

2017; 6726901.

[17] 周 琦, 朱向东, 仝小林, 等. 葛根芩连汤对 2 型糖尿病模型大鼠胰岛细胞 IRS-2/PI3K-Akt 通路的影响[J]. 中医杂志, 2018, 59(11): 973-977.

[18] 杜立娟, 孙 敏, 谈钰濛, 等. 半夏泻心汤对过氧化氢叔丁醇诱导的 MIN6 细胞凋亡及 PI3K/AKT/FOXO1 信号通路的影响[J]. 中医杂志, 2020, 61(1): 63-67.

[19] Wang Q, Hu J, Liu Y, et al. Aerobic exercise improves synaptic-related proteins of diabetic rats by inhibiting FOXO1/NF-κB/NLRP3 inflammatory signaling pathway and ameliorating PI3K/Akt insulin signaling pathway [J]. J Mol Neurosci, 2019, 69(1): 28-38.

基于 UPLC-MS 法及网络药理学预测紫红参质量标志物

林 源¹, 朱雪艳², 黄豆豆³, 黄宝康², 王宏瑞², 卜其涛^{2*}, 张成中^{2*}
(1. 温岭市中医院, 浙江 温岭 317500; 2. 中国人民解放军海军军医大学药理学系, 上海 200433; 3. 上海中医药大学中药研究所, 上海 201203)

摘要: **目的** 基于 UPLC-MS 法及网络药理学预测紫红参潜在的质量标志物。**方法** 基于 UPLC-Q/TOF-MS 法研究紫红参中人参皂苷类成分的变化, 运用多元统计分析解析炮制前后差异化合物, 运用多种数据库通过网络药理学的方法构建“紫红参-成分-靶点-通路”网络关系, 预测潜在的质量标志物。**结果** UPLC-MS 检测发现, 紫红参含有较多其原药材不具有的稀有皂苷, 根据其质谱特征鉴定出 7 个稀有皂苷类化合物, 结合数据库文献分析, 选择紫红参中皂苷类差异性化合物, 通过网络药理学预测发现这些成分具有较好的药理活性, 是紫红参潜在的质量标志物。**结论** 基于 UPLC-MS 及网络药理学预测发现人参皂苷 Rg5、Rk1、Rh3、compound K 等是紫红参中的差异性化合物, 与 EGFR、VEGFA、JUN、Akt、PIK3CA、MAPK、MTOR、STAT 等关键指标相关, 可作用于癌症通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路等信号通路, 发挥抗癌、降糖等多种药理作用, 这些差异性化合物可作为紫红参潜在的质量标志物。
关键词: 紫红参; 质量标志物; 多元统计分析; 网络药理学; UPLC-Q/TOF-MS
中图分类号: R284.1; R966 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)02-0613-07
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.02.049

人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 是传统的名贵补益中药, 始载于《神农本草经》, 其炮制方法及炮制工艺众多, 形成生晒参、红参、糖参等。紫红参又称黑参, 其制备工艺主要有生物发酵法和多次蒸晒法^[1-2], 在加工炮制过程中, 其有效成分人参皂苷等发生水解、脱羧、异构化等^[3]变化。经测定, 生人参中含量较高的人参皂苷 Rb1、Rg1、Re 等在紫红参中无法检出或含量降低^[4], 稀有皂苷如人参皂苷 Rg3、Rg5、Rg6 等含量升高^[5-7]。研究发现, 紫红参相比生晒参、红参具有更好的降血糖^[8]、降血脂^[9]、减肥^[10]、抗癌^[11]、保肝^[12]、抗病毒^[13]等作用。中药炮制“生熟异用”, 紫红参与生晒参、红参在化学成分及药理作用上具有差异, 其质量控制、药理作用也应有别于红参等。目前, 紫红参的炮制工艺尚无统一标准, 质量控制、活性成分、药理作用等方面尚有较大的研究空间^[14]。刘昌孝院士提出中药质量标志物 (Q-marker) 的新概念^[15], 中药 Q-marker 从生源途径、化学物质基础、炮制加工过程、药效

研究、中医理论等层面, 将中药物质基础、有效性、质量控制密切关联。本实验采用 UPLC-Q/TOF-MS 法测定紫红参及其原料药人参之间的化合物差异, 通过多元统计分析解析炮制对人参皂苷种类的影响, 鉴定紫红参中差异性稀有皂苷, 基于网络药理学^[16]与分子对接^[17]技术对所鉴定的差异化合物进行验证, 研究紫红参差异化合物的药理活性及其作用机制, 预测紫红参潜在 Q-marker, 以期为紫红参后续研究奠定基础。

1 材料
1.1 仪器 1290 UPLC 型液相色谱仪串联 6530 Q/TOF 型高分辨质谱 (美国安捷伦公司); SK7200H 型超声波清洗器 (上海科导超声仪器有限公司); RH-600A 型高速多功能粉碎机 (江苏荣洁医疗科技有限公司); XS105DU 型电子天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); Centrifuge5810R 型高速台式冷冻离心机 (德国 Eppendorf 公司); 电蒸锅 (浙江苏泊尔股份有限公司); 鼓风式干燥箱 (上海般诺生物科

