

doi: 10.12452/j.fxcxb.26062203

基于UPLC-HRMS结合MALDI-MSI的北沙参蒸制过程中代谢变化研究

周 烁^{1,2}, 张冠华², 董红敬^{2,3}, 陈 健⁴, 王 晓^{2,3*}

(1. 山东中医药大学 药学院, 山东 济南 250335; 2. 齐鲁工业大学(山东省科学院) 山东省分析测试中心 天然产物分离提取共性技术创新与应用山东省工程研究中心, 山东 济南 250014; 3. 齐鲁工业大学(山东省科学院) 药学院 山东省高等学校天然药物活性成分研究重点实验室, 山东 济南 250014; 4. 山东第一医科大学附属中心医院, 山东 济南 250013)

摘 要: 为探究北沙参蒸制过程中代谢物的动态变化规律及其机制, 采用超高效液相色谱-高分辨质谱(UPLC-HRMS)和基质辅助激光解吸电离质谱成像(MALDI-MSI)技术, 分析不同蒸制时间(0、5、10、15 min)下代谢物的相对含量。UPLC-HRMS鉴定出10种差异代谢物(如4-羟基香豆素、咖啡酸、阿魏酸)显著变化, 涉及糖苷键降解、呋喃环断裂、香豆素氧化等化学反应; MALDI-MSI揭示阿魏酸、棉子糖、乙酰鸟氨酸等含量变化, 主要与多肽/寡糖高温降解及精氨酸合成抑制有关。北沙参蒸制可促进其香豆素转化、升高有机酸含量、诱导糖苷键断裂, 从而改变化学成分轮廓; 蒸制5~10 min有利于更多成分保留, 为北沙参工艺优化提供理论依据。

关键词: 北沙参; 蒸制; 代谢组学; 超高效液相色谱-高分辨质谱; 基质辅助激光解吸电离质谱成像

中图分类号: O657.7; O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(XXXX)XX-0001-14

Study on Metabolic Changes During the Steaming Process of Glehniae Radix Based on UPLC-HRMS Combined with MALDI-MSI

ZHOU Shuo^{1,2}, ZHANG Guan-hua², DONG Hong-jing^{2,3}, CHEN Jian⁴, WANG Xiao^{2,3*}

(1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250335, China; 2. Shandong Engineering Research Center for Innovation and Application of General Technology for Separation of Natural Products, Shandong Analysis and Test Center, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250014, China; 3. Key Laboratory for Natural Active Pharmaceutical Constituents Research in Universities of Shandong Province, School of Pharmaceutical Sciences, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250014, China; 4. Department of Traditional Chinese Medicine, Central Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan 250013, China)

Abstract: To investigate the dynamic changes and underlying mechanisms of metabolites in Glehniae Radix during steaming. UPLC-HRMS and MALDI-MSI were employed to analyze the relative contents of metabolites at different steaming times (0, 5, 10, 15 min). UPLC-HRMS identified 10 differential metabolites (such as 4-hydroxycoumarin, caffeic acid, ferulic acid) with significant changes, involving glycosidic bond cleavage, furan ring rupture, and coumarin oxidation. MALDI-MSI revealed content alterations in ferulic acid, raffinose, acetylmethionine and others, mainly associated with high-temperature degradation of polypeptides/oligosaccharides and inhibition of arginine synthesis. Steaming of Glehniae Radix promotes coumarin conversion, elevates organic acid contents, and induces glycosidic bond cleavage, thereby modifying its chemical profile. Steaming for 5–10 min facilitates better retention of components, providing a theoretical basis for process optimization of Glehniae Radix.

Key words: Glehniae Radix; steaming; metabolomics; LC-MS; MALDI-MSI

北沙参为伞形科植物珊瑚菜 (*Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq.) 的干燥根, 是临床中常用的养

收稿日期: 2026-06-22; 修回日期: 2026-08-20

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFC3503805); 国家现代农业产业技术体系(CARS-21); 山东省泰山学者(tstp20221138)

* 通讯作者: 王 晓, 博士, 研究员, 研究方向: 中药质量控制与中药资源, E-mail: wangx@sda.org

网络首发日期: XXXX-XX-XX

阴类中药,具有养阴清肺、益胃生津之功效^[1]。研究表明,北沙参富含香豆素、黄酮、有机酸等多种化学成分^[2]。在临床中,北沙参需加工后入药,主要包括三种加工方式,如润法、蒸法和烫法。其中,蒸制是一种传统的加工方法,也是北沙参的常用加工方式,具有增强滋补疗效,减轻药物毒性,延长储存时间的作用^[3, 4]。蒸制会诱导药材中化学成分含量发生变化。先前研究发现,蒸制可以导致重楼中6种皂苷类成分显著下降,使关白附中关附甲素含量发生变化^[5, 6]。邹雅丹等发现蒸制诱导了人参中Rk1、Rg3等二糖苷及Rh2西游皂苷的生成^[7]。此外,蒸制处理提高了黄精中皂苷、黄酮和多酚类成分的含量^[8]。对于北沙参而言,蒸制可导致其外观特性和挥发性成分发生显著变化^[9, 10]。然而,蒸制过程中北沙参代谢物相对含量的变化及其机制尚未阐明。

代谢组学是一种应用超高效液相色谱-高分辨质谱(UPLC-HRMS)揭示代谢物相对含量变化的技术,已被应用于中草药、食品和复方制剂的化学成分分析^[11]。然而,UPLC-HRMS损失了样品中代谢物的空间分布^[12]。基质辅助激光解吸电离质谱成像(MALDI-MSI)是一种具有无标记、非靶向和原位能力的新技术,可以弥补空间分布的不足,可实现小分子(如氨基酸、黄酮、有机酸)到大分子(如多糖和蛋白质)的检测^[13, 14]。MALDI-MSI已成功应用于中药与食品的空间化学信息可视化映射^[15]。该方法具有优异的成像空间分辨率与软电离模式下较宽的质量检测范围等优势,可用于检测化合物在加工或生长期间的时空分布特征^[16-19]。UPLC-HRMS结合MALDI-MSI的时空代谢组学已应用于揭示中草药和食品中代谢物的产生和降解^[14, 20]。

本研究拟制备不同蒸制时间的北沙参,采用UPLC-HRMS分析蒸制过程中代谢物的相对含量变化,并应用MALDI-MSI表征代谢物的空间分布,旨在揭示北沙参蒸制过程的科学内涵,同时为北沙参工艺优化和质量控制提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Vanquish UHPLC-Q Exactive HF-X 质谱仪(美国赛默飞世尔科技公司); Bruker rapifleX MALDI Tissue typer TOF/TOF 质谱仪(德国布鲁克公司); KQ-250E 超声波恒温清洗机(昆山市超声仪器有限公司)。

甲醇(美国赛默飞世尔科技公司)为色谱纯;甲酸(美国赛默飞世尔科技公司)为色谱纯;超纯水由Direct-Q系统(美国默克集团)制备。

1.2 药材

新鲜北沙参购自山东省烟台市莱阳市,经山东中医药大学李佳教授鉴定为伞形科珊瑚菜(*Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq.)的干燥根。

1.3 不同蒸制时间北沙参的制备

基于之前的研究,将北沙参洗净后置于蒸制容器内,水沸后分别蒸制0 min、5 min、10 min和15 min以制备不同蒸制时间的北沙参样品,分别命名为BSS0、BSS5、BSS10和BSS15,4℃保存。

1.4 UPLC-HRMS 分析

1.4.1 样品制备 取干燥北沙参样品0.2 g,加入1.0 mL 80%甲醇,采用超声波恒温清洗机(350W, 25℃)提取30 min;随后,15000g离心20 min并收集上清液,采用0.22 μm滤膜过滤,用于后续分析。

