基于代谢组学和质谱成像技术研究高温处理前后西洋参中关键皂苷成分的变化

李梦娇[1, 2]，毕成浩[3]，张梦悦[4]，李遇伯[3]，邓志鹏[4]，韩利文[1, 2*]，仲　浩[1*]

1. 山东第一医科大学 医学科技创新中心，山东 济南　250117
2. 山东第一医科大学药学院（药物研究所），山东 济南　250117
3. 天津中医药大学中药学院，天津　301617
4. 山东中医药大学药学院，山东 济南　250355

摘　要：目的　通过中药代谢组学以及解析电离喷雾质谱成像技术（desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging，DESI-MSI）系统分析高温处理前后西洋参的化学成分差异。**方法**　基于 UPLC-QTOF-MS 技术的植物代谢组学方法，结合多元统计分析，对高温处理前后西洋参的化学成分进行非靶向解析。利用 LC-QQQ-MS 多反应监测（multiple reaction monitoring，MRM）技术对发现的关键皂苷进行准确定量。最后，采用 DESI-MSI 技术分析西洋参组织经过高温处理前后主要人参皂苷的空间分布迁移变化情况。**结果**　人参皂苷 Rb_1、Rd、Rg_2、Rg_3 和西洋参皂苷 R_1 共 5 种人参皂苷在高温处理前后出现显著变化，采用三重四级杆的定量方法证实了 5 种成分在高温处理后含量均显著增加（$P<0.05$）。进一步的 DESI-MSI 结果表明西洋参在高温处理后，其组织中人参皂苷 Rd 与 Rb_1 由表层向形成层、髓质部和木质部明显迁移富集；西洋参皂苷 R_1 则由韧皮部和形成层向外侧表皮层富集；人参皂苷 Rg_2 和 Rg_3 主要分布于木栓层及韧皮部。**结论**　高温处理前后西洋参皂苷成分差异明显，研究结果为西洋参高温处理过程对关键人参皂苷的影响提供了定性、定量及空间分布的证据，为西洋参科学加工和利用提供了科学依据。

关键词：西洋参；人参皂苷；高温处理；代谢组学；质谱成像；人参皂苷 Rb_1；人参皂苷 Rd；人参皂苷 Rg_2；人参皂苷 Rg_3；西洋参皂苷 R_1

中图分类号：R284.1　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**0253 - 2670(2025)06 - 1916 - 10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.06.005

Changes of key saponin components in *Panacis Quinquefolii Radix* before and after high-temperature treatment based on metabolomics and mass spectrometry imaging techniques

LI Mengjiao[1, 2], BI Chenghao[3], ZHANG Mengyue[4], LI Yubo[3], DENG Zhipeng[4], HAN Liwen[1, 2], ZHONG Hao[1]

1. Medical Science and Technology Innovation Center, Shandong First Medical University, Jinan 250117, China
2. School of Pharmacy, Shandong First Medical University (Institute of Pharmaceutical Research), Jinan 250117, China
3. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China
4. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China

Abstract: Objective　The chemical composition differences in *Panacis Quinquefolii Radix* before and after high-temperature treatment were examined using metabolomics of traditional Chinese medicine and desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging (DESI-MSI). **Methods**　A plant metabolomics method based on UPLC-QTOF-MS technology combined with multivariate statistical analysis was employed to perform non-target screening and identification of the chemical components of *Panacis Quinquefolii Radix* before and after high-temperature treatment. Using LC-QQQ-MS with multiple reaction monitoring

收稿日期：2024-09-18

基金项目：山东省中医药高层次人才培育项目（2023）；山东省自然科学基金资助项目（ZR202211080026）；山东第一医科大学学术提升计划（2019LJ003）

作者简介：李梦娇（2000—），硕士研究生，研究方向为中药分析。E-mail: lylimengjiao@163.com

***通信作者：**仲　浩，副研究员，研究方向为天然活性产物分析研究。E-mail: 2411594035@qq.com

韩利文，副研究员，研究方向为中药质量控制。E-mail: hanliwen08@126.com

(MRM), accurately quantification of key saponins was enabled. Finally, DESI-MSI technology was applied to investigate the spatial distribution and migration of the main ginsenosides in *Panacis Quinquefolii Radix* tissue before and after high-temperature treatment. **Results** A total of five ginsenosides, ginsenosides Rb_1, Rd, Rg_2, Rg_3 and quinquenoside R_1, showed significant changes before and after high-temperature treatment. The quantitative results also confirmed that the contents of all five ginsenosides increased significantly ($P < 0.05$) after high-temperature treatment. Further DESI-MSI analysis revealed that after high-temperature treatment, ginsenosides Rd and Rb_1 in the tissues of *Panacis Quinquefolii Radix* were significantly redistributed, migrating from the epidermal layer to the formation layer, medulla, and xylem; the quinquenoside R_1 was enriched from the ligamentous and formation layer to the outer epidermis; while ginsenosides Rg_2 and Rg_3 were mainly distributed in the cork layer and ligamentous layer. **Conclusion** The variations in the composition of *Panacis Quinquefolii Radix* saponins before and after high-temperature treatment were evident. The results of this study provided qualitative, quantitative and spatial distribution evidence for the effects of the high-temperature treatment process of *Panacis Quinquefolii Radix* on the key ginsenosides, and offered a scientific basis for the scientific processing and utilization of *Panacis Quinquefolii Radix*.

Keywords: *Panacis Quinquefolii Radix*; ginsenoside; high-temperature treatment; metabolomics; mass spectrometry imaging; ginsenosides Rb_1; ginsenosides Rd; ginsenosides Rg_2; ginsenosides Rg_3; quinquenoside R_1

西洋参 *Panacis Quinquefolii Radix* 是五加科人参属西洋参 *Panax quinquefolius* L. 的干燥根，具有强壮滋补、滋阴润肺、养胃生津等功效[1]。西洋参在中国临床和民间使用已有百年历史。目前，西洋参已被列为药食同源产品，加工产业发展迅速[2-3]。高温处理是中药加工常用的工艺过程[4-5]。现有研究表明蒸煮或煎煮等高温处理会显著影响西洋参中次级代谢产物尤其是人参皂苷的相对丰度[6]。因此从定性、定量以及组织分布等多层次揭示高温处理前后西洋参中关键成分的影响，对于西洋参的科学加工及临床使用意义重大。

中药代谢组学技术已成为研究中药代谢物多样性和差异性以及含量变化的有力工具[7-9]。但是常规的 LC-MS/MS 技术需要将组织样品进行提取后检测，无法对植物次级代谢物在植物组织的空间分布情况进行分析。质谱成像（mass spectrometry imaging，MSI）是一种将灵敏、高通量筛选质谱与空间和时间化学信息相结合，以可视化特定代谢物在无损组织中分布的技术[10-12]。目前基质辅助激光解吸电离（matrix-assisted laser desorption/ionization，MALDI）、解吸电喷雾电离（desorption electrospray ionization，DESI）和二次离子质谱（secondary ion mass spectrometry，SIMS）是 MSI 主要的电离技术[13]。SIMS 和 MALDI 作为早期的 MSI 技术，主要优点是空间分辨率高，但要求样品在高真空下电离，而 DESI-MSI 可直接用于植物表面的空间信息分析，并且在常压条件下不需要任何基质[14]。近年来 DESI-MSI 在植物鉴定，测定初级和次级代谢物方面的广泛应用证明了其强大的功能和良好的实用性[15-18]。