收稿日期: 2022-05-15
基金项目: 温岭市科技局社会性项目 (2020S0010021); 海军院校建设项目 (XLTJ2018009)
作者简介: 林 源 (1984—), 男, 主管中药师, 从事中药炮制与调剂研究。E-mail: 61046888@qq.com
* 通信作者: 卜其涛 (1985—), 女, 硕士, 讲师, 从事药用植物与鉴定研究。E-mail: bujenny@163.com
张成中 (1984—), 男, 博士, 讲师, 从事中药炮制与调剂研究。E-mail: zhangchzh09@163.com

技有限公司)。

1.2 试剂与药物 人参购于亳州市药材市场,经海军军医大学生药学教研室黄宝康教授鉴定为正品。乙腈、甲醇为色谱纯,购自德国 Merck 公司;甲酸为色谱纯,购自美国 Thermo Fisher 公司;水为蒸馏水,购自广州屈臣氏食品饮料有限公司。

2 方法

2.1 紫红参炮制前后成分差异分析

2.1.1 UPLC-MS 条件

2.1.1.1 色谱 Acquity UPLCBEH-C₁₈ 色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm);流动相 0.1% 甲酸 (A) -0.1% 甲酸乙腈 (B),梯度洗脱 (0~5 min, 5%~23% B; 5~9 min, 23%~30% B; 9~13 min, 30% B; 13~13.55 min, 30%~35% B; 13.5~17 min, 35% B; 17~17.5 min, 35%~39% B; 17.5~20 min, 39% B; 20~26 min, 39%~95% B);柱温 35℃;体积流量 0.3 mL/min;进样量 2 μL。

2.1.1.2 质谱 电喷雾离子源 (ESI),正、负离子模式扫描;毛细管电压 4 000 V (正离子模式)、3 500 V (负离子模式);锥孔电压 65 V;脱溶剂气体氮气;气体体积流量 11 L/min;脱溶剂温度 350℃;离子源温度 150℃;扫描范围 *m/z* 100~1 700;扫描时间 3.00 spectra/s;碰撞能量 30 eV;碰撞气体氮气;扫描方式 allionfragment 模式。质谱数据采集及处理软件 Masshunter 工作站。

2.1.2 供试品制备 取人参 6 批,各分成 2 份,1 份净制,另 1 份经九蒸九晒制成紫红参。各取人参、紫红参粉碎,过三号筛,精密称取粉末 50 mg,置于 5 mL EP 管中,加入 2 mL 80% 甲醇,常温下超声处理 (50 kHz, 760 W) 30 min,放冷,14 000 r/min 离心 15 min,取上清液,即得。

2.1.3 多元统计分析 查阅并整理归纳国内外文献关于人参化学成分的信息,包括名称、分子式、结构式,并将所有信息导入 Masshunter 软件中,创建人参专属数据库。将 allionfragment 模式下采集的原始质谱数据导入 Masshunter 软件中,用所建立的分析方法对人参化学成分进行自动识别,得到初步的化合物鉴定结果,进一步运用 Masshunter 软件对正离子与负离子模式下的总离子流 (TIC) 进行处理,结合目标化合物特征离子的精确质量数、相对保留时间、分子式、对照品信息以及相关报道的文献,进行人工识别并确定。

将采集的原始质谱数据进行格式转化 (RAW 格式转化成 ABF 格式),MS-DIAL 软件可以基于转化后的 ABF 格式进行数据的预处理,参数设置为保留时间 0.5~25 min;扫描范围 *m/z* 100~1 700;MS1 质量误差 0.01 Da;MS2 质量误差 0.02 Da;最低峰高 5 000。采用 SIMCA-p14.1 软件对数据进行多元变量统计分析。将 MS-DIAL 软件处理后得到的归一化数据,以 Excel 格式导入 SIMCA-p14.1 软件中,依次进行主成分分析 (PCA)、偏最小二乘法判别分析 (PLS-DA);根据两组之间 *t* 检验得出的 *P* 值 (*P*<0.05) 进行差异化合物筛选。

2.2 质量标志物作用靶标及网络药理学预测 根据 UPLC-MS 分析结果选择紫红参中特有而人参中不具有的化合物,再通过 PubChem 数据库查询相关化合物 Canonical SMILES 编号,输入 Swiss Target Prediction 数据库 (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) 获取化合物所对应的靶标蛋白的 Uniprot ID。再将其导入在线 STRING 11.0 数据库软件 (<https://string-db.org/cgi/input.pl>) 进行 PPI 网络分析。利用 Metascape 数据库 (<https://metascape.org/gp/index.html>) 对潜在的靶点进行基因本体 (GO) 功能和基因组百科全书 (KEGG) 通路富集分析。最后通过 Cytoscape 3.8.2 软件,筛选核心靶标,并构建“成分-靶标-通路”网络关系综合分析结果。

