

基于入血成分-功效靶点-指纹图谱的五加皮干预类风湿性关节炎和骨质疏松“异病同治”质量标志物研究

韩慧迎¹, 钱怡云^{1*}, 刘旻虹², 陈瀚¹, 胡楠希^{1,3}, 印敏¹, 薛平², 韦敏^{1,3*}

1. 江苏省植物分类与资源保护利用重点实验室, 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014

2. 常州市食品药品纤维质量监督检验中心, 江苏 常州 213000

3. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023

摘要:目的 筛选五加皮治疗类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)和骨质疏松(osteoporosis, OP)“异病同治”潜在质量标志物(quality marker, Q-Marker)。方法 采用超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱(UHPLC-Q-TOF-MS)联用技术, 鉴定五加皮提取物入血成分; 通过网络药理学预测入血成分治疗 RA 和 OP 的共有核心靶点与关键通路, 并采用分子对接技术, 验证候选成分与核心靶点的结合能力; 采用 UHPLC 技术, 建立五加皮的指纹图谱及多成分含量测定方法, 结合药材相似度评价及层次聚类分析, 比较不同批次药材差异, 基于 Q-Marker 五原则综合筛选潜在 Q-Marker。结果 鉴定出五加皮提取物 20 种入血成分; 经网络药理学分析, 筛选出五加酸、长白槲木酸、异贝壳杉烯酸、无梗五加苷 B、刺五加苷 E、刺五加苷 D、咖啡酸、异绿原酸 B 和异绿原酸 C, 可能通过调控白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、前列腺素内过氧化物合酶 2(prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(cystein-aspartate protease-3, CASP3)、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)和过氧化物酶体增殖物激活受体γ(peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPARG)等 20 个核心靶点, 参与环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)/表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)炎症轴和激素水平调控等相关通路; 分子对接进一步证实, 上述 9 个候选成分与 6 个关键核心靶点 IL-6、TNF、PTGS2、CASP3、MMP9 和 PPARG 具有良好结合活性。经 UHPLC 指纹图谱分析, 指认五加皮中 10 个共有峰, 其中 3 个可区别同属药材三加皮 *Acanthopanax trifoliatum* 的特征峰为刺五加苷 B、刺五加苷 D 和五加酸, 5 个可区别五加叶(非药用部位)的特有峰为刺五加苷 B、刺五加苷 D、五加酸、长白槲木酸和 8-O-4,8-O-4-去氢三阿魏酸。药材相似度评价结果显示, 不同五加皮药材成分相近, 多成分含量测定及层级聚类分析结果显示, 10 个成分在各批次药材中具有一定的差异。结合 Q-Marker 原则, 最终筛选出五加酸、刺五加苷 D、异贝壳杉烯酸、长白槲木酸、无梗五加苷 B、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和刺五加苷 B 为五加皮干预 RA 和 OP “异病同治”的潜在 Q-Marker。结论 五加酸、刺五加苷 D、异贝壳杉烯酸、长白槲木酸、无梗五加苷 B、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和刺五加苷 B 为五加皮干预 RA 和 OP “异病同治”的潜在 Q-Marker。

关键词: 五加皮; 指纹图谱; 质量标志物; 类风湿性关节炎; 骨质疏松; 五加酸; 刺五加苷 D; 异贝壳杉烯酸; 长白槲木酸; 无梗五加苷 B; 咖啡酸; 异绿原酸 B; 异绿原酸 C; 刺五加苷 B

中图分类号: R282.6 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)20-8378-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.20.034

Quality markers of *Acanthopanax Cortex* for “same treatment for different diseases” in rheumatoid arthritis and osteoporosis based on blood-absorbed components-therapeutic targets-fingerprint

HAN Huiying¹, QIAN Yiyun¹, LIU Minhong², CHEN Han¹, HU Nanxi^{1,3}, YIN Min¹, XUE Ping², WEI Min^{1,3}

1. Jiangsu Provincial Key Laboratory for Plant Taxonomy, Resource Conservation and Utilization, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Memorial. Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China

收稿日期: 2026-05-25

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(82404859); 江苏省植物分类与资源保护利用重点实验室开放基金项目(JSPKLB202408); 江苏省药品监督管理局药品监管科学研究计划项目(202421)

作者简介: 韩慧迎, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础及质量控制。E-mail: huiyinghan20@163.com

