

质谱成像技术前沿进展及其在药物研究中的应用

王颂凯^{1,2}, 邹宇琛^{1,2}, 孙士鹏^{1,2}, 闫郅焯^{1,2}, 汤维维^{1,2}, 李萍^{1,2*}, 李彬^{1,2**}

(¹中国药科大学多靶标天然药物全国重点实验室, 南京 211198; ²中国药科大学中药学院, 南京 211198)

摘要 质谱成像(MSI)作为一种无标记的分子成像技术, 弥补了传统液质联用等分析技术空间分辨能力的不足, 已被广泛应用于小分子代谢物、脂质、多肽及蛋白质的组织分布研究。随着 MSI 技术灵敏度和空间分辨率的不断提高, 该技术在精确定位药物组织分布、可视化药物代谢过程、追踪药物递送等研究领域备受关注, 为药物临床前研究提供了新技术和新方法。本文介绍了多种常见 MSI 技术的基本原理、技术关键参数、技术优势与不足, 重点综述了近年来 MSI 技术在药物有效性及安全性评价、药物组织分布研究、药物递送、中药分析等领域的应用, 以期拓展 MSI 技术在药物研发中的应用, 推动药物研发进程。

关键词 质谱成像; 组织分布; 药物临床前研究; 药物递送; 药物分析; 中药分析

中图分类号 O657 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2023)06-0653-09

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023091901

引用本文 王颂凯, 邹宇琛, 孙士鹏, 等. 质谱成像技术前沿进展及其在药物研究中的应用[J]. 中国药科大学学报, 2023, 54(6): 653 - 661.

Cite this article as: WANG Songkai, ZOU Yuchen, SUN Shipeng, et al. Recent advances in mass spectrometry imaging and its application in drug research[J]. *J China Pharm Univ*, 2023, 54(6): 653 - 661.

Recent advances in mass spectrometry imaging and its application in drug research

WANG Songkai^{1,2}, ZOU Yuchen^{1,2}, SUN Shipeng^{1,2}, YAN Zhiye^{1,2}, TANG Weiwei^{1,2}, LI Ping^{1,2*}, LI Bin^{1,2**}

¹State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198;

²School of Traditional Chinese Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract Mass spectrometry imaging (MSI), a label-free molecular imaging technique, has been applied widely in the spatial localization of small molecule metabolites, lipids, peptides, and proteins, with its unique advantage of high spatial resolving power compared to traditional liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). With the nonstop advancement of its achievable sensitivity and spatial resolution, MSI technique has been providing novel perspectives into the preclinical studies of drugs, such as in vivo localization of drugs and their metabolites, visualization of drug metabolism, and drug delivery tracking. This review introduces the basics of MSI techniques, including basic principles, key features, technical advantages, and limitations, with particular highlight of the recent applications of MSI in drug efficacy and safety evaluation, drug distribution research, drug delivery research, and analysis of Chinese medicine from recent publications, aiming to promote the utilization and further expansion of MSI in the research and development of drugs.

Key words mass spectrometry imaging; tissue distribution; preclinical drug research; drug delivery; pharmaceutical analysis; analysis of Chinese medicine

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 82374028)

收稿日期 2023-09-19 通信作者 *Tel: 025-86185716 E-mail: liping2004@126.com

**Tel: 025-86185716 E-mail: binli@cpu.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 82374028)

药物效应的强弱主要取决于药物分子与靶点的结合强度以及机体对药物的处置。药物分子在靶器官/组织的分布浓度和区域与药物效应直接相关。药物研发中通常依据药物在血浆中的浓度评估其在体内的暴露程度。然而,受药物转运蛋白以及生理性屏障(如血脑屏障)等因素的影响,组织中药物浓度存在不同于血药浓度的情况。此外,药物在组织中的分布受血流量大小、药物溶解性、体液 pH 以及膜通透性等因素的影响,呈现区域特异性分布,仅依据药物在血浆中的浓度无法全面评估药效强弱以及药物在机体暴露所引发的潜在风险。因此,阐明药物在组织中的分布对于评价药物效应、监测药物安全性、优化给药策略以及指导制剂设计等方面具有重要意义。

分子成像技术能够将机体内复杂的生理过程转化为直观的图像,从分子水平上阐明疾病的发生机制以及药物的治疗机制,广泛应用于药物筛选和疗效评估。常用的分子成像技术包括荧光成像、红外成像和拉曼成像等,具有高灵敏度、高分辨率、实时性和非侵入性等优点。荧光成像是一种利用荧光探针标记目标分子并观察其发出的荧光信号的技术,具有较高的灵敏度和空间分辨率,并可以选择不同发射波长的荧光探针实现多通道多色成像。然而,荧光成像技术也存在自发荧光、荧光淬灭、光致漂白和组织渗透深度偏小等问题,且由于荧光标签的尺寸较大,因此该技术主要用于蛋白质、核酸等生物大分子的成像^[1]。红外成像是利用红外辐射记录目标分子在红外波段的吸收、散射或发射特性的技术。NIR-I 窗口成像(700 ~ 900 nm)是一种通用的光学成像技术,但该技术的成像灵敏度和空间分辨率受血液等生物成分的光吸收和散射的影响而显著降低^[2]。近年来,NIR-II 窗口成像(1 000 ~ 1 700 nm)作为一种新兴的技术被不断开发,其在活体组织中具有低吸收和低散射的特性,为疾病的精确治疗提供了新的工具。然而,生物安全性是 NIR-II 成像应用于生物体的重要问题。此外,生物体的复杂性和动态变化也对 NIR-II 系统的开发提出了挑战。拉曼成像基于拉曼散射效应,通过测量样品散射光的频率偏移来获取分子的振动信息。然而,由于自发拉曼散射信号存在强度弱、易受干扰等问题,高信噪比成像结果的获取通常需要较长的积分时间^[3]。更为