2.3 差异成分-靶标分子对接 通过 PubChem 数据库选取人参皂苷 Rg3、Rg5、Rh3、Rk1、compound K 等成分化合物结构,选取“成分-靶点-通路”网络中自由度前 3 的靶标为对接靶标,检索 PDB 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 获得靶标的蛋白结构,将上述蛋白与化合物结构文件导入 pymol 软件进行去水、加氢、删除重复链等预处理,最后模拟靶标和作用的化学成分结合模式,计算结合能,结合能小于 0 表明可以自由结合^[17]。

3 结果

3.1 基于 UPLC-MS 的紫红参特有成分分析

3.1.1 多元统计分析炮制对成分的影响 取“2.1.2”项下人参及其炮制品紫红参供试品溶液,在“2.1.1”项条件下进样测定,得到正、负离子模式下人参及其炮制品紫红参代表性样品总离子流图 (图 1)。结果显示,紫红参相对于其原药材人参,成分变化较明显,在长时间段出现新的化合物峰。进一步比较人参生品与紫红参炮制品之间的区别,通过无监督 PCA 分析和有监督 PLS-DA 分析,得分散点图见图 2,结果显示,生品、炮制品能得到较好的分离趋势,说明人参经九蒸九晒制成紫红参后其化学成分发生显著变化。

3.1.2 紫红参差异化合物鉴定 共鉴定 10 个差异性化合物,包括稀有皂苷人参皂苷 Rg5、人参皂苷 Rk1、compound K、人参皂苷 Rh3 等,见表 1。

表 1 紫红参差异性化合物鉴定

序号	名称	保留时间/min	<i>m/z</i>	分子式
1	人参皂苷 Rg1	8.034	801.492 2	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄
2	人参皂苷 Re	8.662	947.550 1	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈
3	人参皂苷 Rb1	12.166	1 213.594 4	C ₅₉ H ₉₂ O ₂₃
4	人参皂苷 Ra1	10.958	1 269.645 1	C ₅₈ H ₉₈ O ₂₆
5	人参皂苷 Rg3	21.566	785.497 2	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃
6	人参皂苷 Rg5	21.802	767.486 7	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂
7	姜状三七苷 R1	23.790	795.445 2	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄
8	人参皂苷 Rk1	23.967	825.501 7	C ₄₂ H ₇₀ O ₁₂
9	compound K	24.348	621.435 6	C ₃₆ H ₆₂ O ₈
10	人参皂苷 Rh3	24.598	605.440 1	C ₃₆ H ₆₀ O ₇

3.2 基于网络药理学的紫红参质量标准物预测

3.2.1 紫红参潜在质量标志物作用靶标筛选 根据

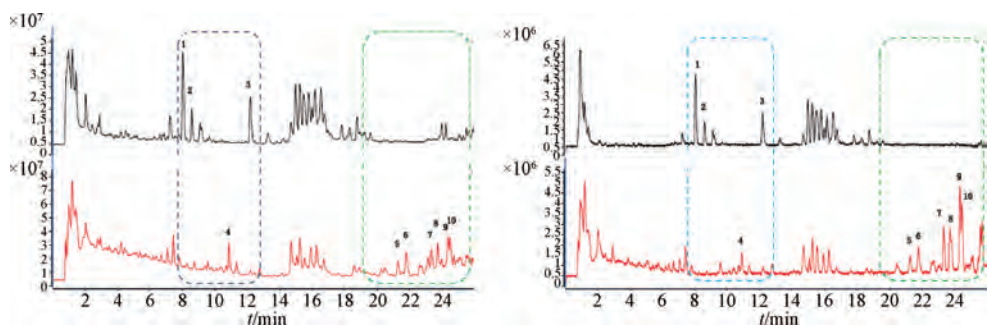


图 1 人参、紫红参 UPLC-MS 检测总离子流图 (TIC)

