

• 综 述 •

代谢组学前沿技术进展及在中药现代研究中的应用

刘慧敏, 张悦, 王佳艺, 聂嘉璇, 宋丽丽*, 李遇伯*

天津中医药大学中药学院, 天津 301600

摘要: 由于中药成分复杂具有多靶点调节作用, 导致其产生的药效和毒性的机制较为复杂, 而科学地阐释中药药效和毒性机制是解决制约中药现代化发展的有效途径。代谢组学技术具有高通量、系统性等特点, 在阐明中药药效和毒性作用机制具有显著优势。通过对代谢组学前沿技术在中药现代研究中的应用进行综述, 介绍了原位质谱、质谱成像、代谢流、单细胞代谢组学技术的原理、操作流程, 列举了不同技术在中药安全性、中药药效物质及作用机制、中药炮制机制及药用植物的应用实例, 并对各技术的优势与不足进行总结, 为代谢组学前沿技术未来的应用策略提供依据。

关键词: 原位质谱; 质谱成像; 代谢流; 单细胞代谢组学; 中药现代化

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)03-0969-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.03.027

Advances in frontier technologies in metabolomics and their application in modern research of Chinese medicine

LIU Huimin, ZHANG Yue, WANG Jiayi, NIE Jiaxuan, SONG Lili, LI Yubo

School of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301600, China

Abstract: Due to the complexity of the components of traditional Chinese medicine (TCM) with multi-target regulatory effects, resulting in the generation of its efficacy and toxicity of the mechanism is more complex, and the scientific interpretation of the mechanism of efficacy and toxicity of TCM is an effective way to solve the constraints on the modernization of the development of TCM. Metabolomics technology has significant advantages in elucidating the mechanism of drug effect and toxicity of TCM due to its high throughput and systematic characteristics. This paper reviews the application of cutting-edge metabolomics technology in modern research of TCM, and introduces the principle and operation process of *in situ* mass spectrometry, mass spectrometry imaging, metabolic flow, and single-cell metabolomics technology. In this paper, examples of the application of different technologies in the safety of TCM, the active substances and mechanisms of TCM, the processing mechanism of TCM and medicinal plants are listed, and the advantages and disadvantages of each technology are summarized to provide a basis for the future application strategy of forward metabolomics technology.

Key words: *in situ* mass spectrometry; mass spectrometry imaging; metabolic flux; single-cell metabolomics; modernization of traditional Chinese medicine

代谢组学是继基因组学、转录组学和蛋白组学发展起来的一门新兴组学技术, 可以对机体内的低分子物质进行捕捉^[1]; 同时代谢组学作为系统生物学的重要组成部分, 具有整体性和动态性的特点,

可以探究整个机体的生理和病理变化^[2]。

中药因其治疗效果好、不良反应小等被广泛应用于各种疾病的治疗^[3], 同时在预防和保健方面都有着卓越的贡献^[4], 中药的“多组分”能够作用于“多

收稿日期: 2023-07-05

基金项目: 国家中医药管理局青年岐黄学者支持项目; 国家自然科学基金资助项目 (82374162)

作者简介: 刘慧敏, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药分析。E-mail: li3890152167@163.com

*通信作者: 李遇伯, 女, 教授, 博士生导师, 从事代谢组学及毒性评价研究。E-mail: yuboli1@163.com

宋丽丽, 女, 副教授, 硕士生导师, 从事代谢组学和中药分析研究。E-mail: sll0204@163.com

靶点”协同发挥治疗作用^[5],因此普通分析方法很难全面分析中药的药效和毒性机制。代谢组学“整体性、动态性、综合性”与中药“多组分、多靶点、多途径”的特点不谋而和^[6],目前已利用代谢组学技术在中药作用机制^[7]、中药安全性^[8-10]、中药化学成分^[11]、中药鉴定^[12]等中药相关领域进行研究。但由于当前组学技术的限制,代谢组学技术检测缺少空间维度信息,无法准确反映组织的动态代谢过程及代谢网络^[13],因此亟需发展高分辨、高覆盖的分析方法用于代谢组学的定性定量分析。

原位质谱、质谱成像、代谢流、单细胞代谢组学等技术的出现能够快捷、方便、全面、深入地

中药研究提供提示和导向,基于以上的代谢组学新技术对中药进行快捷实时的定性分析;其次通过对内源性 & 外源性物质在不同组织、器官等的可视化,更直观地分析药物在生物体内的分布;再者,通过对生物体中代谢产物的动态跟踪,了解代谢物在生物体内整个变化过程和流向;最后深入分析单个细胞或亚细胞层面的代谢物。上述的代谢组学前沿技术为解决中药现代化问题提供新的研究思路,促进了代谢组学技术的创新与发展(图 1)。