重要的是,这些成像技术往往需要特异性标记且无法同时分析、区分和鉴定多个化合物,尤其是结构类似的内源性和外源性小分子化合物。

质谱成像(MSI)是一种基于质谱分析技术的分子成像方法,具有直观、高灵敏度与高分子特异性等优势,能够在较高空间分辨率下对组织切片或特定组织微观结构中的内、外源性分子如小分子代谢物、蛋白质、多肽、脂质、药物及其代谢物等进行无标记成像,是研究药物分子和内源性生物分子时空异质性的有力工具^[4-7]。本文旨在总结常用 MSI 技术,列举其在药物临床前研究,药物递送和中药研究等领域的应用,以期为药物研究人员提供有价值的参考。

1 MSI 技术及发展方向

MSI 采用多种原位离子化技术使样本表面的化合物离子化,传输入质谱中获得离子的质荷比(m/z)和离子强度,并利用质谱成像软件将含有空间位置信息的质谱数据集转换为离子分布图像,从而可视化待测物的空间分布特征。依据离子化技术的不同,目前常见的 3 种 MSI 技术分别是:次级离子质谱成像技术(SIMS-MSI)、基质辅助激光解吸质谱成像技术(MALDI-MSI)以及解吸电喷雾电离质谱成像技术(DESI-MSI)。

SIMS-MSI 技术利用聚焦的一次离子束轰击样品表面,溅射产生正、负二次离子。初级离子束能量较高,脂质、多肽、蛋白质等生物大分子容易碎裂,故通常用于元素分析^[8]。近年来,随着新型团簇离子束的开发(如 C_{60}^+),样品表面损伤及分子碎裂显著降低,SIMS-MSI 技术正逐渐应用于代谢物组织分布、菌落间信息交流等研究^[9]。SIMS-MSI 技术具有极高的空间分辨率,可达亚细胞级(约 50 nm),并在纵向深度分析方面具有独特优势^[10-11]。2017 年,SIMS-MSI 技术与静电场轨道阱(Orbitrap)质谱联用(OrbiSIMS),实现了对细胞中内、外源性化合物的高质量分辨和高空间分辨(亚细胞水平)三维成像^[12]。

MALDI-MSI 技术利用能够吸收特定波长激光的基质与样本表面的分子形成共结晶,通过激光照射实现对待测物的原位解吸和离子化,具有质量范围宽、灵敏度高、空间分辨率高(5 ~ 50 μm)以及抗杂质干扰能力强等特点^[13]。MALDI 基质的选

择是决定数据质量的重要环节之一^[14]。理想的基质应在激光工作波长下具有高吸收强度、低背景噪声、易与待测物形成共结晶,以及促进质子交换等能力^[15]。传统基质大多是小分子有机物,如 2,5-二羟基苯甲酸(DHB)、 α -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)、9-氨基吡啶(9-AA)以及芥子酸(SA)等,适用于小分子代谢物、脂质、多肽、蛋白质等多种生物分子与药物分子的正、负离子模式检测,但在低相对分子质量范围内($m/z < 500$),小分子基质存在易产生基质峰,离子抑制效应较高,干扰待测物质谱响应等问题。随着新基质的开发和仪器性能的提高,MALDI-MSI 技术成功用于神经递质、激素等低丰度、难电离的重要生理活性物质的成像分析^[16-17]。其中 MALDI-2 技术作为一种激光诱导后电离技术,在首次 MALDI 离子化基础上,采用第二束激光对中性分子后电离,因此能够提高许多分析物的检测灵敏度并降低离子抑制效应,将 MALDI-MSI 灵敏度提高了 2~3 个数量级^[18]。依据离子源真空度的不同,MALDI-MSI 技术可分为真空 MALDI (vacuum MALDI)、中压 MALDI (MP-MALDI) 和大气压 MALDI (AP-MALDI)。AP-MALDI-MS 操作简便,可以在常压环境中完成测试。其中 AP-SMALDI-MSI 空间分辨率可达 1.4 μm ,已用于多种分子的 2D 和 3D 成像^[13]。

DESI 技术将气动辅助电喷雾形成的带电液滴束喷射到样本表面,液滴中的溶剂立即与样本表面的待测物发生萃取、溶解过程,液滴从表面反弹后形成更加细小的次级液滴,伴随溶剂快速蒸发,电荷转移至待测物分子中,实现样本表面分子的解吸与离子化。DESI-MSI 是敞开式质谱成像技术,操作简便,样品处理过程简单,常用于低相对分子质量范围内的小分子检测($m/z < 1000$),但该技术空间分辨率较低(约 100 μm)。此外,萃取电喷雾电离技术(EESI)、电喷雾辅助激光解吸电离技术(ELDI)、低温等离子体技术(LTP)、空气动力辅助解吸电喷雾离子化技术(AFADESI)以及解吸电喷雾电离/二次光电离技术(DESI-PI)等常压敞开式离子化技术相继问世,拓展了敞开式质谱(ambient MS)技术的应用范围^[19-23]。针对无机元素组织成像,常采用激光剥蚀-电感耦合等离子体质谱成像技术(LA-ICP-MSI),该技术能够定量表征不同无机元素或同一元素不同同位素的组织分

布,适用于研究金属元素在疾病进程中的聚集特性,揭示金属纳米药物在生物体内的分布、转运和清除过程^[24]。

不同的 MSI 技术在灵敏度、分子特异性和空间分辨率等方面具有各自的优势。因此,研究人员应根据实际需求,参考不同技术的特点,选择最适合的 MSI 策略。例如,SIMS-MSI 技术在空间分辨率方面具有明显优势,但检测生物大分子的能力较弱。DESI-MSI 等敞开离子化技术适用于小分子分析,操作简便,但空间分辨率较低。MALDI-MSI 技术适用于分析多种生物分子,但存在基质峰干扰等问题^[25]。将多种 MSI 技术相结合,可以更准确地表征与疾病进程密切相关的生物分子的时空变化特征,协助药物研究工作。