1.4.2 色谱条件 色谱柱为Hypesil Gold 色谱柱(100 × 2.1 mm, 1.9 μm, 美国赛默飞世尔科技公司);柱温40℃;进样量1 μL;流动相:0.1%甲酸水(A)和甲醇(B);梯度洗脱条件:0 min, 2%B; 1.5 min, 2%B; 3.0 min, 85%B; 10.0 min, 100%B; 10.1 min, 2%B; 12.0 min, 2%B。流速为0.2 mL/min。

1.4.3 质谱条件 质谱仪采用ESI源:喷雾电压3500 V;鞘气流速35 psi;辅助气流速10 L/min;离子传输管温度320℃;离子导入射频水平为60;辅助气加热器温度350℃;扫描质量范围为 m/z 100–1500。

1.4.4 数据处理 数据采集完成后,应用Compound Dsicker 3.3软件(美国赛默飞世尔科技公司)处理原始数据,包括峰检测、峰对齐和质量控制。预处理后,筛选相对峰面积变异系数(CV) < 30%的

信号峰。随后, 基于 PMhub、Massbank 和 Pubchem 等公共数据库, 根据一级分子离子峰和二级碎片信息, 进行代谢物注释。

1.5 MALDI-MSI 分析

1.5.1 样品制备 取不同蒸制时间的北沙参样品, 横向切成 5 mm 小段, 采用 OCT 包埋剂将样品包埋于冷冻切片机 (美国赛默飞世尔科技公司) 的快速冷冻平台 (-20°C) 上, 并制备厚度为 20 μm 的冰冻组织切片, 将其贴附于氧化铟锡 (ITO) 导电载玻片表面。随后, 使用基质喷涂仪 (维科托 (北京) 科技有限公司) 将 1, 5-二氨基萘 (3 mg/mL) 覆盖于样品表面, 仪器参数: 流速 0.1 mL/min; 氮气压力 10 psi; 喷嘴温度 55°C 。每张切片进行 12 次喷雾循环。最后, 将切片真空干燥 10 min。

1.5.2 样品分析 采用 Bruker rapifleX MALDI Tissue typer TOF/TOF 质谱仪进行质谱成像实验。质谱成像采集在负离子模式下进行, 空间分辨率为 100 μL , 质量范围为 m/z 100–1000; 激光发射频率和重复频率分别设为 200 Hz 和 5 kHz。

1.5.3 数据处理 原始质谱成像数据使用 SCiLS Lab 软件 (2018b, Bremen, Germany) 进行可视化处理。

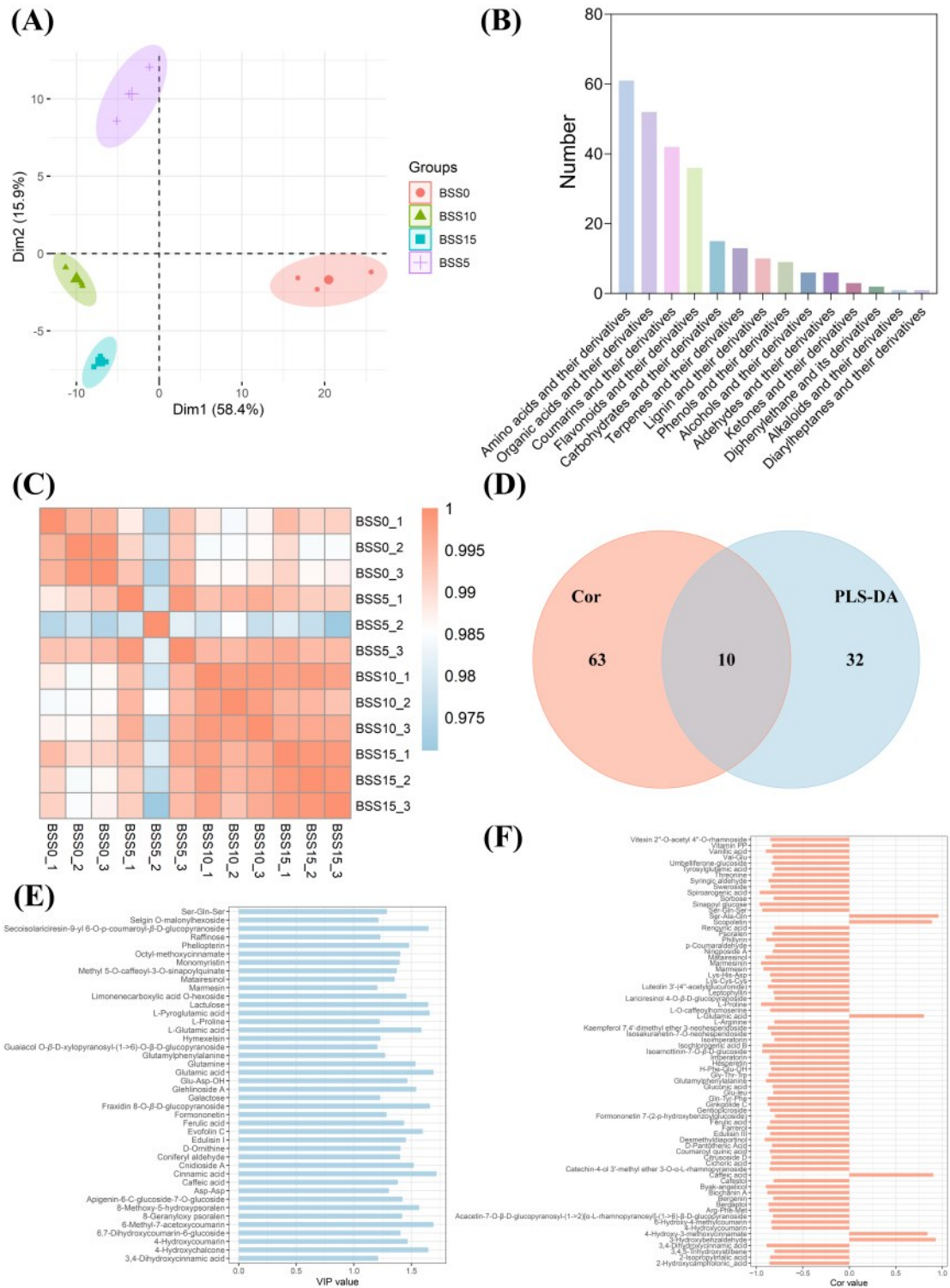
1.6 统计分析

所有实验均进行三次独立的生物学重复, 数据以平均值 $\pm$ 标准差的形式表示。所有分析算法均在 R-Studio 软件中进行。

2 结果与讨论

2.1 UPLC-HRMS 分析

本研究采用非靶向代谢组学方法测定蒸制过程中代谢物的相对含量变化。如图 1A 和 1B 所示, QC 样品距离较近, 表明采集数据的可靠性和稳定性。随后, 基于 QC 样品中 $\text{CV}<30\%$ 条件, 在正离子模式下检测到 2221 个信号峰, 负离子模式下检测到 2153 个信号峰。根据一级分子离子峰和二级碎片信息进行代谢物注释, 共鉴定出 257 个代谢物, 包括正离子模式 138 个, 负离子模式 119 个 (附表 S1)。随后, 采用主成分分析 (PCA) 分析了不同蒸制时间北沙参样品间差异。如图 1A 所示, 组内北沙参样品距离较近, 组间北沙参样品能够被明显区分, 表明蒸制过程的重复性良好, 且不同蒸制时间组间的代谢物相对含量存在显著变化。同时, 相关性分析显示组内的北沙参样品具有高度相关性 (图 1C)。如图 1B 所示, 257 个代谢物可分为 14 类, 包括氨基酸及其衍生物 (61)、有机酸及其衍生物 (52)、香豆素及其衍生物 (42)、黄酮类化合物及其衍生物 (36)、碳水化合物及其衍生物 (15)、萜类及其衍生物 (13)、木脂素及其衍生物 (10)、酚类及其衍生物 (9)、醇类及其衍生物 (6)、醛类及其衍生物 (6)、酮类及其衍生物 (3)、二苯乙烯及其衍生物 (2)、生物碱及其衍生物 (1) 以及二芳基庚烷及其衍生物 (1)。综上, 氨基酸、有机酸、香豆素、黄酮类和碳水化合物是北沙参样品中的主要代谢物。