1 4 种代谢组学前沿技术的概述

1.1 原位质谱

Takáts 等^[14]在 2004 年发明了解吸电喷雾电离

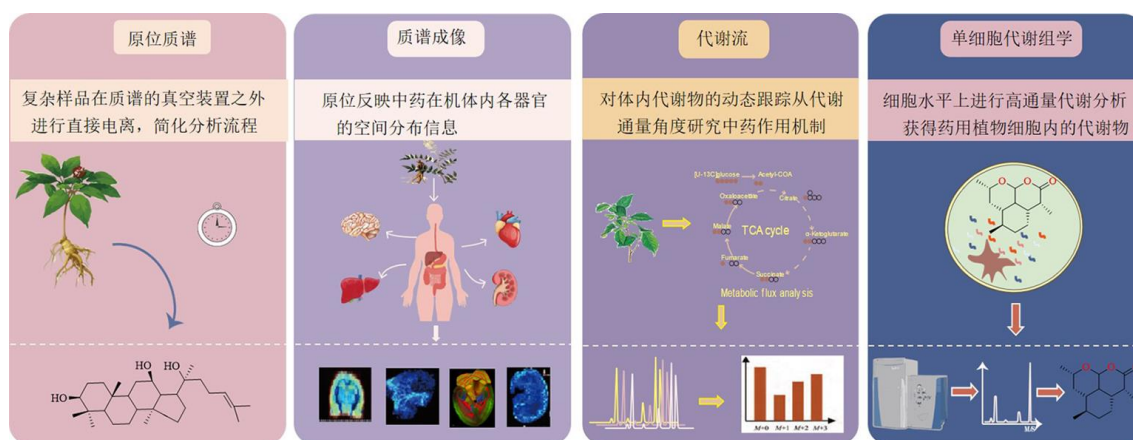


图 1 代谢组学前沿技术

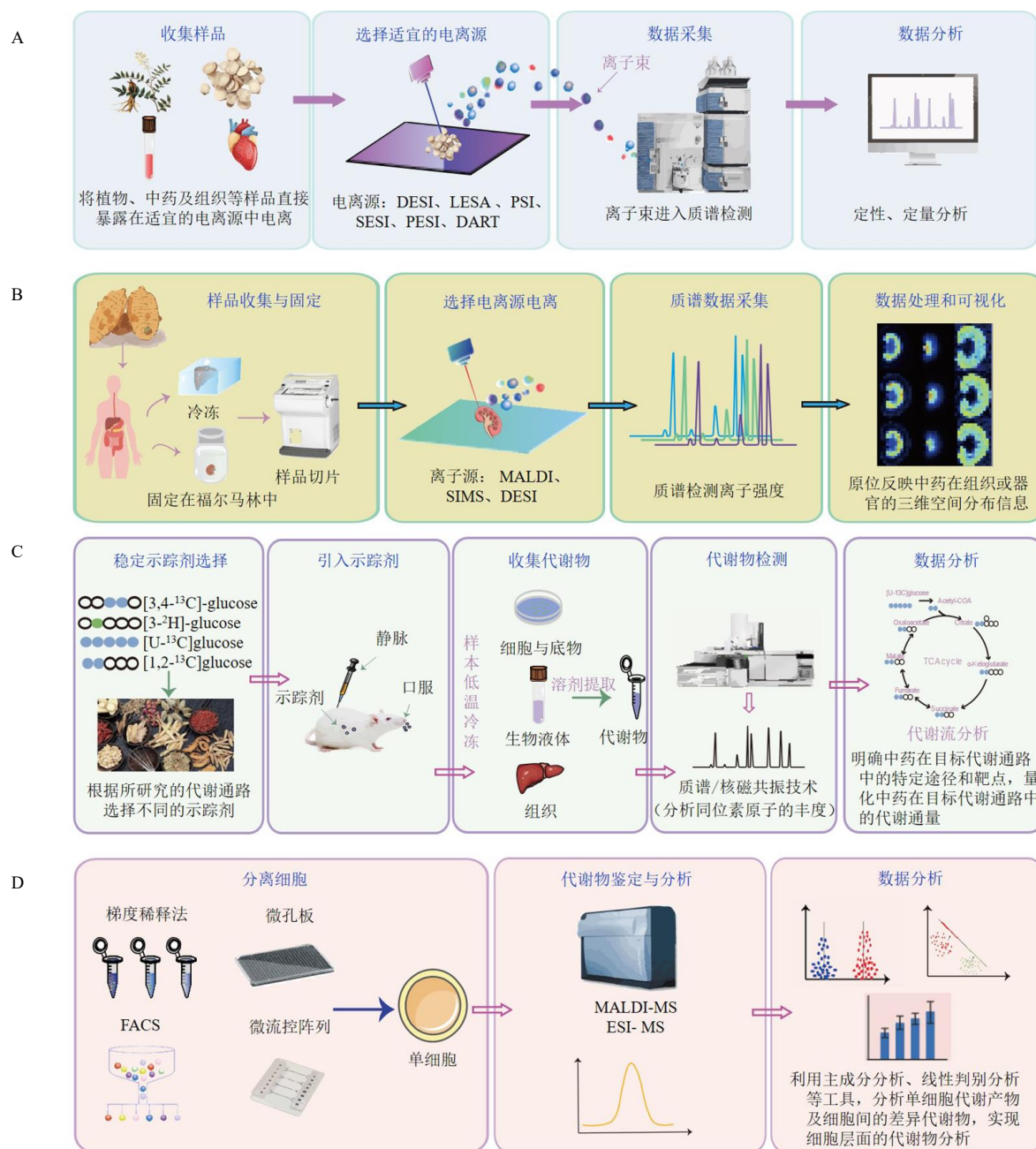
Fig. 1 Metabolomics frontier technologies