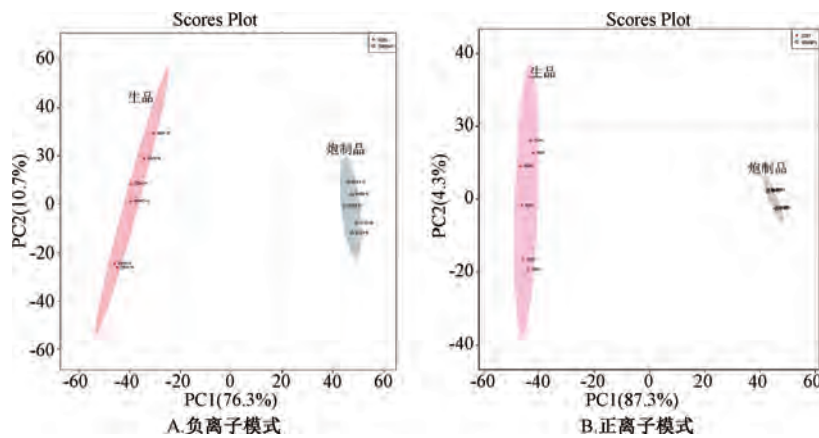


图 2 炮制前后人参药材的 PCA 得分图

“3.1.2”项下化合物鉴定结果，结合紫红参中英文文献研究，选择紫红参中含有而其原料药人参中所不具有或含量甚微的化合物人参皂苷 Ra1、人参皂苷 Rg3、人参皂苷 Rg5、人参皂苷 Rk1、姜状三七苷 R1、compound K、人参皂苷 Rh3、人参皂苷 Rs5^[7]等，获取其所对应的靶标蛋白

的 Uniprot ID，去除重复，共得到 158 个潜在靶点。“紫红参-成分-潜在靶点”可视化网络图见图 3，网络中包括 167 个节点和 262 条边，平均节点度值 3.138。节点的度值代表与该节点相连的边的数量，节点的度值越大，该节点在图中的大小也就越大，颜色也越深。

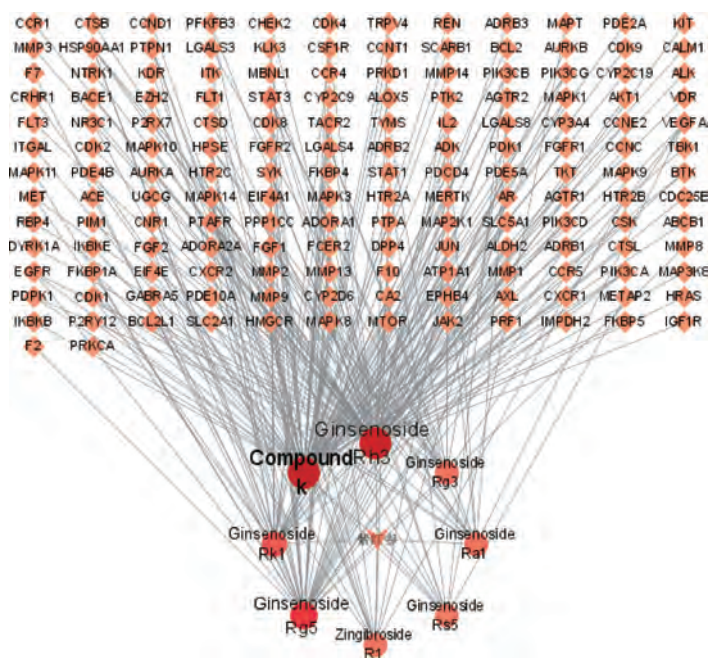


图 3 基于潜在质量标志物构建的“紫红参-成分-靶点”网络图

3.2.2 化合物蛋白-蛋白相互作用网络构建 将 8 个化合物筛选出的 158 个靶点进行 PPI 网络分析, 选择物种为“*Homo sapiens*”, 蛋白交互参数评分值为“high confidence>0.9”, 隐藏网络中无联系的节点, 其余参数设置不变, 获得化合物靶点 PPI 网络图 (图 4), 共获得 91 个节点, 347 条边, 平均节点度为 7.63, 预期边数 117, PPI 富集 P 值 $<1.0\times 10^{-16}$ 。再对 PPI 网络进行拓扑属性分析, 计算选取间隔度、亲密度、自由度值 3 个重要拓扑参数, 共筛选 24 个网络参数大于均值 (218.8、0.003、7.93) 的核心靶标 (图 5), 包括原癌基因 (JUN)、信号传导与转录激活因子 3 (STAT3)、血管内皮生长因子 A (VEGFA)、表皮生长因子 R (EGFR)、基质金属蛋白酶 2 (MMP2)、丝裂原活化蛋白激酶 1、3、8 (MAPK1、MAPK3、MAPK8) 等。

