

基于数据挖掘和网络药理学的三七保健品组方规律及增强免疫力保健功能研究

刘树森¹, 王 敏², 刘永铭³, 肖海燕², 叶景学², 曹 丽², 李文兰^{1*}, 孙桂波^{2*}

1. 哈尔滨商业大学药学院, 黑龙江 哈尔滨 150076

2. 中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所, 中药(天然药物)创新药物研发北京市重点实验室, 北京 100193

3. 上海中医药大学附属曙光医院 石氏伤科医学中心, 上海 201203

摘要: **目的** 通过数据挖掘、网络药理学及分子对接技术分析含三七的保健食品的组方规律并对其潜在的机制进行研究。**方法** 通过检索国家市场监督管理总局及药智网含三七的保健食品, 采用频数统计和关联规则等方法分析基本信息及组方规律。通过检索 TCMSP 等数据库、整理相关文献获得三七相关化学成分及潜在靶点; 根据保健功能频次分析结果, 从 GeneCards 等数据库中筛选相关的潜在靶点信息; 借助 R 语言相关软件包、String 数据库、Cytoscape 软件等筛选出关键成分和关键靶点。随后进行蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络分析, 根据度 (degree) 值筛选出核心靶点, 并进行基因本体 (gene ontology, GO) 和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。最后, 利用分子对接技术验证核心靶点和关键成分的作用亲和力。**结果** 共收集含三七保健食品 345 个, 保健功能频次出现最多的是有助于增强免疫力。获得三七相关化学成分 684 个, 其中有效成分 339 个及靶基因 2 078 个, 获得免疫力相关的潜在靶点 2 076 个; 通过三七和免疫力相关靶基因取交集, 得到关键靶点 434 个, 三七增强免疫力的核心靶点 10 个; 三七通过细胞因子产生的正向调节等过程及磷脂酰肌醇-3-羟激酶 (phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K) /蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 等信号通路起到提高免疫力的作用。分子对接结果也提示三七的关键成分与核心靶点能自发稳定地结合。**结论** 通过数据挖掘、网络药理学和分子对接研究, 分析了含三七的保健食品相关信息, 初步揭示三七增强免疫力的潜在靶点与机制通路, 为三七后续产品的研发提供了理论依据。

关键词: 三七; 保健食品; 数据挖掘; 网络药理学; 增强免疫力; 人参皂苷 Rg₁; 人参皂苷 Rb₁; 三七皂苷 R₁; 三七素; 槲皮素
中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)01-0205-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.01.021

Formulation rule and function of enhancing immunity of *Notoginseng Radix et Rhizoma*-containing health products based on data mining and network pharmacology

LIU Shusen¹, WANG Min², LIU Yongming³, XIAO Haiyan², YE Jingxue², CAO Li², LI Wenlan¹, SUN Guibo²

1. School of Pharmacy, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

2. Beijing Key Laboratory of Innovative Drug Discovery of Traditional Chinese Medicine (Natural Medicine) and Translational Medicine, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

3. Shi's Center of Orthopedics and Traumatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: Objective To analyze the formulation rules of Sanqi (*Notoginseng Radix et Rhizoma*)-containing health products and investigate the potential mechanisms through data mining, network pharmacology, and molecular docking techniques. **Methods** By searching the *Notoginseng Radix et Rhizoma*-containing health products from the State Administration for Market Regulation

收稿日期: 2023-10-20

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2021-I2M-1-031); 云南省科技厅科技计划项目 (202102AA310048); 黑龙江省重点研发计划项目 (2022ZX02C08)

作者简介: 刘树森, 硕士研究生, 中药研究方向为中药药效物质基础与中药药理学研究。E-mail: lsshrbcu@163.com

*通信作者: 李文兰, 教授, 主要研究方向为中药药效物质与质量评价研究。E-mail: lwlzd@163.com

孙桂波, 教授, 主要研究方向为中药及复方药效基础及分子机制研究。E-mail: sunguibo@126.com

and MedSciNet, the basic information and formulation rules were analyzed using frequency statistics and association rules. By searching TCMSP and other databases and reviewing relevant literature, the chemical components and potential targets of *Notoginseng Radix et Rhizoma* were obtained. Based on the frequency analysis of health functions, relevant potential target information was selected from databases such as GeneCards. The key components and target were screened using R language software packages, String database, and Cytoscape software. Protein-protein interaction (PPI) network analysis was then conducted, and core target were screened based on degree values. Gene ontology (GO) functional annotation and Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were performed. Finally, molecular docking was used to verify the binding affinity of core target and key components. **Results** A total of 345 cases of *Notoginseng Radix et Rhizoma*-containing health products were collected. The most frequently mentioned health function was immune enhancement. A total of 684 chemical components related to *Notoginseng Radix et Rhizoma* were identified, including 339 effective components and 2 078 targets. A total of 2 076 potential target genes related to immune enhancement were obtained. By intersecting the genes related to *Notoginseng Radix et Rhizoma* and immune enhancement, 434 key target genes were identified, and 10 core targets for immune enhancement by *Notoginseng Radix et Rhizoma* were obtained. *Notoginseng Radix et Rhizoma* has an effect on immune enhancement through processes such as positive regulation by cytokines and signaling pathways such as phosphatidylinositol-3-hydroxykinase (PI3K)/protein kinase B (Akt). Molecular docking results also indicated a stable binding between the key components of *Notoginseng Radix et Rhizoma* and the core targets. **Conclusion** Through data mining, network pharmacology, and molecular docking research, this study analyzed the relevant information of *Notoginseng Radix et Rhizoma*-containing health products, preliminarily revealing the potential targets and mechanism pathways of immune enhancement by *Notoginseng Radix et Rhizoma*, providing a theoretical basis for the development of future *Notoginseng Radix et Rhizoma* products.

Key words: *Notoginseng Radix et Rhizoma*; health products; data mining; network pharmacology; immune enhancement; ginsenoside Rg₁; ginsenoside Rb₁; notoginseng saponin R₁; dencichine; quercetin

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎, 是我国云南特有的名贵中药材, 也是可用于保健食品的物品^[1], 其具有化瘀止血、活血定痛等功效^[2]。三七中的主要化学成分包括皂苷类、多糖、黄酮类、挥发油类、氨基酸类、甾醇、无机物、油脂等^[3]。三七的现代药理学研究主要集中于心脑血管疾病、癌症和伤口愈合等方面, 发现三七及其主要成分在抗氧化、抗炎、抗凋亡、抗血栓形成、神经保护、保护脑组织免受缺血再灌注损伤、促进血管新生等方面有良好作用^[4-8]。随着近些年三七及其主要成分在免疫相关疾病的研究日益增多, 三七在增强免疫力方面表现出良好作用^[9]。

三七作为滋补品的理念深入人心, 自 2002 年卫生部颁布了可用于保健食品的物品名单开始, 三七市场需求广阔, 以其为原料的保健食品逐渐增多, 同时也取得了良好的效果^[9-11]。为了更加明确地解析三七保健品组方规律, 探究三七保健功能的作用机制, 本研究以含三七的保健食品为研究对象, 运用数据挖掘、网络药理学及分子对接技术研究含三七保健食品的组方规律及其保健功能的作用机制, 以期三七相关产品的研发提供理论依据与参考。