(desorption electrospray ionization, DESI) 技术,开创了常压敞开式离子化技术的先河,并且首先研究了 DESI 质谱技术的实际应用^[15],随着原位电离质谱技术的引入,质谱领域进入了一个新时代,原位质谱是能够在普通样品的原生环境中进行,不需要通过在仪器外制造离子进行预分离^[16],能够简化分析流程,但其准确度和精密度相对较低。目前原位质谱在中药研究^[17]、食品安全检测^[18]、癌症研究^[19]、临床诊断^[20]、法医刑侦^[21]等领域得到了广泛应用。原位质谱实时分析不需要大量样品的制备过程,能够避免代谢物在进行样品制备时发生生物反应改变其状态,进一步扩展其适用性,实现快速的分析。但还需提高对代谢物检测的准确性和精密度。根据所构建的离子源不同原位质谱可分为以下几类: DESI^[22]、激光烧蚀电喷雾电离^[16]、纸喷雾电离 (paper spray ionization, PSI)^[23]、探针电喷雾电离 (probe electrospray ionization, PESI)^[24]、液体萃取

表面分析 (liquid extraction surface analysis, LESA)、实时直接电离技术 (direct analysis in real time, DART)^[25]、介质阻挡放电电离^[26]、快速蒸发电离^[27]和二次电喷雾电离 (secondary electrospray ionization, SESI)^[28]。原位质谱操作流程见图 2-A。

1.2 质谱成像

质谱成像是一种无标记的分子成像技术,能够将质谱数据转变为可视化的离子成像图,无需复杂的样品处理就能快速分析中药和天然化合物的前景技术^[29-30],可以无靶向地检测各种生物分子和异种生物^[31];但在绝对定量分析方面还存在一定困难;质谱成像在中药研究^[32]、病毒研究^[33]、生物标志物的研究^[34]、肿瘤研究^[35]、法医刑侦^[36]等领域已得到广泛应用。在代谢组学的研究中,利用质谱成像可准确识别并定位多种代谢物在组织及细胞间的差异性分布^[37],实现动物组织中外源性药物和植物组织中内源性代谢物的可视化分析,为代谢物的转运途



SIMS-二次离子质谱; FACS-流式细胞仪; MALDI-MS-基质辅助激光解吸电离源-质谱; ESI-MS-电喷雾离子源-质谱; A-原位质谱; B-质谱成像; C-代谢流; D-单细胞代谢组学。

SIMS-secondary ion mass spectrometry; FACS-fluorescence activated cell sorting; MALDI-MS-matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry; ESI-MS-electrospray spectrometry ionization-mass spectrometry; A-*in situ* mass spectrometry analysis; B-mass spectrometry imaging analysis; C-metabolic flow analysis; D-single cell metabolomics analysis.

图 2 不同前沿技术操作流程

Fig. 2 Operation flow of different cutting-edge technologies

径和积累规律提供了新方法。但目前的冷冻法操作存在较长的时间间隔, 使代谢物的状态发生改变, 难以进行实时快速活体分析成像, 而无法准确反映组织的动态代谢过程以及代谢通路^[38]。质谱成像技术根据离子源的原理不同可分为 MALDI-MS、

SIMS 及电喷雾电离技术^[33,39]。质谱成像分析基本流程见图 2-B。

1.3 代谢流

代谢组学能够对体内的小分子代谢物进行大规模的高通量表征, 提供关于代谢物丰度的宝贵信息,

但未能揭示代谢物在体内的动态变化,然而代谢物的蓄积既可能是合成途径的激活也可能是代谢途径的抑制^[40]。代谢通量分析(metabolic flux analysis, MFA)是使用稳定同位素示踪的方法跟踪动态代谢活动^[41],其综合底物吸收及产物形成速率、生物合成、化学计量反应、中间代谢物的生物合成等^[42]。目前代谢流分析在中药^[43]、肿瘤^[41]、植物代谢^[44]、微生物代谢^[45]等方面已得到广泛应用。代谢流技术定位于某一关键代谢底物或中间代谢产物,在代谢组学研究中,通过对不同状态的生物体进行代谢流分析,监测代谢物在特定代谢通路的活跃程度,及该种状态对代谢通路的影响程度,但实验成本较高且数据分析较为复杂^[46-47]。代谢流分析基本流程见图 2-C。

1.4 单细胞代谢组学

细胞是生物体生命活动和形态结构的最基本单元,生物体的各种生命活动都是在细胞层次上实现的^[48]。单细胞代谢组学是对生物体内相对分子质量低于 1 000 且与细胞表型相关的小分子即包括中间产物在内的某些代谢物变化情况的研究^[49-50]。单细胞代谢组学现已广泛用于植物学^[50]、肿瘤学^[51]、神经病学^[52]等的研究。在单细胞水平进行代谢物的分析,能够对单个细胞进行精准分析,检测代谢通路中的小分子,为代谢物的转运途径、代谢通路和积累规律提供了新技术和新方法;并将细胞代谢与细胞的各种生命活动联系起来^[48]。但由于单细胞体积小,代谢物种类多且含量差异大,因此在样品的取样和预处理上仍存在一定难度。

1.4.1 细胞分离 采样的第 1 步是从有机体中分离出适当的细胞^[53],因此通常采用梯度稀释、FACS、微孔板、微流控阵列等技术并结合立体显微镜及微操作器,以实现高效的提取或解吸细胞的内容物。