*通信作者: 钱怡云, 助理研究员, 从事药物分析、中药质量控制研究。E-mail: qianyiyun@hotmail.com

韦敏, 副研究员, 从事中药活性成分研究。E-mail: weimin@cnbg.net

2. Changzhou Food and Drug Fiber Quality Supervision and Inspection Center, Changzhou 213000, China

3. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To screen the potential quality marker (Q-Marker) of Wujiapi (*Acanthopanax Cortex*) for “same treatment for different diseases” in rheumatoid arthritis (RA) and osteoporosis (OP). **Methods** UHPLC-Q-TOF-MS was employed to identify blood-absorbed components of *Acanthopanax Cortex* extract. Network pharmacology was used to predict common core targets and key pathways of blood-absorbed components in the treatment of RA and OP, and molecular docking was performed to verify the binding abilities between candidate compounds and core targets. UHPLC was applied to establish fingerprint and a multi-components quantitative analysis method, combined with similarity evaluation and hierarchical cluster analysis to compare differences between different batches of medicinal materials. Finally, potential Q-Markers were comprehensively screened based on the five principles of Q-Marker. **Results** A total of 20 blood-absorbed components were identified. Network pharmacology analysis predicted acanthoic acid, continentalic acid, kaurenoic acid, acanthoside B, eleutheroside E, eleutheroside D, caffeic acid, isochlorogenic acid B and isochlorogenic acid C as candidate components, which may participate in pathways related to the cyclooxygenase-2 (COX-2)/epithelial growth factor receptor (EGFR) inflammatory axis and hormone regulation by regulating 20 core targets, including interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF), prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2), cystein-aspartate protease-3 (CASP3), matrix metalloproteinase 9 (MMP9) and peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG). Molecular docking confirmed favorable binding activities between the nine candidate components and the six key targets, namely IL-6, TNF, PTGS2, CASP3, MMP9, and PPARG. Based on the UHPLC fingerprint analysis, 10 common peaks in *Acanthopanax Cortex* were identified. Among these, three characteristic peaks (eleutheroside B, eleutheroside D, acanthoic acid) were effective in distinguishing *Acanthopanax Cortex* from root bark of *Acanthopanax trifoliatum* of the same genus. In addition, five characteristic peaks, including eleutheroside B, eleutheroside D, acanthoic acid, continentalic acid and 8-O-4,8-O-4-dehydrotriferulic acid, were identified as potential chemical markers for differentiating *Acanthopanax gracilistylus* leaves (non-medicinal parts) from *Acanthopanax Cortex*. The similarity evaluation results indicated that different batches of *Acanthopanax Cortex* shared generally similar chemical compositions, whereas multicomponent content determination and hierarchical cluster analysis demonstrated certain differences in the contents of the 10 compounds among batches. Combined with the five principles of Q-Marker, acanthoic acid, eleutheroside D, kaurenoic acid, continentalic acid, acanthoside B, caffeic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid C and eleutheroside B were ultimately screened as potential Q-Markers of *Acanthopanax Cortex* for “same treatment for different diseases” in RA and OP. **Conclusion** Acanthoic acid, eleutheroside D, kaurenoic acid, continentalic acid, acanthoside B, caffeic acid, isochlorogenic acid B, isochlorogenic acid C and eleutheroside B were identified as potential Q-Markers of *Acanthopanax Cortex* for “same treatment for different diseases” in RA and OP.

Key words: *Acanthopanax Cortex*; fingerprint; Q-Marker; rheumatoid arthritis; osteoporosis; acanthoic acid; eleutheroside D; kaurenoic acid; continentalic acid; acanthoside B; caffeic acid; isochlorogenic acid B; isochlorogenic acid C; eleutheroside B

五加皮 *Acanthopanax Cortex* 是五加科五加属植物细柱五加 *Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith 的干燥根皮, 味辛、苦, 性温, 归肝、肾经, 具有祛风除湿、强筋壮骨等功效^[1]。临床上常用于风湿痹痛、筋骨痿弱等病症的治疗。现代药理学研究表明, 五加皮具有抗炎^[2]、调节免疫^[3]、调节骨代谢^[4]等多种药理活性, 在类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA)、骨质疏松 (osteoporosis, OP) 等骨代谢异常相关疾病中表现出一定的治疗潜力^[5]。在中医理论体系中, RA 与 OP 虽属不同病症, 但均与肝肾亏虚、筋骨失养密切相关, 具有“异病同治”的理论基础^[6]。RA 归属于“痹症”范畴, 《素问·痹论》曰: “风寒湿三气杂至, 合而成痹也”^[7]; 《证治准绳》中进一步指出: “肾虚, 其本也”, 强调

其病机根本在于肾精亏虚^[8]。OP 归属于“骨痿”“骨痹”范畴, 《素问·痿论》载: “肾气热, 则腰脊不举, 骨枯而髓减, 发为骨痿”^[9], 肾精亏虚、骨髓失养为其重要病机。RA 病程迁延常致肾、肝、脾等脏腑亏虚, 骨枯髓减, 从而继发 OP^[6]。