1 资料与方法

1.1 数据来源及检索方法

本研究以“三七”为检索词, 检索国家市场监督管理总局特殊食品信息查询平台 (<http://ypzsx.gsxt.gov.cn/specialfood/#/food>) 及药智网 (<https://db.yaozh.com/>), 检索截至时间为 2023 年 9 月 30 日。

1.2 纳入与排除标准

①具有明确保健功能的保健食品; ②具有明确主要原料的保健食品; ③保健功能符合允许保健食品声称的保健功能目录非营养素补充剂 (2023 年版) (https://www.samr.gov.cn/zw/zfxgk/fdzdgknr/tssps/aar/2023/art_491d5c9de75e425c8cd0203027af1d93.html); ④重复注册的保健食品, 仅纳入 1 次。排除不符合上述标准的内容。

1.3 数据规范化

①保健功能参考允许保健食品声称的保健功能目录非营养素补充剂 (2023 年版) 进行规范, 如“免疫调节”统一归类为“有助于增强免疫力”, “降血脂”“降低血脂水平”统一归类为“有助于维持血脂 (胆固醇/三酰甘油) 健康水平”。②原料提取物统一规范为中药原料, 参考《中国药典》2020 年版^[2]及《中华本草》^[12]对中药名称、功效、四气、五味、归经、剂型进行规范; 如“三七提取物”统一规范为

“三七”；“生黄芪”“炙黄芪”统一规范为“黄芪”。③剔除配方中的辅料及化学成分，如“壳聚糖”“微晶纤维素”“葡萄糖酸锌”。④参考常见不适宜人群，进行不适宜人群数据规范，如“哺乳期妇女”统一规范为“乳母”。

1.4 数据库构建

采取双人背靠背独立录入方法，且双人背靠背核对后，对数据进行规范化，分别将产品名称、剂型、主要原料（含功效、四气、五味、归经）、保健功能、适宜人群、不适宜人群统一录入 IBM SPSS Statistics 23.0、中医传承计算平台 V3.5，由第 3 人进行数据的整合和处理，确保数据准确，形成含三七的保健食品数据库。

1.5 数据分析

采用 IBM SPSS Statistics 23.0 分析中药频次、功效、四气、五味、归经、剂型、保健功能、适宜人群与不适宜人群。采用中医传承计算平台 V3.5 软件中的方剂分析模块，进行组方规律分析。

1.6 网络药理学研究

1.6.1 三七活性成分及靶基因的收集与筛选 以“三七”为关键词，在 TCMSp 数据库 (<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)、SymMap 数据库 (<http://www.symmap.org/>)、TCMID 数据库 (<https://bidd.group/TCMID/>)、HERB 数据库 (<http://herb.ac.cn/>)、ETCM 数据库 (<http://www.tcmip.cn/ETCM/index.php/>)、HIT 数据库 (<http://hit2.badd-cao.net/>)、TCMIP 数据库 (<http://www.tcmip.cn/TCMIP/index.php/>) 中检索收集三七的化学成分和作用靶点信息，检索中国知网、PubMed 等网站三七相关文献补充上述数据库未收录的化学成分和作用靶点信息。删除重复的化学成分，收录不完整的信息通过化学专业数据库 (<https://orgchem.csdb.cn>) 和 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) 进行补充。使用 SwissTargetPrediction 平台 (<http://www.Swisstarget-prediction.ch/>) 获取三七活性成分的作用靶点，整理删除重复靶点后，通过 Uniprot 数据库 (<https://www.uniprot.org/>) 获得标准化基因名。

1.6.2 保健功能潜在靶点的筛选 以“1.5”项数据挖掘研究得到的最主要的保健功能作为关键词，分别在 GeneCards 数据库 (<https://www.genecards.org/>)、PathCards 数据库 (<https://pathcards.genecards.org/>)、DrugBank 数据库 (<https://go.drugbank.com/>) 检索与保健功能相关的疾病蛋白靶点。将上述数据

库中收集到的靶点合并去重后，通过 Uniprot 数据库获得标准化基因名，作为保健功能潜在靶点。

1.6.3 三七保健功能关键靶点的获取 将三七活性成分潜在靶点与保健功能潜在靶点取交集获得共同靶点，作为三七保健功能的关键靶点。使用 R 语言的 VennDiagram 软件包^[13]绘制韦恩图可视化展示，获得三七保健功能交集靶点图。

1.6.4 蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建及核心靶点筛选 将三七保健功能关键靶点基因导入 STRING 网站 (<https://cn.string-db.org/>)，选择蛋白种类为“homo sapiens”，设置 required score 为 medium confidence (0.400)，并去除游离节点，在线预测各基因间的相互联系。使用 Cytoscape 3.10.0 软件中的 CytoHubba 插件^[14]对 PPI 网络进行可视化，然后根据 degree 值大小筛选核心靶点。

1.6.5 基因本体 (gene ontology, GO) 功能注释和京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 信号通路富集分析 使用 R 语言的 clusterProfiler 软件包^[15]，对三七保健功能关键靶点基因分别进行 GO 生物学过程 (biological process, BP)、分子功能 (molecular function, MF) 和细胞定位 (cellular component, CC) 分析和 KEGG 信号通路富集分析，借助 ggplot2 软件包^[16]进行可视化处理。

1.6.6 分子对接验证 结合实验结果并参考现有文献，选取三七中含量最高和最主要的成分，从 PubChem 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound>) 中下载相应的 sdf 格式文件。从 PDB 数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 和 Uniprot 数据库 (<http://www.uni-prot.org/>) 下载核心靶点的高解析精度 (<0.250 nm) 蛋白质三维结构数据；通过去除原始配体、去除水分子、分离蛋白质、添加氢原子对蛋白质三维结构进行优化。将筛选的关键成分和核心靶点信息输入 AutoDock Vina 2.0 (The Scripps Research Institute, Molecular Biology, CA, 美国) 软件，进行分子对接，结合能负值越大，对接构象越稳定，自发结合能力越强。

2 结果

通过检索共得到 345 种含三七的保健食品，其中国产保健食品 342 种，进口保健食品 3 种；参考纳入与排除标准，共计 322 种保健食品纳入统计分析，其中剂型共计 323 种（一种保健食品同时申报

了 2 种剂型的, 2 种剂型均纳入统计), 主要原料单独为三七的 26 种。

2.1 中药频次、功效、四气、五味、归经

纳入的 322 种保健食品涉及 131 种中药原料, 共计频次为 1 256 次, 使用频次≥40 次的分别为三

七 (322 次)、丹参 (60 次)、西洋参 (59 次)、葛根 (52 次)、黄芪 (49 次)、银杏叶 (45 次)、灵芝 (45 次)、山楂 (40 次); 将使用频次大于平均值 9.59 次的中药作为高频原料, 共计 25 味, 具体结果见表 1。

