

UPLC-Q-TOF-MS^E 法分析黄精在九蒸九晒过程中的差异代谢物

梁泽华¹, 潘颖洁¹, 邱丽媛¹, 袁 强¹, 徐晓强², 舒月文²
(1. 浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311400; 2. 浙江枣椿堂农业发展有限公司, 浙江 龙游 324402)

摘要: **目的** 基于超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS^E) 法分析黄精在九蒸九晒过程中的差异代谢物。**方法** 取生品、一蒸一晒品、三蒸三晒品、五蒸五晒品、七蒸七晒品、九蒸九晒品各 6 批, 经预处理后采用 UPLC-Q-TOF-MS^E 法检测代谢产物, 主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘分析 (OPLS-DA)。**结果** 生品、炮制品在负离子模式下共鉴别处 37 种差异代谢物, 其中生品与一蒸一晒品、三蒸三晒品、五蒸五晒品、七蒸七晒品、九蒸九晒品的差异代谢物分别有 33、30、30、25、27 种, 以甾体皂苷为主。**结论** 本实验可为黄精九蒸九晒机制的研究提供科学依据。

关键词: 黄精; 九蒸九晒; 差异代谢物; 超高效液相色谱-串联四极杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS^E); 主成分分析 (PCA); 正交偏最小二乘分析 (OPLS-DA)

中图分类号: R283 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2022)01-0326-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.01.064

黄精为百合科植物滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl.、黄精 *Polygonatum sibiricum* Red. 或多花黄精 *Polygonatum cyrtonema* Hua 的干燥根茎, 味甘、性平, 入脾、肾、肺经, 具有补气养阴、健脾、润肺、益肾的功效^[1], 常用于治疗肺虚燥咳、肾精亏虚、腰膝酸软^[2]以及脾胃虚弱之症, 具有滋补强身之功效。现代药理研究证明, 黄精具有增强免疫、降血糖、降血脂、抗高血压、抗肿瘤、抗氧化等药理作用^[3-8]。

黄精用药历史悠久, 常以口服单用作用滋补, 但生品具有咽喉刺激性及麻舌感, 因此常以炮制品入药, 其中蒸九晒品作为“四大蒸货”之一, 其刺激性成分黄精黏液质含量明显降低^[9], 补益功效增强, 有利于患者的服用。但九蒸九晒品的功效目前主要依据传统的临床经验, 缺乏科学全面的理论依据, 而且工艺复杂, 耗时长, 对于其蒸晒次数的标准尚存在争议。

因此, 本实验采用 UPLC-Q-TOF-MS^E 技术结合多元统计分析, 筛选并识别黄精九蒸九晒过程中的差异性成分^[10-17], 为相关炮制机制的研究提供物质基础。

1 材料

1.1 药材 黄精 (产地浙江龙游) 由浙江枣椿堂农业发展有限公司提供, 经浙江中医药大学黄真教授鉴定为百合科植物多花黄精 *Polygonatum cyrtonema* Hua 的干燥根茎。

1.2 试剂 甲醇 (国药集团化学试剂有限公司); 乙腈 (德国默克公司); 甲酸 (上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

1.3 仪器 SYNAPT G2-Si 高分辨四级飞行时间串联液质联用仪 (美国沃特世公司); RE52-99 旋转蒸发器 (上海亚

荣生化仪器厂); 150T 多功能粉碎机 (永康市铂欧五金制品有限公司); KQ-300DB 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); DHG-9146A 电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司)。

2 方法

2.1 药材炮制 取生品适量, 除去杂质, 洗净, 将黄酒与其搅拌均匀, 并闷润至吸尽 (每 100 kg 水平用黄酒 20 kg), 要求第 1 次蒸制至黄精中央发虚, 放在太阳下晒至药材外皮微干, 之后将上一步生品拌入收集的汁液和一定量黄酒, 并“闷润至辅料被药材吸尽”, 按第 1 回蒸制、干燥方法处理, 放到太阳底下晒至药材表面微干, 再拌入上一步收集的汁液和一定量黄酒, 同法连续操作, 得到一蒸一晒品、三蒸三晒品、五蒸五晒品、七蒸七晒品、九蒸九晒品, 置于 60 ℃ 烘箱中烘干。

2.2 预处理 取“2.1”项下生品和炮制品, 分别精密称取 (过四号筛) 4 g, 加入 70% 乙醇 100 mL, 超声提取 30 min, 共 2 次, 合并滤液, 减压浓缩, 70% 甲醇复溶, PSL 固相萃取小柱, 20 mL 甲醇活化, 20 mL 超纯水洗涤, 取 5 mL 倒入固相萃取小柱中, 20 mL 超纯水淋洗, 40 mL 甲醇洗脱, 收集洗脱液, 减压浓缩, 70% 甲醇复溶并定容至 25 mL, 12 000 r/min 离心取上清液, 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得供试品溶液, 置于 4 ℃ 冰箱中保存。

2.3 LC-MS 分析条件

2.3.1 色谱 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm); 流动相乙腈 (A) -0.1% 甲酸 (B), 梯度洗脱 (0~8 min, 5%~21% A; 8~17 min, 21%~22% A; 17~20 min, 22%~40% A; 20~30 min, 40%~45% A;