因此，本研究整合中药代谢组学策略并结合 DESI-MSI 技术，从关键成分的辨识、定性定量、组织空间分布等不同维度对高温处理前后西洋参中关键差异人参皂苷进行析，以期为西洋参资源的加工利用和科学利用提供科学依据。

1 仪器与材料

1.1 仪器

AB SCIEX 5500 三重四极杆线性离子阱质谱仪（美国 AB SCIEX 公司），Waters Synapt QTOF 质谱仪及 DESI 离子源（美国 Waters 公司），HC-2518R 型高速冷冻离心机（安徽中科中佳科学仪器有限公司），GL224I-ISCN 型万分之一电子分析天平（德国 Sartorius 公司）。

1.2 试药

西洋参购于山东省威海市文登西洋参栽培种植基地，经山东第一医科大学药学院韩利文副研究员鉴定为五加科人参属西洋参 *P. quinquefolius* L. 的根。对照品 20(*R*)-人参皂苷 Rg_2（批号 AF9120531），20(*S*)-人参皂苷 Rg_2（批号 AF0011121）购自成都埃法生物科技有限公司，西洋参皂苷 R_1（批号 J071B219619），人参皂苷 Rb_1（批号 A26IB213699），20(*S*)-人参皂苷 Rg_3（批号 D05HB203161），20(*R*)-人参皂苷-Rg_3（批号 D01GB216945），人参皂苷 Rd（批号 J03HB186914）购自上海源叶生物科技有限公司；所有对照品质量分数均≥98%；甲醇（色谱纯）购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司，乙腈（色谱纯）购自美国 TEDIA 公司。

2 方法

2.1 样品制备

2.1.1 供试品溶液制备 取去除须根的新鲜西洋

参 6 支，洗净晾干，每根纵切分为 2 半，分为未处理组（AG）及热处理组（SAG）。取 SAG 组样品在 100 ℃条件下蒸制 3 h，AG 组样品不经过热处理。然后放置于 50 ℃烘箱中烘干，粉碎研磨，过 50 目筛。取 AG、及蒸制 3 h 的 SAG 样品各 0.2 g，置于 5 mL 离心管中，准确称定，精密加入甲醇 4 mL，称定质量，混匀，密封，室温下 300 W，40 kHz 超声提取 30 min，然后补足减失质量，以 10 000 r/min 离心 10 min。取上清液 100 μL，用甲醇稀释 10 倍，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，即得。

2.1.2　混合对照品溶液制备　分别取 20(*R*)-人参皂苷 Rg_2、20(*S*)-人参皂苷 Rg_2、西洋参皂苷 R_1、人参皂苷 Rb_1、20(*S*)-人参皂苷 Rg_3、20(*R*)-人参皂苷-Rg_3、人参皂苷 Rd 对照品适量，精密称定，加甲醇配制成质量浓度均为 1 mg/mL 的对照品储备液。

2.1.3　DESI-MSI 样本制备　取 AG 组与 SAG 组样品切成 1 cm 厚度，固定在载玻片上，用于 DESI-MS 成像分析。

2.2　UPLC-QTOF-MS 定性分析

2.2.1　色谱分析条件　采用 ACQUITY UPLC BEH C_{18} 色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.7 μm）；柱温 35 ℃；进样量 2 μL。流动相为 0.1%甲酸水溶液（A）-乙腈（B），梯度洗脱：0～4 min，20%～40% B；4～6 min，40%～50% B；6～7 min，50% B；7～10 min，50%～60% B；10～11 min，60%～90% B；11～11.5 min，90%～20% B。

2.2.2　质谱分析条件　Waters Synapt QTOF 质谱仪（美国 Waters 公司），采用电喷雾离子源（ESI）负离子模式；毛细管电压 2.5 kV；离子源温度 100 ℃；去溶剂温度：250 ℃；雾化器压力 650 kPa；扫描范围 *m/z* 150～1 500；扫描频率 0.15 s。负离子模式下使用亮氨酸脑啡肽溶液（*m/z* 554.261 5 $[M-H]^-$）随行校正质量轴。MassLynx 软件（4.2 版，美国 Waters 公司）用于控制系统和数据采集。

2.2.3　数据处理　对于 UPLC-QTOF-MS 的定性分析，将原始数据导入 Progenesis QI（美国 Waters 公司）软件进行数据处理，包括峰对齐、峰比对和基线校正等。同时，进行物质鉴定，获得包括保留时间，鉴定成分，丰度信息等的数据矩阵。将数据矩阵导入 SIMCA 14.1 软件（瑞典 Umetrics 公司）对预处理后的数据进行主成分分析（principal component analysis，PCA）、正交偏最小二乘判别分析（orthogonal partial least squares-discriminant analysis，OPLS-DA）。采用置换检验（n＝200）对上述数据矩阵进行验证。利用 OPLS-DA 模型得到的变量权重值（variable important in projection，VIP）＞1.5 和 t 检验（P＜0.05）寻找潜在的差异性皂苷成分。

2.3　UPLC-QQQ-MS 定量分析

2.3.1　色谱分析条件　采用 Kinetex C18 色谱柱（100 mm×2.1 mm，2.6 μm）；柱温 40 ℃；进样量 2 μL。流动相为 0.1%甲酸水溶液（A）-乙腈（B），梯度洗脱：0～2 min，10% B；2～4 min，10%～25% B；4～13.5 min，25%～45% B；13.5～15.5 min，45% B；15.5～16.5 min，45%～90% B；16.5～18 min，90%～10% B；18～19 min，10% B。

2.3.2　质谱分析条件　质谱分析在负离子模式下进行多反应监测模式（MRM）检测，气帘气（CMR）压力为 138 kPa；雾化气（Gas1）压力为 345 kPa，辅助气（Gas2）压力为 345 kPa，温度（TEM）为 550 ℃，喷雾电压为 5 500 V。西洋参中目标化合物的质谱条件见表 1。

表 1　西洋参中目标化合物的质谱分析参数

Table 1　Parameters for mass spectrometry analysis of target compounds in *Panacis Quinquefolii Radix*

化合物	*m/z*		去簇电压/V	碰撞电压/V
	母离子	碎片离子		
人参皂苷 Rg_3	783.8	621.5/459.3	−230	−50
人参皂苷 Rd	945.8	783.5/621.3	−230	−55
人参皂苷 Rg_2	783.6	621.2/459.3	−260	−46
人参皂苷 Rb_1	1 107.8	945.3/783.3	−240	−61
西洋参皂苷 R_1	1 150.0	1 107.5	−210	−58

