

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 网络药理学的九制黄精与生黄精对脂多糖诱导 RAW 264.7 细胞炎症反应的抑制作用差异研究

严志宏¹, 葛浩宇¹, 罗 珍², 许金娣¹, 尹雪琴¹, 彭希帆¹, 蔡 瑛^{1*}, 陈丽华^{1*}

1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

2. 西藏藏医药大学, 西藏 拉萨 850000

摘要: 目的 采用 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合网络药理学及体外细胞实验, 探讨九制黄精与生黄精对脂多糖 (LPS) 诱导的 RAW 264.7 巨噬细胞炎症反应的抑制作用差异。方法 通过 UPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合文献检索, 对比分析九制黄精与生黄精的化学成分差异; 基于已鉴定成分筛选黄精抗炎的关键活性成分与核心作用靶点, 构建“中药-成分-靶点-疾病”调控网络, 并通过分子对接验证核心成分与靶点的结合能力; 将不同质量浓度 (1、10、50、100、200、400、800 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 的九制黄精、生黄精水提物 (NPA、RPA) 分别作用于 RAW 264.7 细胞 24 h, 采用 CCK-8 法检测细胞活力; 使用 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS 诱导 RAW 264.7 细胞建立炎症模型, 实验设对照组、模型组 (1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS)、RPA 组 (100、200、400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 及 NPA 组 (100、200、400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), 采用 ELISA 法检测各组细胞上清液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 的分泌水平, 比较二者抗炎作用差异。结果 共鉴定出 114 种化学成分, 其中 82 种为九制黄精与生黄精共有, 21 种为九制黄精特有成分, 11 种为生黄精特有成分; 网络药理学分析筛选获得 873 个黄精抗炎相关交集靶点, 确定延龄草苷、N-阿魏酰真胺、麝香草酚、丁香脂素、静特诺皂苷元为核心活性成分, 转导和转录激活因子 (STAT3)、蛋白激酶 B (AKT1)、缺氧诱导因子 1 亚基 α (HIF1A)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-6 (IL-6) 和 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因 (BCL2) 为核心靶点, 基因本体 (GO) 功能注释与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析显示, 磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K) / 蛋白激酶 B (Akt)、高级糖基化终末产物 (AGE) -受体 (RAGE) 信号通路是黄精发挥抗炎作用的潜在关键通路; 体外细胞毒性实验表明, 各质量浓度的 NPA 及 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以下的 RPA 对 RAW 264.7 细胞存活率均无显著影响 ($P>0.05$), 相同质量浓度下 NPA 组细胞存活率略高于 RPA 组, 但差异无统计学意义 ($P>0.05$); 抗炎活性评价显示, 与对照组相比, 模型组细胞上清液中 TNF- α 、IL-6 水平显著升高 ($P<0.01$); 与模型组相比, NPA、RPA 各质量浓度组均能显著抑制 LPS 诱导的 TNF- α 、IL-6 分泌 ($P<0.01$); 在 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 浓度下, RPA 组 TNF- α 水平低于 NPA 组, 而各质量浓度下 RPA 组 IL-6 分泌量均高于 NPA 组。结论 九制黄精的化学成分较生黄精更丰富, 二者均能有效缓解 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞炎症反应, 但在调控炎症因子分泌方面存在差异; 九制黄精的抗炎作用可能与其特有成分及调控 PI3K-Akt、AGE-RAGE 等信号通路相关。

关键词: 九制黄精; 炎症; UPLC-Q-TOF-MS/MS; 成分分析; 网络药理学; 静特诺皂苷元

中图分类号: R285.5; Q332 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2025)12-3551-19

DOI:10.7501/j.issn.1674-6376.2025.12.013

Study on differences in inhibitory effects of nine-processed *Polygonatum cyrtonema* and raw *Polygonatum cyrtonema* on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cells based on UPLC-Q-TOF-MS/MS network pharmacology

YAN Zhihong¹, GE Haoyu¹, LUO Zhen², XU Jindi¹, YIN Xueqin¹, PENG Xifan¹, CAI Ying¹, CHEN Lihua¹

1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Xizang University of Tibetan Medicine, Lhasa 850000, China

收稿日期: 2025-07-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82160827); 江西中医药大学科技创新团队发展计划资助项目 (CXTD-22004); 中药鉴定学 3D-MR 虚拟仿真实验教学技术改进资助项目 (2024SJSZ04)

作者简介: 严志宏 (1977—), 博士, 副教授, 主要从事药物分析研究。E-mail: 624845195@qq.com

*通信作者: 蔡 瑛 (1983—), 博士, 副教授, 研究方向为中药成分及外源性污染物分析新方法。E-mail: 675012671@qq.com

陈丽华 (1972—), 博士, 教授, 研究方向为中药创新方法与实践。E-mail: chilly98@163.com

Abstract: Objective To explore the differences in the inhibitory effects of nine-processed *Polygonatum cyrtonema* and raw *Polygonatum cyrtonema* on lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory responses in RAW 264.7 macrophages by using UPLC-Q-TOF-MS/MS technology combined with network pharmacology and *in vitro* cell experiments. **Methods** The chemical composition differences between nine-processed *P. cyrtonema* and raw *P. cyrtonema* were compared and analyzed through UPLC-Q-TOF-MS/MS technology and literature retrieval. Based on the identified components, the key active components and core targets of *P. cyrtonema* for anti-inflammation were screened, and a "Chinese medicine-component-target-disease" regulatory network was constructed. Molecular docking was used to verify the binding ability of the core components and targets. Different concentrations (1, 10, 50, 100, 200, 400, 800 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) of nine-processed *P. cyrtonema* and raw *P. cyrtonema* water extracts (NPA, RPA) were applied to RAW 264.7 cells for 24 hours, and cell viability was detected by the CCK-8 method. RAW 264.7 cells were induced by 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS to establish an inflammatory model. The experiment was set up with a control group, a model group (1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ LPS), a RPA group (100, 200, 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), and an NPA group (100, 200, 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). The secretion levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in the cell supernatants of each group were detected by ELISA, and the differences in anti-inflammatory effects between the two were compared. **Results** A total of 114 chemical components were identified, among which 82 were common to both nine-processed *P. cyrtonema* and raw *P. cyrtonema*, 21 were unique to nine-processed *P. cyrtonema*, and 11 were unique to raw *P. cyrtonema*. Network pharmacology analysis screened out 873 intersection targets related to the anti-inflammatory effects of *P. cyrtonema*. The core active components were identified as diosgenin glucoside, *N*-feruloyltrueamine, thymol, syringaresinol, gentrogenin. The core targets were determined as signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), protein kinase B (AKT1), hypoxia-inducible factor 1 subunit alpha (HIF1A), tumor necrosis factor (TNF), interleukin-6 (IL-6), and B-cell lymphoma/leukemia-2 gene (BCL2). Gene Ontology (GO) functional annotation and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis showed that the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase (PI3K-Akt) and advanced glycation end product-receptor (AGE-RAGE) signaling pathways were the potential key pathways for the anti-inflammatory effects of *P. cyrtonema*. *In vitro* cytotoxicity experiments showed that different concentrations of NPA and RPA at concentrations below 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ had no significant effect on the survival rate of RAW 264.7 cells ($P > 0.05$). At the same concentration, the survival rate of the NPA group was slightly higher than that of the RPA group, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). Anti-inflammatory activity evaluation showed that compared with the control group, the levels of TNF- α and IL-6 in the cell supernatants of the model group were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, all concentrations of NPA and RPA groups could significantly inhibit the secretion of TNF- α and IL-6 induced by LPS ($P < 0.01$). At a concentration of 400 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, the TNF- α level in the RPA group was lower than that in the NPA group, while the secretion of IL-6 in the RPA group was higher than that in the NPA group at all concentrations. **Conclusion** The chemical composition of processed *P. cyrtonema* is more abundant than that of raw *P. cyrtonema*. Both can effectively alleviate LPS-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cells, but there are differences in the regulation of inflammatory factor secretion. The anti-inflammatory effect of nine-processed *P. cyrtonema* may be related to its unique components and the regulation of PI3K-Akt, AGE-RAGE, and other signaling pathways.

Key words: nine-produced *Polygonatum cyrtonema*; inflammation; UPLC-Q-TOF-MS/MS; ingredient analysis; network pharmacology; gentrogenin

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，是传统药食两用中药材^[1]。其功效聚焦肺、脾、肾三脏，既能滋阴润肺，改善肺阴不足所致的干咳少痰、咽干口燥等症状；又能健脾益气、补气养阴，缓解脾胃虚弱引发的食欲不振、腹胀、乏力等问题；还可益肾填精，针对肾精亏虚导致的腰膝酸软、须发早白、耳鸣健忘等早衰表现发挥作用。黄精富含生物碱、皂苷、糖类、黄酮类等多种化学成分^[2-4]，现代药理研究证实其具有抗氧化、抗疲劳、增强免疫力及抗炎等多种生物活性^[5]。

生黄精因含草酸钙针晶，不仅服用时存在麻舌感^[6]，且具有一定毒性，故临床多采用其炮制品。九蒸九制为黄精经典炮制工艺，应用历史已逾 1 800 年，通过九次蒸煮、九次晒干的处理，可显著降低生黄精中草酸钙针晶含量，既减毒增效，又强化其滋补功效，对现代中药炮制研究具有重要参考价值。

炎症是机体免疫系统的防御性反应，核心目的是清除有害刺激、修复受损组织并恢复内环境稳态，既是多种疾病的核心病理过程，也可分为急性短期反应与慢性持续状态^[7]。炎症的诱发因素多样，感染、组织损伤、自身免疫异常及异物入侵等均可能启动炎症反应^[8-10]，其中细菌、真菌、病毒等病原

