网络毒理学整合分析方法,对何首乌导致肝毒性作用机制进行研究。利用网络毒理学筛选出何首乌的 30 个潜在肝毒性作用靶点,涉及的通路包括磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)-蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)、丝裂原活化蛋白激酶、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、Ras 和缺氧诱导因子-1 通路,并且分子对接结果证实 8 个关键毒性成分与 mTOR、PIK3CA 和 Akt1 等 10 个核心靶点具有高结合活性。对小鼠肝脏切片的空间代谢组学分析发现,何首乌提取物给予小鼠后肝脏代谢分布显著改变,筛选出牛磺酸、牛磺胆酸、腺苷和乙酰肉毒碱类等小分子代谢物与何首乌肝毒性有关,涉及通路包括亚麻酸和亚油酸代谢、肉毒碱合成和支链脂肪酸氧化等 6 条代谢通路。随后,整合分析发现何首乌导致肝毒性机制与胆汁淤积、线粒体损伤、氧化应激和能量、脂质代谢紊乱密切相关,为何首乌的肝毒性机制及安全临床应用提供了理论基础。

## 6 结语与展望

空间代谢组学是近年来基于质谱成像技术逐渐发展起来的组学研究新方法,其填补了传统代谢组学对原位可视化分析的不足,在寻找潜在生物标志物和阐明疾病的发病机制等方面取得了诸多研究成果,已成为生命科学及医学等领域的研究热点。将

空间代谢组学技术引入到中药领域研究中,能够为中药质量控制、体内代谢分布、药效机制和毒性机制的研究提供新的视角。然而,目前空间代谢组学在中药领域的研究仍处于起步发展阶段,在实际应用过程中,仍然存在诸多不足,可以从以下方面开展深入研究:(1)空间代谢组学在样本制备、数据采集和处理等其他关键性操作过程中尚未形成统一规范的操作准则,导致实验结果重现性较差,因此有必要建立规范的空间代谢组学操作流程和定量分析方法;(2)空间代谢组学利用质谱成像仪捕获组织切片中代谢物的精确质谱信息,仪器的灵敏度和分辨率对后续分析至关重要,而提高检测分辨率将大大延长成像时间,因此迫切需要能够兼顾高分辨率和成像速度的新型高灵敏度质谱成像设备;(3)深入开展中药活性/毒性成分及其代谢产物与体内差异代谢物的空间分布关联性研究,进而明确中药活性/毒性成分及其作用靶区,更精确地阐明中药的药效或毒性作用机制;(4)将空间代谢组学与空间蛋白质组学和空间转录组学等空间组学技术相结合,实现在细胞或亚细胞水平对中药质量控制、代谢分布及药效或毒性机制等的深层次研究。综上所述,空间代谢组学技术在中药领域的研究仍存在巨大的发展空间,经过不断地完善与创新,必然会进一步推动中药的现代化发展。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Wang M, Chen L, Liu D, *et al.* Metabolomics highlights pharmacological bioactivity and biochemical mechanism of traditional Chinese medicine [J]. *Chem Biol Interact*, 2017, 273: 133-141.
- [2] 崔芙岩, 杨佳颖, 王志刚, 等. 代谢组学在中医药领域的应用与展望 [J]. *中草药*, 2022, 53(14): 4512-4526.
- [3] Nicholson J K, Lindon J C, Holmes E. 'Metabonomics': Understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data [J]. *Xenobiotica*, 1999, 29(11): 1181-1189.
- [4] Du X H, Yang L, Kong L, *et al.* Metabolomics of various samples advancing biomarker discovery and pathogenesis elucidation for diabetic retinopathy [J]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 1037164.
- [5] Wu G S, Li H K, Zhang W D. Metabolomics and its application in the treatment of coronary heart disease with traditional Chinese medicine [J]. *Chin J Nat Med*, 2019, 17(5): 321-330.