2.3.3　含量测定　在 Analyst（美国 SCIEX 公司）软件上进行 UPLC-QQQ-MS 检测和数据收集，使用 MultiQμant（美国 SCIEX 公司）软件进行定量分析。参照 Gong 等[19]的方法，对目标成分进行测定。精密吸取“2.1.2”项下各对照品储备液适量，置于 5 mL 量瓶中，用 50%甲醇定容至刻度，制成含各对照品 2 μg/mL 的混合对照品储备液，取上述混合对照品储备液适量，用 50%甲醇逐级稀释成 6 个质量浓度的对照品溶液。进样分析，绘制标准曲线，并进行线性回归，得到 5 种成分的线性回归方程，利用线性回归方程计算目标成分含量。

2.3.4　统计处理　采用 GraphPad Prism 8.1 软件作图。采用 SPSS 软件进行单因素方差分析，通过 t 检验比较两组之间的统计学差异，数据平均值以

$\bar{x} \pm s$ 表示，$P<0.05$ 为数据之间存在显著性差异。

2.4 DESI-MSI 分析

2.4.1 检测条件 DESI-MSI 数据使用配备 DESI 源的 SYNAPT HDMS 系统（美国 Waters 公司）进行。具体参数如下：负离子模式；像素范围：100 μm×100 μm；采集速率 200 μm/s；离子源温度 100 ℃；

2.4.2 可视化输出 将 MSI 原始数据文件导入 HDI 软件（美国 Waters 公司）进行可视化分析，进行质量校准、峰检测、归一化等处理。对西洋参中 5 种成分的分布进行分析，得到 5 种成分在组织切片的空间分布可视化图。

3 结果

3.1 高温处理前后西洋参中人参皂苷的代谢组分析

调研文献发现西洋参中的化学成分在负离子模式下比正离子模式响应高[7,10]。因此，在负离子模式下进行 UPLC-QTOF-MS 检测，2 组总离子流图见图 1，经分析共鉴定出 47 种人参皂苷，所鉴定物质的基本信息见表 2。

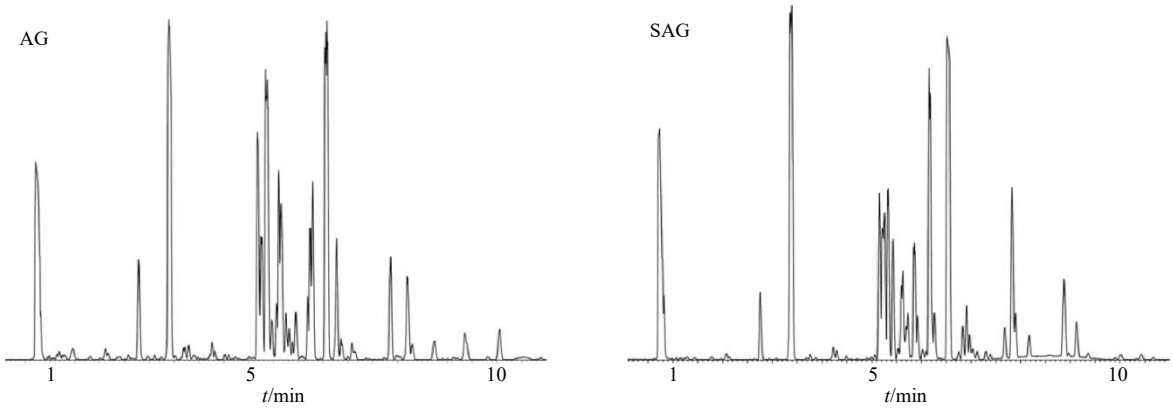


图 1 AG 和 SAG 样品 UPLC-QTOF-MS 检测总离子流图

Fig.1 Total ion chromatograms of AG and SAG samples obtained by UPLC-QTOF-MS analysis

表 2 西洋参中 47 种人参皂苷成分信息

Table 2 Constituent information of 47 ginsenosides in *Panacis Quinquefolii Radix*

序号	化合物名称	理论质量数（*m/z*）	实测质量数（*m/z*）	误差值（×10⁻⁶）	加合离子	分子式
1[a]	竹节参皂苷 IVa	793.438 0	793.438 3	0.35	$[M-H]^-$	$C_{42}H_{66}O_{14}$
2[a,b]	人参皂苷 Rf	845.490 5	845.489 9	−0.65	$[M+HCOO]^-$	$C_{42}H_{72}O_{14}$
3[a,b]	人参皂苷 Rg_1	799.484 9	799.484 1	−1.00	$[M-H]^-$	$C_{42}H_{72}O_{14}$
4[a,b]	拟人参皂苷 F11	799.485 0	799.483 7	−1.62	$[M-H]^-$	$C_{42}H_{72}O_{14}$
5[b]	人参皂苷 F2	784.497 0	784.496 2	−1.02	$[M-H]^-$	$C_{42}H_{72}O_{13}$
6[a,b]	人参皂苷 Rg_2*	829.503 0	829.501 9	−1.32	$[M+HCOO]^-$	$C_{42}H_{72}O_{13}$
7[a,b]	人参皂苷 Rg_3*	784.489 8	784.496 2	8.15	$[M-H]^-$	$C_{42}H_{72}O_{13}$
8[a]	三七皂苷 Fe	916.539 5	916.539 6	0.07	$[M-H]^-$	$C_{47}H_{80}O_{17}$
9[a,b]	拟人参皂苷 Rt1	925.480 2	925.481 2	1.08	$[M-H]^-$	$C_{47}H_{74}O_{18}$
10[b]	越南参皂苷 R8	962.545 1	962.545 9	0.83	$[M-H]^-$	$C_{48}H_{82}O_{19}$
11[a,b]	人参皂苷 B2	945.542 8	945.543 8	1.05	$[M-H]^-$	$C_{48}H_{82}O_{18}$
12[a,b]	人参皂苷 Rd	945.537 3	945.539 9	2.75	$[M-H]^-$	$C_{48}H_{82}O_{18}$
13[a,b]	人参皂苷 Re*	945.542 9	945.547 7	5.07	$[M-H]^-$	$C_{48}H_{82}O_{18}$
14[b]	绞股蓝皂苷 XVII	945.542 9	945.544 0	1.16	$[M-H]^-$	$C_{48}H_{82}O_{18}$
15[a,b]	人参皂苷 Rg_4	811.485 0	811.485 3	0.43	$[M+HCOO]^-$	$C_{42}H_{70}O_{12}$
16[a,b]	人参皂苷 Rg_6	811.484 8	811.485 4	0.68	$[M+HCOO]^-$	$C_{42}H_{70}O_{12}$
17[a,b]	人参皂苷 Rg_5*	811.484 4	811.485 6	1.43	$[M+HCOO]^-$	$C_{42}H_{70}O_{12}$
18[a]	人参皂苷 Ra_3	1 239.637 9	1 239.638 8	0.72	$[M-H]^-$	$C_{59}H_{100}O_{27}$
19[a,b]	拟人参皂苷 Fa	1 239.637 9	1 239.632 9	−4.03	$[M-H]^-$	$C_{59}H_{100}O_{27}$
20[a,b]	人参皂苷 Rb_1	1 107.591 6	1 107.592 3	0.65	$[M-H]^-$	$C_{54}H_{92}O_{23}$
21[b]	绞股蓝皂苷 III	1 107.595 6	1 107.595 0	−0.54	$[M-H]^-$	$C_{54}H_{92}O_{23}$
22[a,b]	人参皂苷 Rb_2	1 077.585 1	1 077.584 9	−0.15	$[M-H]^-$	$C_{53}H_{90}O_{22}$