1.4.2 细胞代谢物鉴定 利用 MALDI-MS、ESI-MS 等技术^[54]对细胞代谢物进行鉴定和分析。

1.4.3 数据分析 对于单细胞代谢组学研究中所获得的原始数据规模大且性质复杂^[55],目前单细胞代谢组学数据分析工具主要有主成分分析、线性判别分析等分析工具进行统计学分析^[56],根据分析结果与数据库配对分析单细胞代谢产物及细胞间的差异代谢物。单细胞代谢组学分析基本流程见图 2-D。

2 4 种代谢组学前沿技术的比较

上述的 4 种技术各有优势和缺点:(1)原位质谱的优点是在质谱真空装置外对复杂样品进行直接

电离,以减少提取和浓缩步骤,简化分析流程^[57],其可依据复杂中药样品的实际特点,有目标的设计适用于待测样品的上样及离子化方式,从而实现传统色谱-质谱联用方法难以实现的原位、实时分析等特定场景;然而,原位质谱在实际应用中面临着许多挑战其样品具有多样性且基质复杂^[58],同时在目前的应用研究中,原位电离源主要是在实验室中与大型质谱仪进行联用,无法满足现场实时分析的需求^[59],因此需要开发体积小便携、仪器性能良好的小型质谱仪与原位电离源组成的小型分析系统。(2)质谱成像技术能够将质谱数据转变为可视化的离子成像图,具有前处理简单及结果清晰直观的优势^[32]。质谱成像可直观呈现给药前后药物在各组织中的代谢变化,辅助探讨中药的作用机制并用于研究中药毒性成分的分布位点,为中药安全性研究带来新的方向。然而在利用质谱成像达到对目标成分的绝对定量分析还存在一定的困难,质谱成像过程不涉及化合物的分离过程,因此仅凭借质谱成像无法区分化学异构体^[60]。(3)代谢流分析技术的特点是与静态代谢组学相比能够以动态的方式探索代谢活动、揭示代谢通路的活性并且可以量化通路中的代谢通量,明确代谢前体转化的中间代谢产物浓度^[61];其缺点在于 MFA 样品的处理及数据测定分析都非常复杂且该方法所需的质谱、核磁等实验仪器较为昂贵,底物用同位素标记的成本也非常高^[62],且如何保持代谢物的处于稳定状态也是关键。(4)单细胞代谢组学技术能在细胞水平上进行的高通量代谢分析,获得细胞与细胞间的代谢物,并且能结合质谱成像技术进一步洞悉单细胞内或细胞器间代谢物的差异分布^[37],帮助解决来自同一器官或集群细胞所造成的问题^[54],但由于细胞直径较小且代谢物能快速转化或降解且代谢物不能进行放大,因此对于样品进行取样和预处理是不便的;其次,单细胞中物质含量低且每个细胞的代谢物浓度差异可高达 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^9$ 倍^[48]。因此要求所用检测方法能对多种物质进行响应且不破坏细胞状态同时具有较高灵敏度,见表 1。

3 4 种代谢组学前沿技术在中药现代研究中的应用

3.1 中药安全性的研究

中药逐渐走向国外市场,中药的安全性也备受关注,传统的药物安全性评估方法步骤繁杂,需要耗费大量的时间和精力^[63]。随着质谱技术发展,一些代谢组学前沿技术也在中药安全性研究中得到广

表 1 代谢组学前沿技术的应用优缺点

Table 1 Advantages and disadvantages of application of frontier technologies in metabolomics		
方法	特色/优点	限制/缺点
原位质谱	具有高通量、对样品破坏性小、样品量小、试剂消耗量小及分析时间短；在中药直接分析和快速筛查方面具有明显的优势	相比于传统质谱技术其准确度和精密度相对较低
质谱成像	对样品的相对丰度和空间分布进行全面、快速分析，可以原位反映物质的空间分布信息	在定量能力、重现性、分辨率等方面有待提高
代谢流	检测生化途径的微小变化；具有高灵敏度、高特异性及重现性高，可广泛的覆盖代谢物	实验仪器较为昂贵，样品处理、数据测定分析较复杂
单细胞代谢组学	在细胞水平上进行的高通量代谢分析，具有较高特异性及重现性、敏感度	内容物易缺失、鉴定代谢分子困难、活细胞内代谢物变化快

泛应用。Chen 等^[64]利用 DART-MS 对菊三七、千柏鼻炎颗粒、花红颗粒制剂进行分析，表明该方法用于鉴定和分析吡咯里西啶类生物碱的可行性，比较了 DART-MS 的结果与高效液相色谱质谱的结果吻合较好，且分析速度更快。Li 等^[65]利用 DART-MS 方法研究乌头类生物碱经过大鼠肠内菌代谢后的代谢谱，共鉴定出来自 3 种乌头类双酯型生物碱的 36 种代谢产物，并且该方法还能满足原位及代谢物的定量分析要求。与 ESI-MS 和超高效液相色谱-串联质谱相比，具有高速、高通量方法的优点。Shi 等^[66]采用高分辨成像、超高效液相色谱和高分辨率质谱法，检测补骨脂样品中未知化合物并鉴定其肝毒性，通过光谱-毒性相关性分析筛选出与肝毒性高度相关的有毒化合物，并通过高分辨成像验证了这 6 种化合物单体的肝毒性。Wang 等^[67]采用基于气流辅助 DESI 质谱成像的原位代谢组学方法对马兜铃中的马兜铃酸 I 处理大鼠肾脏切片进行分析。结果显示，在马兜铃酸 I 治疗组中有 10 种代谢物发生显著变化且通过分析马兜铃酸 I 治疗组的图像发现，相较于肾髓质，肾皮质的代谢物改变更为显著表明肾皮质比髓质更容易受到马兜铃酸 I 的影响。综上，代谢组学前沿新技术为实现中药中毒性成分的快速筛查及中药毒性机制的研究提供了一种具有简便、高速、高通量特点的方法。