30~40 min, 45%~73% A; 40~45 min, 73%~100% A; 45~47 min, 100% A; 47~47.1 min, 100%~5% A; 47.1~50 min, 5% A); 体积流量 0.3 mL/min; 柱温 30 ℃; 进样量 0.5 μL。

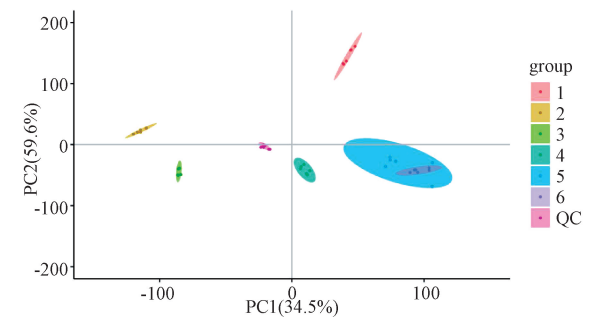
2.3.2 质谱 SYNAPT G2-Si Q-TOF 质谱仪; MS^E continuum 模式; 扫描范围 *m/z* 50~1 500。在 ESI⁻ 模式下; 毛细管电压 3.00 kV; 锥孔电压 40 V; 温度 120 ℃ 时锥气孔体积流量 50 L/h; 温度 400 ℃ 时脱溶剂气体体积流量 800 L/h。以 1 ng/μL 亮氨酸-脑啡肽 (ESI⁻, *m/z* 555.261 5) 为校正标准液。

2.3.3 化学成分数据库建立 从 Sciencedirect、Web of Science、CNKI、TCMSP 等数据库收集黄精属植物化学成分及期名称, 采用 Masslynx V4.1 软件中的 Molecular Weight Calculator 工具计算相对分子质量, 建立包括名称、分子式、相对分子质量、[M-H]⁻、[2 M-H]⁻、[M-H+HCOOH]⁻ 等信息的数据库。

2.4 数据处理 取生品、炮制品溶液各 200 μL, 制成质控 (QC) 样品。进样前先运行 5 个 QC 样品以使仪器稳定, 然后每进 9 个样品运行 1 次, 监测仪器稳定性和重复性。所采集的原始数据先通过 Progenesis QI 软件进行峰对齐、峰提取、峰鉴别、归一化等预处理, 再将数据矩阵导入 SIMCA 14.0 软件, 进行主成分分析 (PCA)、正交偏最小二乘法-判别分析 (OPLS-DA)。

3 结果

3.1 多元统计分析 “2.1” 项下生品和炮制品中共得到 7 个主成分, 累积 $R^2X=0.892$, $Q^2=0.815$, 表明模型具有良好的预测能力。图 1 显示, QC 样品高度集中, 表明该方法稳定可靠; 七蒸七晒品与九蒸九晒品重叠, 未达到明显分离, 而其余样品分布在不同区域, 表明两者代谢产物相似, 与其余样品之间存在差异。图 2 显示, 除了七蒸七晒品与九蒸九晒品之间存在交叉, 其余样品区分明显, 组内平行样品成分接近。



注: 1 为生黄精, 2 为一蒸一晒品, 3 为三蒸三晒品, 4 为五蒸五晒品, 5 为七蒸七晒品, 6 为九蒸九晒品。

图 1 生品和炮制品 PCA 得分图

为了鉴别造成生品和炮制品之间分离的主要差异代谢成分, 又建立了 OPLC-DA 模型, 见图 3, 可知 R^2Y 、 Q^2 均大于 0.9, 表明模型构建良好, 预测性可靠。