1.1 空间分辨率、检测灵敏度与分析时间

提升空间分辨率至单细胞/亚细胞水平是 MSI 技术的发展方向之一。然而,空间分辨率越高,采样面积越小,导致检测灵敏度显著降低。MALDI-MSI 激光光斑大小一般设置为 100 μm ,相比从整个组织匀浆中提取富集待测物,从组织切片表面原位检测待测物的难度更高,如果采用更高的空间分辨率,可能导致组织药物浓度低于检测限^[26]。因此,提高 MSI 空间分辨率对于检测灵敏度也提出了更高的要求。Guo 等^[27]开发了一种适用于中枢神经系统(CNS)药物脑组织 MALDI-MSI 的激光辅助化学转移技术(LACT)。该技术将特定波长激光聚焦在预先均匀喷涂基质的组织表面,通过产生热效应或者诱导产生冲击波,将待测物转移到接收基底形成化学薄膜。LACT 能够显著降低 MALDI 基质、内源性脂质、蛋白质等物质产生的离子抑制效应,显著提高低丰度 CNS 药物的检测灵敏度。此外,高空间分辨率还会造成成像时间的增加,过长的成像时间可能导致生物组织表面基质的挥发、待测物分解等问题。通过提高激光重复频率(如 10 kHz)可显著缩短成像时间,提高样本通量。Meng 等^[28]将微透镜光纤激光采样技术与电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)相结合,建立了一种微透镜光纤激光溅射-ICP-MS 的单细胞 MSI 技术,可以在 400 nm 的空间分辨率下观察小鼠肠道内的药物分布。Yin 等^[29]开发了一种近场解吸成像质谱,采用有孔光纤传导激光(光纤尖端开孔仅 200 nm)以及瞬逝光解吸等手段,将 MSI 空间分

分辨率提高到 250 nm, 可视化了药物在单细胞内的分布。除了提升仪器性能, 利用深度学习等人工智能(AI)算法, 将包含丰富的生物分子信息、但空间分辨率有限的 MSI 图像, 与超高分辨率、但无法识别关键化学信息的病理切片图像相融合, 重建高空间分辨率 MSI 图像, 从而在精细区域中发掘更多与疾病相关的信息^[30]。Haque 等^[31]通过将苏木精-伊红(HE)组织病理图像与相邻切片的 MALDI-MSI 图像相融合, 实现了对肿瘤边缘的准确预测。然而, 这一策略目前在数据配准、模型解释、结果验证等方面存在诸多挑战。配准不同来源的图像是一项复杂的任务, 尤其是生物切片样本极易发生形变, 配准算法会引入新的潜在偏差, 并可能影响最终的预测结果; 先进、复杂的 AI 算法往往缺乏可解释性, 预测产生的新 MSI 图像需要实验数据来验证其准确度。总之, 将 MSI 图像与病理切片图像相结合的方法为揭示精细组织结构中的生物化学信息提供了新途径, 对于疾病诊断、治疗和药物研究具有重要意义。

1.2 化合物鉴定

MSI 技术不涉及复杂的样品前处理和色谱分离过程, 化合物鉴定的准确性高度依赖质谱的质量分辨率和质量精度。因此, 将 MSI 离子源与高分辨质量分析器相串联是提高原位分子鉴定可靠性、准确性的重要保障。SIMS/DESI/MALDI-MSI 串联高分辨质谱如 Orbitrap、傅里叶变换离子回旋共振质谱(FTICR), 实现了对组织中整数质量相同, 而结构不同的同重分子的分辨。此外, 将 MSI 与离子迁移质谱(IMS)串联, 赋予了 MSI 技术对同分异构体的分辨能力, 但 IMS 分辨率有待进一步提高。Unsuhay 等^[32]将 nano DESI-MSI 与 IMS 相结合, 降低了同位素峰重叠以及同分异构体引起的干扰, 实现了对小鼠子宫组织中脂质异构体的结构鉴定与成像分析。Xie 等^[33]利用 MALDI-IMS-MSI 技术鉴别了小鼠脑组织中 19 对手性氨基酸。原位二级质谱是 MSI 中常用的化合物鉴定方法, 通过特征碎片离子可以对待测物进行准确的定性, 但对于质谱响应较低的离子, 很难获得其原位二级质谱图。此外, 通过对比母离子图像和碎片离子图像, 也可实现对化合物的深度鉴定。Ellis 等^[34]建立了一种并行 MSI 分析与鉴定策略, 即使用全扫描一级质谱与二级质谱(MS/MS)交替的采集模式, 在第一

个位置获取全扫描一级谱图, 随后水平移动 20 μm 获取二级谱图, 因此可在不增加额外实验的情况下同时获取样本的 MSI 数据及 MS/MS 成像数据。Guo 等^[35]建立了一种基于双线性离子阱(LIT)质谱的多路 AP-MALDI-MS²I 方法, 并借助组织光化学衍生技术, 实现了同时对 20 种磷脂异构体的结构鉴定与成像分析。Han 等^[36]建立了基于 1-萘乙酰肼(NAH)的组织中单糖衍生化方法, 并采用 MALDI-MSI 技术分析了组织中单糖的空间分布。衍生后的单糖异构体可通过特征碎片离子区分, 实现对己醛糖和己酮糖的 MSI 分析。另外, 取相邻组织切片进行液相色谱-二级质谱联用(LC-MS/MS)分析, 也是常用的辅助鉴定方法。