表 2（续）

序号	化合物名称	理论质量数（*m/z*）	实测质量数（*m/z*）	误差值（×10^{-6}）	加合离子	分子式
23[a,b]	人参皂苷 Rb_3	1 077.585 1	1 077.584 4	−0.65	$[M-H]^-$	$C_{53}H_{90}O_{22}$
24[a]	人参皂苷 Rc	1 077.585 1	1 077.584 9	−0.15	$[M-H]^-$	$C_{53}H_{90}O_{22}$
25[a,b]	人参皂苷 Ro	955.490 9	955.489 7	−1.25	$[M-H]^-$	$C_{48}H_{76}O_{19}$
26[a]	人参皂苷 Rs_3	825.500 5	825.499 8	−0.84	$[M-H]^-$	$C_{44}H_{74}O_{14}$
27[a,b]	西洋参皂苷 R_1*	1 149.605 2	1 149.605 9	0.57	$[M-H]^-$	$C_{56}H_{94}O_{24}$
28[b]	人参皂苷 Rs_1	1 119.595 7	1 119.595 1	−0.53	$[M-H]^-$	$C_{55}H_{92}O_{23}$
29[a,b]	拟人参皂苷 R_1	931.527 2	931.527 3	0.11	$[M-H]^-$	$C_{47}H_{80}O_{18}$
30[a,b]	人参皂苷 CY	799.485 1	799.482 3	−3.50	$[M+HCOO]^-$	$C_{41}H_{70}O_{12}$
31[b]	人参皂苷 Rh_4*	619.421 4	619.425 3	6.30	$[M-H]^-$	$C_{36}H_{60}O_8$
32[a,b]	人参皂苷 Rk_3	619.421 4	619.425 7	6.94	$[M-H]^-$	$C_{36}H_{60}O_8$
33[a]	人参皂苷 Rh_7	681.422 3	681.421 2	−1.61	$[M+HCOO]^-$	$C_{36}H_{60}O_9$
34[a]	人参皂苷 Rh_8	681.422 0	681.421 2	−1.17	$[M+HCOO]^-$	$C_{36}H_{60}O_9$
35[a,b]	绞股蓝皂苷 XLIX	1 091.564 3	1091.563 1	−1.09	$[M+HCOO]^-$	$C_{52}H_{86}O_{21}$
36[a,b]	人参皂苷 Rh_1	683.437 7	683.437 2	−0.73	$[M+HCOO]^-$	$C_{36}H_{62}O_9$
37[a]	人参皂苷 F1	683.437 6	683.437 8	0.29	$[M+HCOO]^-$	$C_{36}H_{62}O_9$
38[a,b]	人参皂苷 Rh_1	683.437 6	683.437 4	−0.29	$[M+HCOO]^-$	$C_{36}H_{62}O_9$
39[a,b]	人参皂苷 Ra_1*	1 209.627 3	1 209.620 7	−5.45	$[M-H]^-$	$C_{58}H_{98}O_{26}$
40[b]	拟人参皂苷 FP2	1 255.633 3	1 255.623 3	−7.96	$[M+HCOO]^-$	$C_{58}H_{98}O_{26}$
41[a]	原人参三醇	521.384 8	521.384 7	−0.19	$[M+HCOO]^-$	$C_{30}H_{52}O_4$
42[a,b]	丙二酰人参皂苷 Rb_1	1 193.601 5	1 193.598 2	−2.76	$[M-H]^-$	$C_{57}H_{94}O_{26}$
43[a,b]	人参皂苷 F3	815.479 3	815.479 2	−0.12	$[M+HCOO]^-$	$C_{41}H_{70}O_{13}$
44[a,b]	人参皂苷 F	815.480 0	815.479 0	−1.22	$[M+HCOO]^-$	$C_{41}H_{70}O_{13}$
45[b]	拟人参皂苷 R_2	815.480 0	815.480 7	0.85	$[M+HCOO]^-$	$C_{41}H_{70}O_{13}$
46[a,b]	绞股蓝皂苷 A	897.485 3	897.483 8	−1.67	$[M-H]^-$	$C_{46}H_{74}O_{17}$
47[a]	拟人参皂苷 S	1 341.670 1	1 341.672 2	1.56	$[M-H]^-$	$C_{63}H_{106}O_{30}$

“*”表示通过与对照品比对后确定该化合物；“a”表示仅在 AG 组中检测到的化合物；“b”表示仅在 SAG 组中检测到的化合物。

“*” means a compound is determined by comparison with a control substance. “a” means compounds detected only in AG group; “b” means compounds detected only in SAG group.