体入侵是主要诱因之一。病原体感染可引发炎症级联反应,导致白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 等促炎因子水平升高,进而激活免疫系统。在急性炎症阶段,IL-6会快速上调,通过激活免疫细胞、促进肝脏合成急性期蛋白(如C反应蛋白)等途径清除病原体并启动组织修复^[11];但长期高水平的IL-6可诱发类风湿性关节炎等慢性炎症^[12-13],其机制与激活信号转导与转录激活因子3(STAT3)信号通路、促进促炎因子正反馈循环及抑制抗炎因子表达相关。TNF- α 作为关键促炎细胞因子,在炎症反应与病理损伤中起核心作用^[14],由活化的巨噬细胞、T细胞、脂肪细胞等分泌,通过与肿瘤坏死因子受体(TNFR)1/TNFR2受体结合,激活下游核因子- κ B(NF- κ B)及丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路,诱导促炎因子释放^[15]。消除炎症不仅能缓解红、肿、热、痛等表现症状,更可通过调节免疫平衡、修复组织损伤、阻断炎症恶性循环等机制,从根本上改善机体生理功能。

网络药理学由霍普金斯于2007年提出,是融合药理学、生物信息学、计算机科学等多学科的新兴技术。该理论认为药物并非仅通过单一靶点发挥作用,而是借助多靶点相互作用实现减毒增效,其多靶点、协同作用的核心概念与中药成分复杂、多效协调的特点高度契合,为中药多成分-多靶点作用机制研究提供了全新思路。该技术可系统解析中药成分、药物靶点与疾病间的相互作用,阐明成分-靶点-疾病的关联机制及治病原理^[16]。

目前国内外关于黄精作用机制的研究多聚焦于生黄精,而九制黄精作为临床常用炮制品,其在化学成分构成、药理活性及现代疾病治疗中的相关文献报道较少。为此,本研究采用UPLC-Q-TOF-MS/MS技术分析九制黄精与生黄精的化学成分差异,结合网络药理学、分子对接技术及细胞实验,在脂多糖(LPS)诱导的RAW 264.7炎症细胞模型中验证九制黄精的抗炎作用,并与生黄精进行对比。通过明确九制黄精的抗炎效应,阐明其抗炎活性与滋补功效的关联,为九制黄精的临床应用与产品开发提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

LC-40D X3型高效液相色谱仪,日本岛津公司;Zeno TOF 7600美国AB SCIEX公司;Milli-Q Synthesis型超纯水纯化机,美国Millipore公司;

CO2 Incubator BB 150细胞培养箱,美国赛默飞公司;XDS-1B生物显微镜,重庆重光实业;UV-2550紫外可见分光光度计,日本岛津公司;HH-6恒温水浴锅,上海梅香仪器;Varioskan LUX多功能酶标仪,美国赛默飞公司;BXM-30R高压蒸汽灭菌锅,上海博讯医疗生物仪器;TGL-16M高速冷冻离心机,常州亿能实验仪器厂。

1.2 试剂

三年生多花黄精(批号240427-SP)购自江西春韵药业科技有限公司,经江西中医药大学教授龚千峰鉴定为多花黄精*Polygonatum cyrtoneema* Hua的干燥根茎。RAW 264.7细胞专用培养基(货号CM0190)武汉普诺赛公司;CCK-8试剂盒(货号BB-4221),大连美仑生物技术有限公司;PBS缓冲液(货号G4202-500ML),武汉塞维尔生物科技有限公司;胰酶(货号T1300-100)、脂多糖(LPS,货号L8880),北京索莱宝科技有限公司;IL-6试剂盒(货号HP-E20012-48T)、TNF- α 试剂盒(货号HP-E20220-48T),上海赫湃生物科技有限公司;二甲基亚砜(DMSO,分析级),上海麦克林;甲醇(货号W13541)、乙腈(货号W13165),上海源叶生物科技;水为超纯水。

1.3 细胞

小鼠单核巨噬细胞(RAW 264.7),由江西中医药大学癌症中心提供。细胞使用10%胎牛血清的DMEM培养基进行培养,放入37℃,5%CO₂恒温培养箱中培育,1~2d换液或传代。

1.4 数据库与软件

PubChem数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>); TCSMP数据库(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>); Swiss Target Prediction数据库(<http://swisstargetprediction.ch/>); GeneCards数据库(<https://www.genecards.org/>); OMIM数据库(<https://www.omim.org/>); STRING数据库(<https://string-db.org/>); NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>); 微生信(<http://www.bioinformatics.com.cn/>); Cytoscape 3.9.1; Peakview 1.2; SIMCA 14.1; Origin 10.1; AutoDock 4.2.6; PyMol 3.9.2。

2 方法

2.1 化学成分分析

2.1.1 九制黄精的制备^[17] 生黄精洗净,除去须根。20%黄酒浸泡1h入蒸笼,隔水蒸制4.5h。取出,55℃烘至内外湿度均匀。如此反复循环9次,

至黄精色泽乌黑油润,味甘甜,得九制黄精。

2.1.2 供试品溶液的制备 九制黄精或生黄精粉碎(过 40 目筛),每份 0.2 g,加 5 mL 50% 甲醇水,40 ℃、150 W、40 kHz 超声提取 40 min,13 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,经 0.22 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液。

2.1.3 色谱条件 采用 LC-40D C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱;柱温 40 ℃;体积流量 0.3 mL·min⁻¹;进样量 4 μL;流动相洗脱条件见表 1。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Mobile phase gradient elution procedure

t/min	0.1% 甲酸水/%	乙腈/%
0.01	95	5
1.00	75	30
27.00	5	95
27.10	5	95
30.00	95	5
40.00	95	5

2.1.4 质谱条件 电子喷雾电离 (ESI) 源,正、负离子扫描模式,扫描范围为 m/z 50~1 500,离子源电压分别为 5 500 V 和 -4 500 V,离子源温度为 500 ℃,去簇电压为 100 V,碰撞能量分别为 (35±15) eV 和 (-35±15) eV,碰撞能谱 (CES) 为 15 eV。雾化气体为氮气,辅助气体 1 为 345 kPa,辅助气体 2 为 345 kPa,帘气为 276 kPa。

2.2 数据处理

使用 Peakview 1.2 软件对质谱检测数据进行分析,使用 Origin 2024 (10.1.0.178) 绘制分析离子流图,将 Peakview 1.2 检测得出的成分数据,以峰面积为变量使用 SIMCA 14.1 进行主成分分析 (PCA)。

2.3 网络药理学研究

2.3.1 九制黄精成分靶点预测 将 UPLC-Q-TOF-MS/MS 鉴定出的九制黄精化学成分利用中药系统药理学数据库与分析平台 (TCMSP),以口服生物利用度 (OB) >30% 和类药性 (DL) >0.18 为条件筛选符合标准的成分,利用 PubChem 数据库查找成分的 SMILES 结构,将其导入 Swiss Target Prediction 数据库,设定物种为 “Homo sapiens”,预测各成分对应的潜在靶点。每个成分仅保留可能性 >0 的预测靶点,汇总所有候选成分的靶点并剔除重复项,得到九制黄精的药物靶点集。

2.3.2 炎症靶点获取 采用 GeneCards、NCBI、OMIM 数据库检索 “Inflammation” 关键词,汇总整

理靶点信息,对数据库的检索结果去除重复项,得到炎症相关疾病的最终靶点。

2.3.3 “成分-交集靶点”网络的构建 采用 Venny2.1.0 对九制黄精成分靶点与炎症靶点取交集,得到交集靶点 Venn 图。

2.3.4 共同靶点及蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络构建与核心靶点筛选 采用 STRING 数据库对交集靶点进行蛋白交互分析,交互因子设为 0.4,隐藏游离靶点,将网络信息导出为 “TSV” 文件,网络图导出为 “PNG” 文件,采用 Cytoscape 3.9.1 软件通过拓扑分析得到网络图,采用 MCODE 插件筛选核心靶点,所有参数均为默认参数,选的分最高的 PPI 子网络进行可视化,其颜色越深、图标越大代表度 (Degree) 值越大。

2.3.5 基因本体 (GO) 注释和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析 利用 DAVID 数据库对九制黄精有效成分和炎症的共同靶标进行 GO 和 KEGG 富集分析,通过微生信对显著性较强的通路与功能进行可视化。

2.4 分子对接

根据网络药理学分析的结果,筛选出度值前 5 位的活性成分和核心靶点进行分子对接;利用 AutoDock 4.2.6 优化预处理后的受体蛋白、配体化合物参数,设对接区域三维坐标,借网格计算生成配置文件,再设对接框、导出 GPF 文件,配置参数与运算方法后运行,查看结果;采用 Pymol 3.9.2 对结果做可视化分析。

2.5 CCK-8 法检测细胞活力

2.5.1 黄精提取物制备 取九制黄精与生黄精适量,各加 20 倍的超纯水,50 ℃,功率 100 W,频率 40 kHz,超声提取 1 h,滤过后合并滤液,重复 3 次,浓缩至 2 g·mL⁻¹,即得九制黄精水提物 (NPA) 和生黄精水提物 (RPA)。经紫外分光光度计检测,NPA、RPA 中总多糖质量分数分别为 12.34%、16.49%,总黄酮质量分数分别为 2.25%、1.84%。

2.5.2 NPA 和 RPA 质量浓度筛选 取对数生长期的 RAW 264.7 细胞,以 1×10^5 个·mL⁻¹ 的密度接种于 96 孔板,每孔 100 μL。置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中预培养 24 h (待细胞贴壁)。弃去原有培养基后分为对照组、NPA 组、RPA 组,其中 NPA 与 RPA 组均设置 1、10、50、100、200、400、800 μg·mL⁻¹ 共 7 个质量浓度梯度 (以细胞培养基稀释配制),每组设 3 个复孔,置于 37 ℃、5%