3.2.3 GO 功能和 KEGG 通路富集分析 根据错误发现率 (FDR) <0.05 , 共筛选出 2 973 条 GO 本体条目, 其中靶点经生物过程相关条目 2 464 条, 主要涉及转移酶活性的正

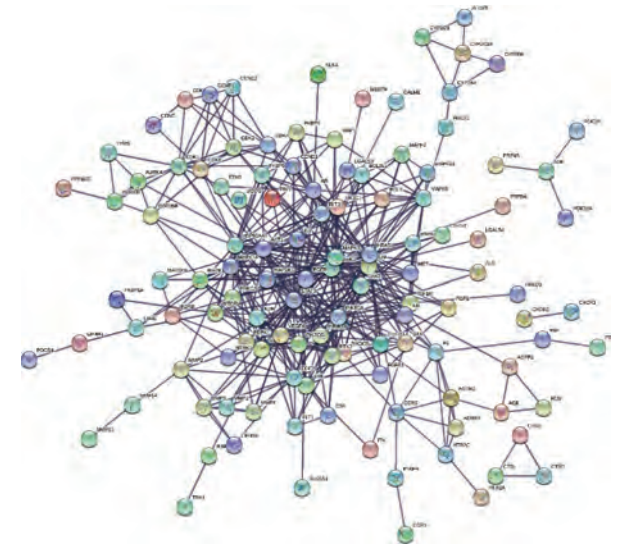


图 4 化合物靶点 PPI 网络图



图 5 核心靶点筛选

调控、蛋白质磷酸化的正调控、细胞对有机氮化合物的反应等; 细胞组分有 233 个条目, 主要涉及膜筏、膜微区、细胞-基底连接等; 分子功能有 276 个条目, 主要涉及蛋白丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、蛋白激酶活性、磷酸转移酶活性、激酶活性等, 各选取显著性前 10 条目展示,

见图 6。KEGG 通路富集分析得到 247 个条目, 结果仅显示显著性前 20 的条目, 主要涉及癌症通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、癌症中的 PD-L1 表达和 PD-1 检查点通路、催乳素信号通路、ErbB 信号通路、胰腺癌、乳腺癌、乙肝等, 见图 7。

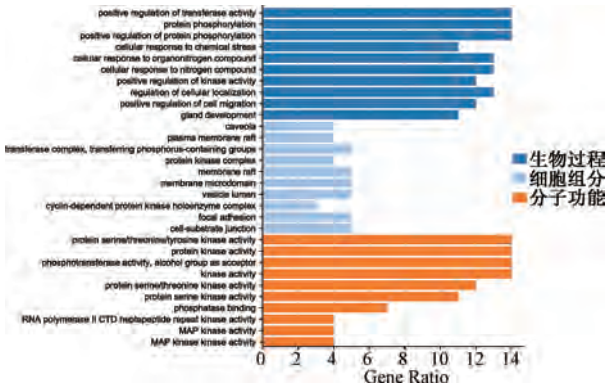


图 6 GO 富集分析

3.2.4 构建“紫红参-成分-靶标-通路”关联网络 根据筛选所得紫红参中 8 个潜在质量标志物作用与疾病相关的 24 个关键靶标及 20 个关键通路见表 2, “紫红参-成分-靶标-通路”的关联网络图见图 8, 其中包括 53 个节点和 472 边, 平均节点度值 17.8。节点的度值代表与该节点相连的边的数量, 节点的度值值越大, 该节点在图中的大小也就越大,

颜色也越深。由图 8 可知, STAT3、Akt1、MAPK1、MAPK3、EGFR、HRAS、PIK3CA 等靶点的连接度较高, 可能是紫红参发挥作用的关键靶点; 癌症通路、糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、癌症中的 PD-L1 表达和 PD-1 检查点通路、催乳素信号通路、ErbB 信号通路等 20 条信号通路可能是紫红参发挥药理活性的关键信号通路。

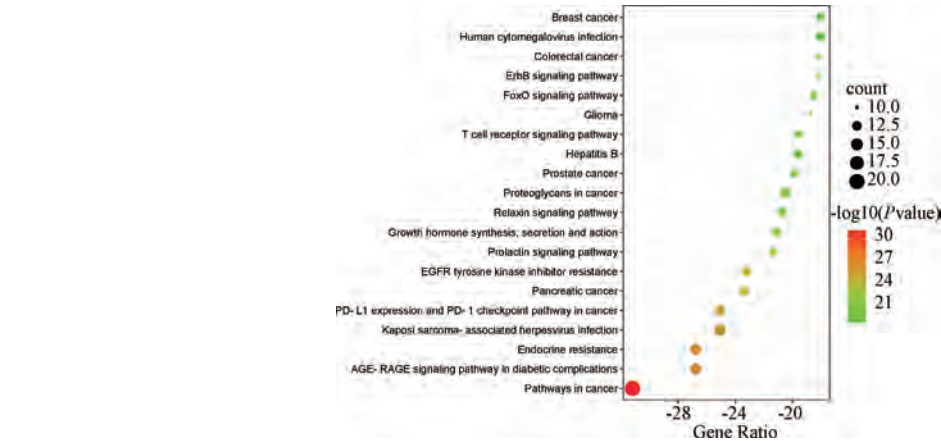


图 7 KEGG 富集分析

表 2 紫红参网络预测关键信号通路

编号	信号通路
hsa05200	癌症通路
hsa01522	内分泌抗性
hsa04933	糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路
hsa05167	卡波西肉瘤相关疱疹病毒感染
hsa05235	PD-L1 在癌症中的表达和 PD-1 检查点通路
hsa05212	胰腺癌
hsa01521	EGFR 酪氨酸激酶抑制剂耐药性
hsa04917	催乳素信号通路
hsa04935	生长激素的合成、分泌和作用
hsa04926	松弛素信号通路
hsa05205	癌症中的蛋白多糖
hsa05215	前列腺癌
hsa05161	乙肝
hsa04660	T 细胞受体信号通路
hsa05214	神经胶质瘤
hsa04068	FoxO 信号通路
hsa04012	ErbB 信号通路
hsa05210	结直肠癌
hsa05163	人巨细胞病毒感染
hsa05224	乳腺癌