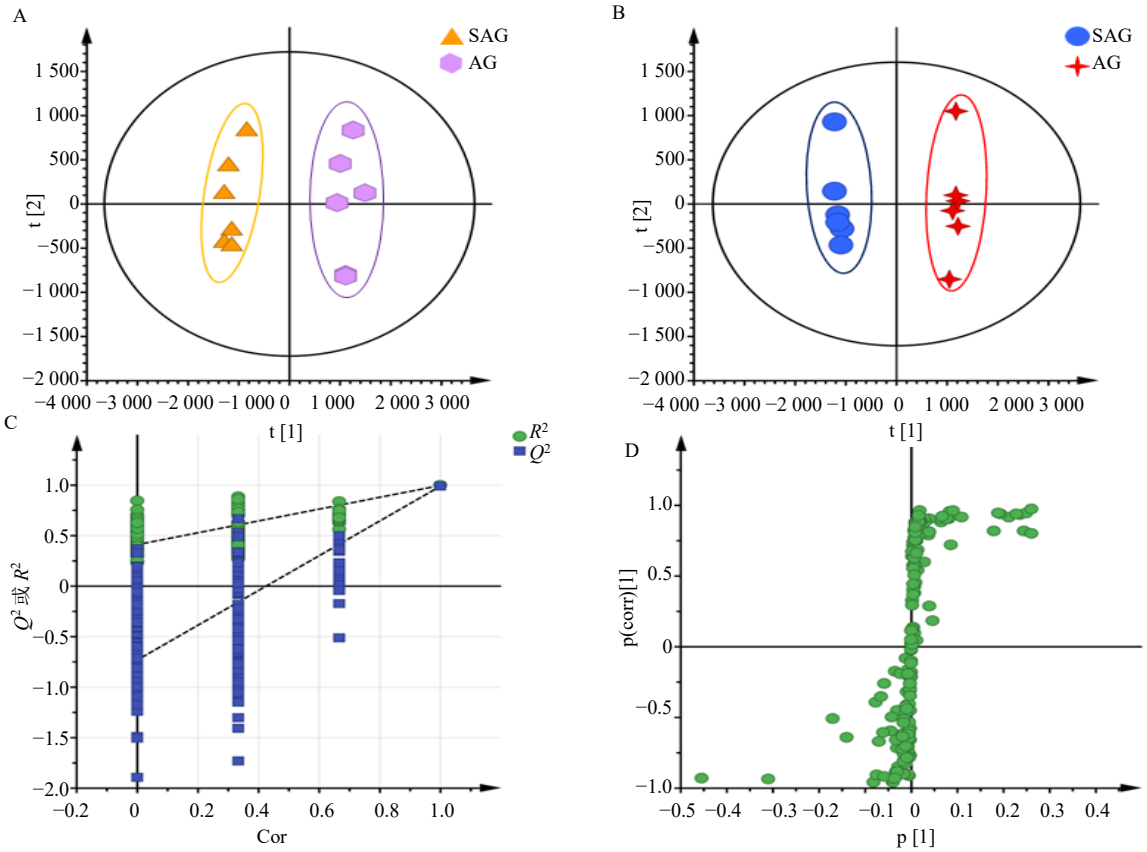
为表征两组间的总体差异，对分析数据进行 PCA 和 OPLS-DA 等多元统计分析。通过 PCA 观察各样本间的总体分布，见图 2。高温处理前后西洋参样品数据点在图上可以明显区分，表明高温前后西洋参中人参皂苷存在明显差异。接下来采用 OPLS-DA 对两组数据进行分析，并依据 S-plot 下 VIP 值以及 *t* 检验结果鉴定高温处理前后 2 组人参皂苷的差异性成分。置换检验（n=200）结果表明，R^2_X 为 0.688，R^2_Y 为 0.999，Q^2 为 0.997，表明 OPLS-DA 模型表现出良好的拟合度和较高的可预测性，且 OPLS-DA 模型稳定未出现过度拟合。最终通过筛选 VIP＞1.5 和 P＜0.05，鉴定出 5 种差异性人参皂苷，分别是人参皂苷 Rd、人参皂苷 Rg_3、西洋参皂苷 R_1、人参皂苷 Rb_1、人参皂苷 Rg_2。

3.2　高温处理前后西洋参中关键人参皂苷定量分析

由文献可知人参皂苷 Rg_2 及人参皂苷 Rg_3 存在 *R* 型和 *S* 型同分异构[20-21]，为保证定量结果准确，避免色谱峰分叉带来的结果影响。本实验先优化方法对同分异构进行分离，分离结果如图 3 所示。定量结果如图 4 及表 3 所示，在高温处理前，西洋参样本中 5 种人参皂苷的质量分数大小为人参皂苷 Rd＞人参皂苷 Rb_1＞西洋参皂苷 R_1＞人参皂苷 Rg_2＞人参皂苷 Rg_3，其中人参皂苷 Rd 平均质量分数为 684.66 μg/g。在高温处理后含量均出现显著性上升，质量分数也发生了显著变化，其中人参皂苷 Rg_3＞西洋参皂苷 R_1＞人参皂苷 Rg_2＞人参皂苷 Rd＞人参皂苷 Rb_1，其中人参皂苷 Rg_3 平均质量分数为 3 721.4 μg/g。

3.3　DESI-MSI 检测条件的优化

在 DESI 分析中，分析样品不需过多的前处理，可以直接在样品表面进行信号的采集。为了获得更好的质谱信号，对样品切片进行了比较分析。首先，在−20 ℃下，对两组药材进行 25、50、100 μm 及 1 cm 切片厚度的考察。结果表明，25 μm 下西洋参组织破碎明显，无法正常成像。而 50、100 μm 下的切片，在进行数据采集时，由于喷雾溶剂使用氮气流长



A-PCA 图；B-OPLS-DA 图；C-置换检验图；D-S-Plot 图。

A-PCA plots; B-OPLS-DA plots; C-permutation test plots; D-S-Plot plots.

图 2　多元统计分析图

Fig. 2　Plots of multivariate statistical analyses

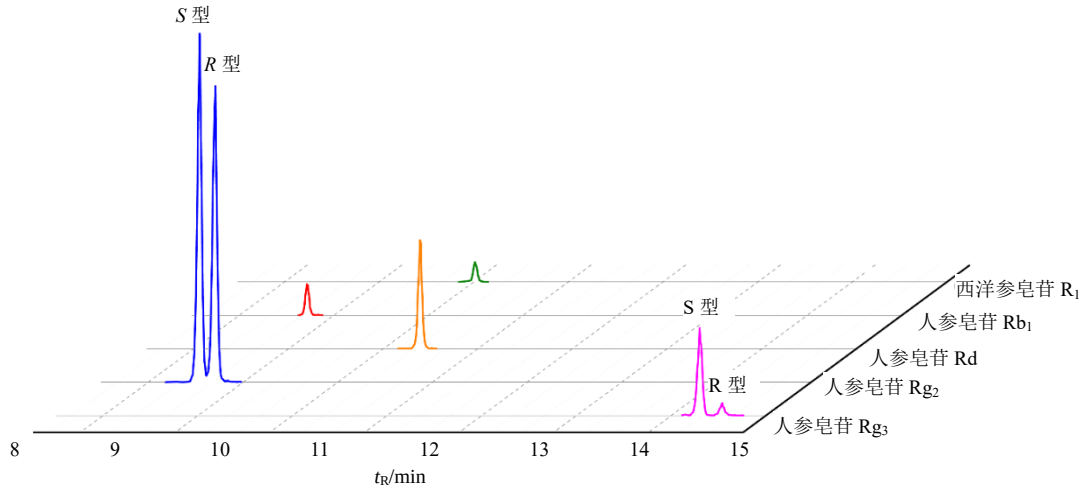
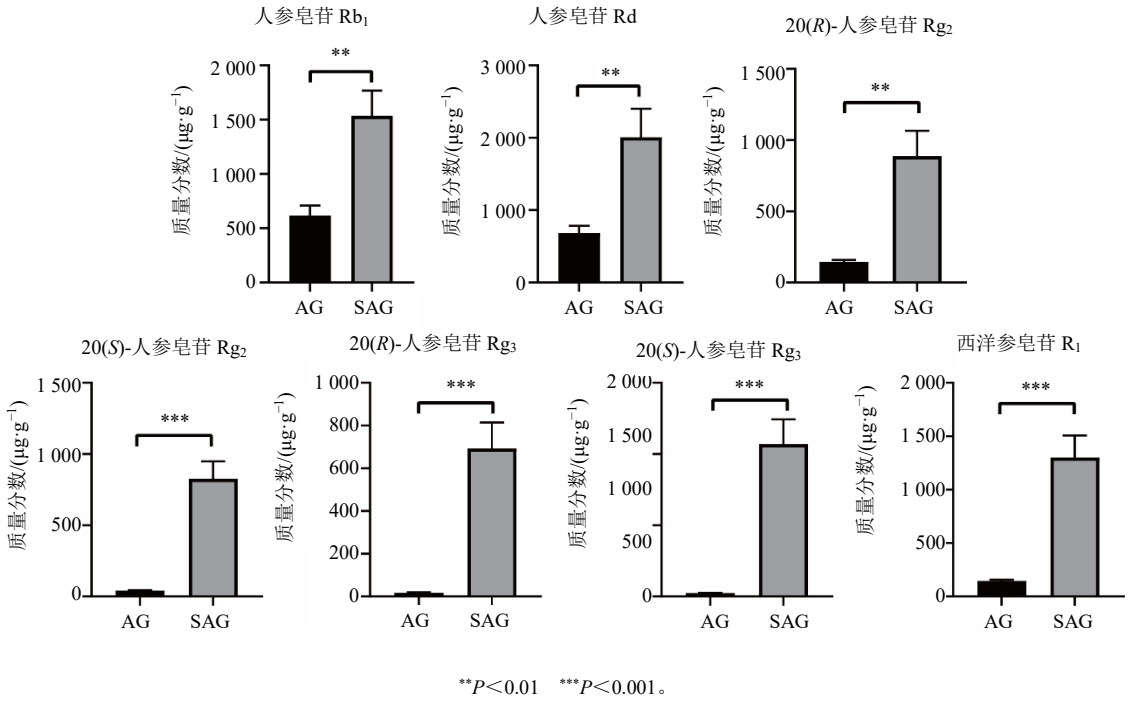