3.2 中药药效物质及作用机制的研究

中药药效物质及作用机制的科学阐释是解决制约中药现代化发展的有效途径，由于中药具有多成分、多靶点的特性^[68]，传统的研究方法忽视了各药效物质的协同作用，难以系统性辨识中药药效物质。王星^[69]采用 DART-MS 分析方法能够快速区分出各人参样品中所含人参皂苷的类型并对其含量进行比

较，证明 DART-MS 法可作为人参样品质量评估的快速方法；Gao 等^[70]利用 DESI 质谱成像技术对大鼠脑中 7 种钩藤碱定量成像进行了系统研究，成功地量化了生物碱在 13 个脑区的分布及不同的钩藤生物碱在大鼠大脑中的分布趋势。特别是首次在松果体中直接检测到钩藤生物碱，其在该区域的富集现象对今后的药效学研究具有指导意义。Wang 等^[71]对银杏提取物（*Ginkgo biloba* extract, GBE）抗心肌梗死的机制和物质基础进行研究，其应用 MFA 研究异丙肾上腺素诱导的缺血样心肌细胞的能量代谢通量紊乱和 GBE 成分的调节节点，表明 GBE 的活性成分是通过挽救受损的三羧酸循环通量，保护心肌梗死。上述研究表明，代谢组学前沿技术提高中药质量控制检测效率，并且实现药物的药效物质在体内分布的可视化，及从代谢通路定位药物的作用靶点，为进一步研究药物的靶点、药物代谢提供一种新颖的方法。

3.3 中药炮制机制的研究

中药经过炮制能够降低药材毒性，提升纯净度，使药物更好地用于临床治疗，同时方便保存与储藏，延长药材使用时间。在炮制过程中，必然发生了复杂的化学变化。曾星星^[72]通过 PSI-MS 对炮制山茱萸中化学成分进行归属，并对其归属进行了验证，发现 5-羟甲基糠醛和 7- α -乙氧基莫诺苷为炮制品中新增的化学成分，可作为鉴别酒蒸品与生药材的依据。乔菲等^[73]应用质谱成像技术对巴戟天不同炮制品空间分布进行数据采集，质谱成像技术实现了环烯醚萜和寡糖空间分布的可视化分析，其结果与超高效液相色谱法含量测定结果基本一致。上述研究表明，代谢组学前沿技术为快速准确鉴定中药炮制前后化学成分变化规律及炮制后化学成分分布变

化提供一种新思路。

3.4 药用植物代谢产物分布的研究

药用植物的次生代谢产物具有一定的生理活性及药理作用^[74]，但次生代谢产物复杂多样。因此，代谢产物的合成途径、积累规律及在药用植物中的分布等研究都具有重要意义。朱亮等^[75]采用电喷雾内部萃取电离质谱技术，对大蒜中的化学组分直接快速分析，结果表明该技术可在无需样品预处理的情况下实现大蒜组织中蒜氨酸和大蒜多糖的直接质谱分析，实现对药用植物中的活性物质的直接快速分析。米要磊等^[76]首先分析玛咖的活性成分咪唑生物碱等的裂解规律，再通过 MALDI 质谱成像定位咪唑生物碱在根横切面的空间分布，结果表明 2 种咪唑类生物碱的组织分布非常接近，均集中分布在表皮和皮层中，为药用植物活性成分在组织中的特异性分布及其累积规律提供了重要的科学依据；任凤鸣^[43]利用 ¹³C 稳定同位素标记酪氨酸培养毛黄堇植株，高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱检测代谢通路中化合物的同位素标记。结果显示，在生物碱合成通路中检测到 21 个化合物被同位素标记，标记的形式与预测通路中化合物代谢规律一致，且证实毛黄堇中脱氢卡维丁等生物碱合成上游途径与酪氨酸途径合成异喹啉生物碱一致。Kajiyama 等^[77]采用激光微采样和纳米流液相色谱-电喷雾电离质谱相结合的方法，在单细胞基础上对蝴蝶草花瓣细胞中花青素的相对含量进行分析，实验表明，同一组织不同细胞的花青素代谢存在明显差异。此方法为获得单个植物组织中每个细胞的精确代谢谱提供了一种简便的方法。上述研究表明，利用代谢组学前沿技术对药用植物的次生代谢物进行分析是一种更灵敏、更高通量的分析方法，能更准确地阐明次生代谢途径和代谢网络调控机制。

4 结语与展望

中医药的应用具有悠久的历史，在我国医药卫生事业中具有重要作用^[78]，中药的作用机制复杂，传统一对一单靶点的研究方法已经不能满足中药复杂机制的研究需求^[79]，上述 4 种代谢组学前沿技术以获取高质量质谱数据为基础，结合多样化的数据处理方法，找到与实验目的相关的生物学信息其不仅体现代谢组学“整体性、动态性、综合性”的特点，并且弥补了代谢组学的不足。越来越多的研究者将这些技术结合应用，以此实现对代谢物更高效、全面的研究；Zhu 等^[80]建立了原位单细胞代谢物质

