

本文引文格式:章能胜,王金彬,叶红兵,等.九华黄精炮制前后化学成分差异研究[J].
右江民族医学院学报,2025,47(2):249-256.

【论著与临床报道】

九华黄精炮制前后化学成分差异研究

章能胜¹,王金彬²,叶红兵³

1. 安徽卫生健康职业学院医疗卫生技术系,安徽 池州 247099;
2. 中国药科大学药学院,江苏 南京 210009;
3. 安徽省合肥市食品药品检验检测中心,安徽 合肥 230088)

摘要:目的 基于超高效液相色谱-质谱联用仪法(UPLC-MS/MS),分析九华黄精九蒸九晒法炮制前后差异性化学成分。方法 在UPLC-MS/MS技术基础上结合统计学分析,以差异倍数(FC, $FC > 1.5$ 或 $FC < 0.67$, $P < 0.05$)、变量权重值(VIP, $VIP > 1$, $P < 0.05$)为筛选条件,分析九华黄精九蒸九晒法炮制前后的差异性化学成分,探索其主要成分变化规律。结果 共检测到2 173个代谢物,主成分分析发现九蒸九晒后前80种(top 80)显著差异主要代谢物相对含量上调有52种,下调有28种,主要差异代谢物为生物碱、黄酮、氨基酸及其衍生物、核苷酸及其衍生物、脂质、有机酸等。结论 九华黄精九蒸九晒法炮制前后化学成分差异明显,并存在着一定的变化规律,此法可为后续炮制机制和药效研究提供科学依据。

关键词:九华黄精;九蒸九晒;中药炮制;化学成分

中图分类号:R283 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-5817(2025)02-0249-08

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2025.02.009

Study on the differences in chemical composition of *Polygonatum Cyrtonema* Hua in Jiuhua Mountain before and after processing

ZHANG Nengsheng¹, WANG Jinbin², YE Hongbing³

1. Department of Medical and Health Technology, Anhui Health College, Chizhou 247099, Anhui, China;
2. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, Jiangsu, China;
3. Hefei Food and Drug Inspection and Testing Center of Anhui Province, Hefei 230088, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To analyze the differential chemical components in *Polygonatum Cyrtonema* Hua in Jiuhua Mountain (PCJH) before and after the method of steaming nine times and sun drying nine times using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **Methods** On the basis of UPLC-MS/MS technology combined with statistical analysis, with the fold change (FC, $FC > 1.5$ or $FC < 0.67$, $P < 0.05$) and variable importance in projection (VIP, $VIP > 1$, $P < 0.05$) as the screening criteria, the differential chemical components of PCJH before and after the the nine-steaming and nine-sun-drying method were analyzed to explore the change rules of its main components. **Results** A total of 2,173 metabolites were detected. Principal component analysis revealed that among the top 80 significantly different metabolites after steaming nine times and sun drying nine times, 52 showed upregulation and 28 showed downregulation in relative content. The main differential metabolites included alkaloids, flavonoids, amino acids and their derivatives, nucleotides and their derivatives, lipids, and organic acids, etc. **Conclusion** There are significant chemical component differences in PCJH before and after the nine-steaming and nine-sun-drying method, with certain variation patterns. This method can provide a scientific basis for the subsequent research on the processing mechanism and medicinal efficacy.

基金项目:安徽省教育厅高校自然科学重点研究项目(KJ2020A1142);安徽省高校优秀人才支持计划项目(gxyq2020110)

第一作者:章能胜,硕士,副教授,研究方向:微生物与生物制药,E-mail:nszhang@126.com

Key words: *Polygonatum Cyrtonea* Hua in Jiuhua Mountain; nine-steaming and nine-sun-drying method; traditional Chinese medicine processing; chemical components

黄精是一种传统经典的食药两用的草本植物,“以其得坤土之精粹”而得名^[1],在我国分布有 30 余种之多,作为中药使用的主要是滇黄精、黄精、多花黄精^[2]。九华黄精是指九华山及其周边地区生长的多花黄精,因九华山特有自然环境和佛学文化亦称地藏黄精,以其独特的药用价值和滋补功效而著称,入列安徽省“十大皖药”^[3]。九华黄精富含蛋白质、淀粉以及人体中必需的氨基酸、微量元素等营养物质^[4],食药两用,常以口服为主,但生品易刺激咽喉,致麻舌感,故以炮制品入药。九蒸九晒是九华黄精生品加工的主要方法,可降低其刺激性,既利于患者服用,又提升药效^[5]。但九蒸九晒炮制法以传统经验为主,缺乏科学全面的理论依据。本研究拟在 UPLC-MS/MS 技术基础上结合统计学分析,筛查九华黄精九蒸九晒炮制前后差异性化学成分,为后续炮制机制和药效研究奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 药材 九华黄精生药材由安徽省青阳县中药材科技公司提供,采集于九华山及其周边地区,药材黄精经合肥市食品药品检验检测中心刘业飞主任中药师鉴定为多花黄精(*Polygonatum cyrtonea* Hua)。