CO₂培养箱中孵育 24 h; 另设空白组(仅加入细胞培养基, 无细胞)。

2.5.3 造模后 NPA 和 RPA 质量浓度筛选 取对数生长期的 RAW 264.7 细胞, 以 1×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的密度接种于 96 孔板, 每孔 100 μL , 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂培养箱中预培养 24 h 以确保细胞充分贴壁。弃去孔内原有培养基后, 将细胞分为对照组、模型组、NPA 组及 RPA 组。当 RPA 质量浓度达到 800 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时细胞活性呈下降趋势, 为避免药物浓度过高对细胞活性产生非特异性影响而干扰实验结果, 本实验设置 100、200、400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 3 个质量浓度梯度, 所有药物均以细胞培养基稀释配制。各组均设 3 个复孔, 除对照组外, 其余各组每孔均加入 100 μL 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ LPS 进行造模^[18], 随后分别加入对应质量浓度的药物; 同时另设空白组, 该组仅加入细胞培养基, 不接种细胞。

药物干预完成后, 每孔加入 CCK-8 检测溶液, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂培养箱中继续孵育 1 h, 随后使用酶标仪在 490 nm 波长处测定各孔吸光度(A)值, 并以对照组细胞存活率为 100%, 计算其余各组的细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{实验}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

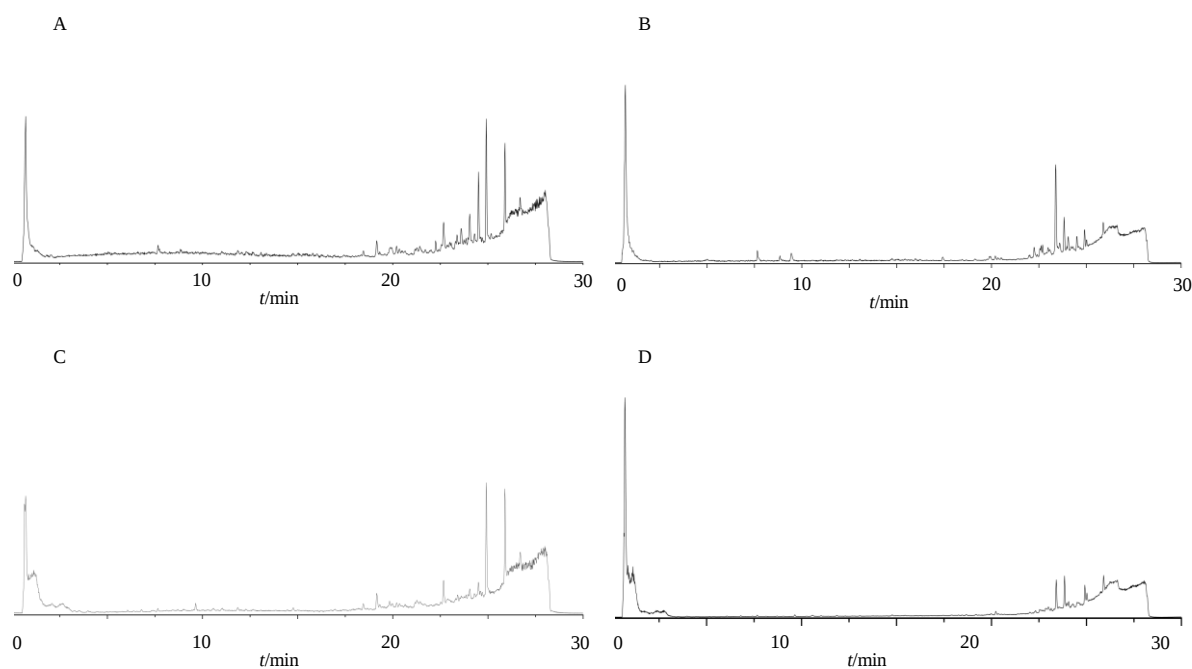
2.6 ELISA 检测细胞上清液中炎症因子水平

将 RAW 264.7 细胞以每孔 1×10^5 个接种于 6 孔板中, 每孔加入 2 mL 完全培养基, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂培养箱中培养 24 h (待细胞贴壁)。弃去各孔上层培养基后进行分组处理: 对照组加入 2 mL 不含 LPS 及药物的完全培养基, 模型加入 2 mL 含 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ LPS 的完全培养基, 药物处理组加入 2 mL 含 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ LPS 及对应质量浓度药物的完全培养基(药物质量浓度分别为 100、200、400 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)。各组继续在相同培养条件下孵育 24 h 后, 收集细胞上清液, 采用 IL-6 和 TNF- α 检测试剂盒测定上清液中 2 种细胞因子的含量。

3 结果

3.1 质谱法对两种黄精化学成分的差异分析

九制黄精及生黄精的总离子流(TIC)图见图 1。两种黄精共检测到 114 种化学成分, 其中 82 种成分分为两种黄精共有, 21 种成分仅存在于九制黄精中, 11 种成分仅存在于生黄精中, 说明黄精经过炮制加工后, 其化学成分会发生明显变化。由此可知, 九制黄精的化学反应会随着其加工过程而发生变化, 导致其化学成分与生黄精的化学成分有较大差异, 具体差异情况见表 2。



A-九制黄精正离子模式; B-九制黄精负离子模式; C-生黄精正离子模式; D-生黄精负离子模式。

A-nine-processed *P. cyrtonema* positive ion model; B-nine-processed *P. cyrtonema* negative ion model; C-raw *P. cyrtonema* positive ion model; D-raw *P. cyrtonema* negative ion model.

图 1 九制黄精和生黄精的 TIC 流图

Fig. 1 TIC chromatograms of nine-processed *P. cyrtonema* and raw *P. cyrtonema*

表 2 化学成分指认结果

Table 2 Result of chemical composition identification

序号	化合物	分子式	t/min	理论值 m/z	实测值 m/z	离子 模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	来源
1	果糖-6-磷酸	C ₆ H ₁₃ O ₉ P	0.60	260.029 7	259.022 1	[M-H] ⁻	-1.2	96.969 3、78.959 6	C
2	L-苹果酸	C ₄ H ₆ O ₅	0.60	134.021 5	133.014 5	[M-H] ⁻	2.0	115.007 4、71.017 9	C
3	N-乙酰-D-谷氨酸	C ₇ H ₁₁ NO ₅	0.61	189.063 7	190.070 6	[M+H] ⁺	-2.2	144.065 8、114.055 2、70.064 9	N
4	天冬氨酸	C ₄ H ₇ NO ₄	0.61	133.037 5	134.044 6	[M+H] ⁺	-1.1	116.033 6、88.038 9、74.024 8、70.028 8	C
5	1-叔丁基-3,5-二甲苯	C ₄ H ₉ NO ₃	0.66	119.058 2	118.050 9	[M-H] ⁻	-0.5	100.041 5、74.025 7、55.019 1	C
6	L-焦谷氨酸	C ₅ H ₇ NO ₃	0.66	129.042 6	128.035 7	[M-H] ⁻	2.6	128.037 6、113.17 5、84.047 3、56.049 8	C
7	苏氨酸	C ₄ H ₉ NO ₃	0.66	119.058 2	118.050 9	[M-H] ⁻	-0.5	100.041 5、74.025 7、55.019 1	C
8	果糖	C ₆ H ₁₂ O ₆	0.67	180.063 4	179.056 2	[M-H] ⁻	0.7	85.031、71.0196、59.0213、55.0196	C
9	L-谷氨酰胺	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	0.67	146.069 1	145.061 9	[M-H] ⁻	1.1	145.063 7、128.036 8、74.025 8	R
10	丝氨酸	C ₃ H ₇ NO ₃	0.67	105.042 6	104.035 3	[M-H] ⁻	-0.6	88.038 4、97.026 5	R
11	L-精氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	0.68	174.111 7	175.119 1	[M+H] ⁺	0.6	116.076 8、72.081 5、70.073 8	C
12	氨基葡萄糖	C ₆ H ₁₃ NO ₅	0.68	179.079 4	180.086 8	[M+H] ⁺	1.0	145.053 3、85.035 9、57.034 4	C
13	L-赖氨酸	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	0.69	146.105 5	147.112 7	[M+H] ⁺	-0.4	147.029 4	N
14	5-羟甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃	0.69	126.031 7	127.039 0	[M+H] ⁺	0.3	109.028 5、81.033 9、55.017 5	C
15	L-焦谷氨酸甲酯	C ₆ H ₉ NO ₃	0.69	143.058 2	142.050 8	[M-H] ⁻	-1.0	120.020 0、112.00 4、102.010 0、101.008 3	C
16	腺苷酸	C ₁₀ H ₁₄ N ₅ O ₇ P	0.70	347.063 1	346.055 2	[M-H] ⁻	-1.7	211.000 5、197.783 3、140.081 4	C
17	皮树脂醇	C ₂₁ H ₂₄ O ₇	0.70	388.152 2	389.159 3	[M+H] ⁺	-0.4	351.120 3、205.085 5、85.028 6	N
18	黄精新木脂素 苷 A	C ₃₁ H ₄₀ O ₁₆	0.70	668.231 6	667.221 0	[M-H] ⁻	-5.0	441.152 3、251.068 7	N
19	香草酸	C ₈ H ₈ O ₄	0.70	168.042 3	167.035 0	[M-H] ⁻	-3.1	152.200 0、123.300 1	R
20	L-组氨酸	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	0.72	155.069 5	154.062 1	[M-H] ⁻	-0.9	119.085 1、108.055 2、93.045 8	C
21	lotaustralin	C ₁₁ H ₁₉ NO ₆	0.83	261.121 2	262.128 1	[M+H] ⁺	-1.7	216.122 2、198.112 2、196.093 9、143.018 1	C
22	L-蛋氨酸	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	0.86	149.051 1	150.058 1	[M+H] ⁺	-1.2	133.033 3、104.051 5、87.026 5、74.023 3	C
23	8-羟基色原酮	C ₉ H ₈ O ₃	0.99	164.047 3	165.054 5	[M+H] ⁺	-0.5	147.043 9、119.049 0、123.044 0、77.038 7	C
24	methyl 2-[(2-acetyl-3-oxo-1-butenyl)amino]acetate	C ₉ H ₁₃ NO ₄	1.22	199.084 5	200.091 7	[M+H] ⁺	-0.2	182.082 5、154.086 4、86.059 9	N
25	6-hydroxy melatonin	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₃	1.60	248.116 1	249.123 2	[M+H] ⁺	-0.6	249.123 7、177.102 4、147.091 6	C
26	6-(hydroxy methyl)pyridine-3-ol or its isomers	C ₆ H ₇ NO ₂	1.75	125.047 7	126.054 9	[M+H] ⁺	-0.1	108.047 0、81.033 5、80.049 6、68.013 1	N