谱检测技术，该技术结合原位电离和单细胞代谢技术，既可以确保所取样细胞的活性，也可以在获得该细胞的电生理活动等信息的同时对其内代谢物组成和含量进行分析；此外，该技术与同位素标记技术相结合，可以在单细胞水平上研究标记的代谢物在神经元内的代谢路径；质谱成像技术更是单细胞可视化分析和空间分辨代谢组学的强有力分析手段^[81]。本文所总结的原位质谱、质谱成像、代谢流技术均已在中药的研究中得到应用。由于中药成分复杂其代谢机制复杂，而细胞内代谢物含量极低，细胞状态的改变会影响代谢物质的种类和浓度的变化，在单细胞层面仍有大量物质无法被检测，导致不能完整的阐释中药的代谢机制。因此，目前还没有使用单细胞代谢组学技术研究中药的文献报道，在未来的研究中要提高质谱技术对单细胞内代谢物的检测灵敏度，将单细胞代谢组学应用于中药的研究中，更重要的是将几种技术进行联合应用，通过整合不同代谢组技术的分析策略对中药的研究具有显著优势。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Kim S J, Kim S H, Kim J H, *et al.* Understanding metabolomics in biomedical research [J]. *Endocrinol Metab*, 2016, 31(1): 7-16.
- [2] Klassen A, Faccio A T, Canuto G A B, *et al.* Metabolomics: Definitions and significance in systems biology [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 965: 3-17.
- [3] Ji Z C, Hu H Y, Qiang X Y, *et al.* Traditional Chinese medicine for COVID-19: A network Meta-analysis and systematic review [J]. *Am J Chin Med*, 2022, 50(4): 883-925.
- [4] 赵博, 上官晨虹, 杨慧, 等. 杜仲保健食品开发现状分析 [J]. *中草药*, 2023, 54(15): 5033-5043.
- [5] Wang R N, Zhao H C, Huang J Y, *et al.* Challenges and strategies in progress of drug delivery system for traditional Chinese medicine *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma* (Danshen) [J]. *Chin Herb Med*, 2020, 13(1): 78-89.
- [6] 谢静, 李云鹏, 缪兴龙, 等. 基于代谢组学技术的中药复方药效物质基础与作用机制研究 [J]. *药物评价研究*, 2020, 43(7): 1439-1445.
- [7] Cao H X, Zhang A H, Zhang H M, *et al.* The application of metabolomics in traditional Chinese medicine opens up a dialogue between Chinese and western medicine [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(2): 159-166.