1.2 主要实验试剂和仪器 W6-4 LC/MS 纯水,美国费希尔化学品公司(Fisher Chemical);A955-4 乙腈,美国费希尔化学品公司(Fisher Chemical);A452-4 甲醇,美国费希尔化学品公司(Fisher Chemical);A452-4 甲酸,日本东京化成工业株式会社(TCI);Q Exactive HF-X 质谱仪,美国赛默飞世尔科技公司(Thermo);Vanquish 超高压液相色谱仪,美国赛默飞世尔科技公司(Thermo);5430R 冷冻离心机,德国艾本德公司(Eppendorf);ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×100 mm,1.8 μm)色谱柱,美国沃特世公司(Waters)。

1.3 药材炮制 取生品九华黄精药材,除去杂质、异物,洗净,按料液比 1:5 用黄酒搅拌均匀,闷润待黄酒被九华黄精药材吸尽,再蒸制约 10 h(同时收集蒸制过程中流出的汁液),待药材中央发虚,于日光下晒约 8 h 至药材外皮微干,此为九华黄精一蒸一晒品。将九华黄精一蒸一晒品拌入上一步收集的汁液和适量黄酒,闷润至药材表面黄酒被吸收殆尽,取出于日光下晒约 8 h 待药材外皮微干为宜,此为九华黄精二蒸二晒品。依照此方法连续操作,直至得到九华黄精九蒸九晒品(见表 1)。除去首次、末次蒸制,其余蒸制过程所需黄酒的量约为总体的 70%。最后一次将剩余黄酒以及收集的汁液与药材搅拌均匀,蒸制至九华黄精药

材表面黑漆色、发亮为宜。

表 1 样品信息表

序号	样品	代号
1	一蒸一晒九华黄精	H_1
2	二蒸二晒九华黄精	H_2
3	三蒸三晒九华黄精	H_3
4	四蒸四晒九华黄精	H_4
5	五蒸五晒九华黄精	H_5
6	六蒸六晒九华黄精	H_6
7	七蒸七晒九华黄精	H_7
8	八蒸八晒九华黄精	H_8
9	九蒸九晒九华黄精	H_9
10	九华黄精鲜品	H_10

1.4 样品预处理 将样品在液氮中研磨至粉末状,准确称量样品粉末 100 mg 置于离心管中,加入 70% 甲醇水溶液 1 mL,充分震荡 30 s,水浴超声波浸提 90 min,16 000 g 离心 10 min,将上清液用移液器转移至 96 孔 TECAN 蛋白过滤板,使用正压氮气过滤,取滤液于 EP 管中,真空冷冻干燥后将冻干品加入 40% 甲醇水溶液 300 μL 溶解,16 000 g 离心 10 min,取上清液备用。

1.5 UPLC-MS 分析条件

1.5.1 色谱条件 将 1.4 预处理后样品采用 UPLC-MS/MS 进行分离。柱温为 25 °C;流速为 0.3 mL/min;以 0.1% 甲酸水溶液为流动相 A,0.1% 甲酸乙腈溶液为流动相 B,按下表(见表 2)进行梯度洗脱。

表 2 色谱梯度洗脱程序表

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	95	5
17.0	2	98
17.2	95	5
20.0	95	5

1.5.2 质谱条件 使用质谱仪(Q Exactive HF-X)采集样本一级、二级谱图。质谱仪与超高压液相色谱仪(UPLC)联用,电喷雾电离(ESI)分别进行正离子模式、负离子模式质谱采集。喷雾电压 3800 V(ESI+)/3500 V(ESI-),鞘气流量 40 L/min,离子传输管温度 320 °C,雾化温度 350 °C;检测方式为全扫描/数据依赖二级扫描(Full-MS/dd-MS2)模式,top 10 MS1 离子获得 MS/MS 谱图,碰撞能量(CEs)采用阶梯归一

化能级 20、40、60；一级质荷比扫描范围 90~1 300。

1.5.3 数据分析流程 参照侯红平等^[6]数据分析流程,对提取的化学物质进行结构鉴定,主要物质的鉴定结果需二次核对和确认。

2 结果与分析

2.1 外观与风味变化 随着蒸晒次数的增加,九华黄精表面颜色由棕黄色逐渐变暗,五蒸五晒后颜色变化

差异不大,变成了黑漆色(见图 1)。一蒸一晒至五蒸五晒之间随着蒸晒次数的增加,麻舌感逐渐消失,四蒸四晒之后产生甜味,七蒸七晒后逐渐产生苦涩味和酸味。九华黄精经九蒸九晒炮制后,风味酸甜,气味浓郁,无麻舌感。有学者认为这是热处理导致美拉德反应,引起了样品颜色和产物的改变^[7]。