表 1 含三七的保健食品配方中原料频数统计 (频次>9)

Table 1 Frequency statistics of raw materials in health products containing *Notoginseng Radix et Rhizoma* (frequency > 9)

序号	原料名称	频次	使用频率/%	序号	原料名称	频次	使用频率/%
1	三七	322	100.00	14	决明子	18	5.59
2	丹参	60	18.63	15	红景天	17	5.28
3	西洋参	59	18.32	16	蜂蜜	16	4.97
4	葛根	52	16.15	17	淫羊藿	15	4.66
5	黄芪	49	15.22	18	桑叶	14	4.35
6	银杏叶	45	13.98	19	苦瓜	13	4.04
7	灵芝	45	13.98	20	泽泻	12	3.73
8	山楂	40	12.42	21	五味子	12	3.73
9	枸杞子	33	10.25	22	当归	11	3.42
10	人参	31	9.63	23	何首乌	11	3.42
11	绞股蓝	29	9.01	24	荷叶	10	3.11
12	黄精	19	5.90	25	酸枣仁	10	3.11
13	茯苓	18	5.59				

中药功效包括补虚药 (412 次)、止血药 (327 次)、活血化瘀药 (163 次)、解表药 (79 次)、清热药 (61 次)、安神药 (55 次)、消食药 (44 次)、利水渗湿药 (35 次)、平肝息风药 (26 次)、收涩药 (20 次)、理气药 (11 次)、化痰止咳平喘药 (11 次)、泻下药 (7 次)、化湿药 (7 次)、温里药 (6 次)、攻毒杀虫止痒药 (3 次)、祛风湿药 (1 次)、开窍药 (1 次), 共计 18 个种类。四气以温 (588 次)、平 (266 次) 为主; 五味以甘 (1 032 次)、苦 (728 次) 为主; 归经以肝经 (739 次)、胃经 (516 次)、肺经 (459 次) 为主, 具体见图 1。

2.2 剂型

322 种纳入统计的含三七的保健食品中, 涉及 9 种剂型, 以胶囊剂 (213 次)、片剂 (52 次) 为主, 也包括颗粒剂 (16 次)、口服溶液剂 (16 次)、茶剂 (14 次)、酒剂 (8 次)、丸剂 (2 次)、口服散剂 (1 次)、煎膏剂 (1 次)。

2.3 保健功能

纳入的 322 种保健食品各保健功能出现的频次共计 413 次, 其中频次≥40 的分别为有助于增强免疫力 (101 次)、有助于维持血脂 (胆固醇/三酰甘油) 健康水平 (99 次)、缓解体力疲劳 (43 次), 具体见图 2。

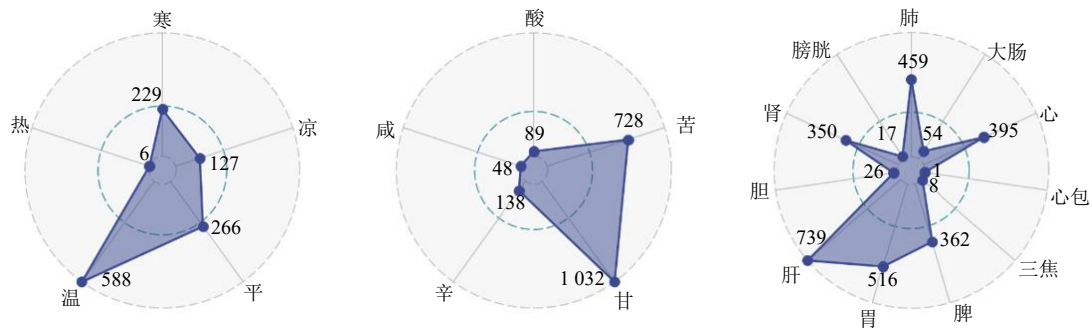


图 1 含三七的保健食品配方中原料四气、五味、归经雷达图

Fig. 1 Radar plot of four *qi*, five flavors, meridian distribution of raw materials in health products containing *Notoginseng Radix et Rhizoma*

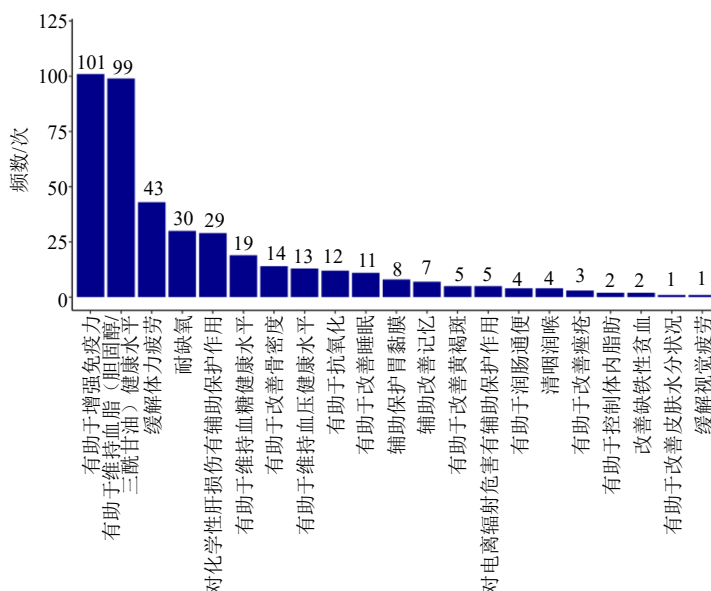


图 2 含三七的保健食品的保健功能频数统计

Fig. 2 Frequency statistics of health-care functions of health products containing *Notoginseng Radix et Rhizoma*

2.4 适宜人群与不适宜人群

纳入的 322 种保健食品适宜人群累计 418 次，其中免疫力低下者（100 次）、血脂偏高者（97 次）、易疲劳者（44 次）、处于缺氧环境者（30 次）、中老年人（29 次）、有化学性肝损伤危险者（28 次）、血糖偏高者（19 次）、血压偏高者（14 次）、睡眠状况不佳者（11 次）、需要改善记忆者（7 次）、轻度胃黏膜损伤者（7 次）、有黄褐斑者（5 次）、接触辐射者（5 次）、咽部不适者（4 次）、便秘者（4 次）、有痤疮者（3 次）、单纯性肥胖者（3 次）、营养性贫血者（2 次）、视力易疲劳者（1 次）、缺氧耐受力低下者（1 次）、营养性贫血者的成年女性（1 次）、接触致突变物质者（1 次）、皮肤干燥者（1 次）、胃黏膜损伤者（1 次）。不适宜人群累计 844 次，其中少年儿童（313 次）、孕妇（243 次）、乳母（221 次）、慢性腹泻者（23 次）、月经过多者（7 次）、肝病家族史者（6 次）、肝功能不全者（5 次）、酒精过敏者（3 次）、月经期妇女（3 次）、血液病患者（2 次）、有出血倾向者（2 次）、高尿酸者（1 次）、出血性疾病患者（1 次）、心脑血管疾病患者（1 次）、蜂产品过敏者（1 次）、过敏体质者（1 次）、有溶血倾向者（1 次）、花粉过敏者（1 次）、蜂蜜过敏者（1 次）、有出血性倾向者（1 次）、糖尿病患者（1 次）、苯酮尿症患者（1 次）、急性脑出血患者（1 次）、感冒发热者（1 次）、血管扩张症患者（1 次）、乳糖不耐受