1.3 MSI 定量分析方法

MSI 技术可以定量分析组织切片中的药物浓度, 为药代动力学、药效及药物安全性评价等研究提供重要参考。MSI 定量策略主要包括标准曲线法, 将一系列不同浓度的标准品溶液滴加在空白对照组织切片或组织匀浆切片的不同位置上, 干燥后测定各个浓度标准品点所在区域的峰强度, 归一化后绘制峰强度与标品浓度的标准曲线, 定量分析组织切片中待测物的含量^[37]。然而, MSI 定量分析仍存在诸多挑战。首先是原位分析过程中难以保证待测物的电离效率及与基质共结晶的均匀性; 其次, 由于缺少净化、分离等样品预处理过程, 基质效应可能对待测物在不同区域的离子化效率产生难以预估的影响, 因此常需要采用 LC-MS/MS 等经典方法验证 MSI 定量分析结果^[38]。引入内标能够有效降低离子抑制效应对定量结果的影响, 进一步提高 MSI 定量的准确性和可靠性。Schulz 等^[39]将同位素标记试剂或结构类似物作为内标, 与基质一同喷涂在组织表面, 对峰面积/信号强度进行校正后得到定量 MALDI-MSI 结果。Takai 等^[40]采用明胶加标标准曲线和基质峰归一化的方法, 建立了定量 MALDI-MSI 方法。

2 MSI 技术在药物研究中的应用

MSI 技术的发展实现了对多种分子的可视化分析, 在药物有效性及安全性评价、药物组织分布研究、药物递送及中药分析等研究中发挥了重要作用, 为药物研发提供关键参考信息(图 1)。

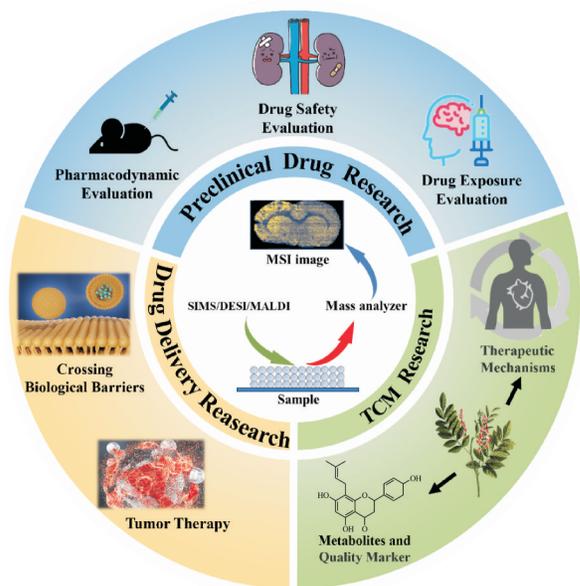


Figure 1 Mass spectrometry imaging and its application in pharmaceutical research

2.1 MSI技术在药效学研究中的应用

利用MSI技术分析药物及候选药物在组织中的分布情况,可以为药物效应评价提供重要参考依据。Torok等^[41]采用结肠癌小鼠模型对比了不同酪氨酸激酶抑制剂的药效,发现舒尼替尼能够更好地抑制荷瘤小鼠VEGFR2的表达,显著抑制血管生成和肿瘤生长。MALDI-MSI结果显示:舒尼替尼能够均匀分布在瘤内并维持较高的药物浓度,提示酪氨酸激酶抑制剂的瘤内分布及浓度与其抗肿瘤活性密切相关。Munteanu等^[42]建立了基于MALDI-MSI的组蛋白乙酰化定量检测分析方法。该方法基于组蛋白乙酰化产生的质量位移,区分了组蛋白不同的乙酰化状态,为组蛋白去乙酰化酶抑制剂的效力评价提供了新策略。Mittal等^[43]开发了一种用于监测原生或体外培养的肿瘤细胞球体中药物累积及药物代谢产物的MALDI-MSI方法。该方法使用福尔马林固定嵌入在基质胶中的样本,实现了肿瘤细胞球体样本在常温下的保存与检测,因而在肿瘤靶向疗法的开发中具有一定潜力。

2.2 MSI技术在药物安全性评价中的应用

药物的肝、肾毒性与药物的理化性质、体内ADME特性以及个体遗传背景等多方面因素密切相关,是药物安全性评价研究中的重要组成部分。对乙酰氨基酚(APAP)是一种常见的易引起肝损

伤的药物。当APAP服用过量,体内的还原型谷胱甘肽(GSH)不足以中和过量的毒性代谢产物N-乙酰苯醌亚胺(NAPQI)时,蓄积的NAPQI将导致急性药物性肝损伤^[44]。Sezgin等^[45]利用MALDI-MSI与组织病理学技术,定位肝脏中APAP、NAPQI以及APAP-GSH加合物的分布,发现APAP-GSH加合物的生成与GSH的耗竭主要发生在肝脏CYP2E1阳性表达区域,而APAP及其代谢物的分布没有明显的区域异质性,其结果从空间分布层面解释了APAP代谢和诱导肝损伤的过程,提示APAP肝毒性与CYP2E1活性存在潜在联系。Li等^[46]利用AFADESI-MSI技术和HepG2多细胞球体模型评估了胺碘酮的代谢及其潜在的肝毒性,分析了胺碘酮及其15个代谢产物的时空变化特征,提示胺碘酮肝毒性机制与花生四烯酸和甘油磷脂代谢密切相关。Wang等^[47]利用AFADESI-MSI技术分析了马兜铃酸肾病大鼠肾组织的空间代谢变化,发现了38个组织分布特异且水平发生显著变化的代谢物,这些代谢物涉及精氨酸代谢、脂质代谢、尿素循环和丝氨酸合成等通路,且空间分布与病变区域高度相关。Nilsson等^[48]利用MALDI-MSI技术、LC-MS技术和核磁共振(NMR)技术,鉴定了损伤肾组织中肾内晶体沉积的化学成分,并通过测量药物及其代谢物在组织中的分布揭示肾内晶体沉积的形成和排出过程,为肾毒性研究提供更全面的信息。布地奈德曾用于治疗早产儿支气管肺发育不良(BPD),但未能显著改善早产儿BPD高病死率的情况^[49]。Zecchi等^[50]利用MALDI-MSI技术发现布地奈德在羔羊肺中呈现不均匀斑块状分布,局部区域药物浓度过高可能是导致布地奈德不良反应的主要原因之一。后续研究发现,布地奈德联合肺表面活性剂使药物在肺中分布更广泛、更均匀,有效降低了不良反应的发生率。