表 2 (续)

序号	化合物	分子式	t/min	理论值 m/z	实测值 m/z	离子 模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	来源
27	5-羟基-2-羟甲基吡啶	C ₆ H ₇ NO ₂	1.75	125.047 7	126.054 9	[M+H] ⁺	-0.1	126.055 0、108.047 0、55.018 0、53.038 7	N
28	丹皮酚	C ₉ H ₁₀ O ₃	2.52	166.063 0	165.055 8	[M-H] ⁻	0.2	134.054 5、125.022 7、98.975 3、96.044 3、72.080 5	N
29	水杨酸	C ₇ H ₆ O ₃	2.52	138.031 7	137.024 3	[M-H] ⁻	-1.2	137.024 5、93.035 7	N
30	反式-3-吡啶丙烯酸	C ₁₁ H ₉ NO ₂	3.24	187.063 3	188.070 5	[M+H] ⁺	-0.7	146.060 0、144.080 4、143.072 9、117.058 1、115.054 3	C
31	D-色氨酸	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	3.25	204.089 9	205.096 4	[M+H] ⁺	-3.8	188.070 6、146.060 6、118.065 8	C
32	吡啶-3-甲醛	C ₆ H ₇ NO	3.28	145.052 8	146.060 0	[M+H] ⁺	-1.2	141.956 1、128.049 4、90.046 4	R
33	腺苷	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	3.48	267.096 8	268.104 0	[M+H] ⁺	-0.2	268.104 5、136.064 9、119.035 1	C
34	2-(6-amino-purin-9-yl)-5-hydroxymethyl-tetrahydrofuran-3, 4-diol	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	3.48	267.096 8	268.104 0	[M+H] ⁺	-0.2	268.104 5、136.064 9、119.035 1	C
35	5-(2-methylpropyl)-3, 6-dioxo-2-piperazinepropanoic acid or its isomers	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₄	3.60	242.126 7	241.119 3	[M-H] ⁻	-0.5	241.120 7、197.130 9、141.103 9、82.030 3	N
36	2,3,4,6-tetrahydro-1H-β-carboline-3-carboxylic acid	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂	4.75	216.089 9	217.097 1	[M+H] ⁺	-0.4	217.098 8、144.081 2、143.073 0	N
37	2,3,4,6-tetrahydro-1H-β-carboline-3-carboxylic acid	C ₁₂ H ₁₂ N ₂ O ₂	4.75	216.089 9	217.097 1	[M+H] ⁺	-0.4	217.098 8、144.081 2、143.073 0	N
38	黄精碱 A	C ₉ H ₁₁ NO ₂	4.87	165.079 0	166.086 3	[M+H] ⁺	0.2	136.078 4、80.050 5	C
39	L-苯丙氨酸	C ₉ H ₁₁ NO ₂	4.87	165.079 0	166.086 3	[M+H] ⁺	0.2	136.078 4、80.050 5	C
40	5-羟基吡啶-2-甲酸甲酯	C ₇ H ₇ NO ₃	5.23	153.042 6	154.049 8	[M+H] ⁺	-0.6	122.025 1、112.039 3、94.029 2	N
41	3-[(4-hydroxyphenyl)methyl]-octahydropyrrolo[1, 2-a]pyrazine-1, 4-dione or its isomers	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₃	5.55	260.116 1	261.123 3	[M+H] ⁺	-0.2	136.075 4、107.049 0、70.065 0	N
42	5-脱氧-5-甲硫腺苷	C ₁₁ H ₁₅ N ₅ O ₂ S	7.34	297.089 6	298.096 6	[M+H] ⁺	-0.8	298.096 9、136.062 2、75.026 3、61.010 7	C

表 2 (续)

序号	化合物	分子式	t/min	理论值 m/z	实测值 m/z	离子 模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	来源
43	6-methyl-4-(morpholino methyl)-2H-chromen-2-one	C ₁₅ H ₁₇ NO ₃	6.72	259.120 8	260.128 0	[M+H] ⁺	-0.3	214.122 1、148.075 0、72.080 2	N
44	4-(9H- β -carbolin-1-yl)-4-oxo-but-2-enoic acid methylester	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₃	7.78	280.084 8	281.091 6	[M+H] ⁺	-1.7	222.078 5、221.070 7、151.029 0	N
45	N-反式顺式-对香豆酰基章鱼胺	C ₁₇ H ₁₇ NO ₄	8.13	299.115 8	298.108 5	[M-H] ⁻	-0.8	280.093 3、145.030 9、119.050 8	R
46	3-吡啶乙酸	C ₁₁ H ₁₁ NO ₃	8.20	205.073 9	206.081 1	[M+H] ⁺	-0.4	188.073 6、122.024 6	N
47	环(亮氨酸-脯氨酸)	C ₁₁ H ₁₈ N ₂ O ₂	8.68	210.136 8	211.143 9	[M+H] ⁺	-0.9	211.147 2、194.117 5、138.1278、70.06 6	N
48	3-乙氧甲基-5,6,7,8-四氢-8-吡啶里嗪酮	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	9.04	193.110 3	194.117 3	[M+H] ⁺	-1.5	148.111 8、77.038 7、58.065 0	C
49	黄精碱 B	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	9.04	193.110 3	194.117 3	[M+H] ⁺	-1.5	148.111 8、138.055 3、94.065 2	C
50	pancracine or its isomers	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	9.07	287.115 8	288.122 8	[M+H] ⁺	-0.9	288.123 8、242.116 2	N
51	鹅掌楸苷	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	9.63	742.268 4	741.260 3	[M-H] ⁻	-1.2	579.206 9、417.155 7、181.050 5	C
52	环(苯丙氨酸-脯氨酸)	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₂	9.75	244.121 2	245.128 3	[M+H] ⁺	-0.8	245.144 1、120.08 1、70.065 3	N
53	1-(5-hydroxy methyl-tetrahydro-furan-2-yl)-9H- β -carboline-3-carboxylic acid	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₄	10.09	308.079 7	309.087 0	[M+H] ⁺	-0.1	309.087 7、206.083 3、205.075 3	N
54	酒渣碱	C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₄	10.09	308.079 7	309.087 0	[M+H] ⁺	-0.1	291.076 0、263.082 8、206.083 3	N
55	N-阿魏酰真胺蛸胺	C ₁₈ H ₁₉ NO ₅	10.12	329.126 3	328.118 6	[M-H] ⁻	-1.2	310.109 7、161.025 5、133.053 5	C
56	(+)-syringaresinol-O- β -D-glucopyranoside	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	11.00	580.215 6	579.207 7	[M-H] ⁻	-1.1	387.107 3、181.051 2、166.027 5	C
57	hydroxybenzoyl lecgonine or its isomers	C ₁₆ H ₁₉ NO ₅	11.68	305.126 3	306.133 4	[M+H] ⁺	-0.8	288.123 7、145.064 2、121.064 5	N
58	N-反式-对香豆酰基酪胺	C ₁₇ H ₁₇ NO ₃	11.85	283.120 8	284.128 0	[M+H] ⁺	-0.4	284.130 7、147.047 1、121.065 7	C

表 2 (续)

序号	化合物	分子式	t/min	理论值 m/z	实测值 m/z	离子 模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	来源
59	N-反式阿魏酸 酪酰胺	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	12.30	313.131 4	314.138 5	[M+H] ⁺	-0.5	314.140 8、177.057 0、145.029 0、 121.065 2	C
60	3-(4-hydroxy)- N-[2-(4-hydroxyphenyl)-2-methoxyethyl]-2-propanamide	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	12.30	313.131 4	314.138 5	[M+H] ⁺	-0.5	314.140 8、177.057 0、145.029 0、 121.065 2	C
61	鹅掌楸苦素-B	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	12.66	418.162 8	417.155 3	[M-H] ⁻	-0.5	315.087 0、205.086 2、167.069 9	C
62	丁香树脂酚	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	12.66	418.162 8	417.155 3	[M-H] ⁻	-0.5	330.111 7、235.096 9、145.065 2	C
63	丁香脂素	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	12.66	418.162 8	417.155 3	[M+H] ⁺	-0.5	401.163 3、330.111 7、217.085 8	C
64	disporopsin	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	12.97	302.079 0	301.071 3	[M-H] ⁻	-1.5	191.035 1、179.035 5、125.025 1、 57.034 5	C
65	5-(9H-β-carbolin-1-yl)-penta-1,2,5-triol	C ₁₆ H ₁₈ N ₂ O ₃	13.02	286.131 7	287.138 7	[M+H] ⁺	-1.0	269.129、182.0841、195.0916	N
66	(25R,5S)-kingianoside A	C ₃₉ H ₆₀ O ₁₄	13.07	752.398 3	753.405 0	[M+H] ⁺	-0.7	591.352 1、297.220 9、223.151 3	C
67	天师酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	14.74	330.240 6	329.233 6	[M-H] ⁻	0.9	293.212 4、229.145 9、183.139 9	C
68	5,7-dihydroxy-3-(2'-hydroxy-4'-methoxybenzyl)-chroman-4-one	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	14.92	316.094 7	315.087 1	[M-H] ⁻	-1.1	315.087 5、205.051 3、193.051 5、 139.04 1	N
69	5,7-dihydroxy-6-methyl-3-(2',4'-dihydroxybenzyl)-chroman-4-one	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	14.92	316.094 7	315.087 1	[M-H] ⁻	-1.1	315.087 5、205.051 3、193.051 5、 139.04 1	N
70	odoratumone B	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	14.92	316.094 7	315.087 1	[M-H] ⁻	-1.1	315.0875、205.0513、193.0515、 139.041	N
71	姜酚	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	15.45	294.183 1	293.175 9	[M-H] ⁻	0.2	205.124 2、177.092 8	C
72	4',7-二羟基-3'-甲氧基异黄酮	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	15.54	284.068 5	283.061 1	[M-H] ⁻	-0.3	225.105 4、191.029 8、83.047 0、 59.060 5	C
73	7-hydroxy-3-(3'-methoxy-4'-hydroxybenzyl)-chroman-4-one	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	15.54	284.068 5	283.061 1	[M-H] ⁻	-0.3	283.06 2、131.050 6、65.003 7	C
74	5,7-dihydroxy-3-(4'-hydroxybenzylidene)-chroman-4-one	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	15.54	284.068 5	283.061 1	[M-H] ⁻	-0.3	189.020 1、145.030 0、65.003 7	C