3.2 差异代谢成分筛选和鉴别 通过 OPLS-DA 分析得到 S

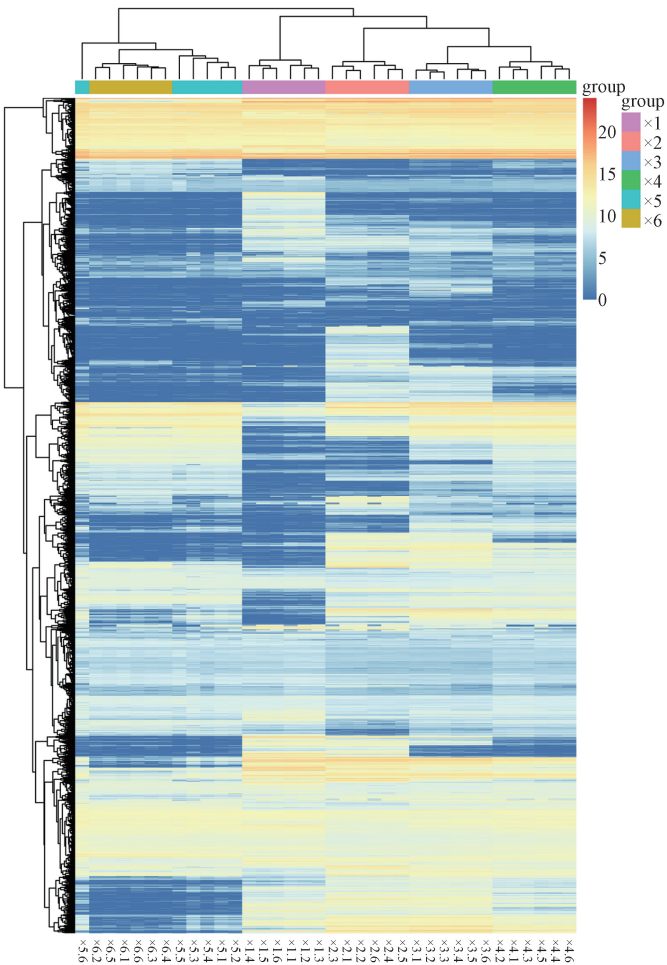


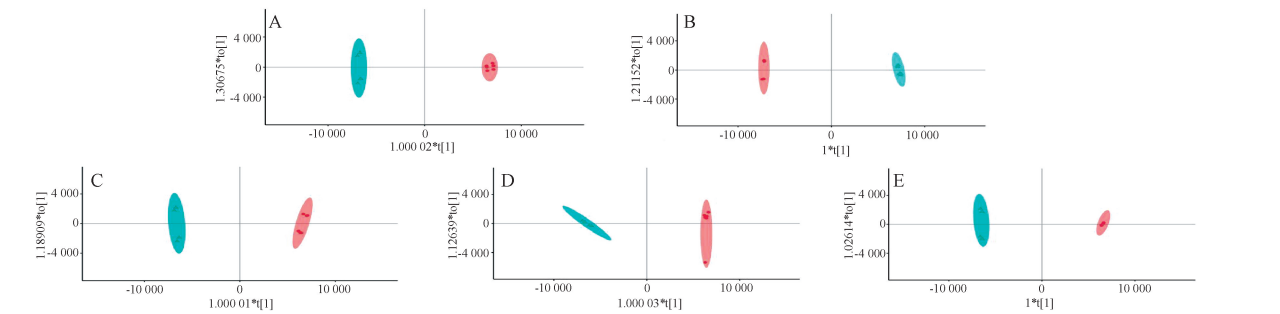
图 2 生品和炮制品聚类热图

型图 (S-plot, 图 4) 和变量重要性投影 (VIP) 值, 以 VIP 值>1、 $P<0.05$ 为条件筛选寻找差异代谢物, 对比自建黄精化学成分数据库和 ChemSpider 数据库, 同时根据所获得的精确相对分子质量结合色谱保留行为、质谱裂解规律、特征碎片离子以及相关文献报道, 最终鉴别出 37 种差异代谢物, 包含 19 种甾体皂苷、5 种脂肪酸、3 种黄酮、2 种糖类、2 种木脂素、2 种有机酸、1 种氨基酸、1 种生物碱、2 种未知成分, 见表 1。

倍数变化 (FC) 代表炮制品、生品中代谢物含量的比值, $FC>1$ 代表前者含量高于后者, $FC<1$ 代表后者含量低于前者。表 2、图 5 显示, 以 pratoside H、sibiricoside A 为代表的大分子原生苷含量随着炮制时间延长不断降低, tianshic acid、palmitic acid 等小分子化合物含量升高, 鹅掌楸苷、橙皮苷等成分含量先升后降。