2.3 MSI技术在药物组织暴露研究中的应用

药代动力学通常基于动力学模型定量研究血药浓度的变化,进而探究药物的吸收、分布、代谢以及排泄(ADME)过程。然而,血药浓度在某些情况下无法准确地反映药物在靶组织中的暴露情况^[51]。药物在病灶组织(如肿瘤组织或缺血组织)中的暴露量不仅与药物本身的理化性质有关,还受到生理屏障、血流灌注量、组织中转运蛋白表达水平等多种因素的影响。血脑屏障(BBB)在限制

有害物质进入的同时,也限制了药物向脑内的转运,因此血药浓度不能准确反映药物在中枢神经系统中的浓度。Tanaka等^[52]发现口服给药4 h后,抗脑肿瘤药物艾培替尼的血药浓度约为拉帕替尼的2倍。然而,MALDI-MSI结果显示艾培替尼在脑肿瘤组织中的实际浓度约为拉帕替尼的10倍。此外,药物的体内过程还与药物转运蛋白等因素密切相关^[53]。Aikawa等^[54]利用MALDI-MSI技术比较了阿来替尼在野生型小鼠和转运蛋白基因敲除小鼠脑中的暴露量,发现多药耐药蛋白1(MDR1)基因敲除小鼠脑中的药物暴露量显著增加,但两者血药浓度无显著差异。Moraleja等^[55]利用LA-ICP-MSI技术对顺铂、卡铂和奥沙利铂在大鼠肾脏中的分布和累积情况进行了评估。结果显示,顺铂和卡铂主要集中在皮质区,奥沙利铂则呈现均匀分布。卡铂由于无法通过有机阳离子转运体2(OCT2)进入肾小管区域,因而卡铂在肾皮质区的累积量显著低于顺铂。综上,MSI技术弥补了血药浓度分析的不足,为准确评估药物在组织中的暴露水平提供关键技术。

2.4 MSI技术在药物递送研究中的应用

药物递送研究的目的是将药物更好地递送至病灶部位,增加药物在靶部位的累积,改善药物ADME,提高治疗效果,降低不良反应。在抗肿瘤药物递送研究中,纳米药物可以通过高渗透长滞留效应(EPR)增加药物在肿瘤组织中的累积从而提高疗效^[56]。Ryu等^[57]利用MALDI-MSI分析了纳米药物AZD2811在不同肿瘤活检样本中的渗透和分布情况,发现质谱信号强度与肿瘤内药物总浓度具有良好的相关性,MALDI-MSI可用于定量检测药物瘤内分布。Xue等^[58]利用激光解吸电离质谱成像(LDI-MSI)技术原位监测纳米药物递送系统在荷瘤小鼠体内释放阿霉素的行为。为了更好地理解纳米药物的分布以及游离药物和纳米药物在肿瘤中的释放差异,Strittmatter等^[59]利用DESI-MSI与成像质谱流式(IMC)技术对同一肿瘤切片进行分析,发现与游离AZD2811相比,纳米化AZD2811在肿瘤中的分布与巨噬细胞富集区域和肿瘤间质区域更相关。Meng等^[60]建立了微透镜光纤激光解吸电离质谱成像(MLF-LDPI-TOF MSI)技术,揭示了抗肿瘤药物柔红霉素从纳米颗粒表面释放、进入细胞核,并最终诱导肿瘤细胞凋亡的动

态过程。因此,MSI技术能够免标记可视化纳米药物在病灶部位的空间分布与释放,以及药物分子对肿瘤微环境的影响。此外,MSI被广泛用于研究外用药物在皮肤上的渗透和分布。Pena-Rodríguez等^[61]利用MALDI-MSI技术与共聚焦拉曼显微镜,半定量可视化地塞米松聚合物脂质杂化纳米粒与游离地塞米松在头皮的组织分布,发现纳米制剂透皮效果更好。

2.5 MSI技术在中药研究中的应用

MSI技术被广泛用于中药研究,包括药用植物空间代谢、中药质量评价、中药活性成分体内过程等研究^[62-63]。Bai等^[64]利用MALDI-MSI技术在人参根中鉴定并可视觉化了31个人参皂苷的组织分布,并通过人参皂苷含量判断人参参龄。Yang等^[65]利用DESI-MSI技术和超高效液相色谱(UPLC)技术,通过正交偏最小二乘法,分别遴选出了18个反映不同生长年限及15个反映不同组织部位的人参化学标志物,可用于快速评价参龄。Li等^[66]利用MALDI-MSI技术可视化牡丹和芍药根中65个次生代谢产物的组织分布,单萜糖苷和单宁类物质在两种植物根部呈现特异性组织分布与累积模式。Yamamoto等^[67]利用高空间(10 μm)和高质量分辨MALDI-MSI分析了长春花叶片中吲哚类生物碱的组织分布,通过结合单细胞质谱分析,确定了吲哚类生物碱在叶片中的特异性分布及生物合成途径。Li等^[68]利用高分辨MALDI-MSI技术在细胞水平上分析了甘草中黄酮和皂苷类成分的组织分布特征。此外,Li等^[69]利用MALDI-MSI技术分析银杏叶片中黄酮类、银杏酚酸类化合物的组织分布特征,发现银杏黄酮主要分布在银杏叶的上、下表皮细胞中,而银杏酚酸主要分布在分泌腔中。