3.3 成分-靶标的分子对接 选择度值排名前 3 的核心靶点 (STAT3、PTAFR、FGF1) 与主要差异性化合物进行分子对接, 以厄达替尼 Erdafitinib 为阳性对照药, 选取最低结合能组合, 见表 3。结果表明, 人参皂苷 Rg3、Rg5、Rh3 等与 3 个靶蛋白具有较强的结合能力, 见图 9, 其中结合能越小, 则结构稳定性越强, 对接的活性越好。

4 讨论与结论

经 UPLC-Q/TOF-MS 检测及多元统计分析解析发现, 紫红参中人参皂苷 Ra1、人参皂苷 Rg3、人参皂苷 Rg5、人参皂苷 Rk1、姜状三七苷 R1、compound K、人参皂苷 Rh3 等为其原料药人参中所不具有或含量甚微的稀有皂苷类成分。人参经反复蒸晒, 人参皂苷发生水解、脱羧、异构化等复杂的化学变化后, 转化或产生新的人参皂苷, 如 Rg3、Rg5、Rs4、Rs5、Rh2、Rh3、Rk1、Rk3、CK、F1 等^[7,18], 其中人参皂苷 Rg3^[19]、Rg5^[20]、Rk1^[21]、Rh2^[22]、Rh3^[23]、

CK^[24] 等具有显著药理活性。结合网络药理学及分子对接技术预测紫红参潜在的 Q-Marker, 将中药 Q-Marker 的研究思路与紫红参的炮制相结合, 阐明炮制过程中化学成分的变化及其对炮制前后药理活性差异的影响, 揭示紫红参炮制对 Q-Marker 的影响, 探寻紫红参潜在的 Q-Marker^[25]。

表 3 成分-靶标分子对接结果

靶标	PDB ID	活性成分	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
STAT3	5AX3	人参皂苷 Rg3	0. 42
		人参皂苷 Rg5	-1. 52
		人参皂苷 Rk1	-0. 22
		compound K	-1. 28
		人参皂苷 Rh3	-2. 73
PTAFR	5ZKQ	人参皂苷 Rs5	-0. 87
		人参皂苷 Rg3	-1. 86
		人参皂苷 Rh3	-5. 71
		人参皂苷 Rs5	-2. 19
FGF1	4QO3	人参皂苷 Rg3	-2. 50
		人参皂苷 Rg5	-3. 66
		人参皂苷 Rk1	-3. 15
		人参皂苷 Rs5	-2. 05

本实验在 UPLC-MS 鉴定的基础上选择差异性化合物人参皂苷 Rg3、Rg5、Rh3 等, 分别构建“紫红参-成分-靶点”及“紫红参-成分-核心靶点-通路”关系网, 经 GO、KFGG 富集分析, 发现紫红参可通过调控相关靶点, 包括 STAT1、VEGF、EGFR、MAPK1、磷 脂 酰 肌 醇-3-激 酶 亚 基 (PIK3CA)、蛋白激酶 (Akt1)、雷帕霉素机械靶蛋白 (MTOR) 等 24 个核心靶点, 作用于癌症通路、内分泌抵抗糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路、催乳素信号通路等。

有研究发现, 人参皂苷 Rg3 可能通过抑制 PI3K-Akt 信号通路, 调控其下游相关增殖和凋亡蛋白的表达, 抑制宫颈癌 HeLa 细胞增殖并促进其凋亡^[26]。人参皂苷 Rh2 可以通过竞争性结合 EGFR 而阻止受体磷酸化, 从而抑制 PI3K-Akt-mTOR 信号通路, 并最终抑制胶质细胞瘤生长^[27]。人参皂苷 Rg5 可通过抑制 Akt 信号通路的活化, 抑制癌细胞增殖、侵袭、迁移并诱导细胞周期阻滞和凋亡, 进而发挥