五加皮富含二萜^[10]、苯丙素^[11-12]等多种生物活性成分。化学成分的差异性决定了药材质量与临床疗效, 然而, 《中国药典》2025 年版五加皮项下仅见鉴别方法, 一方面难以与市售常见伪品进行区分^[13], 另一方面, 仍缺乏与五加皮“祛风湿, 强筋骨”传统功效相关的质量评价方法。刘昌孝院士^[14]2016 年提出中药质量标志物 (quality marker, Q-Marker) 的新概念, 强调以“传递与溯源、有效性、特有性、可测性及配伍环境”为发现

和确定原则,密切中药有效性-物质基础-质量控制标志性成分的关联度,从而建立以药效为导向的质量控制及质量溯源体系^[15]。因此,本研究立足于五加皮“祛风湿,强筋骨”的传统功效,以其临床常见适应证 RA 与 OP 病程中的共病靶点网络为基础,围绕中药 Q-Marker 筛选原则中“传递性-有效性-特有性-可测性”的思路开展研究。采用液相色谱-质谱联用(UHPLC-Q-TOF)技术开展化学成分从药材到入血的“传递性”分析,利用网络药理学构建“成分-靶点-通路-疾病”网络,预测潜在作用机制和关键活性成分,从而进行“有效性”分析,进一步通过对共有峰和特有峰的识别与含量测定,进行“特有性”和“可测性”分析,最终实现基于 Q-Marker 原则,系统筛选五加皮“祛风湿,强筋骨”传统功效相关联的潜在 Q-Marker,以期在五加皮药效物质基础阐释及质量标准提升提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 12 只,体质量(220±20)g,动物生产许可证号 SCXK(浙)2025-0004,动物质量合格证号 A202511050736。饲养条件符合 GB14925-2010 标准,动物实验经南京农业大学实验动物福利与伦理委员会批准(批准号 PZW2025007)。

1.2 药材

五加皮(细柱五加根皮)、五加叶(细柱五加叶)、三加皮(白筋根皮)均为自主采收,经吕晔研究员鉴定原植物分别为细柱五加 *A. gracilistylus* W. W. Smith、白筋 *A. trifoliatum* (L.) Merr.; 五加皮药材详细信息见表 1,五加叶样品来源同五加皮药材,10 批次样品同质量混合。三加皮样品采自江苏南京中山植物园,由 6 株不同白筋植株的根皮同质量混

合。五加皮对照药材(批号 121523-202504)购自中国食品药品检定研究院。

1.3 药品与试剂

对照品五加酸(批号 PS014555A,质量分数≥98%)、异贝壳杉烯酸(批号 PS011157,质量分数≥98%)、长白榧木酸(批号 PS011117,质量分数≥98%)、8-*O*-4,8-*O*-4-去氢三阿魏酸(批号 PS013573,质量分数≥95%)购自成都普思生物科技有限公司;刺五加苷 D(批号 RSF-C14502502026,质量分数≥98%)、刺五加苷 E(批号 RSF-C00801907011,质量分数≥98%)购自成都瑞芬思德丹生物科技有限公司;对照品无梗五加苷 B(批号 WP24090401)、刺五加苷 B(批号 WP24010208)、1-咖啡酰奎宁酸(批号 WP24082708)、5-*O*-阿魏酰奎宁酸(批号 WP24090303)、异绿原酸 A(批号 WP24010306)、异绿原酸 B(批号 WP24022803)、异绿原酸 C(批号 WP23011207)、绿原酸(批号 WP23022707)、隐绿原酸(批号 WP23072112)、新绿原酸(批号 WP23072112)、咖啡酸(批号 WP24070112)、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯(WP24083010)、阿魏酸(批号 WP24101102)、3-*O*-对香豆酰基奎宁酸(批号 WP24042311)、原儿茶醛(批号 WP24013005)购自四川省维克奇生物科技有限公司,质量分数≥98%;甲醇、乙腈购自 Tedia 公司;甲酸(LC-MS 级)购自 Macklin 公司;磷酸(分析纯)购自美国 ROE 公司。

1.4 仪器

1290 Infinity II UHPLC-G7117A 型 DAD、G6546AA 型 ESI Q-TOF 质谱仪、1260 UHPLC-G7115A 型 DAD(美国 Agilent 公司);Mettlerac240 型十万分之一电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司);KQ2200E 型超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);Direct-Q® UV 超纯水机(美国 Millipore 公司);DC150-2 型氮吹仪(杭州佑宁仪器有限公司)。