表 2 (续)

序号	化合物	分子式	t/min	理论值 m/z	实测值 m/z	离子 模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	来源
75	kingianoside Z	C ₅₇ H ₉₀ O ₂₉	15.99	1238.5568	1237.5483	[M-H] ⁻	-1.0	1075.5474、984.8133、751.3939、 516.7883	N
76	5,7-dihydroxy- 6-methyl-3-(4'- hydroxy benzyl)- chroman-4-one	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	16.22	300.0998	299.0923	[M-H] ⁻	-0.7	299.0928、221.0673、193.0518、 149.0614	N
77	5,7-dihydroxy- 3-(4'-methoxy benzyl)- chroman-4-one	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	16.22	300.0998	299.0923	[M-H] ⁻	-0.7	193.0518、149.0614	C
78	(6aR,11aR)-10- hydroxy-3,9- dimethoxypte rocarpane	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	16.22	300.0998	299.0923	[M-H] ⁻	-0.7	221.0673、149.0614	C
79	(25RS)-26-(β - glucopyranos yl)-22-methy lfurost-5-ene- 3 β ,14 α ,26- triol 3-O- β - lycotetraoside	C ₅₇ H ₉₄ O ₂₉	16.23	1242.5881	1241.5792	[M-H] ⁻	-1.3	964.4397、804.1080、663.4386	N
80	川芎嗪	C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O ₂	16.58	264.0899	265.0972	[M+H] ⁺	0.2	265.1043、235.0867、206.0865	N
81	4',5,7- trihydroxy-6,8- dimethylhomoi soflavanone	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	17.43	314.1154	313.1084	[M-H] ⁻	0.7	315.1260、209.0830、107.0519	C
82	3,5,7- trihydroxy-6, 7-dimethyl-3- (4'-hydroxy benzyl)- chroman-4-one	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	17.43	314.1154	313.1084	[M-H] ⁻	0.7	315.1260、209.0830、107.0519	C
83	5,7-dihydroxy- 6,8-dimethyl- 3-(4'-hydroxy benzyl)- chroman-4-one	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	17.43	314.1154	313.1084	[M-H] ⁻	0.7	313.1107、192.0437、179.0717	C
84	5,7-dihydroxy- 6-methyl-3- (4'-methoxy benzyl)- chroman-4- one	C ₁₈ H ₁₈ O ₅	17.43	314.1154	313.1084	[M-H] ⁻	0.7	192.0437、179.0717、163.0768	C

表 2 (续)

序号	化合物	分子式	t/min	理论值 m/z	实测值 m/z	离子 模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	来源
85	玉竹黄酮 B	C ₁₈ H ₁₈ O ₆	17.85	330.110 3	329.102 7	[M-H] ⁻	-1.0	329.104 5、193.051 3、139.041 1、 71.050 8	C
86	5-hydroxy-7-methoxyl-3-(2'-hydroxy-4'-methoxybenzyl)-chroman-4-one	C ₁₈ H ₁₈ O ₆	17.85	330.110 3	329.102 7	[M-H] ⁻	-1.0	329.104 5、193.051 3、139.041 1、 71.050 8	C
87	9, 10-dihydroxy-12(Z)-octadecenoic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₄	18.45	314.245 7	313.238 4	[M-H] ⁻	-0.2	295.228 9、195.139 7、183.140 2	C
88	(25R)-spirost-5-en-3 β ,17 α -diol-3-O- β -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-fucopyranosyl	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₃	19.11	738.419 0	739.425 8	[M+H] ⁺	-0.8	433.259 1、271.202 7、85028 3	C
89	重楼皂苷 VI	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₃	19.11	738.419 0	739.425 8	[M+H] ⁺	-0.8	577.373 6、433.259 1、271.202 7、 253.194 0	C
90	常春藤苷 C	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₃	19.11	738.419 0	739.425 8	[M+H] ⁺	-0.8	577.373 6、271.202 7、253.194 0	C
91	(25S)-spirostan-5-en-3 β -ol-3-O- β -D-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 4)- β -D-galactopyranoside	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₃	19.11	738.419 0	739.425 8	[M+H] ⁺	-0.8	433.259 1、271.202 7、253.194 0	C
92	26-O- β -D-glucopyranosyl-3 β ,26-diol-(25R)- Δ 5,22(23)-diene-furostan-3-O- β -D-glucopyranoside	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₃	19.11	738.419 0	739.425 8	[M+H] ⁺	-0.8	577.373 6、433.259 1、253.194 0	C
93	26-O- β -D-Glucopyranosyl-3 β ,26-diol-(25R)- Δ 5,20(22)-diene-furostan-3-O- β -D-glucopyranoside	C ₃₉ H ₆₂ O ₁₃	19.11	738.419 0	739.425 8	[M+H] ⁺	-0.8	739.427 9、577.373 6、253.194 0、 85.028 3	C

表 2 (续)

序号	化合物	分子式	t/min	理论值 m/z	实测值 m/z	离子 模式	误差/ ($\times 10^{-6}$)	离子碎片	来源
94	麝香草酚	C ₁₀ H ₁₄ O	19.89	150.104 5	151.111 5	[M+H] ⁺	-1.9	151.112 8、107.084 7、105.067 8、 79.055 3	N
95	(25S)-spirostan- 5-en-12-one-3- O-β-D-glucopyranosyl- (1→2)-O-β-D-glucopyranosyl-(1→3)- O-β-D-glucopyranosyl-(1→4)-β-D-galactopyranoside	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₄	19.95	1076.504 0	1075.496 3	[M-H] ⁻	-0.3	913.442 3、754.118 9、589.338 9	C
96	静特诺皂苷元	C ₂₇ H ₄₀ O ₄	19.95	428.292 7	429.299 6	[M+H] ⁺	-0.8	429.298 1、393.281 6、341.018 2	N
97	cyrtanemoside A	C ₅₁ H ₈₀ O ₂₄	19.95	1076.504 0	1075.496 3	[M-H] ⁻	-0.3	913.442 3、685.357 2、589.338 9	C
98	植物鞘氨醇	C ₁₈ H ₃₉ NO ₃	21.28	317.293 0	318.300 0	[M+H] ⁺	-1.0	300.290 6、70.065 9	C
99	邻苯二甲酸二 丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	21.31	278.151 8	279.158 7	[M+H] ⁺	-1.3	149.026 4、121.029 8	C
100	3β-[(O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→2)-β-D-glucopyranosyl)oxy]-pregna-5,16-dien-20-one	C ₃₃ H ₅₀ O ₁₁	21.71	622.335 3	621.327 2	[M-H] ⁻	-1.3	561.343 2、459.274 3、101.022 3	N
101	huangjinoside D	C ₃₃ H ₅₂ O ₉	22.23	592.361 1	593.368 4	[M+H] ⁺	-4.3	389.234 1、289.106 7	R
102	3-O-β-D-α-L-rhamnopyranosyl(1→4)-[α-L-rhamnopyranosyl(1→2)]-β-D-glucopyranoside-diosgenin	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₆	22.56	868.482 0	867.477 6	[M-H] ⁻	3.2	513.200 2、433.236 8、198.722 9	N
103	(25R)-spirost-5-en-3β,17α-diol-3-O-β-D-glucopyranosyl(1→2)-β-D-glucopyranosyl(1→4)-β-D-fucopyranosyl	C ₄₅ H ₇₂ O ₁₈	23.17	900.471 9	899.462 6	[M-H] ⁻	-2.2	632.278 6、584.453 0、379.389 8	N

基于 UPLC-Q-TOF-MS/MS 分析得到的九制黄精成分,通过 TCMSPP 数据库筛选后共获得 88 种成分;利用 Swiss Target Prediction 数据库对这些成分进行靶点预测,经去除重复靶点后得到 946 个成分相关靶点。在 GeneCards、NCBI、OMIM 数据库中检索炎症相关靶点,整合去重后获得 16 208 个炎症疾病靶点。取成分靶点与炎症靶点的交集,得到 873 个共同靶点,推测其可能是九制黄精治疗炎症的潜在靶点(图 3),将 91 个活性成分与 873 个交集靶点导入 Cytoscape 3.9.1 软件构建 PPI 网络图见图 4。