- [6] Dyar K A, Eckel-Mahan K L. Circadian metabolomics in time and space [J]. *Front Neurosci*, 2017, 11: 369.
- [7] Petras D, Jarmusch A K, Dorrestein P C. From single cells to our planet-recent advances in using mass spectrometry for spatially resolved metabolomics [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2017, 36: 24-31.
- [8] Fox B W, Schroeder F C. Toward spatially resolved metabolomics [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(10): 1039-1040.
- [9] Ma X, Fernández F M. Advances in mass spectrometry imaging for spatial cancer metabolomics [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2022, e21804.
- [10] 再帕尔·阿不力孜. 质谱分子成像技术与应用进展 [J]. *分析测试学报*, 2022, 41(9): 1335-1344.
- [11] Chughtai K, Heeren R M A. Mass spectrometric imaging for biomedical tissue analysis [J]. *Chem Rev*, 2010, 110(5): 3237-3277.
- [12] Hieta J P, Kopra J, Rääkkönen H, et al. Sub-100  $\mu\text{m}$  spatial resolution ambient mass spectrometry imaging of rodent brain with laser ablation atmospheric pressure photoionization (LAAPPI) and laser ablation electrospray ionization (LAESI) [J]. *Anal Chem*, 2020, 92(20): 13734-13741.
- [13] He J J, Luo Z G, Huang L, et al. Ambient mass spectrometry imaging metabolomics method provides novel insights into the action mechanism of drug candidates [J]. *Anal Chem*, 2015, 87(10): 5372-5379.
- [14] Buchberger A R, DeLaney K, Johnson J, et al. Mass spectrometry imaging: A review of emerging advancements and future insights [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(1): 240-265.
- [15] Goodwin R J A, Nilsson A, Borg D, et al. Conductive carbon tape used for support and mounting of both whole animal and fragile heat-treated tissue sections for MALDI MS imaging and quantitation [J]. *J Proteomics*, 2012, 75(16): 4912-4920.
- [16] Huber K, Khamehgir-Silz P, Schramm T, et al. Approaching cellular resolution and reliable identification in mass spectrometry imaging of tryptic peptides [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2018, 410(23): 5825-5837.
- [17] Li S L, Zhu N L, Tang C P, et al. Differential distribution of characteristic constituents in root, stem and leaf tissues of *Salvia miltiorrhiza* using MALDI mass spectrometry imaging [J]. *Fitoterapia*, 2020, 146: 104679.
- [18] Mohana Kumara P, Uma Shaanker R, Pradeep T. UPLC and ESI-MS analysis of metabolites of *Rauvolfia tetraphylla* L. and their spatial localization using desorption electrospray ionization (DESI) mass spectrometric imaging [J]. *Phytochemistry*, 2019, 159: 20-29.
- [19] He M J, Pu W J, Wang X, et al. Comparing DESI-MSI and MALDI-MSI mediated spatial metabolomics and their applications in cancer studies [J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 891018.
- [20] Zhu X P, Xu T Y, Peng C, et al. Advances in MALDI mass spectrometry imaging single cell and tissues [J]. *Front Chem*, 2021, 9: 782432.
- [21] Sun C L, Li T G, Song X W, et al. Spatially resolved metabolomics to discover tumor-associated metabolic alterations [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(1): 52-57.
- [22] Holm N B, Deryabina M, Knudsen C B, et al. Tissue distribution and metabolic profiling of cyclosporine (CsA) in mouse and rat investigated by DESI and MALDI mass spectrometry imaging (MSI) of whole-body and single organ cryo-sections [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2022, 414(24): 7167-7177.
- [23] Li B, Ge J Y, Liu W, et al. Unveiling spatial metabolome of *Paeonia suffruticosa* and *Paeonia lactiflora* roots using MALDI MS imaging [J]. *New Phytol*, 2021, 231(2): 892-902.
- [24] Nie L X, Huang L Y, Wang X P, et al. Desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging illustrates the quality characters of *Isatidis Radix* [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 897528.
- [25] Liu Q B, Lu J G, Jiang Z H, et al. *In situ* chemical profiling and imaging of cultured and natural *Cordyceps sinensis* by TOF-SIMS [J]. *Front Chem*, 2022, 10: 862007.
- [26] Sun C L, Liu W, Ma S S, et al. Development of a high-coverage matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging method for visualizing the spatial dynamics of functional metabolites in *Salvia miltiorrhiza* Bge [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1614: 460704.
- [27] Shimma S, Sagawa T. Microscopy and mass spectrometry imaging reveals the distributions of curcumin species in dried turmeric root [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(34): 9652-9657.
- [28] Sun C L, Ma S S, Li L L, et al. Visualizing the distributions and spatiotemporal changes of metabolites in *Panax notoginseng* by MALDI mass spectrometry imaging [J]. *J Ginseng Res*, 2021, 45(6): 726-733.
- [29] He F, Huang Y F, Dai W, et al. The localization of the alkaloids in *Coptis chinensis* rhizome by time-of-flight secondary ion mass spectrometry [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 1092643.
- [30] Liu Q L, Huang Y, Linghu C, et al. Metabolic profiling, in-