者（1 次）、肾功能不全者（1 次）。

2.5 含三七的保健食品及不同保健功能的保健食品中核心原料组合

剔除单味三七组成的保健食品，共纳入 296 种保健食品，使用中医传承计算平台 V3.5 方剂分析-关联规则模块，设置支持度为 25、置信度为 100%，进行关联规则分析，见表 2；同时使用网络拓扑模块绘制原料关系图，见图 3-a。

剔除单味三七组成的保健食品，共计纳入 90 种有助于增强免疫力的保健食品，使用中医传承计算平台 V3.5 方剂分析-关联规则模块，设置支持度为 10，置信度为 100%，进行关联规则分析，见表 2；同时使用网络拓扑模块绘制原料关系图，见图 3-b。共计纳入 90 种有助于维持血脂（胆固醇/三酰甘油）健康水平的保健食品，使用中医传承计算平台 V3.5 方剂分析-关联规则模块，设置支持度为 10，置信度为 100%，进行关联规则分析，见表 2；同时使用网络拓扑模块绘制药物关系图，见图 3-c。

2.6 网络药理学研究结果

2.6.1 三七活性成分及靶基因的收集与筛选 通过各数据库及检索到的三七相关文献，共收集到三七相关化学成分 684 个，去除不规范名称、SwissTargetPrediction 平台无法识别信息的数据后，得到 339 个三七有效成分，并且获得三七有效成分的预测靶标 2 078 个。

表 2 含三七的保健食品和不同保健功能的保健食品中高频原料关联规则分析
Table 2 Analysis of association rules of high-frequency raw materials in health products containing *Notoginseng Radix et Rhizoma* and health products with different health functions

关联规则	前项	后项	频数	置信度/%	关联规则	前项	后项	频数	置信度/%
含有三七	丹参	三七	60	100.00	有助于提高免疫力	丹参	三七	12	100.00
	西洋参	三七	58	100.00		人参	三七	12	100.00
	葛根	三七	52	100.00		西洋参、灵芝	三七	11	100.00
	黄芪	三七	48	100.00	有助于维持血脂（胆固醇/三酰甘油）健康水平	山楂	三七	35	100.00
	银杏叶	三七	45	100.00		银杏叶	三七	34	100.00
	灵芝	三七	44	100.00		丹参	三七	32	100.00
	山楂	三七	40	100.00		绞股蓝	三七	22	100.00
	枸杞子	三七	33	100.00		葛根	三七	17	100.00
	人参	三七	30	100.00		山楂、丹参	三七	13	100.00
	绞股蓝	三七	29	100.00		山楂、银杏叶	三七	13	100.00
	灵芝	三七	33	100.00		决明子	三七	13	100.00
	西洋参	三七	32	100.00		丹参、绞股蓝	三七	12	100.00
有助于提高免疫力	黄芪	三七	25	100.00		银杏叶、丹参	三七	12	100.00
	枸杞子	三七	20	100.00		银杏叶、葛根	三七	10	100.00
	银杏叶	三七	13	100.00		荷叶	三七	10	100.00

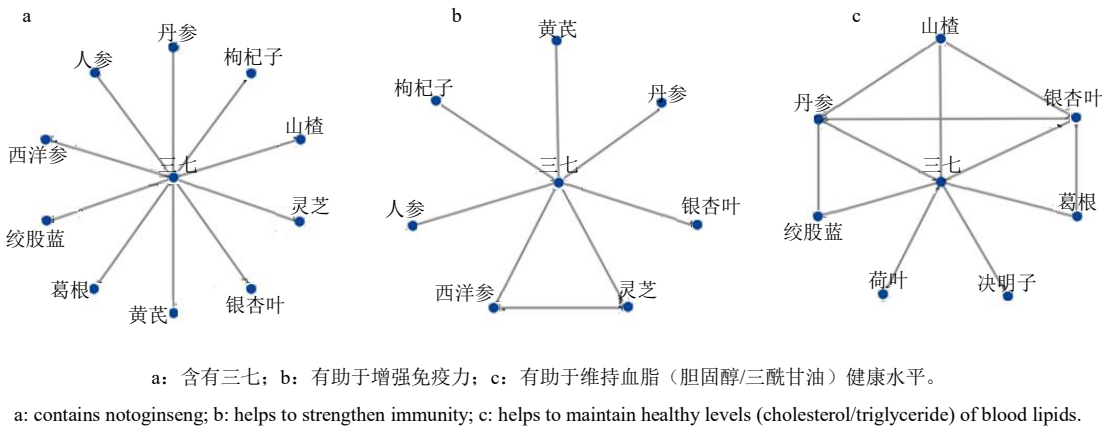


图 3 含三七的保健食品和不同保健功能的保健食品中高频原料关系
Fig. 3 Relationship between high frequency raw materials in health products containing *Notoginseng Radix et Rhizoma* and health products with different health functions

2.6.2 保健功能潜在靶点的筛选 上述“2.3”项中得到的保健功能中频次最高的是有助于增强免疫力(101 次); 剔除单味三七组成的保健食品后进行的高频原料关联规则分析中出现次数最高的保健功能为有助于增强免疫力(90 次)和有助于维持血脂(胆固醇/三酰甘油)健康水平(90 次)。考虑到有助于增强免疫力的保健功能频次最高, 且已有研究对三七有助于维持血脂(胆固醇/三酰甘油)健康水平进行了相关探讨^[17-18], 故本研究选择三七有助于增强免疫力的保健功能进行后续网络药理学研究。

检索 GeneCards 数据库、PathCards 数据库及 DrugBank 数据库中免疫力相关靶点, 然后去除重复靶点, 通过 Uniprot 数据库规范和标准化靶点的基因名, 共得到 2 076 个免疫力相关靶点。
2.6.3 关键靶基因筛选和 PPI 网络分析 采用三七靶基因、免疫力相关靶基因绘制 Venn 图, 见图 4, 获得 434 个共同靶点, 即三七增强免疫力的关键靶点。采用 434 个共同靶点构建的 PPI 网络图一共具有 431 个节点和 11 241 条边, 见图 5。通过 Cytoscape 软件中的 cytoHubba 插件进行拓扑学参数筛选,

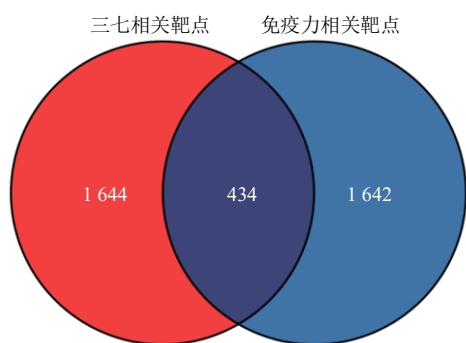


图 4 三七和免疫力相关共同靶基因 Venn 图

Fig. 4 Venn diagram of common target genes related to *Notoginseng Radix et Rhizoma* and immunity