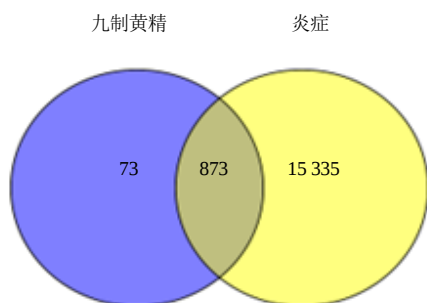


图 3 九制黄精-炎症共同作用靶点韦恩图

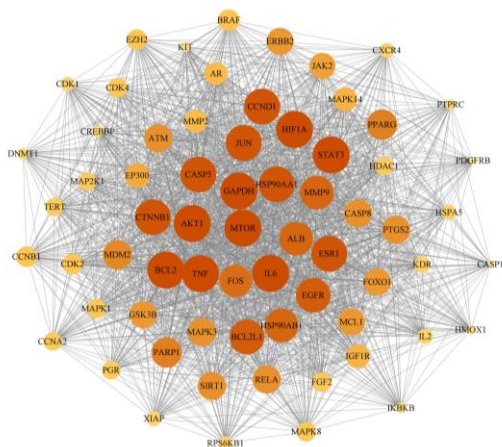
Fig. 3 Venn diagram of common targets of nine-processed *P. cyrtonema* and inflammation

图 4 交集靶点 PPI 网络

Fig. 4 PPI network of intersection target

采用 Network analyzer 功能, 得到度值排名前 5 的活性成分, 分别是延龄草苷 (diosgenin glucoside)、N-阿魏酰真胺 (N-feruloyltrueamine)、麝香草酚 (thymol)、丁香脂素 (syringaresinol)、静特诺皂苷元 (gentrogenin)。GO 分析结果按照 $-\lg P$ 值排序并筛选出前 10 的条目。如图 5 所示, 九制黄精治疗炎症的潜在靶点在生物过程 (BP) 上与 protein phosphorylation (蛋白磷酸化)、phosphorylation (磷酸化)、negative regulation of apoptotic process (凋亡过程负调控) 等相关; 在细胞组分 (CC) 上与 plasma membrane (细胞膜)、cytoplasm (细胞质)、extracellular exosome (细胞外囊泡)、receptor complex (受体复合物) 等相关; 分子功能 (MF) 上与 protein serine (蛋白丝氨酸)/threonine (苏氨酸)/tyrosine kinase activity (酪氨酸激酶活性)、identical protein binding (相同的蛋白质结合)、protein kinase activity (蛋白激酶活性)、protein tyrosine kinase activity (蛋白酪氨酸激酶) 等相关。KEGG 通路富集结果按富集值 ≥ 1.5 、基因重叠数 ≥ 3 、 $P < 0.01$ 进行筛选, 再根据 $-\lg P$ 值及通路关联基因数量排序, 选取前 20 条通路。结果显示, 这些通路主要包括神经活性配体-受体相互作用、高级糖基化终末产物-受体 (AGE-RAGE) 信号通路及 PI3K-Akt 信号通路等 (图 6)。

3.4 活性成分与核心靶点的分子对接

选定的度值排名前 5 种的核心成分延龄草苷、

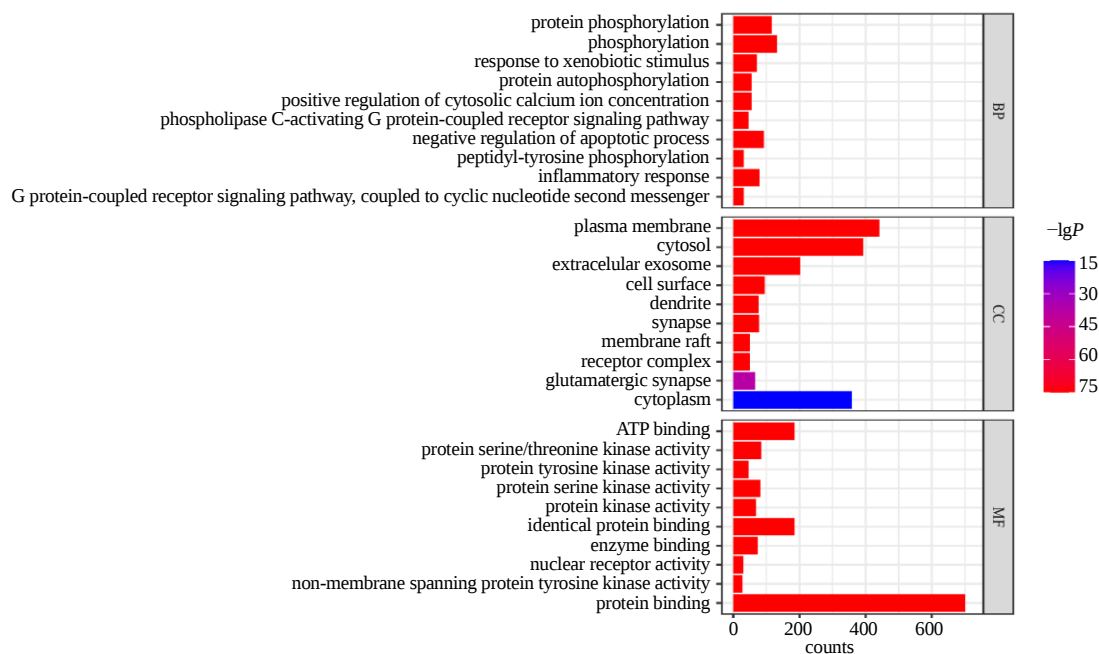


图 5 GO 富集分析结果

Fig. 5 GO enrichment analysis results

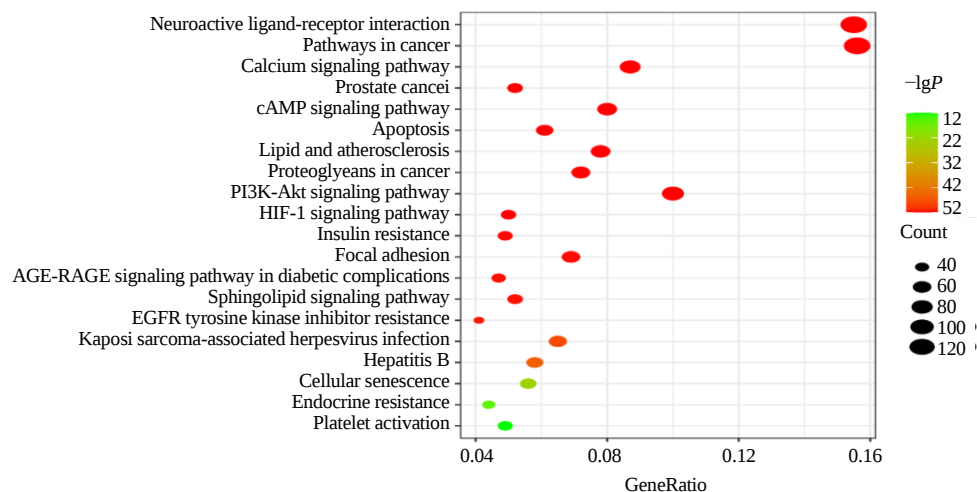


图 6 KEGG 通路富集分析结果

Fig. 6 KEGG enrichment analysis results

N-阿魏酰真胺蛎胺、麝香草酚、丁香脂素、静特诺皂苷元与 PPI 网络中排名前 6 的核心蛋白信号: 转导和转录激活因子 (STAT3)、蛋白激酶 Bα (AKT1)、缺氧诱导因子 1 亚基 α (HIF1A)、肿瘤坏死因子 (TNF)、白细胞介素-6 (IL-6) 和 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因 (BCL2) 进行分子对接。结合能小于 0 kJ·mol⁻¹ 表示自发结合, 结合能小于 -20.95 kJ·mol⁻¹ 表示结合良好, 小于 -29.33 kJ·mol⁻¹ 表明结合活性强 (表 3)。核心成分与蛋白受体的结

合能均小于 0, 表明成分与受体的直接结合良好, 网络药理学结果可信度高。部分成分与靶蛋白的对接结果如图 7 所示。从靶标水平看 STAT3、AKT1、HIF1A、TNF、IL6、BCL2 6 个具有较强的结合力, 可以推测这 6 个靶标是黄精治疗炎症的关键靶标, 从化学成分水平看延龄草苷、麝香草酚、静特诺皂苷元的结合力最强, 说明这 3 种成分是九制黄精中的关键活性成分。结合文献调查可知, 这些成分和靶点与炎症、细胞凋亡等有关。

表 3 分子对接结果

Table 3 Molecular docking results

序号	成分	结合能/(kJ·mol ⁻¹)					
		STAT3	AKT1	HIF1A	TNF	IL-6	BCL2
1	延龄草苷	-13.64	-6.95	-14.85	-13.97	-8.33	-27.28
2	<i>N</i> -阿魏酰真胺蛎胺	-7.11	-9.54	-6.65	-7.61	-6.36	-0.92
3	麝香草酚	-16.65	-13.56	-11.38	-10.42	-9.25	-7.28
4	丁香脂素	-8.95	-3.97	-7.57	-4.60	-1.97	-10.46
5	静特诺皂苷元	-18.20	-24.60	-20.54	-19.71	-17.28	-26.53

3.5 RPA 和 NPA 对 RAW 264.7 细胞增殖的影响

如图 8 所示, 与对照组相比, 1~400 μg·mL⁻¹ 的 RPA 和 NPA 对 RAW 264.7 细胞增殖没有显著影响。当 RPA 质量浓度达到 800 μg·mL⁻¹ 时细胞活性呈下降趋势, 为避免药物浓度过高对细胞活性产生非特异性影响而干扰实验结果, 后续实验选择 100、200、400 μg·mL⁻¹ 作为实验浓度。