注:a. H_1;b. H_2;c. H_3;d. H_4;e. H_5;f. H_6;g. H_7;h. H_8;i. H_9。

图 1 九华黄精九蒸九晒炮制品

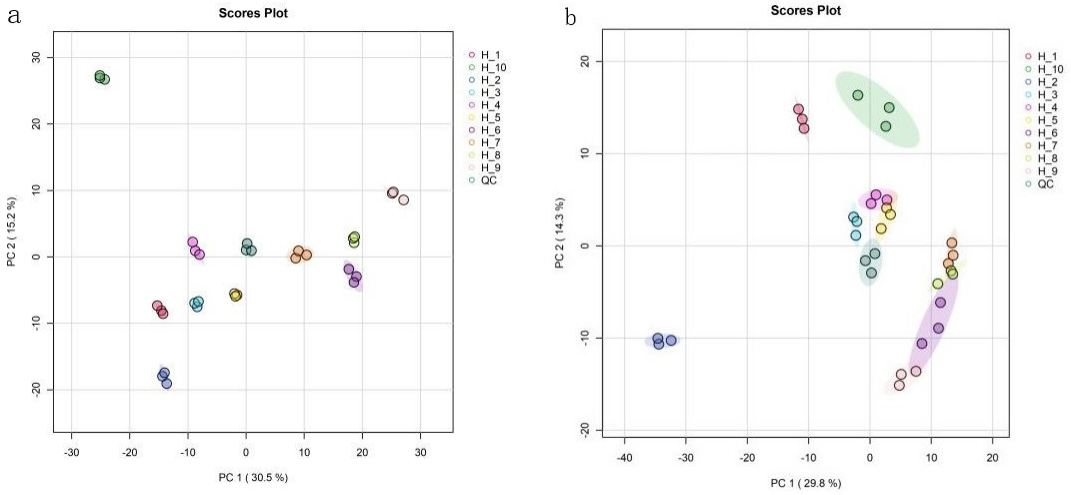
2.2 QC 样本检测 对 QC 样本提取峰进行 PCA 分析和 Pearson 相关性分析。PCA 分析结果(见图 2)发现正、负离子模式下 QC 样本紧密聚集在一起, Pearson 相关性分析结果(见图 3)表明 QC 样本间的相关性系数都在 0.99 以上,证实实验的重复性好。

2.3 九蒸九晒炮制过程中九华黄精代谢物的主成分分析 九华黄精九蒸九晒炮制过程中共检测到 2 173 种代谢物,包括生物碱类化合物 648 种(29.82%),莽草酸和苯丙烷类化合物 317 种(14.59%),氨基酸和肽

类化合物 315 种(14.50%),萜类化合物 308 种(14.17%),脂肪酸类化合物 299 种(13.76%),聚酮类化合物 111 种(5.11%),其他化合物 175 种(8.05%)。为分析炮制前后化学成分差异,对其进行主成分分析,结果表明(见图 4)正离子模式下前 5 个主成分方差贡献率分别为 30.5%、15.2%、12.6%、6.6%和 5.9%,负离子模式下前 5 个主成分主成分方差贡献率分别为 29.8%、14.3%、9.9%、5.1%和 4.6%。正、负离子模式前 5 个主成分累计方差贡献率达 70.8%和 63.8%,

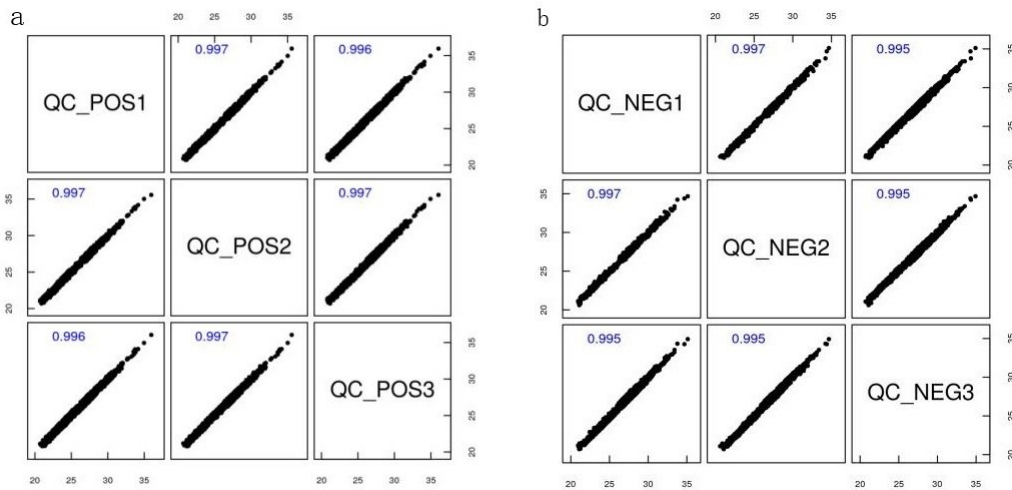
表明包含样本中多数代谢物信息。在正离子模式和负离子模式下,九蒸九晒炮制过程中样本点(H_1~H_9)与九华黄精生品样本点(H_10)之间距离较远,且不