以度 (degree) 值排序得到三七增强免疫力的 10 个核心靶点, 分别为肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、RAC- α 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (RAC-alpha serine/threonine-protein kinase, AKT1)、肌动蛋白 (beta-actin, ACTB)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL1B)、原癌基因酪氨酸蛋白激酶 (Proto-oncogene tyrosine-protein kinase, SRC)、信号转导和转录激活因子 3 (signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、细胞肿瘤抗原 p53 (cellular tumor antigen p53, TP53)、T 细胞表面糖蛋白 CD4 (T-cell surface glycoprotein CD4, CD4)、Toll 样受体 4 (Toll-like

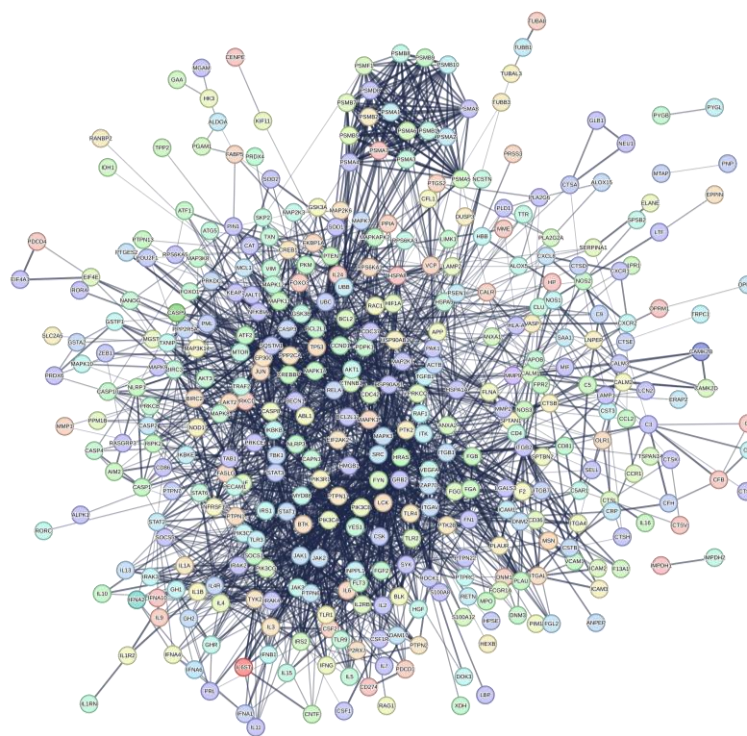


图 5 三七和免疫力相关共同靶基因 PPI 网络

Fig. 5 PPI network of common target genes related to *Notoginseng Radix et Rhizoma* and immunity

receptor 4, TLR4)。它们是三七增强免疫力的核心靶点。

2.6.4 关键靶点基因 GO 功能及 KEGG 富集分析
在 GO 富集分析结果中, 三七增强免疫力从生物学过程方面得到 2 968 个条目, 主要富集在细胞因子产生的正向调节 (positive regulation of cytokine production)、白细胞增殖 (leukocyte proliferation)、白细胞细胞间黏附 (leukocyte cell-cell adhesion) 等方面; 在分子功能方面得到 537 个条目, 涉及细胞因子受体结合 (cytokine receptor binding)、蛋白质

丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性 (protein serine/threonine/tyrosine kinase activity)、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性 (protein serine/threonine kinase activity) 等方面; 在细胞定位中得到 164 个条目, 涉及到小泡腔 (vesicle lumen)、细胞质小泡腔 (cytoplasmic vesicle lumen)、分泌颗粒腔 (secretory granule lumen) 等; 各功能结果按照排序选取前 10 条, 具体见图 6。

对三七增强免疫力的关键靶点基因进行 KEGG 通路分析, 富集得到 283 条 KEGG 通路; 去除如乙

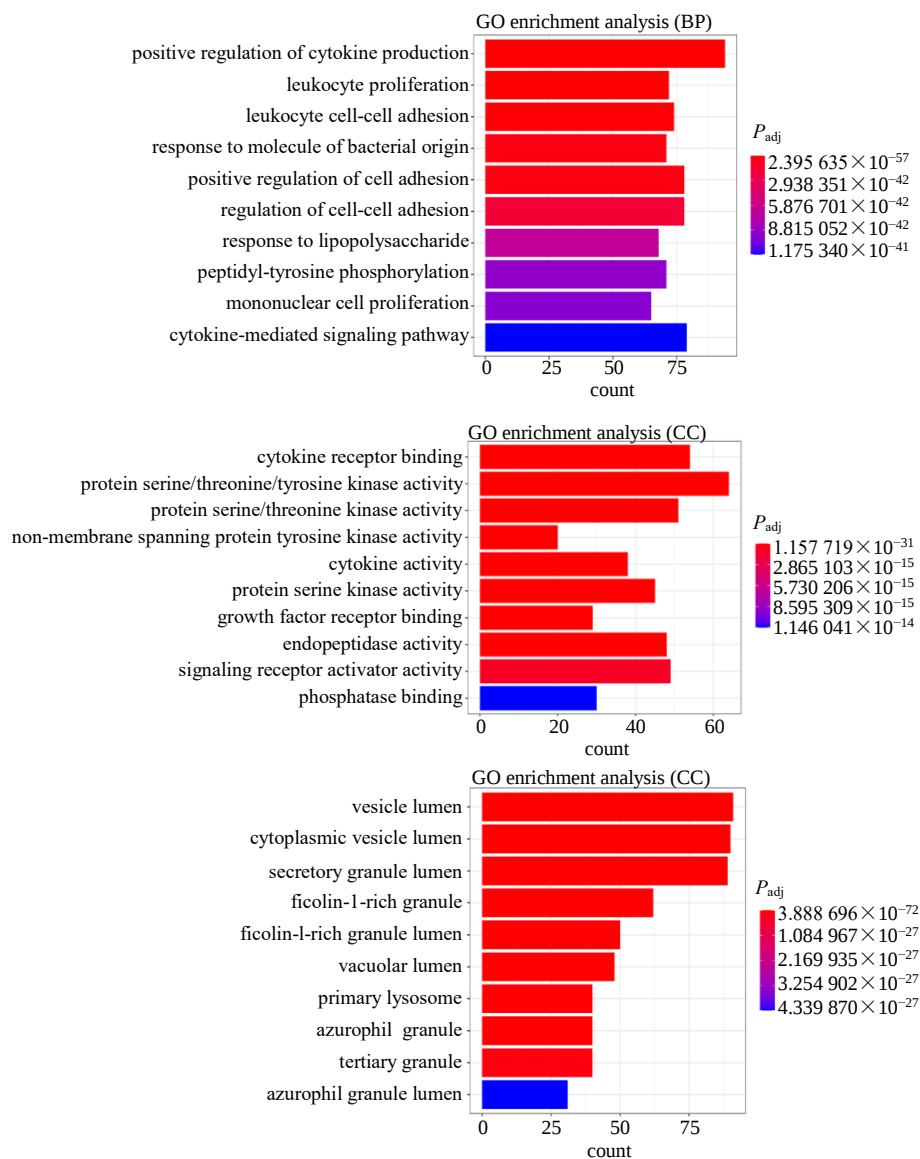


图 6 关键靶点 GO 富集分析 (前 10)