3.6 RPA 和 NPA 对 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞分泌炎症因子 TNF-α 和 IL-6 的影响

结果如图 9 所示。与对照组相比, 模型组细

胞分泌 TNF-α 和 IL-6 的水平显著升高 ($P<0.01$); 与模型组相比, NPA 和 RPA 均能显著抑制 LPS 诱导的 TNF-α 与 IL-6 分泌。相同质量浓度 (400 μg·mL⁻¹) 下, RPA 组的 TNF-α 水平较 NPA 组更低; 而各质量浓度下, RPA 组的 IL-6 分泌量均高于 NPA 组 ($P<0.01$)。

4 讨论

质谱法作为一种高灵敏度分析技术, 通过测定样品中分子或原子的质量电荷比解析物质组成与结构^[21], 广泛应用于化学、生物学、药学等多个领

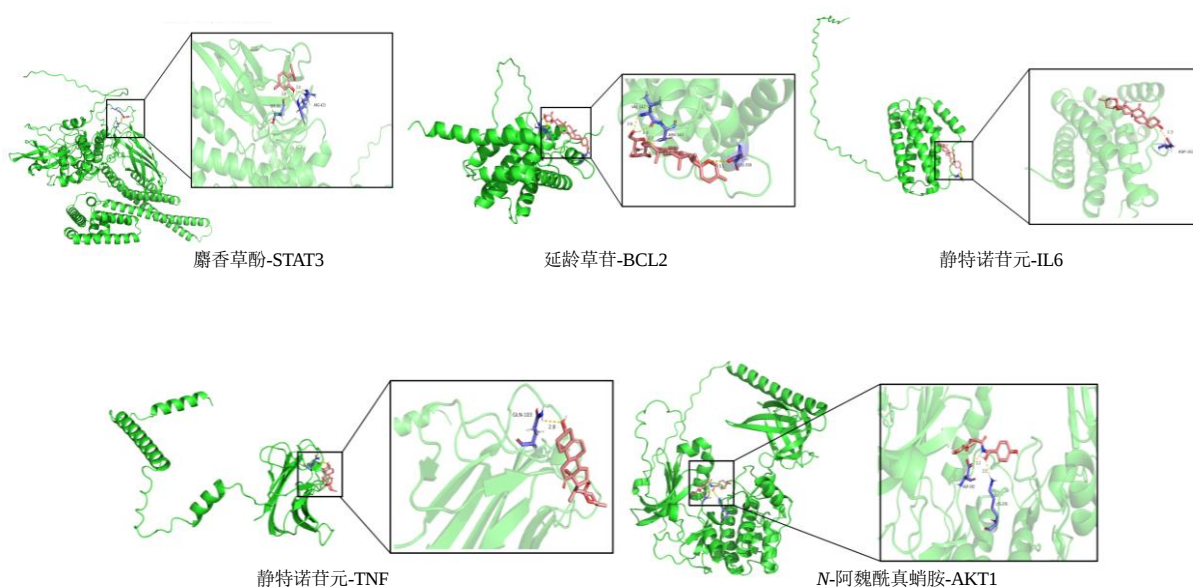
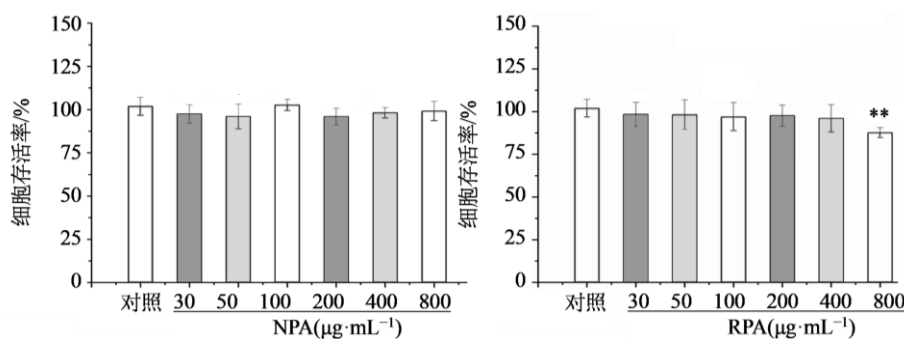


图 7 分子对接结果可视化

Fig. 7 Visualization of molecular docking results

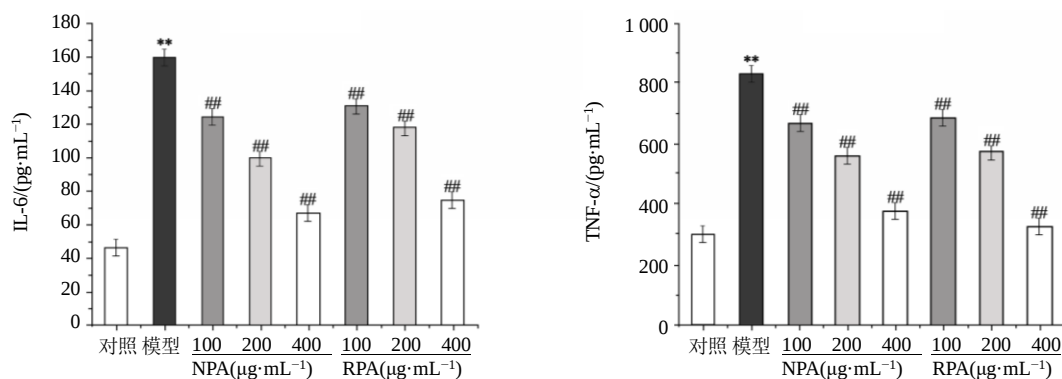


与对照组比较: ** $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group.

图 8 不同质量浓度 RPA 和 NPA 对 RAW 264.7 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 8 Effects of different concentrations of RPA and NPA on proliferation of RAW 264.7 cells ($\bar{x} \pm s, n=6$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ 。

** $P < 0.01$ vs control group; ## $P < 0.01$ vs model group.

图 9 TNF- α 、IL-6 的分泌水平 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 9 Secretion levels of TNF- α and IL-6 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

域,是物质组成研究、未知化合物鉴定及定量分析的核心工具。本研究中,九制黄精检测到的独有成分麝香草酚和静特诺昔元均被证实可改善炎症所致机体损伤:Zhang 等^[22]发现麝香草酚可通过鸟苷酸环化酶(cGMP)-蛋白激酶 G(PKG)-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合体 1(mTORC1)通路减轻结肠炎症状,Zhao 等^[23]则证实其可抑制神经炎症以改善缺血性脑损伤;而静特诺昔元作为甾体皂苷元,可通过调控炎症相关的 RAGE 受体介导信号通路发挥抗炎作用^[24]。

网络药理学是系统生物学、网络科学与药理学交叉融合的新兴领域,通过构建药物、靶点、疾病及生物大分子间的相互作用网络,揭示药物多靶点作用机制,为药效预测、不良反应评估及新药研发提供指导^[25]。本研究预测的 PI3K-Akt、环磷酸腺苷(cAMP)、AGE-RAGE 等信号通路均与炎症密切相关:其中 RAGE 在免疫反应及炎症调控中起核心作用^[26],AGE-RAGE 相互作用可通过持续激活促炎转录因子 NF- κ B 诱导炎症^[27];PI3K-Akt 信号通路作为近年研究热点,不仅参与细胞分化,更在炎症反应中发挥关键作用^[28],其激活后可通过催化下游底物磷脂酰肌醇(3,4,5)-三磷酸(PIP3)磷酸化影响蛋白质表达^[29]。分子对接结果提示,延龄草苷、麝香草酚、静特诺昔元可能是介导抗炎作用的关键活性成分。

肿瘤坏死因子- α (TNF- α)作为炎症反应的核心细胞因子,在炎症的启动、放大与调节中起关键作用^[30],可刺激 IL-1、IL-6 等促炎因子及 IL-8 等趋化因子释放^[31],并通过激活 NF- κ B 信号通路持续促进炎症介质生成,形成炎症自我放大循环。PI3K 在炎症反应中功能复杂且关键,通过调控 Akt、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、NF- κ B 等下游通路,参与炎症细胞激活、炎症因子释放及组织损伤修复^[32]。PI3K 主要由调节亚基(p85)与催化亚基(p110)组成,当细胞受炎症刺激时,受体磷酸化可招募 p85 亚基,进而激活 p110 催化亚基,催化细胞膜上磷脂酰肌醇二磷酸(PIP2)生成 PIP3,最终通过激活 NF- κ B 和 MAPK 通路上调 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 等炎症因子表达^[33]。

炎症的消除不仅是“抑制过度反应”,更是重塑体内环境平衡的核心策略,控制炎症可切断 70%以上慢性疾病的共同病理基础,从缓解症状到维护健康具有多重意义。九制黄精通过炮制引发的化学转

化,其多靶点药理活性显著拓展,在降糖、调脂^[34]、抗炎^[35]、免疫调节^[36]、抗疲劳^[37]等方面的作用均优于生品;同时,炮制可大幅降低草酸钙针晶含量,减少毒性,更适宜人体滋补。

本研究共检测到两种黄精的 114 种化学成分,其中共有成分 82 种(占 71.9%),九制黄精独有成分 21 种,生黄精独有成分 11 种。PCA 结果显示,九制黄精经炮制后生物碱及挥发油含量较高,而生黄精则以氨基酸为主,这种化学成分的显著差异是 2 者功效分化的物质基础。

网络药理学 PPI 分析显示,AKT1、HIF1A、IL6、BCL2、TNF、STAT3 为高度富集靶点;延龄草苷、N-阿魏酰真胺蛎胺、麝香草酚、丁香脂素、静特诺昔元可能是黄精抗炎的关键活性成分。KEGG 富集分析则表明,其抗炎作用主要涉及 PI3K-Akt、cAMP、AGE-RAGE 等信号通路。

细胞实验证实,九制黄精提取物对 RAW 264.7 细胞无毒性,且能有效减少 IL-6 和 TNF- α 等炎症因子分泌;结合网络药理学分析,推测其抗炎作用可能与 PI3K-Akt 及 AGE-RAGE 信号通路相关。

综上,九制黄精与生黄精的化学成分差异显著,尤其体现在生物碱和黄酮类化合物上,这可能与九制黄精的炮制次数及加工时长相关。这种差异不仅反映了炮制工艺对药理作用物质基础的定向改造,更为临床精准应用提供了理论依据。此外,九制黄精能抑制 IL-6、TNF- α 等促炎因子分泌,利于食用及中药制剂开发,符合人体安全用药标准。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王超,孙浩然,苏为耿,等.响应面法优化低糖滇黄精果脯制备工艺[J].山东农业科学,2022,54(12):129-135.
Wang C, Sun H R, Su W G, et al. Optimization of processing technology for low-sugar preserved fruit of *Polygonatum kingianum* by response surface methodology [J]. Shandong Agric Sci, 2022, 54(12): 129-135.
- [2] Lu M, Zhang L P, Kang S X, et al. Comprehensive evaluation of the nutritional properties of different germplasms of *Polygonatum cyrtoneura* Hua [J]. Foods, 2024, 13(6): 815.
- [3] Shi Y, Liu J J, Si D, et al. Huangjing: From medicine to healthy food and diet [J]. Food Front, 2023, 4(3): 1068-1090.