同蒸晒次数样品点间较分散,说明样品炮制过程中代谢物变化较明显,种类和含量差异较大。



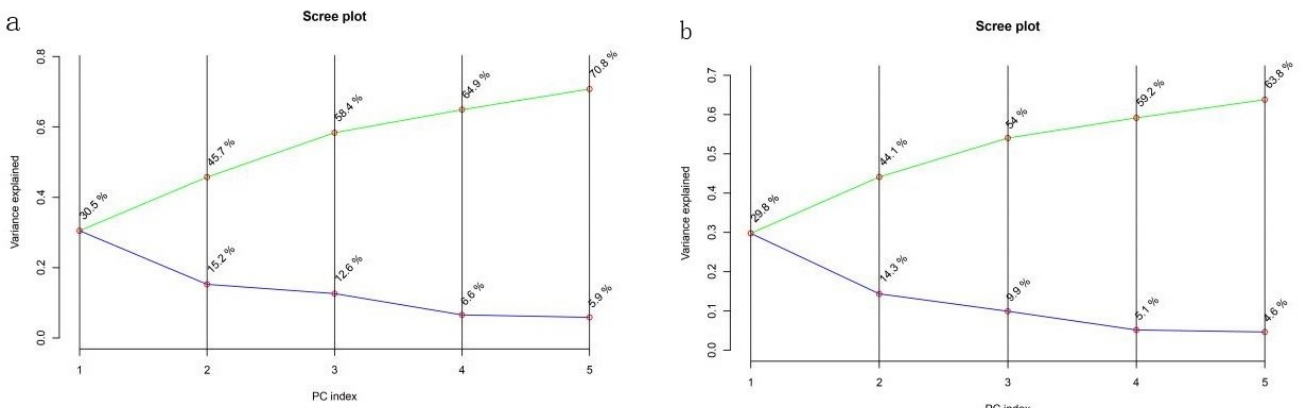
注:a. 正离子模式总体样本 PCA 分析;b. 负离子模式总体样本 PCA 分析。

图 2 生品和炮制品 PCA 得分



注:a. 正离子模式 QC 样本相关性图;b. 负离子模式 QC 样本相关性图。

图 3 QC 样本相关性图



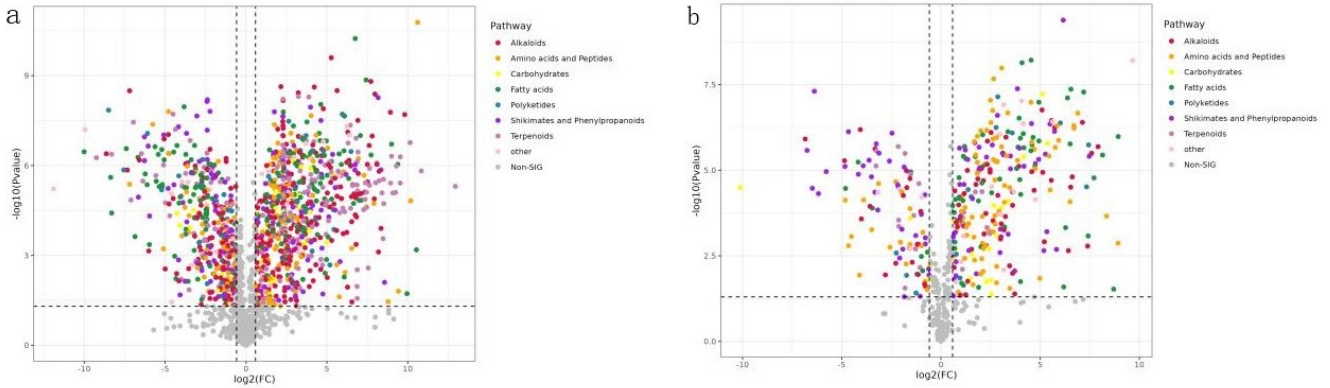
注:a. 正离子模式 PCA 贡献率图;b. 负离子模式 PCA 贡献率图。

图 4 主成分 PCA 贡献率图

为了鉴别主要差异代谢成分,又建立了正交偏最小二乘判别分析(OPLS-DA),经 7 次循环交互验证(7-fold cross-validation),得到 R^2Y 、 Q^2 均 >0.99 ,表明模型稳定可靠。采用置换检验(Permutation test)对模型进行检验,OPLS-DA 模型的置换检验上 R^2Y 、 Q^2 数值均接近 1,说明模型准确性好。

基于单变量分析,对检测到物质进行差异分析,以火山图的形式来进行可视化展示[选择条件:差异倍数

(fold change,FC) >1.5 或 $FC<0.67$, $P<0.05$ 的差异物质]。为了直观便于观察差异物质的分类归属,用不同颜色来做区分(非显著差异物质用灰色来表示),示例比较组结果如图 5 所示(横坐标为差异表达倍数的 \log_2 的对数值,纵坐标为显著性 P 值的 $-\log_{10}$ 的对数值),表明炮制品与生品在生物碱类、氨基酸和肽、糖类、脂肪酸等成分上存在差异。