- [8] Song L, Zhou Y T, Zhai Y X, *et al.* Sub-chronic toxicity of an aqueous extract of *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. in rats [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2023, 46(3): 451-461.
- [9] Li S Z, Wang Y M, Li C Y, *et al.* Study on hepatotoxicity of rhubarb based on metabolomics and network pharmacology [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2021, 15: 1883-1902.
- [10] 王曼姝, 孙思彤, 袁宇, 等. 功能代谢组学在中药毒性评价中的研究策略及其应用 [J]. 中草药, 2023, 54(2): 349-358.
- [11] 王志博, 蔡莹, 郭思凡, 等. 基于代谢组学方法的中药药效及物质基础的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(9): 2024-2029.
- [12] 孙伟丽, 赵海平, 王雪华, 等. 基于代谢组学技术分析不同区段鹿茸差异代谢分子物质 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 5047-5053.
- [13] 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.
- [14] Takáts Z, Wiseman J M, Gologan B, *et al.* Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization [J]. *Science*, 2004, 306(5695): 471-473.
- [15] Takáts Z, Wiseman J M, Cooks R G. Ambient mass spectrometry using desorption electrospray ionization (DESI): Instrumentation, mechanisms and applications in forensics, chemistry, and biology [J]. *J Mass Spectrom*, 2005, 40(10): 1261-1275.
- [16] Feider C L, Krieger A, DeHoog R J, *et al.* Ambient ionization mass spectrometry: Recent developments and applications [J]. *Anal Chem*, 2019, 91(7): 4266-4290.
- [17] 张冠华. 基于新型纳米基质的中药小分子代谢物 MALDI 质谱分析新方法 [D]. 昆明: 云南中医药大学, 2023.
- [18] Beneito-Cambra M, Gilbert-López B, Moreno-González D, *et al.* Ambient (desorption/ionization) mass spectrometry methods for pesticide testing in food: A review [J]. *Anal Methods*, 2020, 12(40): 4831-4852.
- [19] Takats Z, Strittmatter N, McKenzie J S. Ambient mass spectrometry in cancer research [J]. *Adv Cancer Res*, 2017, 134: 231-256.
- [20] Ifa D R, Eberlin L S. Ambient ionization mass spectrometry for cancer diagnosis and surgical margin evaluation [J]. *Clin Chem*, 2016, 62(1): 111-123.
- [21] Ifa D R, Jackson A U, Paglia G, *et al.* Forensic applications of ambient ionization mass spectrometry [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 394(8): 1995-2008.
- [22] Cooks R G, Ouyang Z, Takats Z, *et al.* Ambient mass spectrometry [J]. *Science*, 2006, 311(5767): 1566-1570.
- [23] Frey B S, Damon D E, Badu-Tawiah A K. Emerging trends in paper spray mass spectrometry: Microsampling, storage, direct analysis, and applications [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2020, 39(4): 336-370.
- [24] Honda A, Suzuki Y, Suzuki K. Mass probe-assisted ionization method for total analysis of biomolecules with electrospray ionization-mass spectrometry [J]. *Chem Record*, 2006, 6(2): 100-106.
- [25] Chernetsova E S, Morlock G E. Determination of drugs and drug-like compounds in different samples with direct analysis in real time mass spectrometry [J]. *Mass Spectrom Rev*, 2011, 30(5): 875-883.
- [26] Brandt S, Klute F D, Schütz A, *et al.* Dielectric barrier discharges applied for soft ionization and their mechanism [J]. *Anal Chim Acta*, 2017, 951: 16-31.
- [27] Schäfer K C, Dénes J, Albrecht K, *et al.* In vivo, in situ tissue analysis using rapid evaporative ionization mass spectrometry [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48(44): 8240-8242.
- [28] Chen X, Zhang K D, Yin Z H, *et al.* Online real-time monitoring of exhaled breath particles reveals unnoticed transport of nonvolatile drugs from blood to breath [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(12): 5005-5008.
- [29] Rocha B, Ruiz-Romero C, Blanco F J. Mass spectrometry imaging: A novel technology in rheumatology [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2017, 13(1): 52-63.
- [30] 李欣昕, 吴欢, 王晨, 等. 质谱成像技术及其在药学领域的应用 [J]. 中国药科大学学报, 2014, 45(1): 17-25.
- [31] Huang L Y, Nie L X, Dai Z, *et al.* The application of mass spectrometry imaging in traditional Chinese medicine: A review [J]. *Chin Med*, 2022, 17(1): 1-20.
- [32] 黄烈岩, 聂黎行, 董静, 等. 质谱成像技术在中药研究中的应用现状 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(10): 1675-1689.
- [33] Bertzbach L D, Kaufer B B, Karger A. Applications of mass spectrometry imaging in virus research [J]. *Adv Virus Res*, 2021, 109: 31-62.
- [34] Holzlechner M, Eugenin E, Prideaux B. Mass spectrometry imaging to detect lipid biomarkers and disease signatures in cancer [J]. *Cancer Rep Hoboken N J*, 2019, 2(6): e1229.
- [35] McDonnell L A, Angel P M, Lou S, *et al.* Mass spectrometry imaging in cancer research: Future Perspectives [J]. *Adv Cancer Res*, 2017, 134: 283-290.
- [36] 周莉英, 王鑫, 向平. 质谱成像技术及其在法医毒理学中的应用 [J]. 法医学杂志, 2021, 37(3): 402-411.
- [37] 殷志斌, 黄文洁, 伍欣宙, 等. 空间分辨代谢组学进展