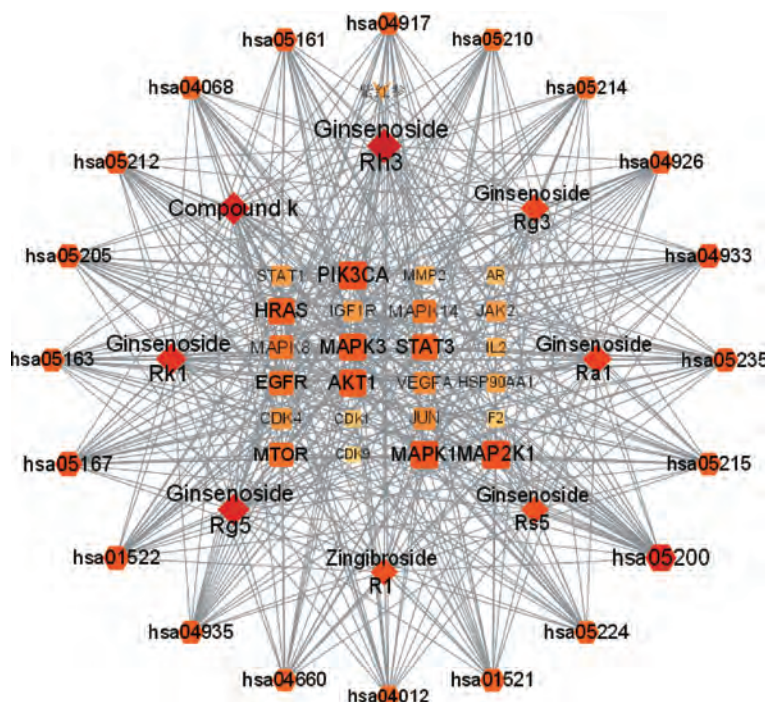


图 8 “紫红参-成分-核心靶点-通路” 网络图

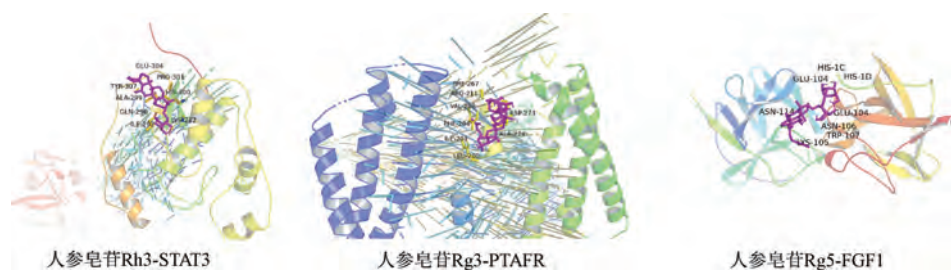


图 9 差异成分-关键靶标分子对接可视化

抗肿瘤作用^[28-29]。同样，人参皂苷 Rk1 能够通过抑制 ROS-PI3K-Akt 信号通路诱导乳腺癌细胞死亡^[30]；人参皂苷 CK 的抗癌及降糖作用也与 PI3K-Akt 信号通路有关^[24]。本研究表明，紫红参中差异性人参皂苷 Rg3、Rg5、Rk1、Ck 等对 Akt、EGFR、PI3K、mTOR、STAT 等蛋白产生作用，通过 PI3K-Akt-mTOR 信号通路、癌症通路等表现出抗乳腺癌、结肠癌、胰腺癌、肝癌等药理活性，与本实验中网络药理学及分子对接的预测相符合，人参皂苷 Rg3、Rg5 等具有紫红参潜在质量标志物的特性。

本研究筛选差异化合物可以作为紫红参潜在的 Q-Marker，可为紫红参后续药理作用及质量控制研究提供基础，有助于提高人参炮制产业的发展。

参考文献：

[1] Park H J, Shim H S, Kim K S, *et al.* The protective effect of black ginseng against transient focal ischemia-induced neuronal damage in rats[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2011, 15 (6): 333-338.

[2] Oh H B, Lee J W, Lee D E, *et al.* Characteristics of black ginseng (*Panax ginseng* C. A. Mayer) production using ginseng

stored at low temperature after harvest[J]. *Metabolites*, 2021, 11(2): 98.

[3] Jin Y, Kim Y J, Jeon J N, *et al.* Effect of white, red and black ginseng on physicochemical properties and ginsenosides [J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2015, 70(2): 141-145.

[4] 袁 媛, 于 艳, 徐荣培. HPLC 法测定 19 个人参新炮制品-黑参样品中的人参皂苷含量[J]. *辽宁中医杂志*, 2013, 40(10): 1993-1995.

[5] Kwon M J, Kim K J, Yang B W, *et al.* Optimal conditions for extracting the ginsenosides Rg3, Rg5, and Rk1 from black ginseng[J]. *J Food Nutr Res*, 2017, 5(3): 176-179.

[6] Wei W, Liu X K, Tao Y, *et al.* Saponin composition comparison of black ginseng and white ginseng by liquid chromatography-mass spectrometry combined with multivariate statistical analysis[J]. *Nat Prod Res*, 2022, 14: 1-5.

[7] 韩红亮, 周修腾, Garran T A, 等. 黑人参的炮制方法、化学成分和药理作用的研究进展[J]. *中草药*, 2022, 53 (3): 912-920.

[8] Jeong Y J, Hwang M J, Hong C O, *et al.* Anti-hyperglycemic and hypolipidemic effects of black ginseng extract containing increased Rh4, Rg5, and Rk1 content in muscle and liver of

type 2 diabetic db/db mice [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2020, 29(8): 1101-1112.