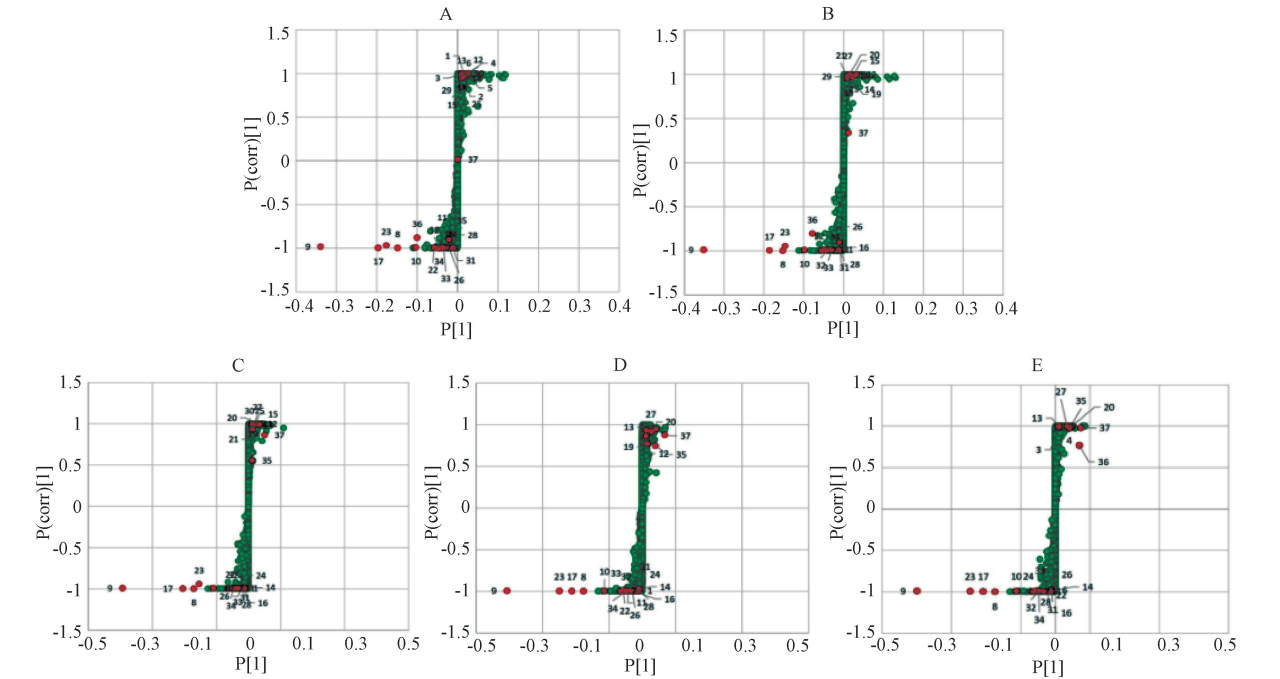
5 讨论与结论

九蒸九晒品作为药食同源之品具有很高的养生价值, 但生品具有咽喉刺激的副作用, 九蒸九晒后可降低咽喉刺激性, 增强补益功效, 然而对其炮制机制的探索尚不明确, 本实验对黄精生品、一蒸一晒品、三蒸三晒品、五蒸五晒品、七蒸七晒品、九蒸九晒品进行代谢组学分析, 对黄精九蒸九晒过程中的化学成分进行识别分析, 最终鉴定了 37



注：A 为生品与一蒸一晒品，B 为生品与三蒸三晒品，C 为生品与五蒸五晒品，D 为生品与七蒸七晒品，E 为生品与九蒸九晒品。

图 3 生品和炮制品 OPLS-DA 得分图



注：A 为生品与一蒸一晒品，B 为生品与三蒸三晒品，C 为生品与五蒸五晒品，D 为生品与七蒸七晒品，E 为生品与九蒸九晒品。

图 4 生品和炮制品 S-plot 图

表 1 炮制品中差异代谢物

序号	t_R/min	离子模式	理论值 m/z	实际值 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	碎片离子	成分
1	0.82	$[\text{M-H}]^-$	341.108 4	341.108 3	-0.29	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	179.056 3 $[\text{M-H-Glc}]^-$, 323.097 4 $[\text{M-H-H}_2\text{O}]^-$	麦芽糖 or isomer
2	0.82	$[\text{M-H}]^-$	179.055 6	179.054 9	-3.91	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	161.045 3 $[\text{M-H-H}_2\text{O}]^-$, 143.035 2 $[\text{M-H-2H}_2\text{O}]^-$	葡萄糖 or isomer
3	0.85	$[\text{M-H}]^-$	404.110 7	404.109 9	-1.98	$\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_9$	242.075 0 $[\text{M-H-Glc}]^-$	异甘草素 or isomer
4	0.87	$[\text{M-H+HCOOH}]^-$	359.076 7	359.075 1	-4.46	$\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_6$	341.110 7 $[\text{M-H-H}_2\text{O}]^-$	2',7-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷 or isomer
5	1.11	$[\text{M-H}]^-$	128.036 7	128.036 5	-1.56	$\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_3$	110.027 0 $[\text{M-H-H}_2\text{O}]^-$	L-焦谷氨酸 or isomer
6	7.75	$[\text{M-H}]^-$	741.260 6	741.259 2	-1.89	$\text{C}_{34}\text{H}_{46}\text{O}_{18}$	597.205 8 $[\text{M-H-Glc}]^-$, 417.157 2 $[\text{M-H-2Glc}]^-$	鹅掌楸苷 or isomer
7	7.91	$[\text{M-H+HCOOH}]^-$	1 417.612 41	1 417.611 0	-0.99	$\text{C}_{62}\text{H}_{100}\text{O}_{33}$	1 255.561 0 $[\text{M-H-Glc}]^-$, 1 093.522 7 $[\text{M-H-2Glc}]^-$	pratioides H or isomer
8	8.67	$[\text{M-H+HCOOH}]^-$	1 301.565 01	1 301.569 9	3.76	$\text{C}_{57}\text{H}_{92}\text{O}_{30}$	1 193.501 8 $[\text{M-H+HCOOH-Glc}]^-$	26-三醇-3-O- β -糖苷 or isomer
9	8.70	$[\text{M-H}]^-$	1 255.559 51	1 255.555 2	-3.42	$\text{C}_{57}\text{H}_{92}\text{O}_{30}$	1 093.501 8 $[\text{M-H-Glc}]^-$, 931.450 4 $[\text{M-H-2Glc}]^-$, 769.393 8 $[\text{M-H-3Glc}]^-$	3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-galactopyranosyl 22-methoxy-(25R and S)-furost-5-en-3 β , 14 α , 26-triol 26-O- β -D-glucopyranoside or isomer
10	8.90	$[\text{M-H}]^-$	1 225.549 01	1 225.553 0	3.26	$\text{C}_{57}\text{H}_{94}\text{O}_{28}$	1 063.420 0 $[\text{M-H-Glc}]^-$, 931.437 1 $[\text{M-H-Glc-Xyl}]^-$, 769.393 8 $[\text{M-H-2Glc-Xyl}]^-$	西伯利亚蓼苷 A or isomer