MSI技术在中药活性成分体内过程分析中也得到应用。Meng等^[70]利用MALDI-MSI技术分析中药活性成分红景天苷在小鼠体内的分布情况,发现红景天苷在肾脏和心脏中呈非均匀分布,给药后5 min内被肾脏迅速清除。Tang等^[71]建立了基于内标的逐像素校正定量MALDI-MSI方法,测定了汉防己甲素在大鼠的肺、肝、肾、脾、心中的分布规律。Jiang等^[72]利用AFADESI-MSI技术与网络毒理学,发现何首乌D组分的潜在肝毒性靶点及代谢机制,为中药安全性研究提供了新方法。

3 总结与展望

MSI作为一种免标记、高特异性、高灵敏度的可视化技术,已经成为药物研究的重要分析技术手段之一。MSI所提供的崭新的空间化学信息将在药理学-药效学、细胞药代动力学、药物递送,以及类器官、3D细胞模型等药物体内、体外评价研究中发挥重要作用。近10年,MSI技术在检测灵敏度、定量能力、分析通量、数据分析速度等方面都得到了极大提升。随着未来进一步的发展和完善,MSI技术必将在药物研究中展现更多的可能性和更广阔的应用前景。

References

- [1] Refaat A, Yap ML, Pietersz G, et al. *In vivo* fluorescence imaging: success in preclinical imaging paves the way for clinical applications[J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, **20**(1): 450.
- [2] Kenry, Duan YK, Liu B. Recent advances of optical imaging in the second near-infrared window[J]. *Adv Mater*, 2018, **30**(47): e1802394.
- [3] Siddhanta S, Kuzmin AN, Pliss A, et al. Advances in Raman spectroscopy and imaging for biomedical research[J]. *Adv Opt Photon*, 2023, **15**(2): 318-384.
- [4] Angel PM, Baldwin HS, Sen DG, et al. Advances in MALDI imaging mass spectrometry of proteins in cardiac tissue, including the heart valve[J]. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*, 2017, **1865**(7): 927-935.
- [5] Li KN, Guo S, Tang WW, et al. Characterizing the spatial distribution of dipeptides in rodent tissue using MALDI MS imaging with on-tissue derivatization[J]. *Chem Commun*, 2021, **57**(93): 12460-12463.
- [6] Dufresne M, Fincher JA, Patterson NH, et al. α -cyano-4-hydroxycinnamic acid and tri-potassium citrate salt pre-coated silicon nanopost array provides enhanced lipid detection for high spatial resolution MALDI imaging mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2021, **93**(36): 12243-12249.
- [7] Wang XN, Li B. Monolithic gold nanoparticles/thiol- β -cyclodextrin-functionalized TiO₂ nanowires for enhanced SALDI MS detection and imaging of natural products[J]. *Anal Chem*, 2022, **94**(2): 952-959.
- [8] Bryant RN, Jones C, Raven MR, et al. Sulfur isotope analysis of microcrystalline iron sulfides using secondary ion mass spectrometry imaging: extracting local paleo-environmental information from modern and ancient sediments[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2019, **33**(5): 491-502.
- [9] Dunham SJB, Ellis JF, Baig NF, et al. Quantitative SIMS imaging of agar-based microbial communities[J]. *Anal Chem*, 2018, **90**(9): 5654-5663.
- [10] Yan X, Zhao XA, Zhou ZP, et al. Cell-type-specific metabolic profiling achieved by combining desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging and immunofluorescence staining[J]. *Anal Chem*, 2020, **92**(19): 13281-13289.
- [11] Castellanos A, Ramirez CE, Michalkova V, et al. Three dimensional secondary ion mass spectrometry imaging (3D-SIMS) of *Aedes aegypti* ovarian follicles[J]. *J Anal At Spectrom*, 2019, **34**(5): 874-883.
- [12] Passarelli MK, Pirkl A, Moellers R, et al. The 3D OrbiSIMS-label-free metabolic imaging with subcellular lateral resolution and high mass-resolving power[J]. *Nat Methods*, 2017, **14**(12): 1175-1183.
- [13] Bredehöft J, Bhandari DR, Pflieger FJ, et al. Visualizing and profiling lipids in the OVLT of fat-1 and wild type mouse brains during LPS-induced systemic inflammation using AP-SMALDI MSI[J]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, **10**(10): 4394-4406.
- [14] Li B, Sun RY, Gordon A, et al. 3-aminophthalhydrazide (luminol) As a matrix for dual-polarity MALDI MS imaging[J]. *Anal Chem*, 2019, **91**(13): 8221-8228.
- [15] Tang WW, Gordon A, Wang F, et al. Hydralazine as a versatile and universal matrix for high-molecular coverage and dual-polarity matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging[J]. *Anal Chem*, 2021, **93**(26): 9083-9093.
- [16] Shariatgorji M, Nilsson A, Fridjonsdottir E, et al. Comprehensive mapping of neurotransmitter networks by MALDI-MS imaging[J]. *Nat Methods*, 2019, **16**(10): 1021-1028.
- [17] Ferreira MS, de Oliveira DN, Mesquita CC, et al. MALDI-MSI: a fast and reliable method for direct melatonin quantification in biological fluids[J]. *J Anal Sci Technol*, 2016, **7**: 1-6.
- [18] Heijs B, Potthoff A, Soltwisch J, et al. MALDI-2 for the enhanced analysis of N-linked glycans by mass spectrometry imaging[J]. *Anal Chem*, 2020, **92**(20): 13904-13911.
- [19] Chingin K, Gamez G, Chen HW, et al. Rapid classification of perfumes by extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS)[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2008, **22**(13): 2009-2014.
- [20] Chen HW, Wortmann A, Zhang WH, et al. Rapid *in vivo* fingerprinting of nonvolatile compounds in breath by extractive electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2007, **46**(4): 580-583.
- [21] Harper JD, Charipar NA, Mulligan CC, et al. Low-temperature plasma probe for ambient desorption ionization[J]. *Anal Chem*, 2008, **80**(23): 9097-9104.
- [22] Luo ZG, He JM, Chen Y, et al. Air flow-assisted ionization imaging mass spectrometry method for easy whole-body molecular imaging under ambient conditions[J]. *Anal Chem*, 2013, **85**(5): 2977-2982.
- [23] Liu CY, Qi KK, Yao L, et al. Imaging of polar and nonpolar species using compact desorption electrospray ionization/postpho-