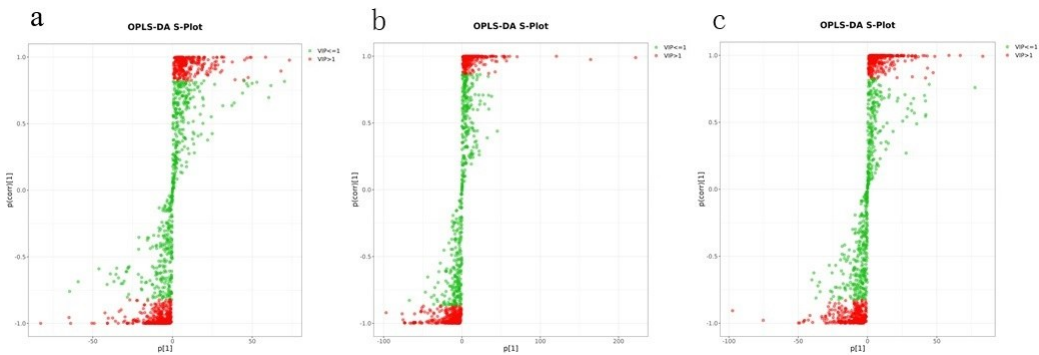
注:a. 正离子模式火山图;b. 负离子模式火山图

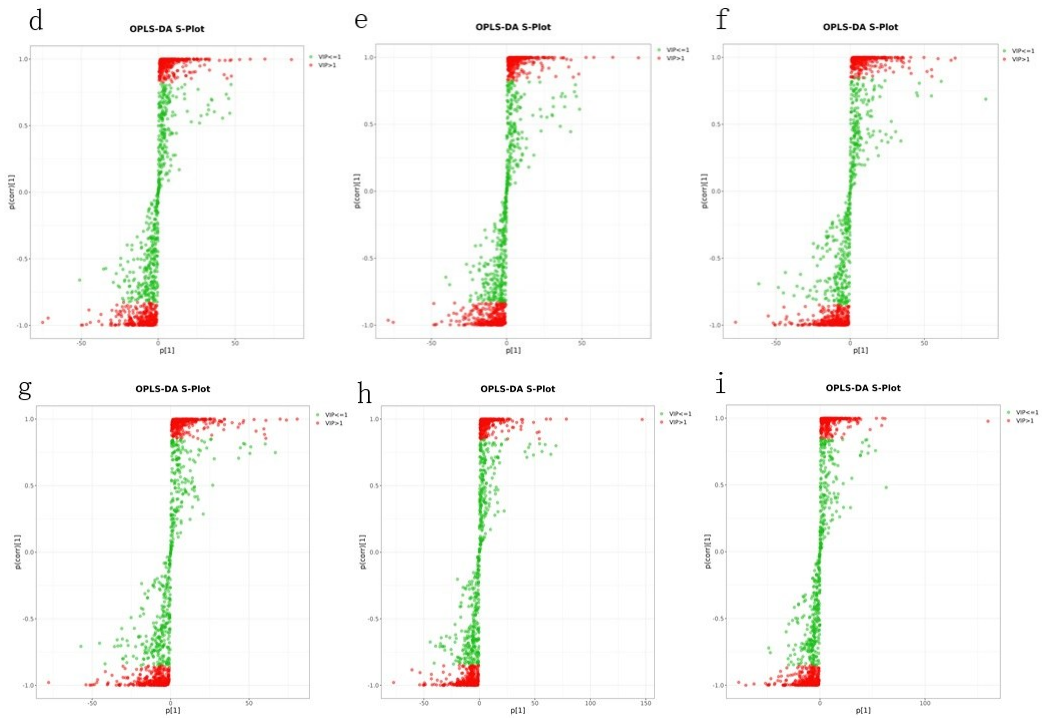
图 5 正、负离子模式火山图

2.4 筛选差异物质 为进一步挖掘具有生物学意义的差异代谢物,利用 OPLS-DA 模型中变量权重值(Variable Importance for the Projection, VIP)衡量各化学物质的表达模式对各组样本分类判别的影响强度和解释能力^[8]。通过 OPLS-DA 分析得到的 S-plot 图(见图 6),越靠近左、右角的代谢物差异越显著,红色点代谢物的 $VIP \geq 1$,绿色点代谢物 $VIP < 1$ 。以 $VIP > 1$ 、 $P < 0.05$ 为显著性差异化学物质筛选标准,筛选出炮制品中差异代谢物数(见表 3),结果显示一蒸一晒品与生品组间总差异化学物质数量最少,九蒸九晒品与生品组间总差异化学物质数量最大,随着蒸晒次数增加与生品组间总差异化学物质数量呈上升趋势。以柱状图(见图 7)表示 top 80 显著性差异物质的差异

倍数变化,结果表明九华黄精生品与炮制品 top 80 显著差异代谢物中以上调的显著差异代谢物为主。

在九华黄精生品与九蒸九晒品的比较组中,通过对比发现 top 80 显著差异主要代谢物相对含量上调有 52 种,其中,生物碱化合物 6 种,黄酮类化合物 2 种,氨基酸及其衍生物类化合物 6 种,核苷酸及其衍生物 5 种,脂质类化合物 12 个,有机酸类化合物 8 个,萜类化合物和木质素类化合物各 1 种,其他类化合物 11 种。代谢物相对含量下调有 28 种,包括生物碱化合物 5 种,黄酮类化合物 4 种,氨基酸及其衍生物类化合物 6 种,核苷酸及其衍生物化合物 4 种,脂质类化合物 3 个,有机酸类化合物 4 个,其他类化合物 2 种。