图 3　5 种人参皂苷及其同分异构分离情况

Fig. 3　Separation of five ginsenosides and their isomeric

时间，组织切片无法避免的被吹离玻片。因此在采集信号时，为了组织结构的完整性，同时尽量增强质谱信号的灵敏度，将西洋参切成 1 cm 厚度，固定在载玻片上。



$^{**}P<0.01$　$^{***}P<0.001$。

图 4　目标化合物的含量测定

Fig. 4　Content determination of target compounds

表 3　目标化合物的回归方程及质量分数

Table 3　Regression equation and mass fraction of target compounds

化合物名称	回归方程	r^2	质量分数/(μg g^{-1})	
			AG 组	SAG 组
人参皂苷 Rb_1	Y=166 X−1 700	0.998 2	618.00±202.23	1 540.40±516.08
人参皂苷 Rd	Y=391 X−7 720	0.998 0	684.66±242.74	2 005.00±971.8
20(*R*)-人参皂苷 Rg_3	Y=549 X−626	0.999 2	16.10±6.23	692.00±299.45
20(*S*)-人参皂苷 Rg_3	Y=63.6 X+2 880	0.999 2	46.63±3.12	3 029.40±1594.2
20(*R*)-人参皂苷 Rg_2	Y=1.97 X−6 620	0.999 2	144.30±32.27	887.67±436.4
20(*S*)-人参皂苷 Rg_2	Y=510 X−7 160	0.998 2	41.10±6.76	826.37±297.18
西洋参皂苷-R_1	Y=127 X−5 000	0.999 2	290.00±59.83	2 600.00±1 008.20

在成像时，喷雾溶剂的选择会影响目标化合物的信号采集。因此，首先配制 98%甲醇＋0.1%甲酸及 98%甲醇的喷雾溶剂，其他条件相同，对西洋参提取液进行成像分析。有研究表明 *m*/*z* 341.108 6 在西洋参 DESI-MSI 成像图中分布明显[13]。因此，将以 *m*/*z* 341.11 作为比较离子，结果如图 4 所示，表明在喷雾溶剂中含甲酸能明显增强信号响应以及成像质量。然后，对甲醇比例进行选择，探究 70%、80%、90%、98%甲醇成像结果的影响。结果表明，随着溶剂中甲醇比例的增加，成像响应也随之增强。综上，选择 98%甲醇＋0.1%甲酸喷雾作为喷雾溶剂进行 DESI-MSI 分析。

3.4　高温处理前后西洋参中关键人参皂苷可视化分析

通过 DESI-MSI 可视化了 5 个差异性成分在西洋参根组织的分布。如图 5 所示，5 种人参皂苷在高温前后显示出不同的空间分布，生西洋参中人参皂苷 Rd 与人参皂苷 Rb_1 主要分布于表层，在高温处理后向形成层，髓质部和木质部移动。对于西洋参皂苷 R_1，在高温处理前后，由主要分布于韧皮部和形成层向外移动。而对于稀有人参皂苷 Rg_2 和 Rg_3，由于其相对分子质量相同，无法在成像结果中进行区分。在 AG 组中，其含量稀少并未检测到对应分布，在热处理后，含量增加，成像丰度图显示

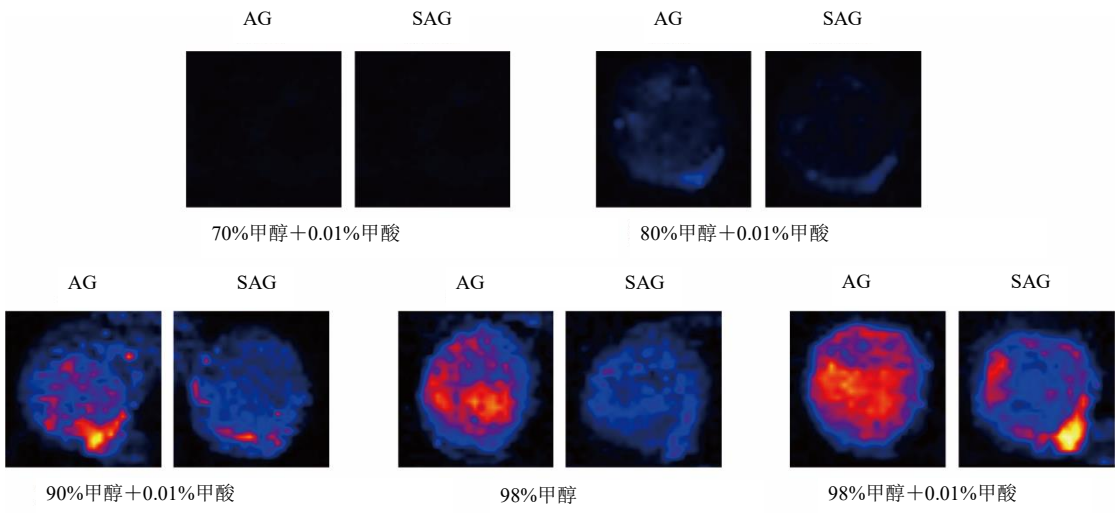


图 4　不同喷雾溶剂比例下 *m/z* 341.11 在西洋参中的分布

Fig. 4　Distribution of *m/z* 341.11 in *Panacis Quinquefolii Radix* under different spray solvent ratios