- toionization mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2019, **91**(10): 6616-6623.
- [24] Sikora KN, Hardie JM, Castellanos-García LJ, *et al.* Dual mass spectrometric tissue imaging of nanocarrier distributions and their biochemical effects[J]. *Anal Chem*, 2020, **92**(2): 2011-2018.
- [25] Chen YW, Hu DJ, Zhao LS, *et al.* Unraveling metabolic alterations in transgenic mouse model of Alzheimer's disease using MALDI MS imaging with 4-aminocinnoline-3-carboxamide matrix[J]. *Anal Chim Acta*, 2022, **1192**: 339337.
- [26] Nilsson A, Goodwin RJA, Shariatgorji M, *et al.* Mass spectrometry imaging in drug development[J]. *Anal Chem*, 2015, **87**(3): 1437-1455.
- [27] Guo S, Li KN, Chen YW, *et al.* Unraveling the drug distribution in brain enabled by MALDI MS imaging with laser-assisted chemical transfer[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2022, **12**(4): 2120-2126.
- [28] Meng YF, Gao CH, Lu Q, *et al.* Single-cell mass spectrometry imaging of multiple drugs and nanomaterials at organelle level [J]. *ACS Nano*, 2021, **15**(8): 13220-13229.
- [29] Yin ZB, Cheng XL, Liu R, *et al.* Chemical and topographical single-cell imaging by near-field desorption mass spectrometry [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, **58**(14): 4541-4546.
- [30] Caprioli RM. Imaging mass spectrometry: molecular microscopy for the new age of biology and medicine[J]. *Proteomics*, 2016, **16** (11/12): 1607-1612.
- [31] Haque MIU, Mukherjee D, Stopka SA, *et al.* Deep learning on multimodal chemical and whole slide imaging data for predicting prostate cancer directly from tissue images[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2023, **34**(2): 227-235.
- [32] Unsihuay D, Yin RC, Sanchez DM, *et al.* High-resolution imaging and identification of biomolecules using Nano-DESI coupled to ion mobility spectrometry[J]. *Anal Chim Acta*, 2021, **1186**: 339085.
- [33] Xie CY, Chen YY, Wang XX, *et al.* Chiral derivatization-enabled discrimination and on-tissue detection of proteinogenic amino acids by ion mobility mass spectrometry[J]. *Chem Sci*, 2022, **13**(47): 14114-14123.
- [34] Ellis SR, Paine MRL, Eijkel GB, *et al.* Automated, parallel mass spectrometry imaging and structural identification of lipids [J]. *Nat Methods*, 2018, **15**(7): 515-518.
- [35] Guo XY, Cao WB, Fan XM, *et al.* Tandem mass spectrometry imaging enables high definition for mapping lipids in tissues[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2023, **62**(9): e202214804.
- [36] Han YH, Zhao YS, Chen PP, *et al.* On-tissue derivatization for isomer-specific mass spectrometry imaging and relative quantification of monosaccharides in biological tissues[J]. *Anal Chim Acta*, 2022, **1225**: 340241.
- [37] Wu Q. A review on quantitation-related factors and quantitation strategies in mass spectrometry imaging of small biomolecules [J]. *Anal Methods*, 2022, **14**(40): 3932-3943.
- [38] Unsihuay D, Mesa Sanchez D, Laskin J. Quantitative mass spectrometry imaging of biological systems[J]. *Annu Rev Phys Chem*, 2021, **72**: 307-329.
- [39] Schulz S, Becker M, Groseclose MR, *et al.* Advanced MALDI mass spectrometry imaging in pharmaceutical research and drug development[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2019, **55**: 51-59.
- [40] Takai N, Tanaka Y, Watanabe A, *et al.* Quantitative imaging of a therapeutic peptide in biological tissue sections by MALDI MS[J]. *Bioanalysis*, 2013, **5**(5): 603-612.
- [41] Torok S, Rezeli M, Kelemen O, *et al.* Limited tumor tissue drug penetration contributes to primary resistance against angiogenesis inhibitors[J]. *Theranostics*, 2017, **7**(2): 400-412.
- [42] Munteanu B, Meyer B, von Reitzenstein C, *et al.* Label-free *in situ* monitoring of histone deacetylase drug target engagement by matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry biotyping and imaging[J]. *Anal Chem*, 2014, **86**(10): 4642-4647.
- [43] Mittal P, Price ZK, Lokman NA, *et al.* Matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging (MALDI MSI) for monitoring of drug response in primary cancer spheroids[J]. *Proteomics*, 2019, **19**, 1900146.
- [44] Jaeschke H, Knight TR, Bajt ML. The role of oxidant stress and reactive nitrogen species in acetaminophen hepatotoxicity[J]. *Toxicol Lett*, 2003, **144**(3): 279-288.
- [45] Sezgin S, Hassan R, Zühlke S, *et al.* Spatio-temporal visualization of the distribution of acetaminophen as well as its metabolites and adducts in mouse livers by MALDI MSI[J]. *Arch Toxicol*, 2018, **92**(9): 2963-2977.
- [46] Li LM, Zang QC, Li XZ, *et al.* Spatiotemporal pharmacometabolomics based on ambient mass spectrometry imaging to evaluate the metabolism and hepatotoxicity of amiodarone in HepG2 spheroids[J]. *J Pharm Anal*, 2023, **13**(5): 483-493.
- [47] Wang ZH, He BS, Liu YQ, *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.
- [48] Nilsson A, Forngren B, Bjurström S, *et al.* *In situ* mass spectrometry imaging and *ex vivo* characterization of renal crystalline deposits induced in multiple preclinical drug toxicology studies [J]. *PLoS One*, 2012, **7**(10): e47353.
- [49] Barrette AM, Roberts JK, Chapin C, *et al.* Antiinflammatory effects of budesonide in human fetal lung[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, **55**(5): 623-632.
- [50] Zecchi R, Franceschi P, Tigli L, *et al.* Surfactant-assisted distal pulmonary distribution of budesonide revealed by mass spectrometry imaging[J]. *Pharmaceutics*, 2021, **13**(6): 868.
- [51] Tannock IF, Lee CM, Tunggal JK, *et al.* Limited penetration of anticancer drugs through tumor tissue: a potential cause of resistance of solid tumors to chemotherapy[J]. *Clin Cancer Res*,