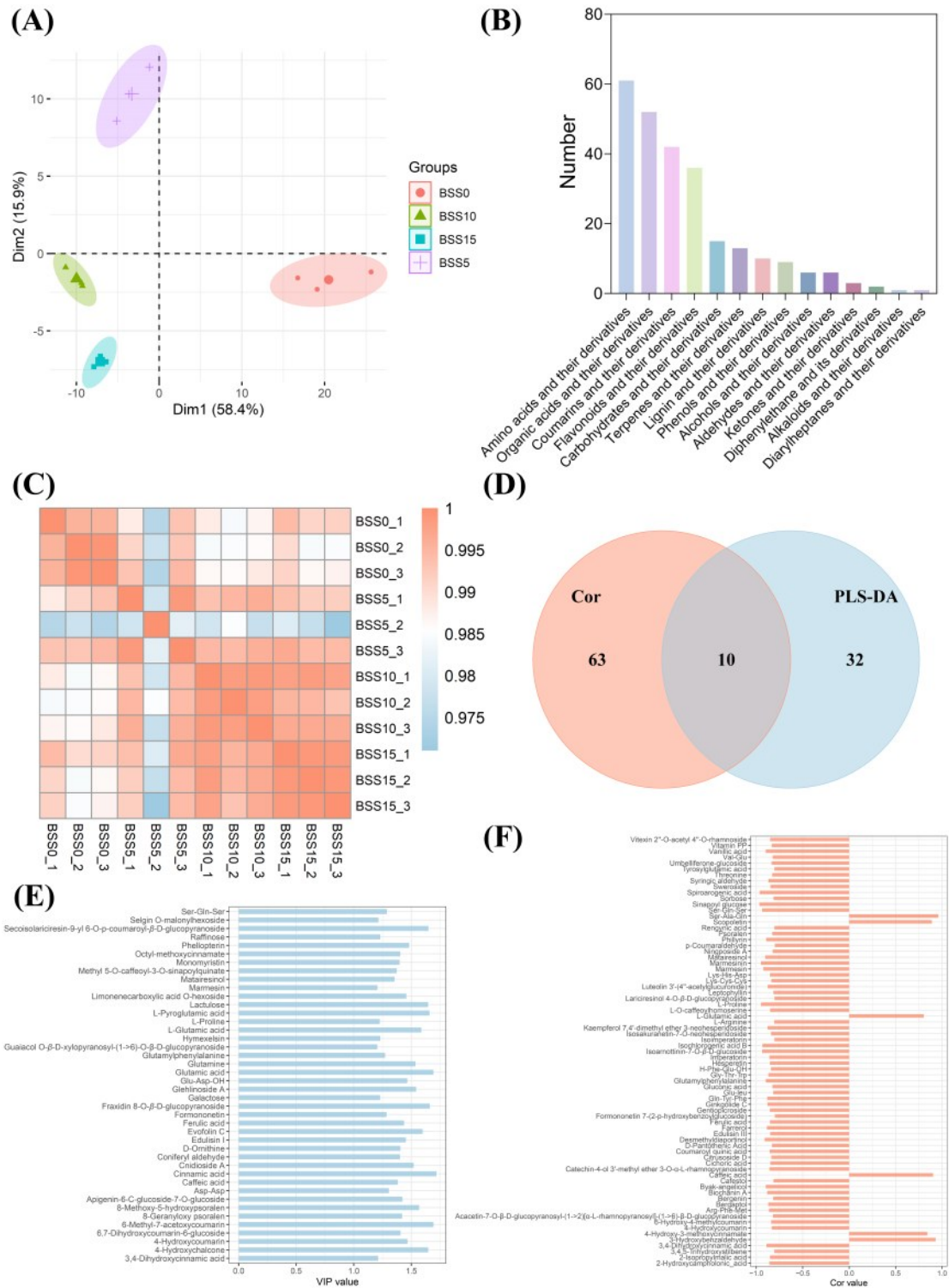


图1 主成分分析得分图 (A); 不同类别代谢物的数量 (B); 不同蒸制时间北沙参样品间的相关性分析 (C); 韦恩图 (D); 通过偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 筛选差异代谢物的结果 (E); 相关性分析 (F)

Fig. 1 Score plot of principal component analysis (A); Number of metabolites in different categories (B); Correlation analysis of *Glehnia Radix* samples subjected to different steaming durations (C); Venn diagram (D); Results of differential metabolite screening via partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) (E); Correlation analysis (F)

香豆素是来源于邻羟基肉桂酸的内酯, 具有基于苯骈- α -吡喃酮母核的基本骨架^[10]。香豆素可分为三类, 包括简单香豆素、呋喃香豆素和吡喃香豆素, 而北沙参中含有简单香豆素和呋喃香豆素^[21]。同时, 香豆素是北沙参产生药理作用的主要活性成分^[22]。本研究共检测到42种香豆素及其衍生物, 其相对含量呈现规律性变化。如图2A-B、E、G-K所示, 花椒毒酚-二葡萄糖苷 (xanthotoxol-

diglucoside)、伞形花内酯-葡萄糖苷(umbelliferone-glucoside)、补骨脂素(psoralen)、佛手柑内酯(bergapten)、8-氧甲基异欧前胡内酯(cnidilin)、异欧前胡素(isoimperatorin)、花椒毒酚(xanthotoxol)和欧前胡素(imperatorin)等代谢物的相对含量随蒸制时间延长而降低。先前研究表明,蒸制过程中较高的温度和湿度,在较短时间蒸制会诱导糖苷键的水解,而长时间较高的温度和湿度会引起热不稳定的呋喃香豆素类成分开环裂解,引起呋喃香豆素母核结构的破坏,进而诱导其相对含量的降低^[23, 24]。因此,这些香豆素及其衍生物的含量变化可归因于糖苷键断裂导致香豆素糖苷(如花椒毒酚-二葡萄糖苷和伞形花内酯-葡萄糖苷)降解,以及高温下呋喃环的开裂^[2, 23]。如图2A、B、D和L所示,蒸制过程中,花椒毒酚-二葡萄糖苷和伞形花内酯-葡萄糖苷的相对含量逐渐降低;花椒毒酚和伞形花内酯的相对含量在蒸制5 min前和蒸制10 min后降低,而在5-10 min内略有升高。这可能由于在蒸制5 min前和蒸制10 min后,高温使花椒毒酚和伞形花内酯发生降解,而在5-10 min内,花椒毒酚-二葡萄糖苷和伞形花内酯-葡萄糖苷的降解生成了花椒毒酚和伞形花内酯。此外,欧前胡素的相对含量在蒸制过程中逐渐降低,而氧化欧前胡素相对含量呈降低-升高-降低趋势。先前研究发现,在高温和有氧条件下,香豆素类成分易被氧化,且该反应主要受温度和氧气等调节驱动,且遵循自由基链式反应动力学^[25]。因此,欧前胡素和氧化欧前胡素的相对含量变化,可归因于欧前胡素在高温下被氧化为氧化欧前胡素。此外,金义虎等^[26]发现氧化欧前胡素与TLR2的结合能力强于欧前胡素,可能表现出更强的抗炎镇痛活性。氧化欧前胡素含量的升高可能有利于提高北沙参的抗炎活性。总之,香豆素相对含量的规律性变化受多种化学反应影响,包括糖苷键的降解、呋喃环的开裂以及香豆素的氧化。