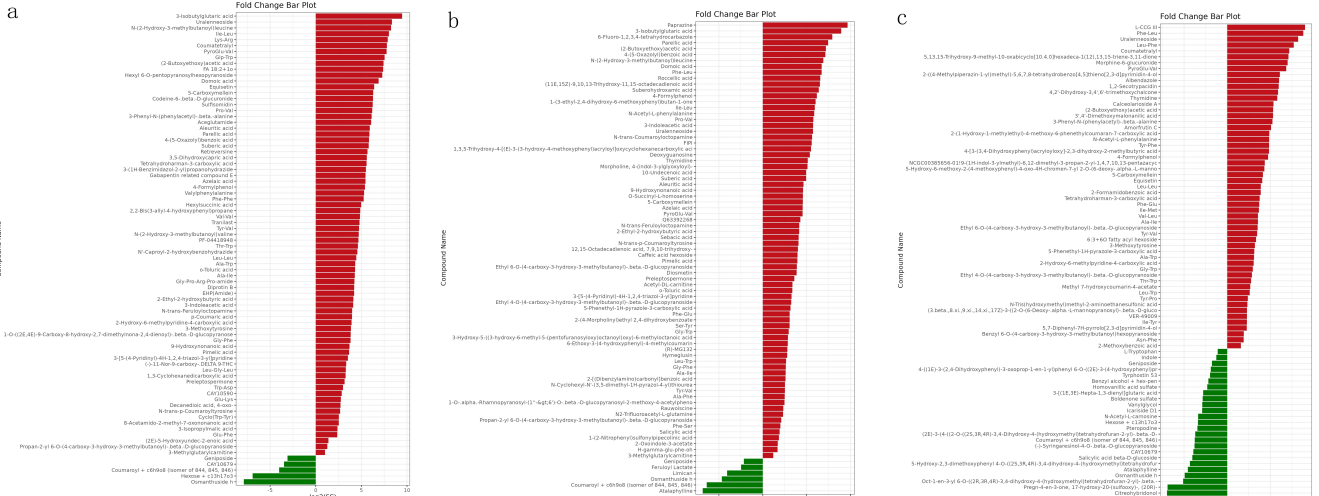
注：a. H₁ vs H₁₀ S-plot; b. H₂ vs H₁₀ S-plot; c. H₃ vs H₁₀ S-plot; d. H₄ vs H₁₀ S-plot; e. H₅ vs H₁₀ S-plot; f. H₆ vs H₁₀ S-plot; g. H₇ vs H₁₀ S-plot; h. H₈ vs H₁₀ S-plot; i. H₉ vs H₁₀ S-plot.