- 2002, **8**(3): 878-884.
- [52] Tanaka Y, Hirata M, Shinonome S, *et al.* Distribution analysis of epertinib in brain metastasis of HER2-positive breast cancer by imaging mass spectrometry and prospect for antitumor activity[J]. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 343.
- [53] Tang WW, Zhang YJ, Li P, *et al.* Evaluation of intestinal drug absorption and interaction using quadruple single-pass intestinal perfusion coupled with mass spectrometry imaging[J]. *Anal Chem*, 2023, **95**(6): 3218-3227.
- [54] Aikawa H, Hayashi M, Ryu S, *et al.* Visualizing spatial distribution of alectinib in murine brain using quantitative mass spectrometry imaging[J]. *Sci Rep*, 2016, **6**: 23749.
- [55] Moraleja I, Esteban-Fernández D, Lázaro A, *et al.* Printing metal-spiked inks for LA-ICP-MS bioimaging internal standardization: comparison of the different nephrotoxic behavior of cisplatin, carboplatin, and oxaliplatin[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2016, **408**(9): 2309-2318.
- [56] Ding YX, Xu YJ, Yang WZ, *et al.* Investigating the EPR effect of nanomedicines in human renal tumors *via ex vivo* perfusion strategy[J]. *Nano Today*, 2020, **35**: 100970.
- [57] Ryu S, Ohuchi M, Yagishita S, *et al.* Visualization of the distribution of nanoparticle-formulated AZD2811 in mouse tumor model using matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry imaging[J]. *Sci Rep*, 2020, **10**(1): 15535.
- [58] Xue JJ, Liu HH, Chen SM, *et al.* Mass spectrometry imaging of the *in situ* drug release from nanocarriers[J]. *Sci Adv*, 2018, **4**(10): eaat9039.
- [59] Strittmatter N, Moss JI, Race AM, *et al.* Multi-modal molecular imaging maps the correlation between tumor microenvironments and nanomedicine distribution[J]. *Theranostics*, 2022, **12**(5): 2162-2174.
- [60] Meng YF, Cheng XL, Wang TT, *et al.* Micro-lensed fiber laser desorption mass spectrometry imaging reveals subcellular distribution of drugs within single cells[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, **59**(41): 17864-17871.
- [61] Pena-Rodríguez E, García-Berrocó T, Fernández EV, *et al.* Monitoring dexamethasone skin biodistribution with *ex vivo* MALDI-TOF mass spectrometry imaging and confocal Raman microscopy[J]. *Int J Pharm*, 2023, **636**: 122808.
- [62] Sun SP, Tang WW, Li B. Authentication of single herbal powders enabled by microscopy-guided *in situ* auto-sampling combined with matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2023, **95**(19): 7512-7518.
- [63] Tang WW, Shi JJ, Liu W, *et al.* MALDI imaging assisted discovery of a di-O-glycosyltransferase from *Platycodon grandiflorum* root[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2023, **62**(19): e202301309.
- [64] Bai HR, Wang SJ, Liu JJ, *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.
- [65] Yang YG, Yang YB, 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.
- [66] Li B, Ge JY, 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.
- [67] Yamamoto K, Takahashi K, Caputi L, *et al.* The complexity of intercellular localisation of alkaloids revealed by single-cell metabolomics[J]. *New Phytol*, 2019, **224**(2): 848-859.
- [68] Li B, Bhandari DR, Janfelt C, *et al.* Natural products in *Glycyrrhiza glabra* (licorice) rhizome imaged at the cellular level by atmospheric pressure matrix-assisted laser desorption/ionization tandem mass spectrometry imaging[J]. *Plant J*, 2014, **80**(1): 161-171.
- [69] Li B, Neumann EK, Ge JY, *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.
- [70] Meng XY, Fu WQ, Huo ML, *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.
- [71] Tang WW, Chen J, Zhou J, *et al.* Quantitative MALDI imaging of spatial distributions and dynamic changes of tetrandrine in multiple organs of rats[J]. *Theranostics*, 2019, **9**(4): 932-944.
- [72] Jiang HY, Gao HY, 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.