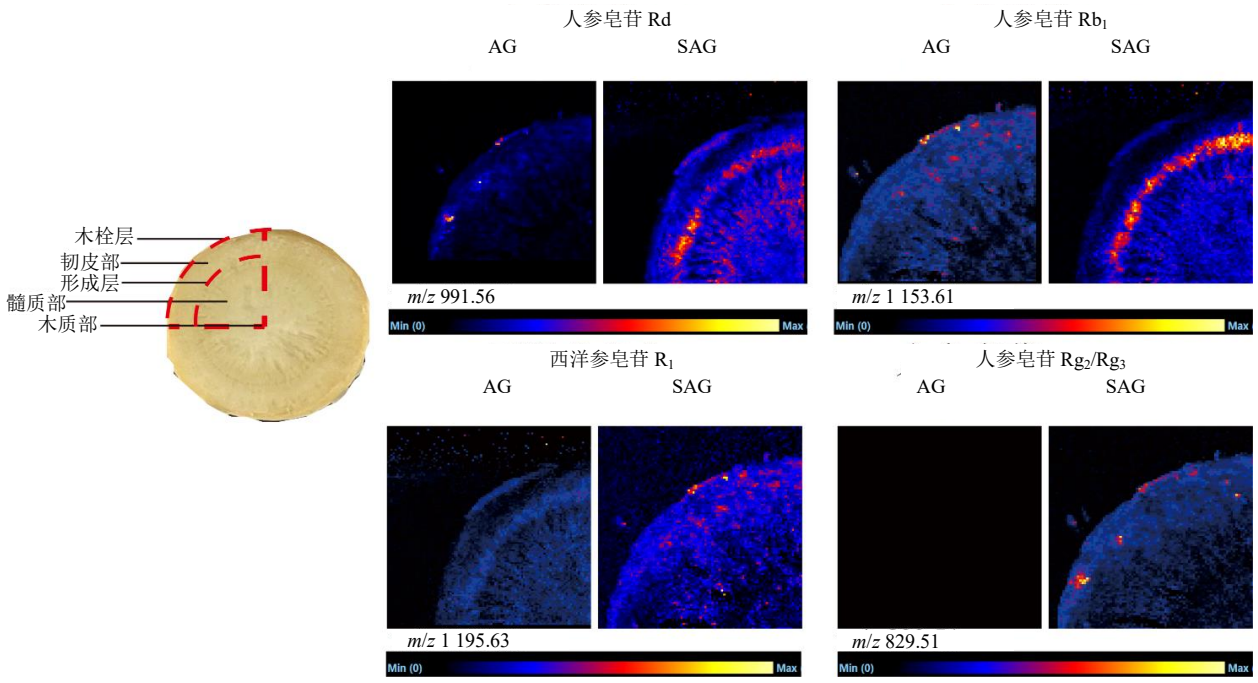


图 5　西洋参高温处理前后 5 种关键人参皂苷的 DESI-MSI 分析

Fig. 5　DESI-MSI analysis of five major ginsenosides before and after high-temperature treatment of *Panacis Quinquefolii Radix*

其主要分布于木栓层及韧皮部。DESI-MSI 对 5 种主要人参皂苷的空间表征表明，在高温处理后，西洋参根组织中人参皂苷丰度增加且在植物学结构上的分布出现了明显的改变，这与 UPLC-QQQ-MS 定量结果相吻合。

4　讨论

温度是中药炮制及加工必须应对的环境条件，高温直接影响药材的质量和疗效。已有研究显示人参和西洋参水煎 2～4 h 后可显著增加稀有人参皂苷的含量，如人参皂苷 Rg_3、人参皂苷 Rg_5 等[17]。西洋参蒸制过程还可诱导原型人参皂苷发生水解，脱羧和加成反应[18]。然而对于高温处理后其中的关键差异人参皂苷类成分的含量及空间分布上的变化，尚缺乏足够的数据。本研究基于植物代谢组学

技术，通过非靶及靶标定量对高温处理前后西洋参主要活性成分分析，发现有 5 种主要皂苷成分（人参皂苷 Rb_1、Rd、Rg_3、Rg_2 和西洋参皂苷 R_1）在高温处理后显著增加。其中西洋参特有成分-西洋参皂苷 R_1 是首次发现也与西洋参的高温处理过程密切相关。

实验结果表明高温处理后皂苷成分显著变化，而对变化背后的转化机制，有研究发现，西洋参在浸泡和煎煮过程中，乙酰皂苷可以脱酰化生成相应的中性皂苷，然后进一步去除末端糖基并脱水生成低极性人参皂苷[17]。李慧芝等[22]通过对蒸制西洋参皂苷进行成分识别及可视化分析发现九蒸九制西洋参制备过程中人参皂苷倾向于破坏糖苷键产生特征产物离子，稀有人参皂苷含量增加。本研究也发现西洋参在高温处理后稀有人参皂苷 Rg_2、Rg_3 及西洋参皂苷 R_1 的含量出现了显著上升，表明高温处理过程有助于原型人参皂苷向稀有人参皂苷转化。

近年来，随着 LC-MS 等高分辨质谱分析技术的普及，西洋参整体化学成分及高温处理后化学成分的变化研究已经取得巨大进展。但是对于药材加工而言，去皮、整支、热处理等操作需要中药的重要成分在药材组织分布的数据支撑。DESI-MSI 分析技术可以在室温、开放的环境实现对成分在组织原位的分布情况的研究。但是 DESI-MSI 的成像质量受组织切片质量、溶剂特异性等多种因素制约[21]。本研究通过系统比较影响 DESI-MSI 成像质量的因素，初步建立了西洋参中关键皂苷成分在组织原位进行 DESI-MSI 分析的技术平台，可为西洋参质量评价、优化加工炮制等环节提供关键的技术支撑。同时，本研究结果表明 5 种主要皂苷成分（人参皂苷 Rb_1、Rd、Rg_3、Rg_2 和西洋参皂苷 R_1）在高温处理后，在西洋参组织中不仅发生了总量的增加，而且均发生了明显的分布改变。本研究首次发现西洋参特有成分西洋参皂苷 R_1，在高温处理后表现出不同的动态空间分布趋势。

本研究发现的西洋参在高温处理后 5 种显著变化的皂苷成分与西洋参其质量评价及活性密切相关。人参皂苷 Rb_1 是西洋参中含量较高的成分，也是《中国药典》质量标准的指标物。按“中药质量标志物”的理论，质量标志物应该能够追溯及评价中药材在采收、加工过程的变化[23]。本研究也在一定程度为人参皂苷 Rb_1 用于西洋参质量评价增加了科学依据。人参皂苷 Rd 可以通过抑制微小 RNA-18a（microRNA-18a，miR-18a）介导的 Smad2 蛋白表达调节来减轻乳腺癌转移[24]。人参皂苷 Rg_2 能显著改善油酸和棕榈酸诱导的小鼠原代肝细胞细胞内脂质沉积和氧化应激[25]。人参皂苷 Rg_3 作为西洋参中稀有人参皂苷之一，能阻断磷脂酰肌醇 3-激酶（phosphatidylinositol 3 kinase，PI3K）/蛋白激酶 B（protein kinase B，AKT）即 PI3K/AKT 信号转导通路，促进肺癌和卵巢癌细胞的细胞死亡[26-27]。西洋参皂苷 R_1 是西洋参中的特有成分，可用于快速区分西洋参中主根侧根等 4 个形态区域[28]。因此这 5 种成分将为后续的质量评价、加工炮制、产品追溯等研究提供重要的数据支撑。

综上，本研究基于 LC-MS 的代谢组学和质谱成像技术，对高温处理前后西洋参中关键差异人参皂苷的变化进行了系统的研究。研究结果不仅建立了西洋参主要皂苷成分的动态分析评价技术平台，而且为西洋参的质量评价、加工利用等后续研究提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 于晓艳, 张宇弛, 方粟一, 等. 西洋参的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中医药学报, 2024, 52(4): 99-104.