- situ spatial distribution, and biosynthetic pathway of functional metabolites in *Dendrobium nobile* stem revealed by combining UPLC-QTOF-MS with MALDI-TOF-MSI [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 1125872.
- [31] Li B, Neumann E K, Ge J Y, *et al.* Interrogation of spatial metabolome of *Ginkgo biloba* with high-resolution matrix-assisted laser desorption/ionization and laser desorption/ionization mass spectrometry imaging [J]. *Plant Cell Environ*, 2018, 41(11): 2693-2703.
- [32] Lu Y J, Cao Y Q, Chen D Q, *et al.* An online derivatization strategy targeting carbon-carbon double bonds by laser-ablation carbon fiber ionization mass spectrometry imaging: Unraveling the spatial characteristic in mountain-cultivated ginseng and garden-cultivated ginseng with different ages [J]. *Food Chem*, 2023, 410: 135365.
- [33] Zhao W H, Zhang Y D, Shi Y P. Visualizing the spatial distribution of endogenous molecules in wolfberry fruit at different development stages by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging [J]. *Talanta*, 2021, 234: 122687.
- [34] Bai H R, Wang S J, Liu J J, *et al.* Localization of ginsenosides in *Panax ginseng* with different age by matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry imaging [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1026: 263-271.
- [35] Lee J W, Ji S H, Lee Y S, *et al.* Mass spectrometry based profiling and imaging of various ginsenosides from *Panax ginseng* roots at different ages [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6): 1114.
- [36] Yang Y G, Yang Y B, Qiu H, *et al.* Localization of constituents for determining the age and parts of ginseng through ultraperformance liquid chromatography quadrupole/time of flight-mass spectrometry combined with desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 193: 113722.
- [37] Jing F T, Wang L, Yang M, *et al.* Visualizing the spatial distribution of functional metabolites in *Forsythia suspensa* at different harvest stages by MALDI mass spectrometry imaging [J]. *Fitoterapia*, 2022, 162: 105285.
- [38] Sun C L, Cui L, Zhou B Q, *et al.* Visualizing the spatial distribution and alteration of metabolites in continuously cropped *Salvia miltiorrhiza* Bge using MALDI-MSI [J]. *J Pharm Anal*, 2022, 12(5): 719-724.
- [39] Liu Y, Yang X X, Zhou C, *et al.* Unveiling dynamic changes of chemical constituents in raw and processed Fuzi with different steaming time points using desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging combined with metabolomics [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 842890.
- [40] Ma T Y, Sun C L, Han Y H, *et al.* Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging reveals “spatial-temporal-content” changes of parishins in *Gastrodiae Rhizoma* during the steaming process [J]. *Food Res Int*, 2022, 162(Pt B): 112092.
- [41] Li M R, Wang X Y, Han L F, *et al.* Integration of multicomponent characterization, untargeted metabolomics and mass spectrometry imaging to unveil the holistic chemical transformations and key markers associated with wine steaming of *Ligustri Lucidi Fructus* [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1624: 461228.
- [42] Fan W X, Yang Y G, Li L N, *et al.* Mass spectrometry-based profiling and imaging strategy, a fit-for-purpose tool for unveiling the transformations of ginsenosides in *Panax notoginseng* during processing [J]. *Phytomedicine*, 2022, 103: 154223.
- [43] Gao L, Zhang Z J, Wu W Y, *et al.* Quantitative imaging of natural products in fine brain regions using desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging (DESI-MSI): *Uncaria* alkaloids as a case study [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2022, 414(17): 4999-5007.
- [44] Wang T, Lee H K, Yue G G L, *et al.* A novel binary matrix consisting of graphene oxide and caffeic acid for the analysis of scutellarin and its metabolites in mouse kidney by MALDI imaging [J]. *Analyst*, 2021, 146(1): 289-295.
- [45] Zhu C Y, Jiang X J, Tian J J, *et al.* Integrated approach toward absorption, distribution, metabolism, and excretion of Xiaoke Pills in zebrafish based on UPLC-HRMS and DESI-MS techniques [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2022, 1200: 123276.
- [46] Wei W L, Li Z W, Li H, *et al.* Exploration of tissue distribution of ginsenoside Rg<sub>1</sub> by LC-MS/MS and nanospray desorption electrospray ionization mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, 198: 113999.
- [47] Meng X Y, Fu W Q, Huo M L, *et al.* In situ label-free visualization of tissue distributions of salidroside in multiple mouse organs by MALDI-MS imaging [J]. *Int J Mass Spectrom*, 2020, 453: 116347.
- [48] Zhang J, Du Q Q, Song X W, *et al.* Evaluation of the tumor-targeting efficiency and intratumor heterogeneity of anticancer drugs using quantitative mass spectrometry imaging [J]. *Theranostics*, 2020, 10(6): 2621-2630.
- [49] Huang X, Wang R, Wang Y K, *et al.* Investigation on property differences of ginseng and American ginseng by