Fig. 6 Top 10 results of GO enrichment analysis for key targets

型肝炎 (hepatitis B)、肺结核 (tuberculosis) 等与三七增强免疫力不相关的通路, 得到三七增强免疫力的关键通路。排序前 30 的核心通路如图 7 所示。

2.7 分子对接验证结果

根据文献检索与数据库的整理结果, 参考《中国药典》2020 年版, 选择作为三七含量检测对照品的 3 个苷类成分: 人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 、三七皂苷 R_1 , 及最主要的非皂苷类成分三七素、三七根部中含量最多的黄酮类成分槲皮素作为三七的关键成分^[2-3,6]。采用分子对接技术对三七关键成分 (人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 、三七皂苷 R_1 、三七素、槲皮素) 与核心靶点 (TNF、AKT1、ACTB、IL6、

IL1B、SRC、STAT3、TP53、CD4、TLR4) 的结合情况进行验证。如图 8 所示, 人参皂苷 R_{g1} 、人参皂苷 R_{b1} 、三七皂苷 R_1 、三七素、槲皮素与核心靶点亲和力较好, 能自发结合。在最佳模式下, 三七关键成分与核心靶点的结合能见表 3。

3 讨论

本研究纳入统计的 345 种含三七的保健食品中, 有 26 种是单独使用三七作为主要原料的保健品, 其余的保健食品中中药原料中以补虚药、止血药和活血化瘀药为主; 药性以温居多, 兼有平、寒; 药味以甘、苦为主, 主归肝、胃、肺经。补虚药是能补虚扶弱, 纠正人体气血阴阳虚衰的病理偏向, 以治疗虚证

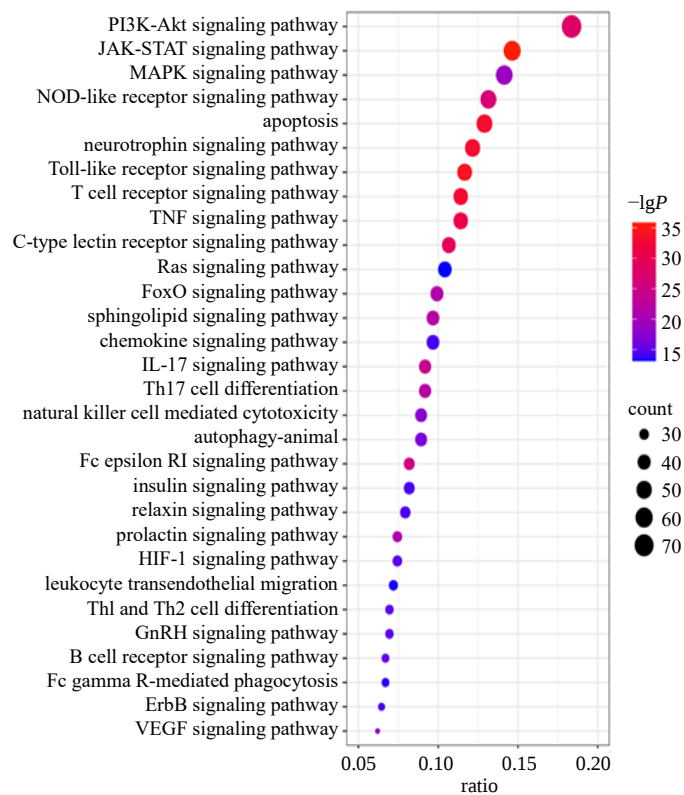


图 7 关键靶点 KEGG 通路富集分析 (前 30)

Fig. 7 Top 30 results of KEGG pathway enrichment analysis for key targets

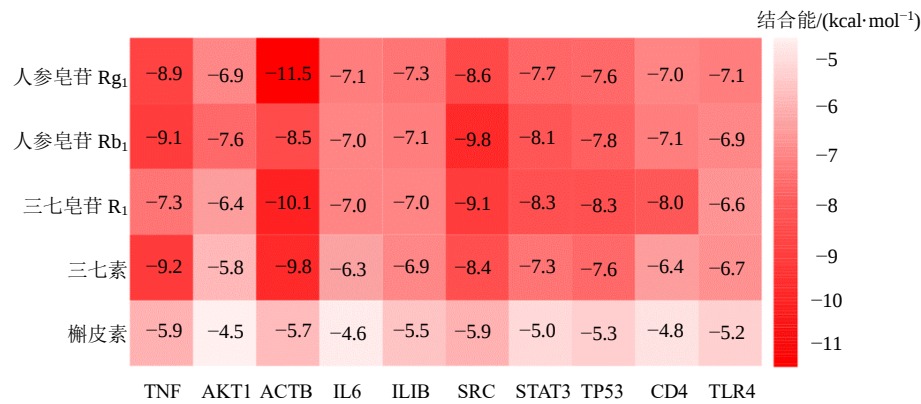


图 8 三七关键成分与核心靶点分子对接热图

Fig. 8 Molecular docking heat map of key components of *Notoginseng Radix et Rhizoma* with core target points

表 3 三七关键成分与核心靶点的结合能

Table 3 Binding energy between key components of <i>Notoginseng Radix et Rhizoma</i> and core target points		结合能/(kcal·mol ⁻¹)									
关键成分	CAS No.	TNF	AKT1	ACTB	IL6	IL1B	SRC	STAT3	TP53	CD4	TLR4
人参皂苷 Rg ₁	22427-39-0	-8.9	-6.9	-11.5	-7.1	-7.3	-8.6	-7.7	-7.6	-7.0	-7.1
人参皂苷 Rb ₁	41753-43-9	-9.1	-7.6	-8.5	-7.0	-7.1	-9.8	-8.1	-7.8	-7.1	-6.9
三七皂苷 R ₁	80418-24-2	-7.3	-6.4	-10.1	-7.0	-7.0	-9.1	-8.3	-8.3	-8.0	-6.6
三七素	5302-45-4	-9.2	-5.8	-9.8	-6.3	-6.9	-8.4	-7.3	-7.6	-6.4	-6.7
槲皮素	117-39-5	-5.9	-4.5	-5.7	-4.6	-5.5	-5.9	-5.0	-5.3	-4.8	-5.2

1 kcal=4.18 kJ

为主的药物。现代药理研究表明,补虚药可增强机体的免疫功能,产生扶正祛邪的作用^[19]。结果显示,含三七的保健食品中剂型以胶囊剂为主,分析其原因,由于该类产品的功效成分大多是主要原料的总提取物或者总多糖,部分成分直接与咽部或者胃黏膜接触会产生不适感或刺激感,有时还会伴有微痛感,因此需要胶囊剂等吞咽的剂型,服用后功能成分可直接参与对机体的调节,具有较好的保健作用,接受度也较高^[20-21]。