有机酸是一类含有羧基或酚羟基且具有酸性的有机化合物,广泛分布于植物的叶、根和果实中。目前,在北沙参中已发现香草酸(vanillic acid)、阿魏酸(ferulic acid)、绿原酸(chlorogenic acid)及其衍生物^[27]。本研究共检测到52种有机酸类成分,且6种有机酸的相对含量降低,包括香草酸1-O- $[\beta$ -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷]酯(vanillic acid 1-O- $[\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside] ester)、异绿原酸B(isochlorogenic acid B)、香草酸(vanillic acid)、香豆酰奎宁酸(coumaroyl quinic acid)、异绿原酸A(isochlorogenic acid A)和阿魏酸(ferulic acid)。此外,6种有机酸的相对含量先降低后升高(图3),包括咖啡酰奎宁酸(caffeoyl quinic acid)、柠檬酸(citric acid)、绿原酸(chlorogenic acid)、咖啡酸己糖苷(caffeic acid hexoside)、咖啡酸(caffeic acid)和3-香豆酸(3-coumaric acid)。有机酸相对含量的规律性变化可归因于化学键受热断裂后,结合态有机酸转化为游离态有机酸^[28]。

碳水化合物是以C、H、O为基本单元通过糖苷键连接形成的有机化合物。碳水化合物是北沙参的主要活性成分之一,如多糖和低聚糖。本研究共检测到15种碳水化合物及其衍生物(图4)。其中,4种碳水化合物(麦芽糖、麦芽三糖、蔗糖和聚半乳糖苷C)的相对含量随蒸制时间延长而逐渐降低,这可归因于糖苷键的断裂。此外,2种碳水化合物(蜜二糖和棉子糖)的相对含量先升高后降低,这可归因于蒸制过程中高温驱动多糖降解并生成低聚糖^[29]。

随后,基于这些代谢物的相对含量构建了热图。如图5紫色框所示,大多数代谢物的相对含量呈下降趋势,主要涉及氨基酸及其衍生物、香豆素及其衍生物、有机酸及其衍生物,表明这些代谢物的相对含量随蒸制时间的延长而逐渐降低。

此外,通过相关性分析和PLS-DA筛选差异代谢物(图1E和1F)。相关性分析结果表明,共鉴定出73个相关系数绝对值大于0.8的差异代谢产物,包括L-脯氨酸(L-Proline)、Ser-Ala-Gln、螺芳酸(Spiroarogenic acid)、3-羟基苯甲醛(3-Hydroxybenzaldehyde)和芥子酰葡萄糖(Sinapoyl glucose)。PLS-DA结果显示,共筛选出42个变量投影重要性(VIP)>1.2的差异代谢物,如L-焦谷氨酸(L-Pyroglutamic acid)、谷氨酸(Glutamic acid)、8-O- β -D-吡喃葡萄糖基-秦皮素(Fraxidin 8-O- β -D-glucopyranoside)、6-甲基-7-乙酰氧基香豆素(6-Methyl-7-acetoxycoumarin)和肉桂酸(Cinnamic acid)。整合筛选结果,共获得10个差异代谢物(图1G),包括L-脯氨酸、罗汉松脂素(matairesinol)、紫花前胡苷元(marmesin)、4-羟基香豆素(4-hydroxycoumarin)、L-谷氨酸(L-glutamic acid)、3, 4-二羟基肉桂酸(3, 4-dihydroxycinnamic acid)、Ser-Gln-Ser、咖啡酸(caffeic acid)、谷氨酰苯丙氨酸

(glutamylphenylalanine) 和阿魏酸 (ferulic acid) (图 6)。其中, L-脯氨酸是一种具有抗氧化活性的亚氨基酸^[29]。谷氨酰苯丙氨酸是由 γ -谷氨酸和苯丙氨酸组成的二肽, 存在于许多天然产物中, 包括翠雀花种子和大豆^[30]。此外, Ser-Gln-Ser 的相对含量降低, 可归因于高温诱导多肽的降解 (图 6A、G 和 I)^[31]。同时, 单体氨基酸 L-谷氨酸的相对含量随蒸制时间延长而逐渐增加 (图 6E)。谷氨酸可通过调节 Th17/Treg 平衡相关信号通路增强肠道免疫, 这与北沙参的临床疗效相关^[32]。罗汉松脂素是一种二苄基丁内酯类植物木脂素, 具有抗氧化、抗炎和抗癌活性^[33]。紫花前胡苷元是一种呋喃香豆素, 具有治疗血管生成相关疾病的作用^[34]。4-羟基香豆素是香豆素衍生物, 具有抗菌、抗炎和抗癌等多种健康益处^[35]。如图 6B-D 所示, 这些差异代谢物的相对含量在蒸制过程中逐渐降低。此外, 咖啡酸是一种天然丰富的有机酸, 主要存在于水果、蔬菜和茶中, 其在蒸制过程中相对含量呈上升趋势 (图 6H)^[36]。阿魏酸是一种具有抗菌、抗氧化和抗炎活性的天然成分^[37]。阿魏酸的相对含量逐渐降低, 这与先前的研究一致 (图 6J)^[28]。综上, 这些差异代谢物的相对含量发生了规律性变化, 共同塑造了蒸制后北沙参的化学轮廓。此外, 蒸制 5-10 min 有利于北沙参中差异代谢物的保留。