2 方法与结果

2.1 五加皮入血成分鉴定

2.1.1 五加皮药液的制备 取五加皮药材(S1)适量,参考杨迎等^[16]方法,加入 8 倍量水回流提取 2 次,每次 2 h,合并提取液,浓缩干燥,得五加皮提取物(得率约 10.0%),加入 0.5%羧甲基纤维素钠(carboxymethylcellulose sodium, CMC-Na)溶液,超声混匀,制得以生药量计质量浓度为 3.6 g/mL 的五加皮药液。

表 1 五加皮药材样品来源

Table 1 Sources of *Acanthopanax Cortex* samples

编号	来源
S1	江苏淮安洪泽湖
S2	江苏南京溧水
S3	江苏南京溧水
S4	江苏南京中山植物园药园
S5	江苏南京中山植物园药园
S6	江苏南京中山植物园苗圃
S7	江苏南京中山植物园苗圃
S8	江苏盐城滩涂基地
S9	江苏盐城林场
S10	江苏盐城大丰

2.1.2 血浆样品的制备 大鼠随机分成空白组和给药组，每组 6 只。适应性喂养后，禁食 12 h（自由饮水），给药组按 5.4 g/kg（以生药量计）的剂量 ig 五加皮药液，空白组 ig 等体积的 0.5% CMC-Na 溶液。根据文献中异贝壳杉烯酸^[17]、绿原酸^[18]、木脂素^[19]等化合物平均血药浓度-时间曲线报道及预实验结果，调整给药方案为连续给药 3 次，每次间隔 30 min。于末次给药 30 min 后处死，腹主动脉采集血样置肝素钠离心管中，4 ℃、3 500 r/min 离心 15 min，分离血浆。等比例合并每组血浆样本后，置-80 ℃冻存备用。精密吸取各组血浆样本 200 μL，依次加入 20 μL 0.1%甲酸溶液、600 μL 乙腈、20 μL 80%甲醇溶液（空白组加入混合对照品溶液），涡旋 30 s，4 ℃、13 000 r/min 离心 10 min，取上清液，N₂ 吹干，加入 100 μL 50%甲醇（含 0.1%甲酸）复溶，离心 10 min 后，取上清液，待测。

2.1.3 对照品溶液的制备 称取各对照品适量，分别置于量瓶中，加 80%甲醇溶解并定容，制成单一对照品储备液。精密移取各单一对照品储备液适量，制得各成分质量浓度均为 50 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.1.4 色谱条件 Waters Acquity UPLC® BEH C₁₈ 色谱柱（100 mm×2.1 mm，1.7 μm），柱温 35 ℃，体积流量 0.35 mL/min，进样量 2 μL。流动相为 0.1%甲酸水溶液（A）-乙腈（B），梯度洗脱：0~3 min，5%~19% B；3~10 min，19%~41% B；10~17 min，41%~73% B；17~20 min，73%~77% B；20~21.5 min，77%~91% B；21.5~23.5 min，91%~95% B。

2.1.5 质谱条件 在正、负离子模式下扫描，电喷雾离子源，扫描范围 m/z 100~1 000，毛细管电压 4 000 kV（-3 500 kV），碎裂电压 150 V，鞘气温度

250 ℃，鞘气体积流量 11 L/min，喷嘴电压 500 V，雾化器压力 45 psi（1 psi=6.895 kPa），干燥器体积流量 5 L/min，干燥器温度 300 ℃，Auto MS/MS 扫描范围 m/z 100~1 000，碰撞电压为 30 V。

2.1.6 数据分析 使用 Agilent MassHunter Qualitative Analysis 工作站分析所得质谱数据。结合一级质谱推测的分子式、五加皮化学成分文献、PubChem 数据库进行初步确认，并参考相关文献报道的二级质谱碎片信息及裂解规律，对其化学结构进行鉴定，并将供试品溶液中相应成分的保留时间、准分子离子、二级碎片离子信息与对照品质谱信息进行比对确认。

2.1.7 五加皮入血成分的鉴定 大鼠血浆样品的总离子流图见图 1。经与对照品比对，共确认入血成分 20 个，化合物信息见表 2。

2.2 “入血成分-功效靶点-疾病”异病同治网络的构建

2.2.1 功效靶点的预测 采用 TCMSP 数据库（https://www.tcmsp-e.com/load_intro.php?id=43）对入血成分进行靶点预测，对于 TCMSP 数据库中未收录的化合物，从 PubChem 数据库（<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>）获取其 SMILES ID，采用 SwissTargetPrediction 平台（<https://swisstargetprediction.ch/>）预测其潜在作用靶点，去除重复靶标，得到入血成分靶点 229 个。以“rheumatoid arthritis”和“osteoporosis”为检索词在 OMIM（<https://www.omim.org/>）、GeneCards（<https://www.genecards.org/>）和 DrugBank 数据库（<https://go.drugbank.com/>）检索，分别得到疾病靶点 1 962 个和 2 221 个。绘制韦恩图，将入血成分靶点与 2 种疾病靶点取交集，获得五加皮治疗 2 种疾病共同靶点 81 个，见图 2-A。