[9] Saba E, Jeon B R, Jeong D H, *et al.* Black ginseng extract ameliorates hypercholesterolemia in rats [J]. *J Ginseng Res*, 2016, 40(2): 160-168.

[10] Lee M R, Kim B C, Kim R, *et al.* Anti-obesity effects of black ginseng extract in high fat diet-fed mice [J]. *J Ginseng Res*, 2013, 37(3): 308-349.

[11] Kim S J, Kim A K. Anti-breast cancer activity of fine black ginseng (*Panax ginseng* Meyer) and ginsenoside Rg5 [J]. *J Ginseng Res*, 2015, 39(2): 125-134.

[12] Park M, Yoo J H, Lee Y S, *et al.* Ameliorative effects of black ginseng on nonalcoholic fatty liver disease in free fatty acideinduced HepG2 cells and high-fat/high-fructose diet-fed mice[J]. *J Ginseng Res*, 2020, 44(2): 350-361.

[13] Kim E H, Kim S W, Park S J, *et al.* Greater efficacy of black ginseng (CJ EnerG) over red ginseng against lethal influenza A virus infection[J]. *Nutrients*, 2019, 11(8): 1879.

[14] 陈 林, 郭建鹏. 黑参国内外研究进展[J]. 人参研究, 2019, 31(1): 42-46.

[15] 刘昌孝, 陈士林, 肖小河, 等. 中药质量标志物 (Q-Marker): 中药产品质量控制的新概念[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1443-1457.

[16] Zhang R Z, Zhu X, Bai H, *et al.* Network pharmacology databases for traditional chinese medicine: review and assessment[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 123.

[17] 李太平, 吴芳芳, 孙 晖, 等. 基于网络药理学和分子对接探究壮药鸡骨草治疗乙型肝炎的作用机制[J]. 现代药物与临床, 2022, 37(1): 33-41.

[18] Piao X M, Huo Y, Kang J P, *et al.* Diversity of ginsenoside profiles produced by various processing technologies [J]. *Molecules*, 2020, 25(19): 4390.

[19] Lee K H, Bae I Y, Park S I, *et al.* Antihypertensive effect of Korean red ginseng by enrichment of ginsenoside Rg3 and arginine-fructose[J]. *J Ginseng Res*, 2016, 40(3): 237-244.

[20] Liu J L, Liu Y H, Lin H Q, *et al.* The effect of ginsenoside Rg5, isolated from black ginseng, on heart failure in zebrafish based on untargeted metabolomics[J]. *J Funct Foods*, 2021, 76: 104325.

[21] Hu J N, Xu X Y, Jiang S, *et al.* Protective effect of ginsenoside Rk1, a major rare saponin from black ginseng, on cisplatin-induced nephrotoxicity in HEK-293 cells [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2020, 36(9): 732-740.

[22] Liu S L, Chen M R, Li P C, *et al.* Ginsenoside Rh2 inhibits cancer stem-likecells in skin squamous cell carcinoma[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(2): 499-508.

[23] Park Y S, Lee J E, Park J I, *et al.* Inhibitory mechanism of ginsenoside Rh3 on granulocyte-macrophage colony-stimulating factor expression in UV-B-irradiated murine SP-1 keratinocytes [J]. *J Ginseng Res*, 2020, 44(2): 274-281.

[24] Liu T, Zhu L, Wang L. A narrative review of the pharmacology of ginsenoside compound K [J]. *Ann Transl Med*, 2022, 10(4): 234.

[25] 孙嘉辰, 李 霞, 王 莹, 等. 中药加工炮制过程中质量标志物的研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(10): 2593-2602.

[26] 马 欢, 张贤雨, 张 飞, 等. 人参皂苷 Rg3 对宫颈癌 HeLa 细胞增殖抑制和凋亡以及 PI3K/Akt 信号通路的影响 [J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2020, 23(6): 585-589.

[27] Li S Y, Guo W C, Gao Y, *et al.* Ginsenoside Rh2 inhibits growth of glioblastoma multiforme through mTOR [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(4): 2607-2612.

[28] Liu Y N, Fan D D. Ginsenoside Rg5 induces apoptosis and autophagy *via* the inhibition of the PI3K/Akt pathway against breast cancer in a mouse model [J]. *Food Funct*, 2018, 9(11): 5513-5527.

[29] 郭 慧, 刘鹏飞. 人参皂苷 Rg5 通过抑制蛋白激酶 B 信号通路调控肝癌 HepG2 细胞生物学行为 [J]. 安徽医药, 2021, 25(6): 1095-1099; 1275.

[30] Hong Y N, Fan D D. Ginsenoside Rk1 induces cell death through ROS-mediated PTEN/PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in MCF-7 cells[J]. *J Funct Foods*, 2019, 57: 255-265.