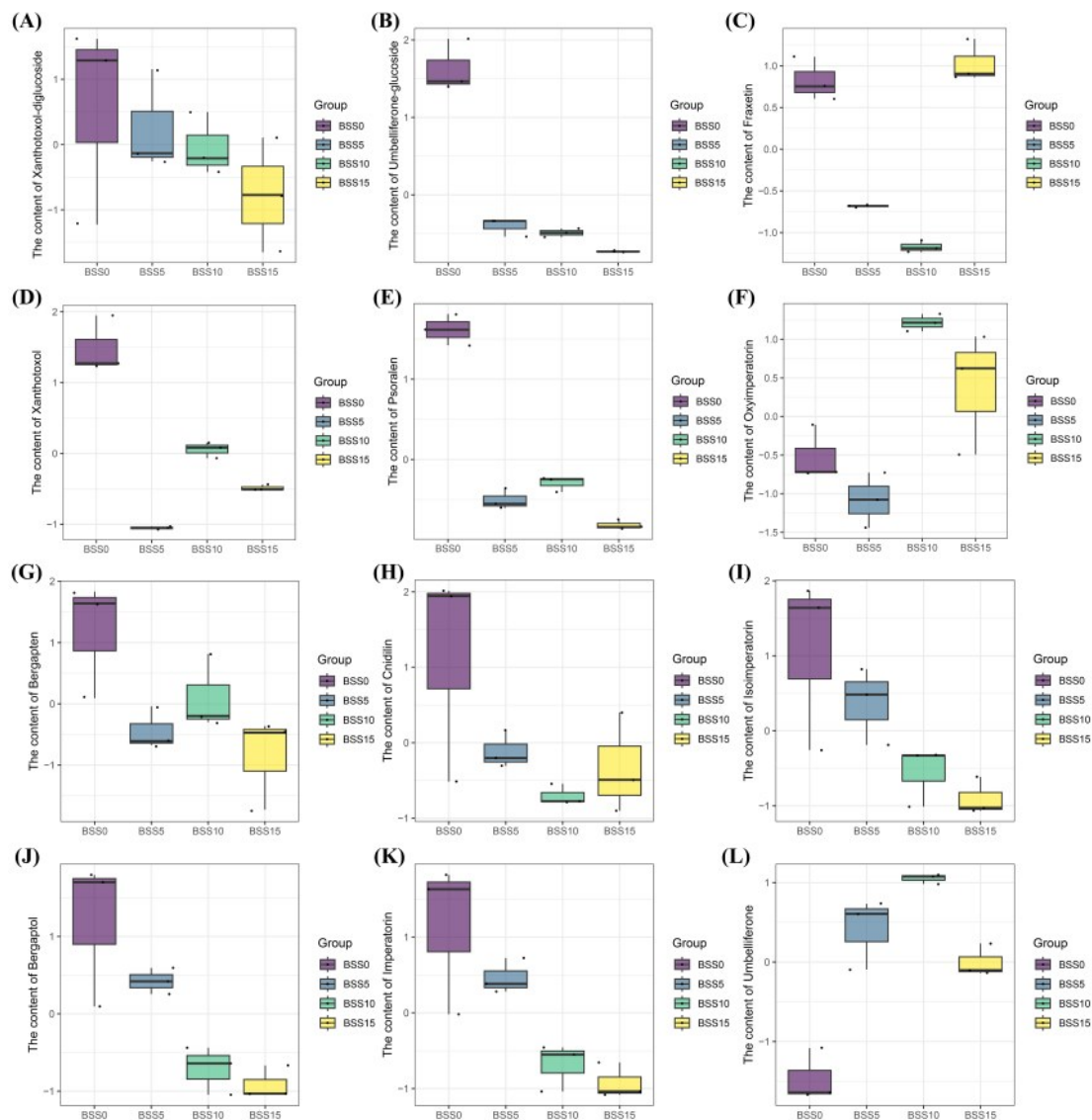


图2 不同蒸制时间北沙参样品中香豆素及其衍生物的相对含量: 花椒毒酚-二葡萄糖苷 (A); 伞形花内酯-葡萄糖苷 (B); 秦皮素 (C); 花椒毒酚 (D); 补骨脂素 (E); 氧化欧前胡素 (F); 佛手柑内酯 (G); 珊瑚菜内酯 (H); 异欧前胡素 (I); 佛手柑酚 (J); 欧前胡素 (K); 伞形花内酯 (L)

Fig. 2 The relative contents of coumarins and their derivatives in *Glehnia Radix* samples with different steaming times: xanthoxol-diglucoside (A); umbelliferone-glucoside (B); fraxidin (C); xanthoxol (D); psoralen (E); bergapten (G); phellopterin (H); bergapten (J); imperatorin (K); umbelliferone (L)

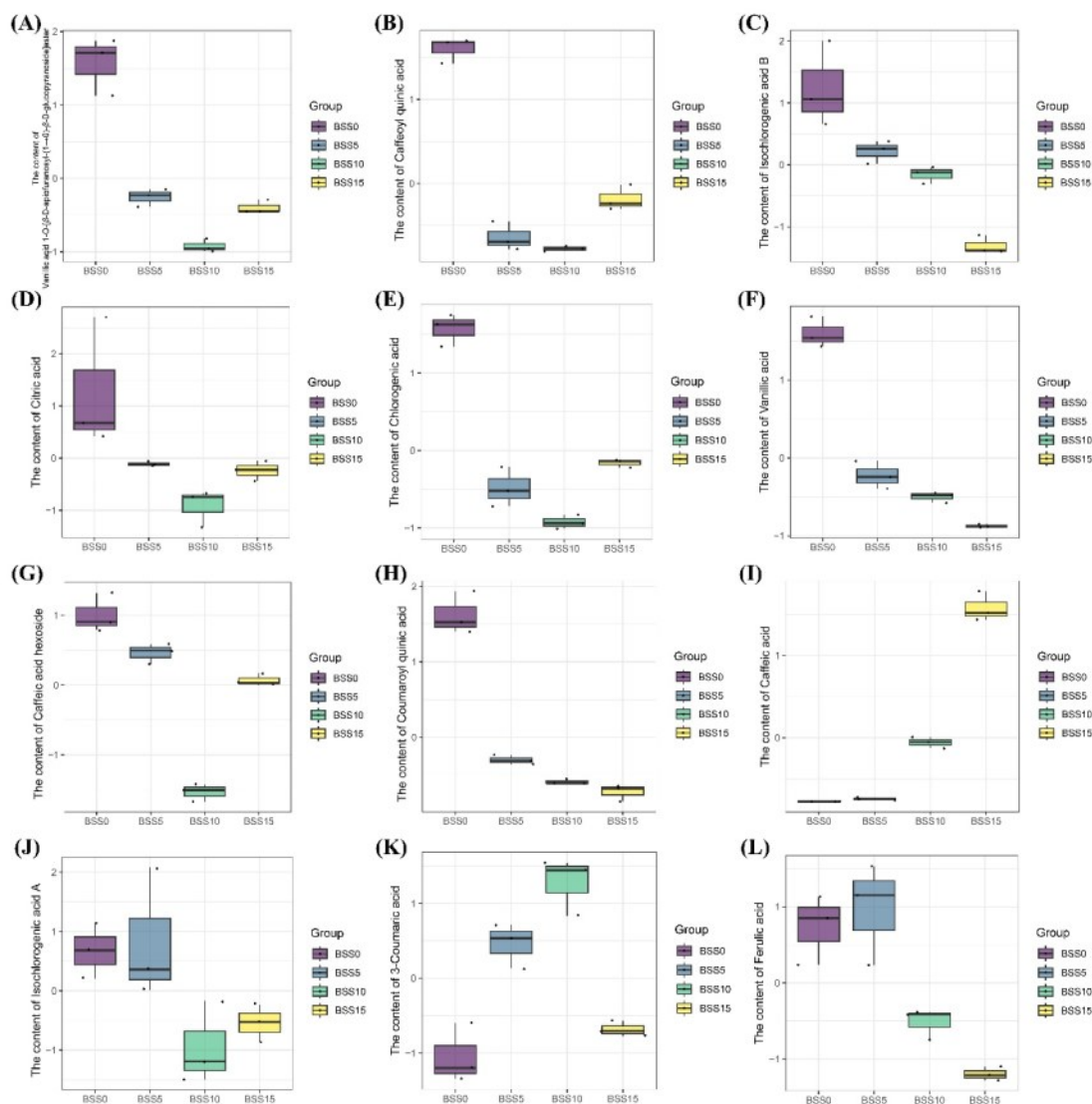


图3 不同蒸制时间北沙参样品中有机酸及其衍生物的相对含量: 香草酸 1-O- $[\beta$ -D-呋喃芹糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷] 酯 (A); 咖啡酰奎宁酸 (B); 异绿原酸 B (C); 柠檬酸 (D); 绿原酸 (E); 香草酸 (F); 咖啡酸己糖苷 (G); 香豆酰奎宁酸 (H); 咖啡酸 (I); 异绿原酸 A (J); 3-香草酸 (K); 阿魏酸 (L)

Fig. 3 The relative contents of organic acids and their derivatives in *Glehnia Radix* samples with different steaming times: vanillic acid 1-O- $[\beta$ -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside] ester (A); caffeoyl quinic acid (B); isochlorogenic acid B (C); citric acid (D); chlorogenic acid (E); vanillic acid (F); caffeic acid hexoside (G); coumaroyl quinic acid (H); caffeic acid (I); isochlorogenic acid A (J); 3-coumaric acid (K); ferulic acid (L)

2.2 MALDI-MSI 分析

蒸制诱导了北沙参组织形态的显著变化, 如图7所示, 随蒸制时间的延长, 组织透明度增加, 且从木质部中心向四周扩散。随后, 应用MALDI-MSI分析了蒸制过程中北沙参代表性代谢物的时空动态变化。PCA结果显示, 不同蒸制时间北沙参的代谢物呈现出明显的分离趋势, 表明其相对含量存在显著差异。

利用MALDI-MSI可视化了7种具有代表性的差异分布代谢物离子。其中, 谷氨酸 (Glutamic acid) (图7C2) 在韧皮部和木质部中分布不均匀, 且其相对含量随蒸制时间延长而增加, 这主要由于该过程中多肽的分解, 导致小分子氨基酸的相对含量逐渐增加, 这与UPLC-HRMS分析结果一致。乙酰鸟氨酸 (Acetylornithine) (图7C3) 参与谷氨酸合成精氨酸的途径, 蒸制后发现在木质部中表达下调, 表明该代谢途径可能受到蒸制加工的抑制^[38]。随着蒸制时间延长, 小分子有机酸如柠檬酸 (Citric acid) (图7C4) 和阿魏酸 (Ferulic acid) (图7C5) 的相对含量在所有组织中均降低。伞形花内酯 (Umbelliferone) 和紫花前胡醇 (Columbianetin) (图7C6和7C7) 是从蒸制中分离得到的香豆素类化合