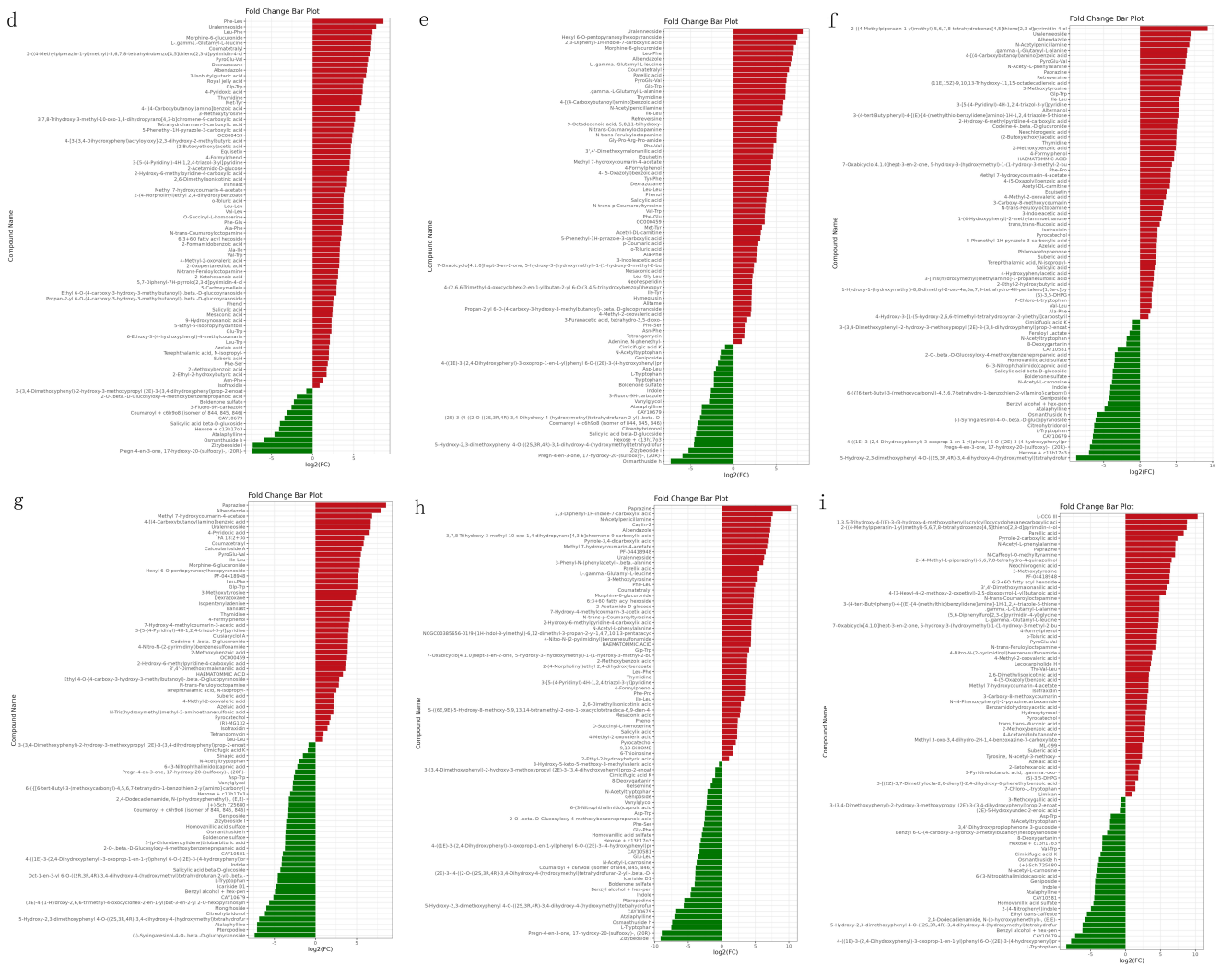
图 6 炮制品和生品 S-plot

表 3 组间比较分析表

序号	对比组	总差异化 学物质数量	top 80 显著差异代谢物变化数	
			上调	下调
1	H ₁ vs H ₁₀	1390	74(92.50)	6(7.50)
2	H ₂ vs H ₁₀	1491	75(93.75)	5(6.25)
3	H ₃ vs H ₁₀	1559	55(68.75)	25(31.25)
4	H ₄ vs H ₁₀	1667	68(85.00)	12(15.00)
5	H ₅ vs H ₁₀	1760	58(72.50)	22(27.50)
6	H ₆ vs H ₁₀	1783	54(67.50)	26(32.50)
7	H ₇ vs H ₁₀	1880	45(56.25)	35(43.75)
8	H ₈ vs H ₁₀	1890	47(58.75)	33(41.25)
9	H ₉ vs H ₁₀	1915	52(65.00)	28(35.00)

注：表内计数资料数据用[*n*(%)表示。





注：a. H₁ vs H₁₀; b. H₂ vs H₁₀; c. H₃ vs H₁₀; d. H₄ vs H₁₀; e. H₅ vs H₁₀;
f. H₆ vs H₁₀; g. H₇ vs H₁₀; h. H₈ vs H₁₀; i. H₉ vs H₁₀。

图 7 显著性差异物质表达差异倍数分析

3 讨论

“九蒸九晒”又称“九蒸九曝”，是古代本草中常见的一种药材炮制方法，该法将蒸晒结合并反复运用，使药材最大限度发挥疗效并减轻其毒副作用。研究发现九蒸九晒炮制过程中九华黄精代谢物的种类和含量差异变化较大，一蒸一晒品与生品组间总差异化学物质数量最少，一蒸一晒品与生品组间总差异化学物质数量最大，且随着蒸晒次数增加，与生品组间总差异化学物质数量呈上升趋势，这可能与蒸晒过程中，高温等因素导致大分子物质持续裂解成小分子物质有关。生品与炮制品组间显著差异代谢物中，以上调的显著差异代谢物为主，差异代谢物主要为生物碱、黄酮、氨基酸及其衍生物、核苷酸及其衍生物、脂质、有机酸等^[9]。

本课题组前期研究发现在九华黄精的九蒸九晒炮制过程中，由于水分减少总多糖相对含量先增加后下降，葡萄糖和果糖等单糖相对含量先增加后保持稳定，炮制后期再有所下降。这可能是由于九华黄精中

的黏液质多糖会随着九蒸九晒过程的逐步水解成单糖和低聚糖，使得总多糖在炮制过程中消耗造成含量的降低。而低聚糖可进一步分解成小分子单糖，但炮制后期有部分单糖可能会参与美拉德反应导致其有所下降。九蒸九晒炮制后九华黄精黏液质多糖含量降低，可减少对喉咙刺激作用，单糖含量增加可提升甜味，使其服用口感更佳^[10]。炮制过程中氨基酸可能与可溶性的糖类化合物发生美拉德反应，含量不断减少，五蒸五晒后基本消耗殆尽，而五蒸五晒后颜色不明显，由此推测美拉德反应参与九华黄精九蒸九晒炮制过程中颜色变化^[11]。九华黄精九蒸九晒炮制后挥发性成分正己醛等含量下降，有学者研究认为正己醛正是黄精引起人咽喉刺激性的主要成分之一^[12]，推测正己醛含量下降是九蒸九晒炮制后九华黄精口感变佳的原因之一。九华黄精炮制后期有机酸类化合物相对含量显著增加，其中酚酸类化合物尤为明显，作为有机酸的一种，酚酸类化合物多为苦涩味，这可能与九华黄精炮制