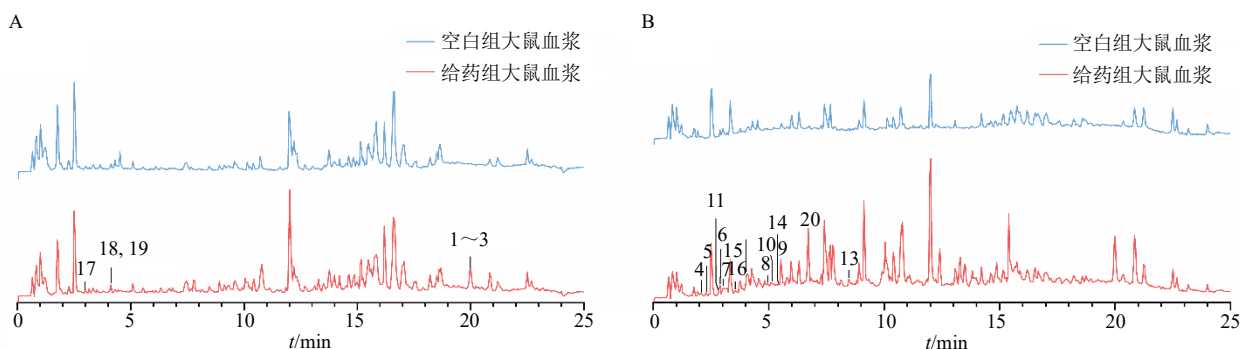


图 1 正 (A)、负 (B) 离子模式下大鼠血浆样品的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of plasma samples of rats in positive (A) and negative (B) ion modes