物, 已被广泛用于治疗炎症、哮喘和糖尿病等^[39, 40]。蒸制 5 min 后, 其相对含量显著下降, 这与 UPLC-HRMS 分析结果一致。此外, 在蒸制过程中, 棉子糖 (图 7C8) 在所有组织区域中降低。综上, 蒸制诱导了北沙参中代谢物的相对含量变化, 主要涉及氨基酸的相对含量增加以及有机酸、香豆素和三糖的相对含量降低。

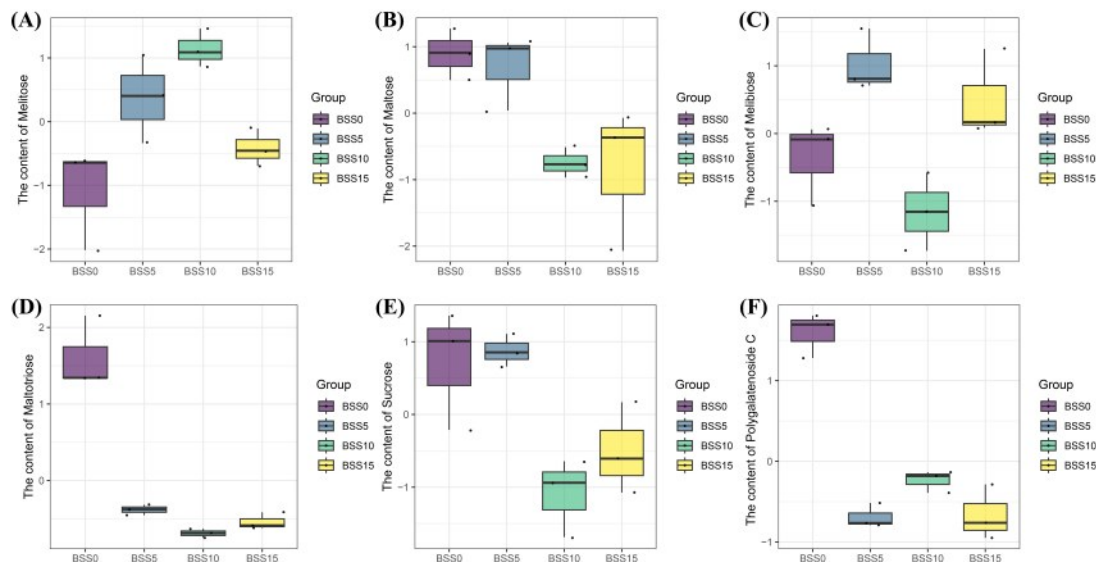


图4 不同蒸制时间北沙参样品中碳水化合物及其衍生物的相对含量: 棉子糖 (A); 麦芽糖 (B); 蜜二糖 (C); 麦芽三糖 (D); 蔗糖 (E); 聚半乳糖苷C (F)

Fig. 4 The relative contents of carbohydrates and their derivatives in *Glehnia Radix* samples with different steaming times: melitose (A); maltose (B); melibiose (C); maltotriose (D); sucrose (E); polygalatenoside C (F)

3 结 论

本研究利用 UPLC-HRMS 和 MALDI-MSI 技术对北沙参蒸制过程中代谢物的动态变化进行了研究。UPLC-HRMS 分析显示, 共鉴定了 257 个代谢物, 并筛选出 42 个差异代谢物, 如 4-羟基香豆素、咖啡酸和阿魏酸等。这些差异代谢物的相对含量发生了规律性变化, 塑造了不同蒸制时间北沙参的化学特征。此外, 差异代谢物的相对含量变化主要涉及多种化学反应, 包括糖苷键的降解、呋喃环的裂解和香豆素的氧化。此外, MALDI-MSI 分析显示蒸制过程可以增加组织中氨基酸的相对含量, 降低有机酸、香豆素和三羟甲基丙烷的相对含量。根据代谢物的相对含量变化, 5-10 min 的蒸制加工可保留更多的化学成分。本研究初步揭示了北沙参蒸制加工的科学内涵, 为北沙参的蒸制工艺优化及其质量控制提供了理论依据。

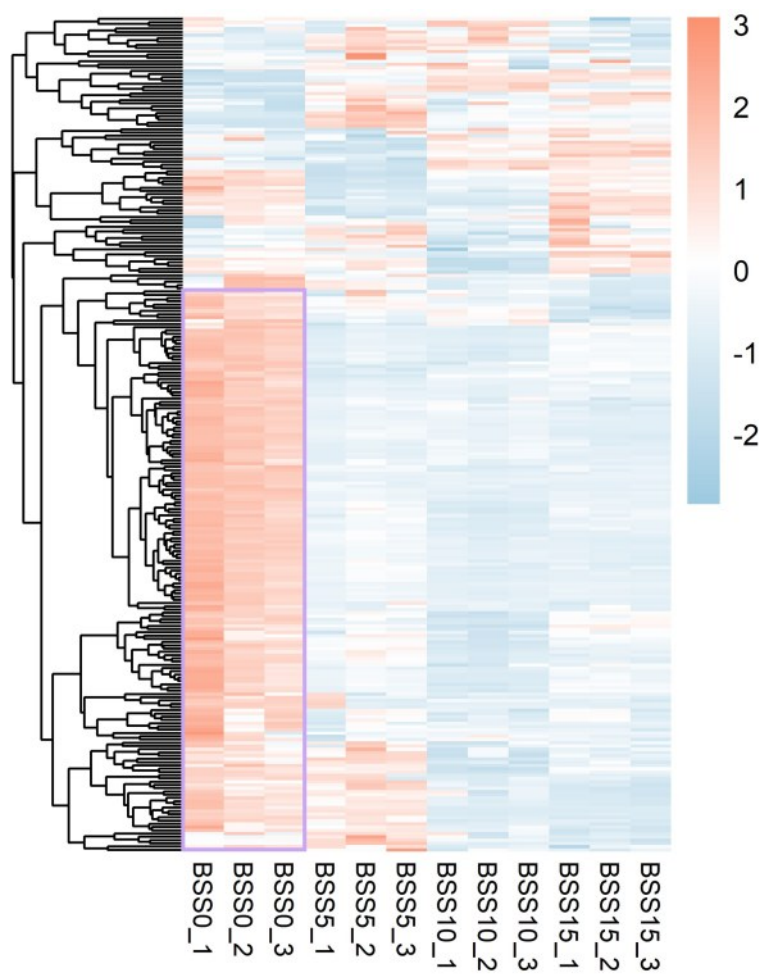


图5 不同蒸制时间北沙参中代谢物的相对含量热图

Fig. 5 Heatmap of the relative content of metabolites in *Glehniae Radix* at different steaming time