续表 1

序号	t_{R}/min	离子模式	理论值 m/z	实际值 m/z	误差 ($\times 10^{-6}$)	分子式	碎片离子	成分
11	8.91	[M-H+HCOOH] ⁻	1 093.506 7	1 093.505 1	-1.46	C ₅₀ H ₈₀ O ₂₃	931.450 5 [M-H+HCOOH-Gal] ⁻ , 769.393 8 [M-H+HCOOH-Gal-Glc] ⁻	(25S)-螺甾-5-烯-3β,12β-二醇-3- <i>O</i> -[β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖基-(1→2)-[β- <i>D</i> -吡喃木糖基-(1→3)]-β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖基-(1→4)]-β- <i>D</i> -吡喃半乳糖苷 or isomer
12	9.07	[M-H] ⁻	1 097.356 1	1 097.354 1	-1.82	C ₄₆ H ₆₆ O ₃₀	935.353 4 [M-H-Glc] ⁻ , 611.218 1 [M-H-3Glc] ⁻	丁香脂素二葡萄糖苷 or isomer
13	9.39	[M-H] ⁻	609.181 9	609.181 4	-0.82	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	447.127 5 [M-H-Glc] ⁻	橙皮苷 or isomer
14	10.99	[M-H+HCOOH] ⁻	1 417.612 3	1 417.614 4	1.48	C ₆₂ H ₁₀₀ O ₃₃	1 255.561 0 [M-H-Glc] ⁻ , 1 093.522 7 [M-H-2Glc] ⁻	pratioside H or isomer
15	11.49	[M-H] ⁻	312.123 6	312.125 4	5.77	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	297.100 7 [M-H-CH ₃] ⁻ , 190.050 8 [M-H-C ₈ H ₁₀ O] ⁻	<i>N</i> -反式阿魏酸酐酰胺 or isomer
16	14.6	[M-H] ⁻	1 091.491 0	1 091.490 7	-0.27	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₅	929.438 4 [M-H-Glc] ⁻	kingianoside E or isomer
17	15.57	[M-H] ⁻	1 241.580 3	1 241.583 2	2.34	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₉	1 079.534 8 [M-H-Glc] ⁻ , 917.478 1 [M-H-2Glc] ⁻ , 755.426 6 [M-H-3Glc] ⁻	22-羧基-25(<i>S</i>)-呋甾-5-烯-12-酮-3β,22,26-三醇-26- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷 or isomer
18	19.05	[M-H+HCOOH] ⁻	797.396 0	797.392 1	-4.89	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₄	591.365 4 [M-H-Glc] ⁻ , 429.310 3 [M-H-Glc-Gal] ⁻ , 411.3001 [M-H-Glc-Gal-H ₂ O] ⁻	kingianoside A or isomer
19	19.77	[M-H] ⁻	1 077.511 8	1 077.512 1	0.28	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₄	915.4548 [M-H-Glc] ⁻ , 753.4184 [M-H-2Glc] ⁻	pratioside C or isomer
20	20.00	[M-H] ⁻	329.232 8	329.232 4	-1.21	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	311.208 8 [M-H-H ₂ O] ⁻	天师酸 or isomer
21	20.46	[M-H] ⁻	1 061.516 9	1 061.518 4	1.41	C ₅₁ H ₈₂ O ₂₃	899.440 5 [M-H-Glc] ⁻ , 737.405 9 [M-H-2Glc] ⁻ , 575.329 7 [M-H-3Glc] ⁻	polygonatumoside F or isomer
22	20.87	[M-H] ⁻	329.232 8	329.232 5	-0.91	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	311.216 5 [M-H-H ₂ O] ⁻	天师酸 or isomer
23	23.29	[M-H+HCOOH] ⁻	1 121.501 6	1 121.505 2	3.21	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₄	1 075.491 2 [M-H] ⁻ , 913.446 3 [M-H-Glc] ⁻ , 751.409 9 [M-H-2Glc] ⁻ , 589.317 7 [M-H-3Glc] ⁻	cyrtoneoside A or isomer
24	24.21	[M-H+HCOOH] ⁻	1 091.491 1	1 091.493 4	2.11	C ₅₀ H ₇₈ O ₂₃	1 045.476 3 [M-H] ⁻ , 913.446 9 [M-H-Xyl] ⁻ , 883.437 6 [M-H-Gal] ⁻ , 751.385 9 [M-H-Gal-Xyl] ⁻	(25S) spirost-5-en-12-one-3- <i>O</i> - <i>D</i> -glucopyranosyl-(1 → 2)- <i>O</i> -[β- <i>D</i> -xylopyranosyl-(1 → 3)]- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→4)-β- <i>D</i> -galactopyranoside or isomer
25	24.47	[M-H] ⁻	913.443 3	913.444 4	1.20	C ₄₅ H ₇₀ O ₁₉	751.394 1 [M-H-Glc] ⁻ , 589.338 9 [M-H-2Glc] ⁻	pratioside D ₁ or isomer
26	24.77	[M-H+HCOOH] ⁻	1 105.506 7	1 105.508 9	1.99	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₃	1 059.506 2 [M-H] ⁻ , 897.437 2 [M-H-Glc] ⁻ , 735.402 6 [M-H-2Glc] ⁻	polygonatumoside C or isomer
27	25.24	[M-H+HCOOH] ⁻	797.396 0	797.396 7	0.88	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₄	751.397 9 [M-H] ⁻	kingianoside A or isomer
28	31.18	[M-H] ⁻	1 061.553 2	1 061.547 0	-5.84	C ₅₂ H ₈₆ O ₂₂	899.498 7 [M-H-Glc] ⁻	甲基原薯蓣皂苷 or isomer
29	34.09	[M-H] ⁻	279.234 1	279.233 8	-1.07	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	261.226 6 [M-H-H ₂ O] ⁻	亚油酸 or isomer
30	34.84	[2 M-H] ⁻	1 151.651 8	1 151.653 5	1.48	C ₃₂ H ₄₈ O ₉	575.312 7 [M-H] ⁻	huangjinoside A or isomer
31	35.17	[M-H] ⁻	277.216 8	277.216 0	-2.89	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	259.211 3 [M-H-H ₂ O] ⁻	α-亚麻酸 or isomer
32	35.91	[M-H] ⁻	603.359 2	603.359 7	0.83	C ₁₈ H ₃₁ O ₂	589.359 7 [M-H-CH ₂] ⁻ , 571.317 2 [M-H-CH ₂ -H ₂ O] ⁻	未知 1
33	36.25	[M-H] ⁻	293.211 7	293.213 2	5.12	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	279.233 3 [M-H-CH ₂] ⁻ , 265.152 6 [M-H-2CH ₂] ⁻	未知 2
34	37.55	[M-H] ⁻	579.353 3	579.353 6	0.52	C ₃₂ H ₅₂ O ₉	447.331 8 [M-H-Xyl] ⁻	铃兰皂苷 A or isomer
35	41.37	[M-H] ⁻	277.216 8	277.216 2	-2.16	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	259.216 2 [M-H-H ₂ O] ⁻	α-亚麻酸 or isomer
36	42.99	[M-H] ⁻	279.234 1	279.233 6	-1.79	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	261.226 6 [M-H-H ₂ O] ⁻	亚油酸 or isomer
37	44.31	[M-H] ⁻	255.232 4	255.232 3	-0.39	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	241.220 9 [M-H-CH ₂] ⁻	棕榈酸 or isomer