后期产生苦涩味有关。

综上所述,九华黄精经过九蒸九晒炮制后,其化学成分发生了显著变化。这些变化不仅提高了其滋补功效,还使其更易于被人体吸收和利用。现代药理学研究发现,九华黄精经九蒸九晒炮制后可提升抗氧化^[13]、降血糖^[14]、调节免疫^[15]、抗动脉硬化^[16]、抗肿瘤^[17]等功效,上述药理学改变可能与炮制前后主要差异代谢物有关,但与药效关系需进一步研究。

参考文献:

- [1] 赵祺,任仙樱,姜程曦.九华黄精本草考证[J].中草药,2018,49(17):4184-4188.
- [2] ZHANG X N,SHI S H,ZHANG J L,et al. Effects of different processing methods on the quality of *Polygonatum cyrtonema Hua* [J]. TMR Mod Herb Med,2024,7(2):10.
- [3] 盛祥文,许兴旺,汪茜.九华黄精种质资源保护与开发利用现状及对策[J].现代农业科技,2023(22):52-55.
- [4] 王晓慧,李帆,罗莎,等.九华黄精的化学成分研究进展[J].特种经济动植物,2019,22(7):21-23.
- [5] 秦宇雯,袁玮,陆兔林,等.九华黄精的炮制工艺沿革及现代研究[J].中草药,2018,49(18):4432-4438.
- [6] 侯红平,王彩霞,魏晓露,等.高分辨非靶代谢组学方法研究臻通集胶囊对高脂血症模型大鼠的影响[J].中国现代中药,2023,25(4):812-821.
- [7] 彭佩瑾,闫媛,安广涛,等.中药美拉德反应研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2024,26(11):121-129.
- [8] 闫玉珠,于燕,刘俊叶,等.酒精性和激素性股骨头坏死的

外周脂质组学分析[J].中南大学学报(医学版),2022,47(7):872-880.

- [9] 杨思雨,池玉洁,张海琼,等.基于广泛靶向代谢组学分析不同基原黄连根茎次生代谢物差异[J].中国中药杂志,2024,49(20):5441-5450.
- [10] 徐如静,梁娟,俞年军,等.九华黄精炮制前后多糖类成分结构变化研究[J].安徽中医药大学学报,2021,40(2):91-96.
- [11] 滕欢欢,王仁中,吴德玲,等.多花黄精炮制前后不同极性部位抗氧化与降血糖活性研究[J].食品与发酵工业,2022,48(8):70-75.
- [12] 林莹.泰山黄精炮制前后外观性状、有效成分及刺激性物质变化相关性研究[D].济南:山东中医药大学,2023.
- [13] 潘德芳.九华黄精活性成分多糖及挥发性组分研究[D].长沙:中南大学,2011.
- [14] 胡嘉懿.产业化蒸制过程中九华黄精的品质评价及降血糖作用差异研究[D].合肥:安徽中医药大学,2023.
- [15] 张宇,夏成涵,吴江平,等.九华黄精的化学成分及其抗炎活性研究[J].天然产物研究与开发,2024,36(7):1149-1157.
- [16] GUO A J,LI X Y,PAN L H,et al. The interventional effect of *Polygonatum cyrtonema Hua* polysaccharide on atherosclerosis in mice of different sexes [J]. Food Sci Hum Wellness,2024,13(1):370-380.
- [17] 李玲.连续制备的多花黄精多糖的理化性质及活性研究[D].合肥:合肥工业大学,2018.

收稿日期:2025-01-02;修回日期:2025-02-08

(本文编辑 覃洪含)

(上接第 248 页)

- [20] YIN Z Y,GONG G,LIU X H,et al. Mechanism of regulating macrophages/osteoclasts in attenuating wear particle-induced aseptic osteolysis [J]. Front Immunol,2023,14:1274679.
- [21] LI W G,LIU W B,WANG W,et al. Sinusoidal electromagnetic fields accelerate bone regeneration by boosting the multifunctionality of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Stem Cell Res Ther,2021,12(1):234.
- [22] TONG Y,YU Z,CHEN Z X,et al. The HIV protease inhibitor Saquinavir attenuates sepsis-induced acute lung injury and promotes M2 macrophage polarization via

targeting matrix metalloproteinase-9[J]. Cell Death Dis,2021,12(1):67.

- [23] CUTOLO M,CAMPITIELLO R,GOTELLI E,et al. The Role of M1/M2 macrophage polarization in rheumatoid arthritis synovitis[J]. Front Immunol,2022,13:867260.
- [24] PU J,WU D S,ZHANG Y L,et al. An experimental study on the fretting corrosion behaviours of three material pairs at modular interfaces for hip joint implants [J]. Lubricants,2021,9(2):12.

收稿日期:2025-01-17;修回日期:2025-02-14

(本文编辑 覃洪含)