关联规则结果显示,含三七的“有助于增强免疫力”的保健食品中支持度排名前 7 的中药组合为三七-灵芝、三七-西洋参、三七-黄芪、三七-枸杞子、三七-银杏叶、三七-丹参、三七-人参,这些组合中的中药均是原料频数统计中排名前 10 的中药;其中灵芝补气安神、止咳平喘,西洋参补气养阴、清热生津,黄芪补气健脾、益卫固表,枸杞子滋补肝肾、益精明目,银杏叶敛肺平喘、活血止痛,丹参活血调经、祛瘀止痛、凉血消痛、除烦安神,人参大补元气、补脾益肺。上述分析结果显示含三七的“有助于增强免疫力”的保健食品中中药原料使用规律符合中医基本理论,并且现代药理学研究也证实上述成分均有助于增强免疫力的作用^[9,22-28]。

本研究通过检索各数据库及三七相关文献获得三七化学成分 684 个,其中有效成分 339 个及靶基因 2 078 个。另外,从 GeneCards 数据库、PathCards 数据库及 DrugBank 数据库中筛选免疫力相关的潜在靶点 2 076 个;通过三七和免疫力相关共同靶基因 Venn 图分析,得到共同靶点即关键靶点 434 个;依据 PPI 网络的度值排序,三七增强免疫力的 10 个核心靶点为 TNF、AKT1、ACTB、IL6、IL1B、SRC、STAT3、TP53、CD4、TLR4。同时,获得三七增强免疫力的关键靶点在 3 669 个 GO 条目和 283 条 KEGG 通路中显著富集 ($P<0.05$)。根据 GO 富集结果,三七增强免疫力主要通过细胞因子产生的正向调节、白细胞增殖、白细胞细胞间黏附等从生物学过程,以及涉及细胞因子受体结合、蛋白质丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸激酶活性、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶活性等分子功能方面发挥作用。根据三七增强免疫力的关键靶点的 KEGG 通路分析可知,三七增强免疫力可能通过磷脂酰肌醇-3-羟激酶(phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路、酪氨酸激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路

参与细胞生存、增殖和免疫细胞功能的调节^[29],可能通过 JAK (Janus 激酶, Janus kinase) /信号转导和转录激活因子 (signal transducer and activator of transcription, STAT) 信号通路参与细胞信号转导和免疫细胞功能的调节^[30],可能通过 NOD 样受体信号通路、Toll 样受体 (toll-like receptor, TLR) 信号通路、C 型凝集素受体信号通路参与宿主对细菌、真菌和病毒等病原体的识别和应答以及免疫细胞的激活^[31-33],可能通过 T 细胞受体信号通路直接参与 T 细胞的激活和免疫应答^[34],可能通过 Th17 细胞分化通路直接调节 $CD4^+$ T 细胞向 Th17 细胞的分化^[35],可能通过 B 细胞受体信号通路直接参与 B 细胞的激活和抗体产生^[36],可能通过 TNF 信号通路直接调节免疫细胞的生存和活性^[37],可能通过 IL-17 信号通路直接参与炎症和自身免疫反应^[38],可能通过自然杀伤细胞介导的细胞毒性通路直接参与自然杀伤细胞的杀伤作用^[39],可能通过 $Fc\gamma R$ 介导的吞噬作用通路直接参与免疫细胞的吞噬作用^[40],可能通过 $Fc\epsilon RI$ 信号通路直接参与免疫细胞对特定抗原的识别和激活^[41],可能通过趋化因子信号通路调节免疫细胞的迁移和定向,对炎症和免疫反应的调节有直接关系^[42]。

已有研究证明,人参皂苷 Rg_1 通过上调 PI3K-Akt-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路增强肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 的产生,并通过抑制核因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB) 通路下调 IL-6 的分泌,以此增强 $CD4^+$ T 细胞的活性并调节 Th1/Th2 分化^[43-45];人参皂苷 Rb_1 可以调控 TNF- α 、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、和 IL-10 等细胞因子表达,增加特异性抗原如 IgA、IgG1 和 IgG2a 的含量,起到抗炎和调节免疫的作用^[46-47];三七中三七总皂苷、其他皂苷类成分、三七多糖和挥发油成分也有抗炎和调节免疫的作用^[9,48-51]。最后分子对接的结果也证明,三七的关键成分人参皂苷 Rg_1 、人参皂苷 Rb_1 、三七皂苷 R_1 、三七素可与核心靶点自发结合且结合良好。

由于三七的新成分和新靶点仍在不断被报道,扩展数据分析范围并完善及计算机算法显得尤为重要;免疫力作为一个广泛的概念,本研究的数据收集整理较少,样本量稍显不足,今后将进一步深入研究。