[2] 吴首蓉, 郭晓宇, 屠鹏飞, 等. 西洋参化学成分、生物活性、品质评价及产品开发研究进展 [J]. 药学学报, 2022, 57(6): 1711-1725.

[3] 夏子怡, 车晓青, 李文, 等. 基于双向调节药效的人参、西洋参和三七中药质量标志物研究 [J]. 世界中医药, 2023, 18(3): 421-424.

[4] Li Y K, Chen Z, Zhang C. Historical evolution and processing mechanism of ‘nine steaming and nine drying’ of traditional Chinese medicine preparation [J]. *Pharm Biol*, 2024, 62(1): 436-446.

[5] Chen S H, Chen Z Y, Rothenberg D O, *et al*. Short-term steaming during processing impacts the quality of *Citri Reticulatae* ‘Chachi’ peel [J]. *Food Chem*, 2024, 447: 138964.

[6] Li M M, Hua S Y, Huang X, *et al*. Non-targeted metabonomics to investigate the differences in the properties of ginseng and American ginseng based on rapid resolution liquid chromatography coupled with quadrupole-time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(18): 3497-3505.

[7] Oh S W, Imran M, Kim E H, *et al*. Approach strategies and application of metabolomics to biotechnology in plants [J]. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1192235.

[8] Ji R F, Garran T A, Luo Y L, *et al*. Untargeted metabolomic analysis and chemometrics to identify potential marker compounds for the chemical differentiation of *Panax ginseng*, *P. quinquefolius*, *P. notoginseng*, *P. japonicus*, and *P. japonicus* var. *major* [J]. *Molecules*, 2023, 28(6): 2745.

[9] Nam M, Jo S R, Kim Y C, *et al*. UPLC-QTOF-MS-based metabolomics and antioxidant capacity of *Codonopsis lanceolata* from different geographical origins [J]. *Foods*, 2023, 12(2): 267.

[10] Boughton B A, Thinagaran D. Mass spectrometry imaging (MSI) for plant metabolomics [J]. *Methods Mol Biol*, 2018, 1778: 241-252.

[11] 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.

[12] Nie L X, Dong J, Huang L Y, *et al*. Microscopic mass spectrometry imaging reveals the distribution of phytochemicals in the dried root of *Isatis tinctoria* [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 685575.

[13] Luo S Y, Yang X X, Zhang Y, *et al*. Spatial metabolomics method to reveal differential metabolomes in microregions of *Panax quinquefolius* roots by using ultra-performance liquid chromatography quadrupole/time of flight-mass spectrometry and desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging [J]. *Food Chem*, 2024, 435: 137504.

[14] Hu W Y, Han Y H, Sheng Y Q, *et al*. Mass spectrometry imaging for direct visualization of components in plants tissues [J]. *J Sep Sci*, 2021, 44(18): 3462-3476.

[15] 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.

[16] Parrot D, Papazian S, Foil D, *et al*. Imaging the unimaginable: Desorption electrospray ionization - imaging mass spectrometry (DESI-IMS) in natural product research [J]. *Planta Med*, 2018, 84(9/10): 584-593.

[17] Chen L H, Zhang Y B, Yang X W, *et al*. Application of UPLC-Triple TOF-MS/MS metabolomics strategy to reveal the dynamic changes of triterpenoid saponins during the decocting process of Asian ginseng and American ginseng [J]. *Food Chem*, 2023, 424: 136425.

[18] Huang X, Liu Y, Zhang Y, *et al*. Multicomponent assessment and ginsenoside conversions of *Panax quinquefolium* L. roots before and after steaming by HPLC-MS^n [J]. *J Ginseng Res*, 2019, 43(1): 27-37.

[19] Gong P X., Zong, W L., Li H H, *et al*. Comprehensive analysis of different types of ginsenosides in the different parts of American ginseng by targeted and nontargeted MS/MS scanning [J]. *J Food Science*, 2023, 88(12):15 .

[20] Zuo T T, Zhang C X, Li W W, *et al*. Offline two-dimensional liquid chromatography coupled with ion mobility-quadrupole time-of-flight mass spectrometry enabling four-dimensional separation and characterization of the multicomponents from white ginseng and red ginseng [J]. *J Pharm Anal*, 2020, 10(6): 597-609.

[21] Liu M Y, Xu X Y, Wang X Y, *et al*. Enhanced identification of ginsenosides simultaneously from seven *Panax* herbal extracts by data-dependent acquisition including a preferred precursor ions list derived from an in-house programmed virtual library [J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70(42): 13796-13807.

[22] 李慧芝, 赵燕芳, 王岱杰, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 和 MALDI-MSI 的多蒸西洋参皂苷成分识别及可视化分析 [J]. 中国中药杂志, 2024, 49(6): 1526-1539.

[23] Ren J L, Zhang A H, Kong L, *et al*. Analytical strategies for the discovery and validation of quality-markers of traditional Chinese medicine [J]. *Phytomedicine*, 2020, 67: 153165.

[24] Yang J E, Jia N, Wang D, *et al*. Ginsenoside Rb1 regulates neuronal injury and Keap1-Nrf2/ARE signaling pathway in cerebral infarction rats [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2020, 34(3): 1091-1095.

[25] Wang P W, Du X Y, Xiong M Q, *et al*. Ginsenoside Rd attenuates breast cancer metastasis implicating derepressing microRNA-18a-regulated Smad2 expression [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33709.

[26] Cheng B, Gao W H, Wu X J, *et al*. Ginsenoside Rg_2 ameliorates high-fat diet-induced metabolic disease through SIRT1 [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(14): 4215-4226.

[27] Xie Q P, Wen H K, Zhang Q, *et al*. Inhibiting PI3K-AKt signaling pathway is involved in antitumor effects of ginsenoside Rg_3 in lung cancer cell [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 85: 16-21.

[28] Jiao Y F, Si Y, Li L, *et al*. Comprehensive phytochemical profiling of American ginseng in Jilin province of China based on ultrahigh-performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Mass Spectrom*, 2021, 56(11): e4787.

[责任编辑 王文倩]