- 和挑战 [J]. 生物技术通报, 2021, 37(1): 32-51.
- [38] 金涛, 潘本松, 聂洪港. 基质辅助激光解吸电离-质谱成像技术 (MALDI-MSI) 及其在脑神经性疾病研究中的应用 [J]. 计量科学与技术, 2022, 66(3): 3-22.
- [39] 谢旻臻, 王雪瑜, 王琦. 质谱成像技术在中药代谢领域的应用 [J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(10): 1382-1388.
- [40] Jang C, Chen L, Rabinowitz J D. Metabolomics and isotope tracing [J]. *Cell*, 2018, 173(4): 822-837.
- [41] Liang L F, Sun F, Wang H B, *et al.* Metabolomics, metabolic flux analysis and cancer pharmacology [J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 224: 107827.
- [42] 李晓静, 陈涛, 陈洵, 等. ^{13}C 代谢通量分析 [J]. 化学进展, 2006, 18(S2): 995-1001.
- [43] 任风鸣. 罂粟科植物毛茛分子鉴定、活性成分及肝保护作用研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2020.
- [44] Kruger N J, Ratcliffe R G. Whither metabolic flux analysis in plants? [J]. *J Exp Bot*, 2021, 72(22): 7653-7657.
- [45] Long C P, Antoniewicz M R. Metabolic flux analysis of *Escherichia coli* knockouts: Lessons from the Keio collection and future outlook [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2014, 28: 127-133.
- [46] Dalman T, Wiechert W, Nöh K. A scientific workflow framework for ^{13}C metabolic flux analysis [J]. *J Biotechnol*, 2016, 232: 12-24.
- [47] Fischer E, Zamboni N, Sauer U. High-throughput metabolic flux analysis based on gas chromatography-mass spectrometry derived ^{13}C constraints [J]. *Anal Biochem*, 2004, 325(2): 308-316.
- [48] 朱洪影, 易林, 汪子怡, 等. 单细胞代谢组学分析技术研究进展 [J]. 中国科学技术大学学报, 2018, 48(10): 842-852.
- [49] 董媛媛, 孙桂江, 李遇伯, 等. 单细胞组学相关技术的研究进展 [J]. 广东医学, 2022, 43(7): 920-924.
- [50] Amantonico A, Urban P L, Zenobi R. Analytical techniques for single-cell metabolomics: State of the art and trends [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 398(6): 2493-2504.
- [51] Tellez-Gabriel M, Ory B, Lamoureux F, *et al.* Tumour heterogeneity: The key advantages of single-cell analysis [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12): 2142.
- [52] Nemes P, Knolhoff A M, Rubakhin S S, *et al.* Single-cell metabolomics: Changes in the metabolome of freshly isolated and cultured neurons [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2012, 3(10): 782-792.
- [53] Zenobi R. Single-cell metabolomics: Analytical and biological perspectives [J]. *Science*, 2013, 342(6163): e1243259.
- [54] Guo S H, Zhang C, Le A. The limitless applications of single-cell metabolomics [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2021, 71: 115-122.
- [55] Liu R M, Yang Z B. Single cell metabolomics using mass spectrometry: Techniques and data analysis [J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1143: 124-134.
- [56] Lanekoff I, Sharma V V, Marques C. Single-cell metabolomics: Where are we and where are we going? [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2022, 75: 102693.
- [57] 劳哲. 原位电离质谱技术的应用与研究进展 [J]. 临床研究, 2022, 30(6): 193-198.
- [58] 余灵. 原位电离质谱技术在食品质量安全检测中的应用 [J]. 食品安全导刊, 2021(24): 144.
- [59] 刘哈璐, 张九凯, 陈颖, 等. 原位电离质谱技术在食品质量安全检测中的应用 [J]. 分析试验室, 2020, 39(4): 482-489.
- [60] Li B, Bhandari D R, Römpf A, *et al.* High-resolution MALDI mass spectrometry imaging of gallotannins and monoterpene glucosides in the root of *Paeonia lactiflora* [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36074.
- [61] 赵云昊, 令狐婷, 武文泽, 等. 代谢流分析技术在葡萄糖代谢通路研究中的进展 [J]. 药科学报, 2022, 57(9): 2731-2737.
- [62] Radenkovic S, Vuckovic I, Lanza I R. Metabolic flux analysis: Moving beyond static metabolomics [J]. *Trends Biochem Sci*, 2020, 45(6): 545-546.
- [63] 沈磐, 孙德志, 周维, 等. 中药毒性预测研究进展与思考 [J]. 中国药物警戒, 2023, 20(4): 473-479.
- [64] Chen Y L, Li L N, Xiong F, *et al.* Rapid identification and determination of pyrrolizidine alkaloids in herbal and food samples via direct analysis in real-time mass spectrometry [J]. *Food Chem*, 2021, 334: 127472.
- [65] Li X, Hou G Y, Xing J P, *et al.* Direct analysis in real time-mass spectrometry for the rapid detection of metabolites of aconite alkaloids in intestinal bacteria [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2014, 25(12): 2181-2184.
- [66] Shi G Z, Song D, Li P Y, *et al.* Screening of hepatotoxic compounds in *Psoralea corylifolia* L., a traditional Chinese herbal and dietary supplement, using high-resolution mass spectrometry and high-content imaging [J]. *Biomed Chromatogr*, 2021, 35(9): e5140.
- [67] 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.
- [68] 李丹, 李爱平, 李科, 等. 液质联用技术在中药化学成

- 分定性分析中的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(10): 2112-2119.
- [69] 王星. 人参皂苷的原位电离质谱分析研究 [D]. 南京: 南京师范大学, 2021.
- [70] 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.
- [71] Wang Z, Zhang F, Liu W, *et al.* Impaired tricarboxylic acid cycle flux and mitochondrial aerobic respiration during isoproterenol induced myocardial ischemia is rescued by bilobalide [J]. *J Pharm Anal*, 2021, 11(6): 764-775.
- [72] 曾星星. 白术、山茱萸、厚朴炮制药材的敞开式质谱快速鉴别研究 [D]. 长沙: 湖南师范大学, 2017.
- [73] 乔菲, 戴胜云, 连超杰, 等. 基质辅助激光解吸质谱成像可视化分析巴戟天炮制品中化学成分的空间分布 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42(8): 1312-1318.
- [74] 孙立影, 于志晶, 李海云, 等. 植物次生代谢物研究进展 [J]. 吉林农业科学, 2009, 34(4): 4-10.
- [75] 朱亮, 张华, 陈焕文. 电喷雾内部萃取电离质谱法直接分析植物组织中的化学成分 [A] // 中国化学会首届全国质谱分析学术研讨会会议论文集 [C]. 北京: 中国化学会首届全国质谱分析学术研讨会会议论文集, 2014: 126.
- [76] 米要磊, 孙伟, 李明利, 等. MALDI-MSI 在药用植物次生代谢产物组织分布中的应用: 以玛咖为例 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 596-601.
- [77] Kajiyama S, Harada K, Fukusaki E, *et al.* Single cell-based analysis of torenia petal pigments by a combination of ArF excimer laser micro sampling and nano-high performance liquid chromatography (HPLC)-mass spectrometry [J]. *J Biosci Bioeng*, 2006, 102(6): 575-578.
- [78] 刘昌孝. 代谢组学与中药现代研究 [J]. 河南大学学报: 医学版, 2006, 25(4): 1-7.
- [79] 唐才林, 周洋, 张荣菲, 等. 代谢组学在中药质量评价和抗菌抗炎作用机制研究中的应用 [J]. 中国现代中药, 2021, 23(9): 1664-1670.
- [80] Zhu H Y, Zou G C, Wang N, *et al.* Single-neuron identification of chemical constituents, physiological changes, and metabolism using mass spectrometry [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(10): 2586-2591.
- [81] 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.

[责任编辑 赵慧亮]