- [4] 代婷婷, 杨桂娟. 黄精多糖抗抑郁作用的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2025, 40(2): 532-536.
Dai T L, Yang G J. Research progress on antidepressant effect of *Polygonati Rhizoma* polysaccharides [J]. Drugs Clin, 2025, 40(2): 532-536.
- [5] Li M, Xie B Z, Li L W, et al. A comprehensive review on the potential applications of medicine *Polygonatum* species in the food sector [J]. Food Biosci, 2024, 60: 104116.
- [6] 陈文胜. 黄精麻舌成分草酸钙针晶形态特征观察及消解方法研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2023.
Chen W S. Observation on the morphological characteristics of needle crystals of calcium oxalate from *Polygonatum sibiricum* and study on its digestion method [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2023.
- [7] Singh N, Baby D, Rajguru J P, et al. Inflammation and cancer [J]. Ann Afr Med, 2019, 18(3): 121-126.
- [8] Sohrab S S, Raj R, Nagar A, et al. Chronic inflammation's transformation to cancer: A nanotherapeutic paradigm [J]. Molecules, 2023, 28(11): 4413.
- [9] Michopoulos V, Powers A, Gillespie C F, et al. Inflammation in fear- and anxiety-based disorders: PTSD, GAD, and beyond [J]. Neuropsychopharmacology, 2017, 42(1): 254-270.
- [10] Woller N, Kühnel F. Virus infection, inflammation and prevention of cancer [J]. Recent Results Cancer Res, 2014, 193: 33-58.
- [11] Pandolfi F, Franza L, Carusi V, et al. Interleukin-6 in rheumatoid arthritis [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(15): 5238.
- [12] Kang S J, Tanaka T, Narazaki M, et al. Targeting interleukin-6 signaling in clinic [J]. Immunity, 2019, 50(4): 1007-1023.
- [13] Puchner A, Blüml S. IL-6 blockade in chronic inflammatory diseases [J]. Wien Med Wochenschr, 2015, 165(1/2): 14-22.
- [14] Horiuchi T, Mitoma H, Harashima S I, et al. Transmembrane TNF- α : Structure, function and interaction with anti-TNF agents [J]. Rheumatology (Oxford), 2010, 49(7): 1215-1228.
- [15] Moelants E A V, Mortier A, Van Damme J, et al. Regulation of TNF- α with a focus on rheumatoid arthritis [J]. Immunol Cell Biol, 2021, 18(23): 1463-1468.
- [16] Zhao W B, Wang B Y, Li S. Network pharmacology for traditional Chinese medicine in era of artificial intelligence [J]. Chin Herb Med, 2024, 16(4): 558-560.
- [17] 吴毅, 高莎, 朱徐东, 等. 多花黄精炮制方法研究进展 [J]. 药品评价, 2021, 18(23): 1463-1468.
Wu Y, Gao S, Zhu X D, et al. Advances in Processing Methods of *Polygonatum Cyrtonema* Hua [J]. Drug Eval, 2024, 16(21): 108-112.
- [18] Wu L L, Wu G, Tan Q L, et al. Effect of Boiling on the Structure of *Polygonatum kingianum* Polysaccharides and Their *In Vitro* Immunostimulatory Activity [J]. Food Nutr China, 2023, 29(06): 28-34..
- [19] Gabbai-Armelin P R, Sales L S, Ferrisse T M, et al. A systematic review and Meta-analysis of the effect of thymol as an anti-inflammatory and wound healing agent: A review of thymol effect on inflammation and wound healing [J]. Phytother Res, 2022, 36(9): 3415-3443.
- [20] Cichon J, Liu R, Le H V. Therapeutic potential of salvinorin A and its analogues in various neurological disorders [J]. Transl Perioper Pain Med, 2022, 9(2): 452-457.
- [21] Neagu A N, Jayathirtha M, Baxter E, et al. Applications of tandem mass spectrometry (MS/MS) in protein analysis for biomedical research [J]. Molecules, 2022, 27(8): 2411.
- [22] Zhang K, Xu Y B, Zheng Y N, et al. Bifidobacterium pseudolongum-derived bile acid from dietary carvacrol and thymol supplementation attenuates colitis via cGMP-PKG-mTORC1 pathway [J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(43): e2406917.
- [23] Zhao C C, Sun L, Zhang Y X, et al. Thymol improves ischemic brain injury by inhibiting microglia-mediated neuroinflammation [J]. Brain Res Bull, 2024, 215: 111029.
- [24] Xue T, Zhao M H, Chen J, et al. Revealing the mechanisms of the bioactive ingredients accumulation in *Polygonatum cyrtonema* by multiomics analyses [J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 1055721.
- [25] Zhang P, Zhang D F, Zhou W A, et al. Network pharmacology: Towards the artificial intelligence-based precision traditional Chinese medicine [J]. Brief Bioinform, 2023, 25(1): bbad518.
- [26] 王红涛, 赵克明. 基于网络药理学和分子对接技术探讨百合固金汤治疗支原体肺炎的作用机制 [J]. 实用中医内科杂志, 2025, 39(5): 23-26, 152-154.
Wang H T, Zhao K M. Mechanism analysis on Baihe Gujin Decoction(百合固金汤) in treatment of Mycoplasma pneumonia based on network pharmacology and molecular docking [J]. J Pract Tradit Chin Intern Med, 2025, 39(5): 23-26, 152-154.
- [27] Bierhaus A, Nawroth P P. Multiple levels of regulation determine the role of the receptor for AGE (RAGE) as common soil in inflammation, immune responses and diabetes mellitus and its complications [J]. Diabetologia,

- 2009, 52(11): 2251-2263.
- [28] 赵华, 唐丽丽. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨丹参提取物对前列腺癌细胞生物学行为的影响及其机制 [J]. 中国老年学杂志, 2024, 44(17): 4275-4279.
- Zhao H, Tang L L. Based on PI3K/AKT signaling pathway, the effect of *Salvia miltiorrhiza* extract on biological behavior of prostate cancer cells and its mechanism were discussed [J]. Chin J Gerontol, 2024, 44(17): 4275-4279.
- [29] Thorpe L M, Yuzugullu H, Zhao J J. PI3K in cancer: Divergent roles of isoforms, modes of activation and therapeutic targeting [J]. Nat Rev Cancer, 2015, 15(1): 7-24.
- [30] Andretto V, Dusi S, Zilio S, et al. Tackling TNF- α in autoinflammatory disorders and autoimmune diseases: From conventional to cutting edge in biologics and RNA-based nanomedicines [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2023, 201: 115080.
- [31] Bahman F, Al-Roub A, Akhter N, et al. TNF- α /stearate induced H3K9/18 histone acetylation amplifies IL-6 expression in 3T3-L1 mouse adipocytes [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(12): 6776.
- [32] Peng Y, Wang Y Y, Zhou C, et al. PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: Are we making headway?[J]. Front Oncol, 2022, 12: 819128.
- [33] Wiese W, Barczuk J, Racinska O, et al. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in blood malignancies-new therapeutic possibilities [J]. Cancers (Basel), 2023, 15(21): 5297.
- [34] 张亨柱. 黄精炮制品功效差异初探 [J]. 海峡药学, 2019, 31(6): 36-39.
- Zhang H Z. Preliminary study on efficacy difference of *Polygonatum sibiricum* processed products [J]. Strait Pharm J, 2019, 31(6): 36-39.
- [35] 常晖, 靳鹏博, 马存德, 等. 不同方法炮制黄精后其化学成分及药理作用研究进展 [J]. 世界中医药, 2023, 18(21): 3125-3135.
- Chang H, Jin P B, Ma C D, et al. Advances in changes of chemical components and pharmacological effects of *polygonati rhizoma* after processing with different methods [J]. World Chin Med, 2023, 18(21): 3125-3135.
- [36] 林雨. 滇黄精炮制前后对肺、肾阴虚小鼠的改善作用及机制研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2021.
- Lin Y. The improvement effect and mechanism of *Polgonatum kingianum* on mice with lung and kidney yin deficiency before and after processing. [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2021.
- [37] 陈杨杨, 胡慧玲, 奉关妹, 等. 多花黄精炮制前后对游泳力竭小鼠抗疲劳抗氧化的影响 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(2): 92-96.
- Chen Y Y, Hu H L, Feng G M, et al. Anti-fatigue and anti-oxidant effects of crude and processed *Polygonatum cyrtonema* on exhaustive swimming mice [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2021, 37(2): 92-96.

[责任编辑 孙英杰]