表 2 五加皮入血成分
Table 2 Blood-absorbed components of *Acanthopanax Cortex*

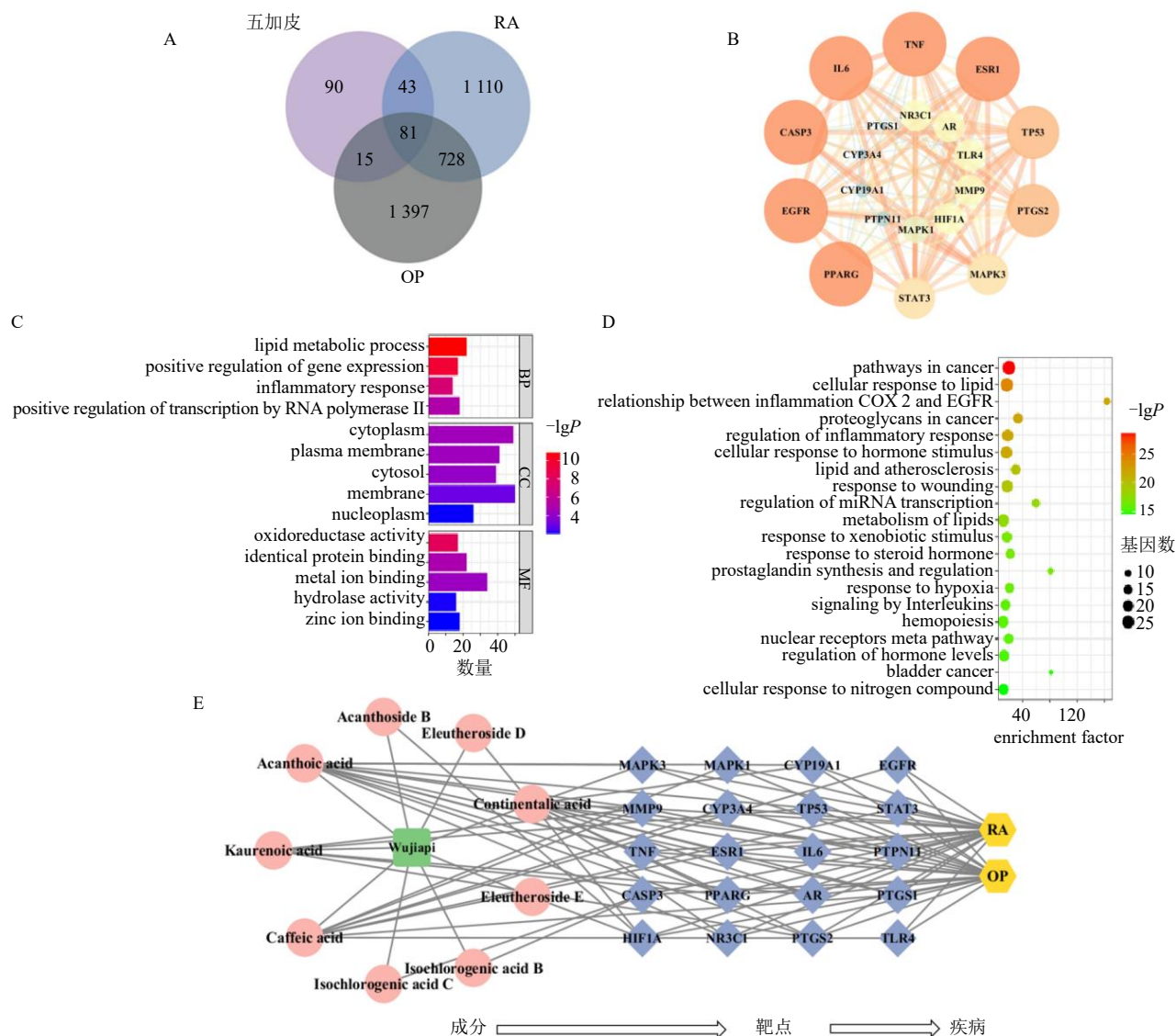
峰号	<i>t_R</i> /min	离子模式	<i>m/z</i>		误差 (×10 ⁻⁶)	离子碎片 (<i>m/z</i>)	分子式	化合物	类别
			理论值	实测值					
1	19.989	[M+H] ⁺	303.231 9	303.232 9	3.53	257.225 3, 228.182 4, 201.165 4, 187.148 5, C ₂₀ H ₃₀ O ₂	161.132 0, 147.117 3, 119.085 0, 107.085 9	五加酸	二萜类
2	20.033	[M+H] ⁺	303.231 9	303.231 8	-0.04	257.228 0, 222.136 9, 201.164 7, 189.900 8, C ₂₀ H ₃₀ O ₂	161.134 7, 149.131 9, 121.101 3, 107.085 7	异贝壳杉烯酸	二萜类
3	20.210	[M+H] ⁺	303.231 9	303.233 0	3.58	257.209 7, 220.043 6, 201.128 1, 190.122 8, C ₂₀ H ₃₀ O ₂	179.141 6, 169.102 0, 133.102 8, 107.085 3	长白榧木酸	二萜类
4	2.025	[M-H] ⁻	353.087 8	353.088 0	0.52	191.056 5, 173.044 4	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	1-咖啡酰基奎宁酸	苯丙素类
5	2.290	[M-H] ⁻	353.087 8	353.088 6	2.08	191.056 2, 179.035 4, 135.045 3	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	新绿原酸	苯丙素类
6	2.907	[M-H] ⁻	353.087 8	353.089 0	3.19	191.056 6, 173.045 4, 161.024 8	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	绿原酸	苯丙素类
7	3.039	[M-H] ⁻	353.087 8	353.088 0	0.49	191.055 9, 173.045 2, 135.045 0	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	隐绿原酸	苯丙素类
8	4.935	[M-H] ⁻	515.119 5	515.119 5	-0.06	353.088 5, 191.056 2, 179.035 1, 173.045 5	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸B	苯丙素类
9	5.596	[M-H] ⁻	515.119 5	515.120 6	1.89	353.088 3, 191.056 4, 179.035 1, 173.045 7	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸C	苯丙素类
10	5.155	[M-H] ⁻	515.119 5	515.121 8	4.16	353.087 0, 191.056 8, 179.035 7, 161.024 9	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₂	异绿原酸A	苯丙素类
11	2.819	[M-H] ⁻	337.092 9	337.093 6	1.08	191.061 5, 119.053 0	C ₁₆ H ₁₈ O ₈	3- <i>O</i> -对豆酰基奎宁酸	苯丙素类
12	3.921	[M-H] ⁻	367.103 5	367.104 0	1.29	191.056 3, 173.045 8, 134.037 6, 93.034 7	C ₁₇ H ₂₀ O ₉	5- <i>O</i> -阿魏酰基奎宁酸	苯丙素类
13	8.460	[M-H] ⁻	577.135 1	577.136 6	2.27	385.093 6, 193.050 9, 178.027 3, 163.040 2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	8- <i>O</i> -4,8- <i>O</i> -4-去氢三阿魏酸	苯丙素类
14	5.332	[M-H] ⁻	579.208 3	579.209 0	0.78	417.159 3, 402.135 8	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₃	无梗五加苷B	木脂素类
15	2.819	[M-H] ⁻	137.024 4	137.024 7	2.18	108.021 7, 92.026 7	C ₇ H ₆ O ₃	原儿茶醛	酚酸类
16	3.348	[M-H] ⁻	179.035 0	179.035 0	0.07	135.045 3, 107.050 5	C ₉ H ₈ O ₄	咖啡酸	苯丙素类
17	2.951	[M+Na] ⁺	395.131 3	395.131 5	0.20	364.113 0, 232.070 6, 185.042 2	C ₁₇ H ₂₄ O ₉	刺五加苷B	木脂素类
18	4.063	[M+Na] ⁺	765.257 6	765.257 9	0.26	603.204 2	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	刺五加苷D	木脂素类
19	4.142	[M+Na] ⁺	765.257 6	765.256 7	-1.32	603.205 8	C ₃₄ H ₄₆ O ₁₈	刺五加苷E	木脂素类
20	6.654	[M-H] ⁻	529.135 1	529.134 3	-1.27	353.090 8, 191.055 9, 179.034 5, 135.045 0	C ₂₆ H ₂₆ O ₁₂	3,5-二咖啡酰基奎宁酸甲酯	苯丙素类