4 结论

本研究利用数据挖掘技术,分析了含三七的保

健食品中中药频次、功效、四气、五味、归经、剂型和不同保健功能的保健食品中常用原料的组合,为三七后续保健食品的研发提供组合思路。同时进行了网络药理学和分子对接研究,初步揭示三七增强免疫力的潜在靶点与机制通路,为三七后续有助于增强免疫力的保健食品的研发提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知 [DB/OL]. (2023-02-28) [2002-10-20]. <http://www.nhc.gov.cn/wjw/gfxwj/201304/e33435ce0d894051b15490aa3219cdc4.shtml>.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 12-13.
- [3] 刘耀晨, 张铁军, 郭海彪, 等. 三七的研究进展及其质量标志物预测分析 [J]. 中草药, 2021, 52(9): 2733-2745.
- [4] Hu S N, Wu Y L, Zhao B, et al. *Panax notoginseng* saponins protect cerebral microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation/reperfusion-induced barrier dysfunction via activation of PI3K/akt/Nrf2 antioxidant signaling pathway [J]. *Molecules*, 2018, 23(11): 2781.
- [5] 冯晓昇, 赵微, 何朋伦, 等. 三七总皂苷调节 iNOS-NO-NF- κ B 信号通路抑制 LPS 诱导的 RAW246.7 细胞炎症研究 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(4): 670-675.
- [6] 张希, 王文倩, 许旭东, 等. 三七素的药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2019, 34(10): 3192-3196.
- [7] 方彬宇, 朱婷, 张淑霞, 等. 三七皂苷抗缺血性脑卒中的分子机制研究进展 [J]. 中华全科医学, 2022, 20(6): 1027-1030.
- [8] 张梦雪, 王瑞莹, 李楠, 等. 三七皂苷 R₁-低相对分子质量三七多糖纳米粒的制备及其对 SH-SY₅Y 细胞损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2021, 52(10): 2918-2926.
- [9] 国晶晶, 李来来, 朱会超, 等. 三七主要成分及其免疫调节作用的研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2014, 33(2): 119-124.
- [10] 郭洁, 贾伯阳, 张蓉, 等. 国产保健食品原料与功效/标志性成分分析 [J]. 食品研究与开发, 2018, 39(24): 218-224.
- [11] 陈曦. 几种云南道地中药类保健食品市场现状分析与营销定位 [D]. 重庆: 西南大学, 2012.
- [12] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 839-850.
- [13] Chen H B, Boutros P C. VennDiagram: A package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R [J]. *BMC Bioinformatics*, 2011, 12: 35.
- [14] Chin C H, Chen S H, Wu H H, et al. cytoHubba: Identifying hub objects and sub-networks from complex interactome [J]. *BMC Syst Biol*, 2014, 8(Suppl 4): S11.
- [15] Wu T Z, Hu E Q, Xu S B, et al. ClusterProfiler 4.0: A universal enrichment tool for interpreting omics data [J]. *Innovation*, 2021, 2(3): 100141.
- [16] Ito K, Murphy D. Application of ggplot2 to pharmacometric graphics [J]. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*, 2013, 2(10): e79.
- [17] 杜晓燕, 安兰花, 张金生, 等. 基于 PI3K/Akt 信号通路探讨三七粉对血脂异常的疗效机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(13): 88-95.
- [18] 陈肇娜. 基于网络药理学探讨三七调治血脂异常的作用机制 [J]. 巴楚医学, 2023, 6(3): 80-85.
- [19] 钟赣生, 杨柏灿. 中药学 [M]. 第 5 版. 北京: 中国中医药出版社, 2021: 259-260.
- [20] 黄敏, 张钧寿, 谢跃进. 软胶囊剂稳定性研究进展 [J]. 中国医药工业杂志, 2000, 31(3): 137-140.
- [21] 时军, 程怡. 辅料在软胶囊剂型中的应用 [J]. 中医药学刊, 2003, 21(9): 1429-1430.
- [22] 林志彬. 灵芝抗肿瘤活性和免疫调节作用的研究进展 [J]. 北京大学学报: 医学版, 2002, 34(5): 493-498.
- [23] 尚金燕, 李桂荣, 邵明辉, 等. 西洋参的药理作用研究进展 [J]. 人参研究, 2016, 28(6): 49-51.
- [24] 张小梅. 黄芪多糖的免疫调节作用及抗肿瘤作用研究进展 [J]. 大连大学学报, 2003, 24(6): 101-104.
- [25] 钱彦丛, 宇文萍. 枸杞子的化学成分及药理研究新进展 [J]. 中医药学报, 2000, 28(4): 33-35.
- [26] 张鹏飞, 廖丽君, 邓祯, 等. 银杏叶提取物的药理作用及其临床应用研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2017, 44(2): 426-429.
- [27] 万新焕, 王瑜亮, 周长征, 等. 丹参化学成分及其药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2020, 51(3): 788-798.
- [28] 黎阳, 张铁军, 刘素香, 等. 人参化学成分和药理研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(1): 164-166.
- [29] Yang Y, Xiao G, Cheng P, et al. Protective application of Chinese herbal compounds and formulae in intestinal inflammation in humans and animals [J]. *Molecules*, 2023, 28(19): 6811.
- [30] Mahjoor M, Mahmoudvand G, Farokhi S, et al. Double-edged sword of JAK/STAT signaling pathway in viral infections: Novel insights into virotherapy [J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 272.
- [31] Zhou Y J, Yu S Y, Zhang W Y. NOD-like receptor signaling pathway in gastrointestinal inflammatory diseases and cancers [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14511.
- [32] Li F L, Chen B P, Xu M, et al. Immune activation and inflammatory response mediated by the NOD/toll-like receptor signaling pathway-the potential mechanism of

- bullfrog (*Lithobates catesbeiana*) meningitis caused by *Elizabethkingia miricola* [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(19): 14554.
- [33] Guo N, Liu Y, Hao Q, *et al.* A mannose receptor from *Litopenaeus vannamei* involved in innate immunity by pathogen recognition and inflammation regulation [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(13): 10665.
- [34] Shah K, Al-Haidari A, Sun J M, *et al.* T cell receptor (TCR) signaling in health and disease [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 412.
- [35] Lee G. The balance of Th17 versus treg cells in autoimmunity [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3): 730.
- [36] Advances in experimental medicine and biology [J]. *J Med Genet*, 1973, 10(4): 401.
- [37] Cardoso Alves L, Corazza N, Micheau O, *et al.* The multifaceted role of TRAIL signaling in cancer and immunity [J]. *FEBS J*, 2021, 288(19): 5530-5554.
- [38] McGeachy M J, Cua D J, Gaffen S L. The IL-17 family of cytokines in health and disease [J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 892-906.
- [39] Prager I, Watzl C. Mechanisms of natural killer cell-mediated cellular cytotoxicity [J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(6): 1319-1329.
- [40] Botelho R J, Tapper H, Furuya W, *et al.* Fc gamma R-mediated phagocytosis stimulates localized pinocytosis in human neutrophils [J]. *J Immunol*, 2002, 169(8): 4423-4429.
- [41] Metcalfe D D, Baram D, Mekori Y A. Mast cells [J]. *Physiol Rev*, 1997, 77(4): 1033-1079.
- [42] Pozzobon T, Goldoni G, Viola A, *et al.* CXCR4 signaling in health and disease [J]. *Immunol Lett*, 2016, 177: 6-15.
- [43] Lee E J, Ko E, Lee J, *et al.* Ginsenoside Rg1 enhances CD4⁺ T-cell activities and modulates Th1/Th2 differentiation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2004, 4(2): 235-244.
- [44] Huang Y Q, Zou Y, Lin L H, *et al.* Ginsenoside Rg1 activates dendritic cells and acts as a vaccine adjuvant inducing protective cellular responses against lymphomas [J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(12): 1168-1177.
- [45] Wang Y, Liu Y, Zhang X Y, *et al.* Ginsenoside Rg1 regulates innate immune responses in macrophages through differentially modulating the NF- κ B and PI3K/Akt/mTOR pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 23(1): 77-84.
- [46] Im D S. Pro-resolving effect of ginsenosides as an anti-inflammatory mechanism of *Panax ginseng* [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(3): 444.
- [47] Kang N X, Gao H W, He L, *et al.* Ginsenoside Rb₁ is an immune-stimulatory agent with antiviral activity against enterovirus 71 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 266: 113401.
- [48] 张连军, 陈晨, 黄俊松, 等. 胞内氯离子通道蛋白在单增李斯特菌感染的炎性小体活化中的作用 [J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(10): 1483-1486.
- [49] You L, Cha S, Kim M Y, *et al.* Ginsenosides are active ingredients in *Panax ginseng* with immunomodulatory properties from cellular to organismal levels [J]. *J Ginseng Res*, 2022, 46(6): 711-721.
- [50] 刘玟君, 陈勇, 庞丹清, 等. 三七多糖研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2019, 21(7): 137-140.
- [51] Mei Y S, Yu X D, Xiang W, *et al.* *Panax notoginseng* saponins (PNS) attenuate Th17 cell differentiation in CIA mice via inhibition of nuclear PKM2-mediated STAT3 phosphorylation [J]. *Pharm Biol*, 2023, 61: 459-472.

[责任编辑 潘明佳]