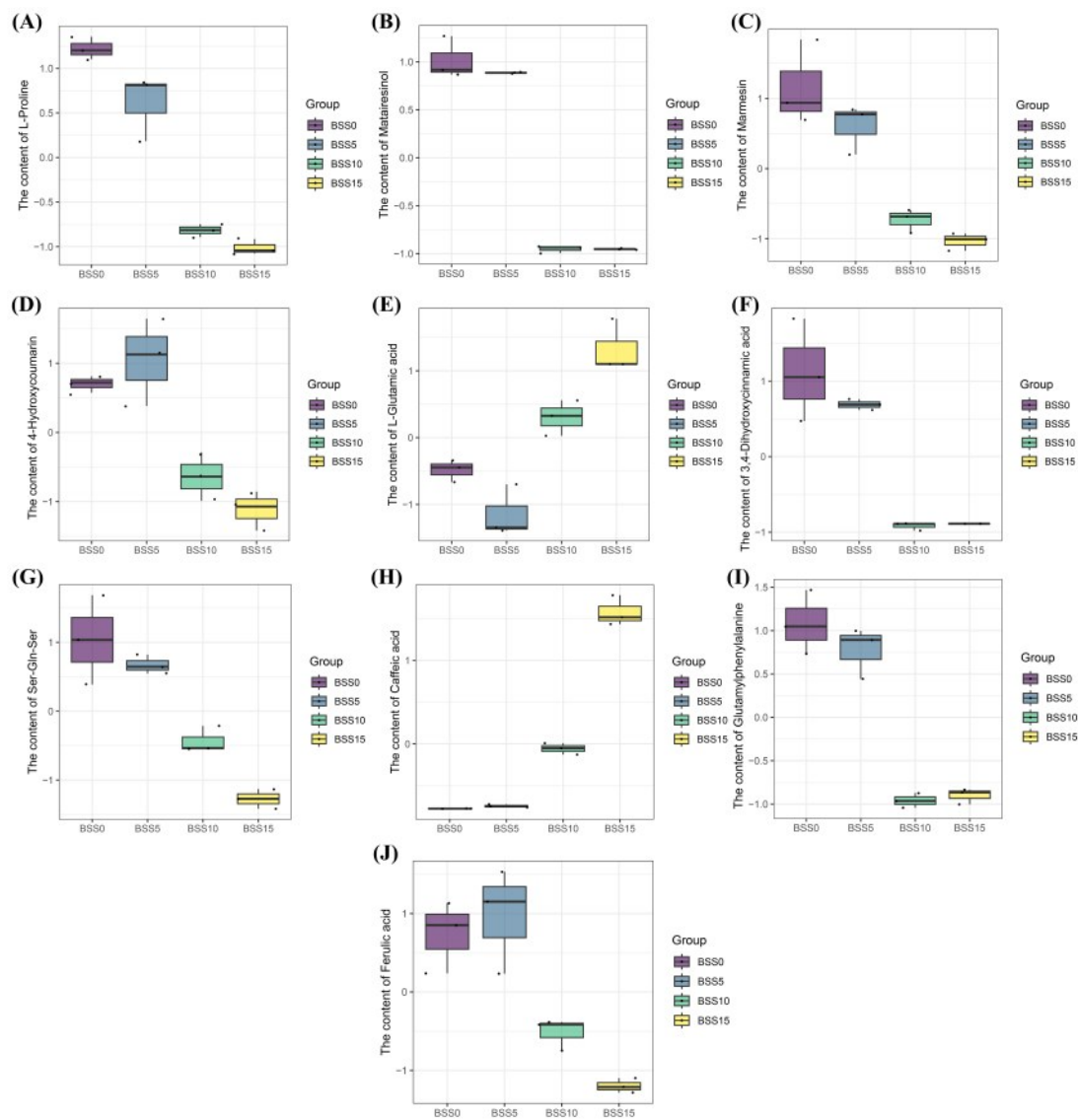


图6 不同蒸制时间北沙参样品中差异代谢物的相对含量: L-脯氨酸 (A)、罗汉松脂素 (B); 紫花前胡苷元 (C); 4-羟基香豆素 (D); L-谷氨酸 (E); 3, 4-二羟基肉桂酸 (F); Ser-Gln-Ser (G); 咖啡酸 (H); 谷氨酰苯丙氨酸 (I) 和阿魏酸 (J)

Fig. 6 The relative contents of differential metabolites in *Glehniae Radix* samples with different steaming times: L-proline (A); matairesinol (B); marmesin (C); 4-hydroxycoumarin (D); L-glutamic acid (E); 3, 4-dihydroxycinnamic acid (F); Ser-Gln-Ser (G); caffeic acid (H); glutamylphenylalanine (I) and ferulic acid (J)

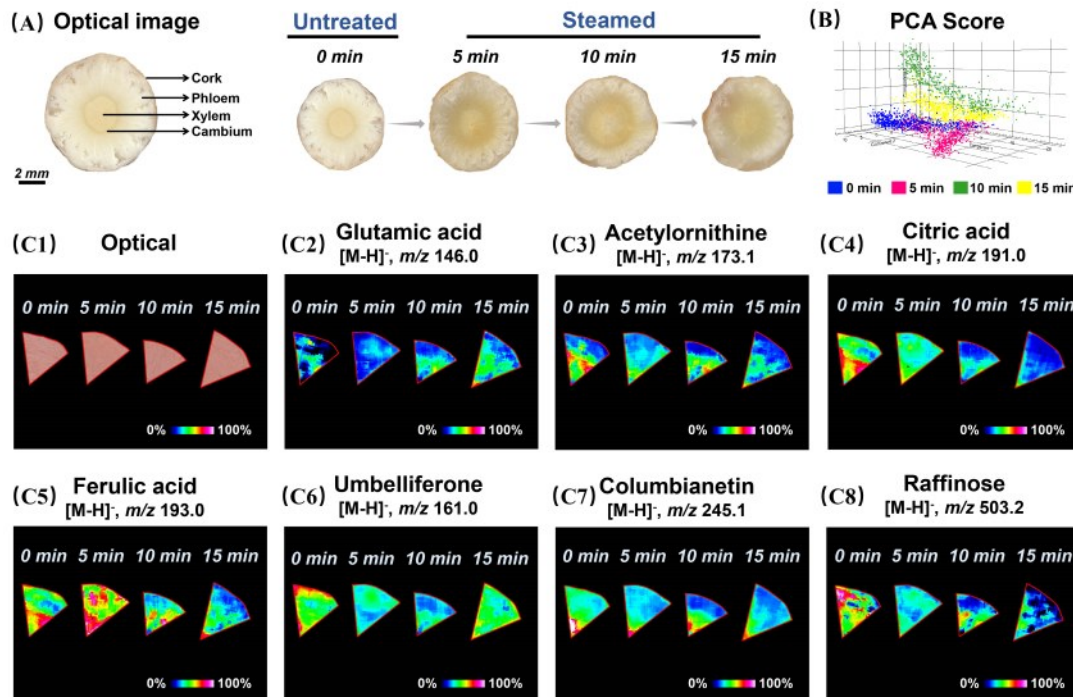


图7 不同蒸制时间下北沙参中代谢物的时空动态变化: 不同蒸制时间处理下北沙参横切面的形态学 (A); 基于质谱成像数据的不同蒸制时间北沙参样品的主成分分析 (PCA) 得分图 (B); 北沙参中代表性代谢物的质谱成像图 (C)

Fig. 7 The spatiotemporal dynamic changes of metabolites in *Glehniae Radix* at different steaming times: Morphological characteristics of the cross-section of *Glehniae Radix* treated with different steaming times (A); Principal component analysis (PCA) score plots of *Glehniae Radix* samples with different steaming times based on mass spectrometry imaging data (B); The mass spectrometry imaging map of the representative metabolites in *Glehniae Radix* (C)

参考文献:

- [1] SONG J, LUO H, XU Z, et al. Mining genes associated with furanocoumarin biosynthesis in an endangered medicinal plant, *Glehnia littoralis* [J]. *J Genet*, **2020**, 99: 11.
- [2] WU S, SHEN D, HU J, et al. Role of β -O-4 glycosidic bond on thermal degradation of cellulose [J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **2016**.
- [3] FENG Z-G, CAI-RANG X-D, TAN X-Y, et al. Processing methods and the underlying detoxification mechanisms for toxic medicinal materials used by ethnic minorities in China: A review [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, **2023**.
- [4] 孟江, 张英, 曹晖, 等. 中药蒸法的历史沿革分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, **2021**, 27 (10): 176-83.
- [5] 张欢, 姚源, 李兴洪, 等. 基于LC-MS/MS法检测重楼中6种皂苷类成分蒸制前后的含量变化 [J]. *遵义医科大学学报*, **2026**, 49 (3): 311-21.
- [6] 段昱, 孙文颖, 孙雪城, 等. 基于UPLC-QQQ-MS/MS测定不同蒸制时间关白附中2种成分的含量 [J]. *江西中医药*, **2025**, 56 (12): 73-6.
- [7] 邹雅丹, 王勇健, 杨飞飞, 等. 基于解吸附电喷雾离子化质谱成像技术分析人参蒸制过程中皂苷与脂质成分的空间分布与转化规律 [J]. *药学学报*, **2026**, 61 (7): 2641-53.
- [8] 于子聪, 范柳萍. 蒸制-干燥循环加工对黄精品质变化的影响及其机理研究 [J]. *食品与生物技术学报*, **2025**, 44 (6): 30-41.
- [9] 李圳, 夏晨皓, 史佳一, 等. 不同切制方法对北沙参药材质量的影响 [J]. *时珍国医国药*, **2024**, 35 (12): 2790-6.
- [10] 米玉璋, 刘双, 董红敬, 等. 基于气相离子迁移谱北沙参蒸制过程中挥发性成分的动态变化研究 [J]. *中国医院药学杂志*, **2026**, 46 (2): 127-31.
- [11] LIU S, DONG H, LU H, et al. Comprehensive study of different grades of *Lonicerae japonicae* flos: GC-IMS, UPLC-HRMS, and machine learning [J]. *Applied Food Research*, **2025**, 5 (1): 100760.
- [12] STURTEVANT D, HORN P, KENNEDY C, et al. Lipid metabolites in seeds of diverse *Gossypium* accessions: molecular identification of a high oleic mutant allele [J]. *Planta*, **2017**, 245 (3): 595-610.
- [13] LIU B, MENG X, LI K, et al. Visualization of lipids in cottonseeds by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging [J]. *Talanta*, **2021**, 221: 121614.
- [14] LIU T, WANG P, CHEN Y, et al. LC-MS and MALDI-MSI-based metabolomic approaches provide insights into the spatial-temporal metabolite profiles of Tartary buckwheat achene development [J]. *Food Chemistry*, **2024**,

- 449: 139183.
- [15] YOSHIMURA Y, GOTO-INOUE N, MORIYAMA T, et al. Significant advancement of mass spectrometry imaging for food chemistry [J]. *Food Chemistry*, **2016**.
- [16] WU X, LI T, HE Y, et al. Visualizing the spatial distribution of functional metabolites in the root of *Codonopsis pilosula*: An investigation integrating metabolomics, serum pharmacochimistry, and MALDI-MSI [J]. *J Pharm Biomed Anal*, **2025**, 262: 116873.
- [17] QIN L, ZHANG Y, LIU Y, et al. Recent advances in matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging (MALDI-MSI) for in situ analysis of endogenous molecules in plants [J]. *Phytochemical Analysis*, **2018**.
- [18] LI N, LI S, WANG Q, et al. A novel visualization method for the composition analysis of processed garlic by MALDI-TOF imaging mass spectrometry (MSI) and Q-TOF LC-MS/MS [J]. *Food Research International*, **2023**.
- [19] XU G, ZHANG J, SHAO C, et al. Puerarin mitigates cerebral ischemia/reperfusion (CIR)-induced ferroptosis by suppressing Ser15 phosphorylation-mediated p53 activation [J]. *Free Radic Biol Med*, **2025**, 237: 383–96.
- [20] HAO C, YANG W, DONG G, et al. Visualization and identification of benzyloquinoline alkaloids in various *ne-lumbo nucifera* tissues [J]. *Heliyon*, **2023**, 9 (6): e16138.
- [21] YANG W, YE M, LIU M, et al. A practical strategy for the characterization of coumarins in *Radix Glehniae* by liquid chromatography coupled with triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, **2010**, 1217 (27): 4587–600.
- [22] YANG W, FENG C, KONG D, et al. Simultaneous and sensitive determination of xanthotoxin, psoralen, isoimipnillin and bergapten in rat plasma by liquid chromatography – electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography B*, **2010**, 878 (5–6): 575–82.
- [23] LEE G J, LEE S Y, KANG N-G, et al. A multi-faceted comparison of phytochemicals in seven citrus peels and improvement of chemical composition and antioxidant activity by steaming [J]. *LWT – Food Science and Technology*, **2022**.
- [24] 袁诗农, 贾玉倩, 张亚京, 等. 多指标-响应面法结合熵权法优选酒蒸蛇床子炮制工艺 [J]. *中国现代应用药学*, **2024**, 41 (3): 347–53.
- [25] KANG K, SCHENKEVELD W D C, WEBER G, et al. Stability of Coumarins and Determination of the Net Iron Oxidation State of Iron – Coumarin Complexes: Implications for Examining Plant Iron Acquisition Mechanisms [J]. *ACS Earth and Space Chemistry*, **2023**.
- [26] 金义虎, 陈涛, 刘强, 等. 白芷中抗炎镇痛香豆素类成分的虚拟筛选 [J]. *中医药信息*, **2021**, 38 (10): 9–13.
- [27] LI S, XU N, FANG Q, et al. *Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq.: A systematic review on ethnopharmacology, chemical composition, pharmacology and quality control [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, **2023**, 317: 116831.
- [28] LEE G J, LEE S Y, KANG N-G, et al. A multi-faceted comparison of phytochemicals in seven citrus peels and improvement of chemical composition and antioxidant activity by steaming [J]. *LWT*, **2022**, 160: 113297.
- [29] 邓紫连, 宋伟, 芮千龙, 等. 脯氨酸对中华鳖生长性能、抗氧化能力和抗嗜水气单胞菌感染能力的影响 [J]. *动物营养学报*, **2023**, 35 (05): 3213–27.
- [30] LARSEN P O, SORENSEN H. Gamma-glutamyl-phenylalanine and gamma-l-glutamyl-l-tyrosine from seeds of *Aubrietia deltoidea* DC [J]. *Acta Chem Scand*, **1967**, 21 (10): 2908–9.
- [31] 武燕霓, 安明琦, 熊善柏. 鱼汤风味的形成与调控研究进展 [J]. *食品科学*, **2023**, 44 (15): 251–60.
- [32] LIU G, GU K, LIU X, et al. Dietary glutamate enhances intestinal immunity by modulating microbiota and Th17/Treg balance-related immune signaling in piglets after lipopolysaccharide challenge [J]. *Food Research International*, **2023**, 166: 112597.
- [33] XU P, HUANG M, XIAO C, et al. Matairesinol Suppresses Neuroinflammation and Migration Associated with Src and ERK1/2-NF- κ B Pathway in Activating BV2 Microglia [J]. *Neurochem Res*, **2017**, 42 (10): 2850–60.
- [34] KIM J H, KIM J-K, E-KAHN, et al. Marmesin is a novel angiogenesis inhibitor: Regulatory effect and molecular mechanism on endothelial cell fate and angiogenesis [J]. *Cancer Lett*, **2015**, 369 (2): 323–30.
- [35] JUNG J-C, PARK O-S. Synthetic Approaches and Biological Activities of 4-Hydroxycoumarin Derivatives [J]. *Molecules*, **2009**, 14 (11): 4790–803.
- [36] KHAN F A, MAALIK A, MURTAZA G. Inhibitory mechanism against oxidative stress of caffeic acid [J]. *J Food Drug Anal*, **2016**, 24 (4): 695–702.
- [37] OU S, KWOK K-C. Ferulic acid: pharmaceutical functions, preparation and applications in foods [J]. *J Sci Food Agric*, **2004**, 84 (11): 1261–9.
- [38] SUN C, MA S, LI L, et al. Visualizing the distributions and spatiotemporal changes of metabolites in *Panax notoginseng* by MALDI mass spectrometry imaging [J]. *Journal of Ginseng Research*, **2021**, 45 (6): 726–33.
- [39] CHOI G-Y, KIM H-B, CHO J-M, et al. Umbelliferone Ameliorates Memory Impairment and Enhances Hippocampal Synaptic Plasticity in Scopolamine-Induced Rat Model [J]. *Nutrients*, **2023**, 15 (10): 2351.
- [40] LU J, FANG K, WANG S, et al. Anti-Inflammatory Effect of Columbianetin on Lipopolysaccharide-Stimulated Human Peripheral Blood Mononuclear Cells [J]. *Mediat Inflamm*, **2018**, 2018: 9191743.

(责任编辑: 丁 岩)