2.2.2 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络的构建 将交集靶点上传至 STRING 11.5 在线数据库 (https://cn.string-db.org/cgi/input?sessionId=bcBdXnKW6Njb&input_page_show_search=on), 通过设定介中心性、紧密中心性和基因度中心性阈值≥各参数中位数值 (分别为 68.43、0.006 9 和 20.53), 筛选核心靶点, 生成 PPI 网络, 导入 Cytoscape 3.10.0 软件中进行可视化处理, 筛选到白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (prostaglandin-endoperoxide synthase 2, PTGS2)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-asparate protease-3, CASP3)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9) 和过氧化物酶体增殖物激活受体γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPARγ) 等核心靶点 20 个, 见图 2-B。

2.2.3 基因本体 (gene ontology, GO) 功能富集分析 将核心靶点导入到 DAVID 在线数据库 (<https://davidbioinformatics.nih.gov/>) 中进行分析及可视化

处理。GO 富集分析得到生物过程 (biological process, BP) 相关通路主要包括脂质代谢过程、基因表达正调控、炎症反应和 RNA 聚合酶 II 介导的转录正调控等; 细胞组成 (cellular component, CC) 相关通路主要包括细胞质、细胞膜、细胞溶质、膜结构和核质等; 分子功能 (molecular function, MF) 相关通路主要包括氧化还原酶活性、相同蛋白结合、金属离子结合、水解酶活性和锌离子结合等, 见图 2-C。

2.2.4 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 将核心靶点导入到 Metascape 在线数据库 (<https://metascape.org/gp/>) 进分析及可视化处理。KEGG 富集分析共得到 158 条信号通路, 依据 $P < 0.05$ 对富集结果排序, 选取前 20 条主要相关通路制成气泡图, 筛选出环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2)/表皮生长因子受体 (epithelial growth factor receptor, EGFR) 炎症轴、炎症反应调控、白细胞介素信号通路、前列腺素合成与调控、激素水平调控、类固醇激素反应、激素刺激反应与 2 种疾病相



A-入血成分靶点及疾病靶点韦恩图; B-PPI 网络图; C-GO 功能富集分析图; D-KEGG 通路富集分析图; E-“成分-靶点-疾病”网络图。

A-Venn diagram of blood-absorbed component targets and disease targets; B-PPI network diagram; C-GO functional enrichment analysis diagram; D-KEGG pathway enrichment analysis diagram; E-“component-target-disease” network diagram.