表 2 生品和炮制品中差异代谢物变化

序号	t_{R}/min	代谢物	样品	趋势
1	0.82	麦芽糖 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓

续表 2

序号	t_{R}/min	代谢物	样品	趋势
2	0. 82	葡萄糖 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与九蒸九晒品	↑
3	0. 85	异甘草素 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与九蒸九晒品	↑
4	0. 87	2',7-二羟基-3',4'-二甲氧基异黄烷 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与九蒸九晒品	↑
5	1. 11	L-焦谷氨酸 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与一蒸一晒品	↑
6	7. 75	鹅掌楸苷 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↑
			生品与九蒸九晒品	↓
			生品与一蒸一晒品	↓
7	7. 91	pratioside H or isomer	生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
			生品与一蒸一晒品	↓
8	8. 67	26-三醇-3- <i>O</i> -β-石蒜四糖苷 or isomer	生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
			生品与一蒸一晒品	↓
9	8. 70	3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→2)-[β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→3)]-β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→4)-β- <i>D</i> -galactopyranosyl 22-methoxy-(25 <i>R</i> and <i>S</i>)-furost-5-en-3β, 14α, 26-triol 26- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
10	8. 90	西伯利亚蓼苷 A or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
11	8. 91	(25 <i>S</i>)-螺甾-5-烯-3β, 12β-二醇-3- <i>O</i> -{β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖基-(1→2)-[β- <i>D</i> -吡喃木糖基-(1→3)]-β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖基-(1→4)}-β- <i>D</i> -吡喃半乳糖苷 or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
12	9. 07	丁香脂素二葡萄糖苷 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↑
			生品与七蒸七晒品	↑
13	9. 39	橙皮苷 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↑
			生品与七蒸七晒品	↑
			生品与九蒸九晒品	↑
14	10. 99	pratioside H or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
15	11. 49	N-反式阿魏酸酐酰胺 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↑