- spatial metabolomics of neurochemicals with desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 303: 116006.
- [50] Li Y M, Wu Q, Hu E, *et al.* Quantitative mass spectrometry imaging of metabolomes and lipidomes for tracking changes and therapeutic response in traumatic brain injury surrounding injured area at chronic phase [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2021, 12(8): 1363-1375.
- [51] Zhang J H, Hong Y J, Xie P S, *et al.* Spatial lipidomics reveals anticancer mechanisms of bufalin in combination with cinobufagin in tumor-bearing mice [J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 593815.
- [52] Tian F, Liu R Z, Fan C X, *et al.* Effects of thymoquinone on small-molecule metabolites in a rat model of cerebral ischemia reperfusion injury assessed using MALDI-MSI [J]. *Metabolites*, 2020, 10(1): 27.
- [53] Liu Y Q, Zheng W, Zhang L, *et al.* Metabolomics-based evidence of the hypoglycemic effect and alleviation of diabetic complications by *Ficus racemosa* fruit in diabetic mice [J]. *Food Funct*, 2022, 13(14): 7871-7884.
- [54] Wang Z H, He B S, Liu Y Q, *et al.* *In situ* metabolomics in nephrotoxicity of aristolochic acids based on air flow-assisted desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(6): 1083-1093.
- [55] Li P, Tian Y Q, Du M Y, *et al.* Mechanism of rotenone toxicity against *Plutella xylostella*: New perspective from a spatial metabolomics and lipidomics study [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(1): 211-222.
- [56] Jiang H Y, Gao H Y, Li J, *et al.* Integrated spatially resolved metabolomics and network toxicology to investigate the hepatotoxicity mechanisms of component D of *Polygonum multiflorum* Thunb [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 298: 115630.

[责任编辑 赵慧亮]