续表 2

序号	t_{R}/min	代谢物	样品	趋势
16	14. 60	kingianoside E or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
17	15. 57	22-羟基-25 (<i>S</i>)-呋甾-5-烯-12-酮-3β, 22, 26-三 醇-26- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷 or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
18	19. 05	kingianoside A or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
19	19. 77	pratioside C or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↑
			生品与七蒸七晒品	↑
20	20. 00	天师酸 or isomer	生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↑
			生品与七蒸七晒品	↑
			生品与九蒸九晒品	↑
21	20. 46	polygonatumoside F or isomer	生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↑
22	20. 87	天师酸 or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
23	23. 29	cyrtanemosideA or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
24	24. 21	(25 <i>S</i>) spirost-5-en-12-one-3- <i>O</i> - <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→2)- <i>O</i> -[β- <i>D</i> -xylopyranosyl-(1→3)] - <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1→4)-β- <i>D</i> -galactopyranoside or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
25	24. 47	pratioside D1 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↑
26	24. 77	polygonatumoside C or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
27	25. 24	kingianoside A or isomer	生品与三蒸三晒品	↑
			生品与五蒸五晒品	↑
			生品与七蒸七晒品	↑
			生品与九蒸九晒品	↑
28	31. 18	甲基原薯蓣皂苷 or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓

续表 2

序号	t_{R}/min	代谢物	样品	趋势
29	34. 09	亚油酸 or isomer	生品与一蒸一晒品	↑
			生品与三蒸三晒品	↑
			生品与七蒸七晒品	↓
30	34. 84	huangjinoside A or isomer	生品与九蒸九晒品	↓
			生品与一蒸一晒品	↑
			生品与三蒸三晒品	↑
4	35. 17	α -亚麻酸 or isomer	生品与五蒸五晒品	↑
			生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
32	35. 91	未知 1	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
			生品与一蒸一晒品	↓
33	36. 25	未知 2	生品与三蒸三晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
			生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
34	37. 55	铃兰皂苷 A or isomer	生品与五蒸五晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↓
35	41. 37	α -亚麻酸 or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与七蒸七晒品	↑
			生品与九蒸九晒品	↑
36	42. 99	亚油酸 or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与三蒸三晒品	↓
			生品与九蒸九晒品	↑
37	44. 31	棕榈酸 or isomer	生品与一蒸一晒品	↓
			生品与五蒸五晒品	↑
			生品与七蒸七晒品	↑
			生品与九蒸九晒品	↑

个差异代谢产物，其中甾体皂苷类成分占差异代谢产物的 51.4%，为主要差异成分，而 19 个甾体皂苷类成分中，26-三醇-3-*O*- β -石蒜四糖苷及其异构体、甲基薯蓣皂苷及其异构体等 10 个成分在黄精九蒸九晒过程中呈现下降趋势，推测甾体皂苷在九蒸九晒过程中遇热水解，脱去糖基形成了次级苷或苷元；polygonatumoside F 及其异构体等 8 个成分在黄精九蒸九晒过程中呈现先上升后下降的趋势，而 kingianoside A 及其异构体是黄精九蒸九晒过程中呈上升趋势的甾体皂苷、推测与大分子原生苷脱去糖基后的次级苷及其异构体的产生，以及进一步脱去糖基有关。同时，筛选所得的黄精黄酮类成分在九蒸九晒过程中呈现先上升后下降的趋势，异甘草素及其异构体与 2′，7-二羟基-3′，4′-二甲氧基异黄烷及其异构体在一蒸一晒品中的含量最高，而橙皮苷及其异构体三蒸三晒品中的含量最高，甾体皂苷类成分和黄酮类成分作为黄精主要药效成分，具有降血糖、

332

调节免疫、抗肿瘤等功效，但是对其单一成分的药效研究并不多见，研究表明黄精九蒸九晒主要差异成分多为甾体皂苷、但与黄精九蒸九晒过程中的药效变化规律之间的关系尚且需要进一步探索。

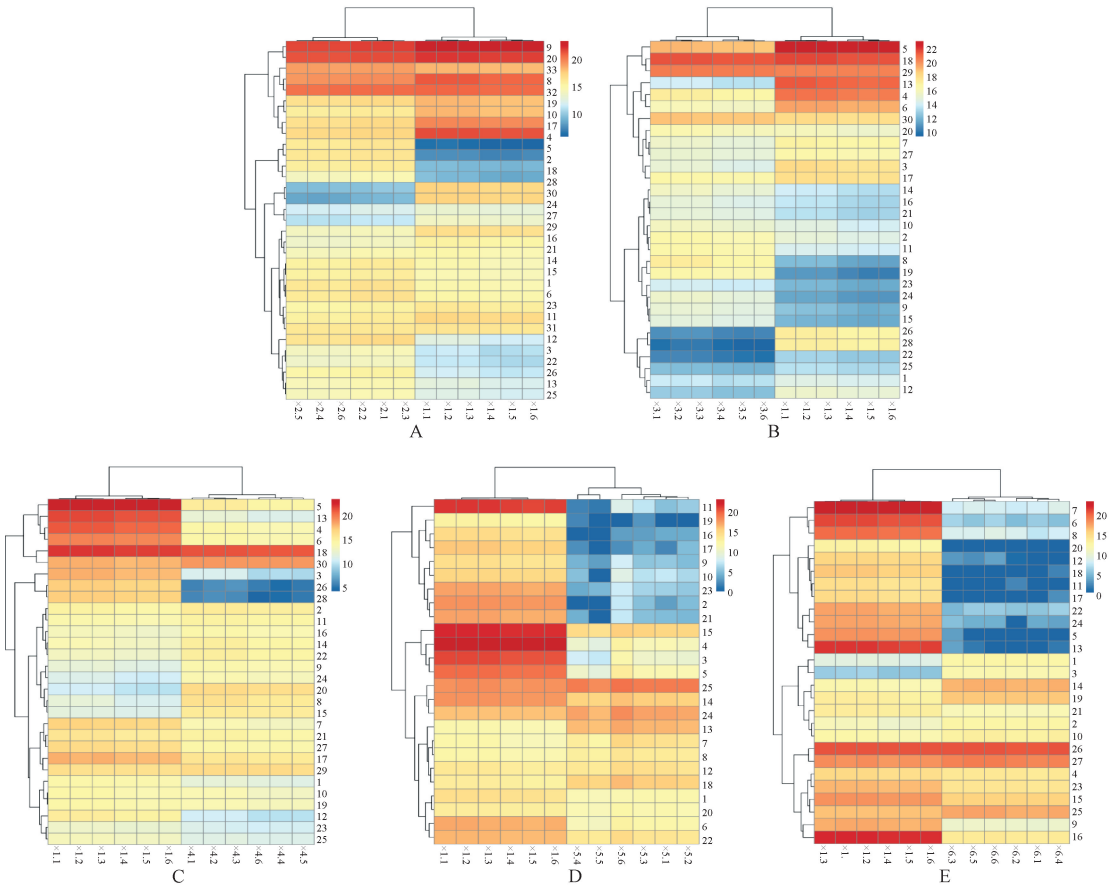
参考文献：

[1] 张洪坤, 吴桂芳, 黄玉瑶, 等. 黄精不同九制炮制的过程研究[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(3): 602-605.

[2] 杨华杰, 龚千锋, 于 欢, 等. 黄精不同炮制品抗疲劳及抗氧化作用比较研究[J]. 江西中医药, 2018, 49(2): 64-67.

[3] Sun T T, Zhang H, Li Y, *et al.* Physicochemical properties and immunological activities of polysaccharides from both crude and wine-processed *Polygonatum sibiricum* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 143: 255-264.

[4] Yu L Z, Zhang X P, Wang Y X. *Polygonatum sibiricum* extract exerts inhibitory effect on diabetes in a rat model[J]. *Trop J*



注：A 为生品与一蒸一晒品，B 为生品与三蒸三晒品，C 为生品与五蒸五晒品，D 为生品与七蒸七晒品，E 为生品与九蒸九晒品。

图 5 生品与炮制品差异代谢成分热图

Pharm Res, 2019, 18(7): 1493-1497.

[5] 孔 瑕,刘娇娇,李 慧,等. 黄精多糖对高脂血症小鼠脂代谢相关基因 mRNA 及蛋白表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(18): 3740-3747.

[6] 涂明锋,叶文峰. 黄精的药理作用及临床应用研究进展[J]. 宜春学院学报, 2018, 40(9): 27-31.

[7] Zhou W Z, Hong J, Zhu J, et al. Effects of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides (PSP) on human esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) via NF-kappa B signaling pathway[J]. *Int J Polym Sci*, 2019, 8: 1-9.

[8] Sharma S, Joshi R, Kumar D. Quantitative analysis of flavonols, flavonol glycoside and homoisoflavonoids in *Polygonatum verticillatum* using UHPLC-DAD-QTOF-IMS and evaluation of their antioxidant potential[J]. *Phytochem Anal*, 2020, 31(3): 333-339.

[9] 杨圣贤,杨正明,陈奕军,等. 黄精“九蒸九制”炮制过程中多糖及皂苷的含量变化[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2015, 12(5): 141-144.

[10] 李 洁,王喻淇,梅晓丹,等. 固相萃取结合 UHPLC-LTQ-Orbitrap MS 分析黄精发酵前后的化学成分[J]. 中草药, 2019, 50(13): 3029-3036; 3043.

[11] 秦伟瀚,阳 勇,李 卿,等. 基于植物代谢组学方法的马钱子油炸炮制前后化学差异研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(2): 240-249.

[12] 文 旺,李 莉,李德坤,等. 基于液质联用技术和植物代谢组学的甘草炮制品化学成分差异性分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(17): 104-110.

[13] 韩正洲,杨 勇,贾红梅,等. 基于植物代谢组学的栽培型与野生型野菊花的化学成分比较及定量分析[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(7): 1196-1206.

[14] 常相伟,王博然,王 彤,等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 的植物代谢组学技术鉴别林下山参的生长年限[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(19): 3609-3614.

[15] Li Q, Jin Y L, Jiang R G, et al. Dynamic changes in the metabolite profile and taste characteristics of Fu brick tea during the manufacturing process[J]. *Food Chem*, 2020, 67(26): 7304-7314.

[16] 邵 坚,吴样明,李诒光,等. 基于 UPLC-LTQ-Qorbitrap 代谢组学技术的不同产地黄连组分比较研究[J]. 中药材, 2020, 43(2): 309-313.

[17] 杨琳琳,柴建新,陈 强,等. 基于 LC-MS 代谢组学技术的不同采收期黄芩叶化学成分比较研究[J]. 山西医科大学学报, 2020, 51(11): 1244-1254.