图 2 “入血成分-功效靶点-疾病”网络

Fig. 2 “Blood-absorbed components-efficiency targets-diseases” network

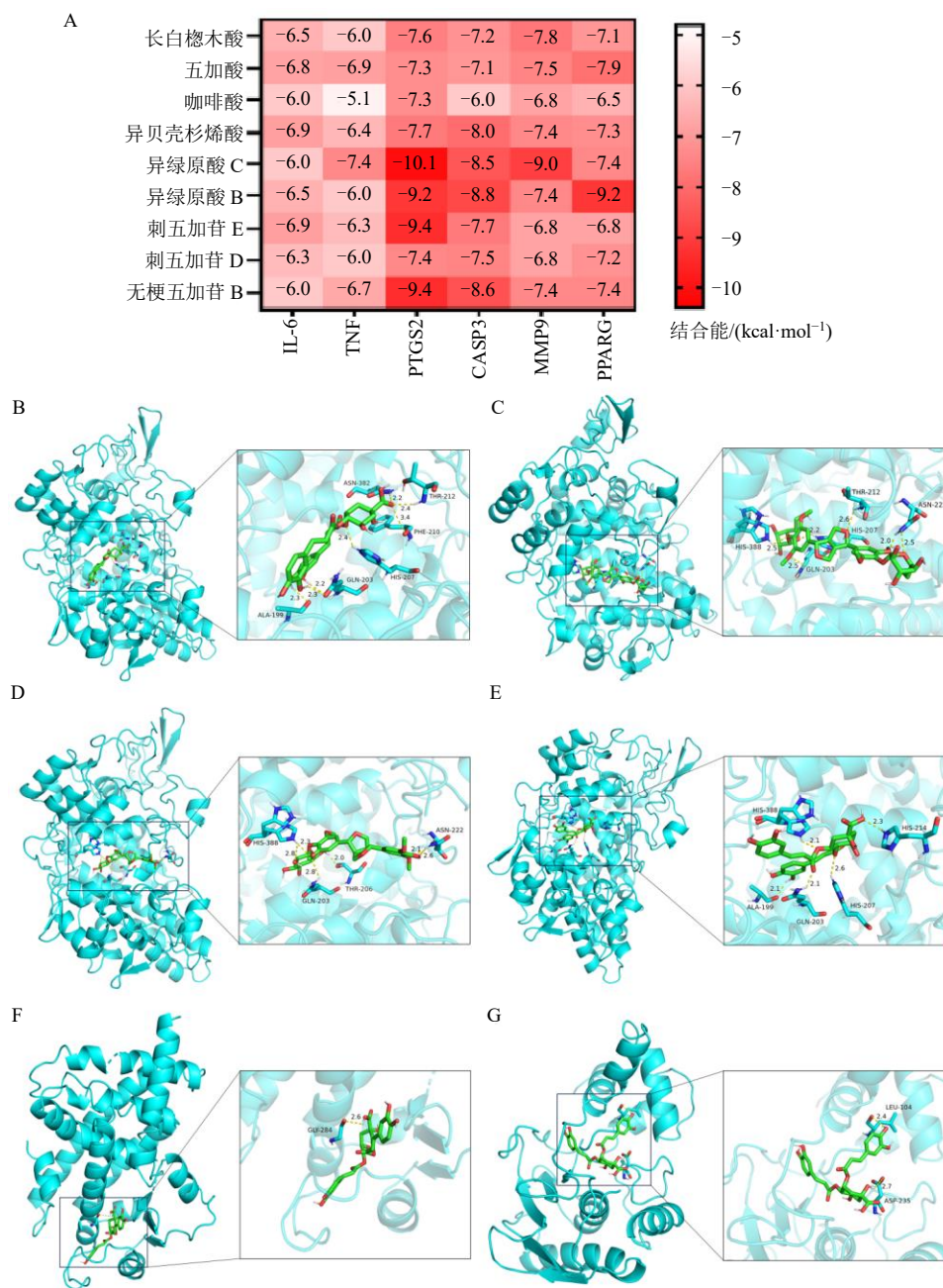
关的 7 条核心通路，见图 2-D。

2.2.5 “成分-靶点-疾病”网络的构建 将核心靶点、入血成分和疾病导入 Cytoscape 3.10.0 软件中进行可视化处理，20 个核心靶点对应 9 个入血活性成分，根据成分度值，依次为五加酸、长白槲木酸、咖啡酸、异贝壳杉烯酸、异绿原酸 C、无梗五加苷 B、刺五加苷 E、刺五加苷 D 和异绿原酸 B，见图 2-E。

2.3 主要靶点与成分的分子对接

将 9 个入血活性成分作为配体，度值排名前 6

的核心靶点作为受体蛋白，进行分子对接分析。利用 SYBYL-X 和 iGEMDOCK v2.1 软件对小分子化合物和蛋白进行分子对接和结合能计算，结合能越低受体和配体的亲和力越大，结合能 < -7.0 kcal/mol ($1 \text{ kcal/mol} = 4.182 \text{ kJ/mol}$) 时，提示分子与蛋白具有显著的结合活性。如图 3-A 显示，异绿原酸 C-PTGS2、刺五加苷 E-PTGS2、无梗五加苷 B-PTGS2、异绿原酸 B-PPARG、异绿原酸 C-MMP9 等的结合能均 < -7.0 kcal/mol。将部分对接结果进行可视化展示，见图 3-B~G。



A-入血活性成分与核心靶点分子对接结合能热图; B-异绿原酸 C-PTGS2; C-刺五加苷 E-PTGS2; D-无梗五加苷 B-PTGS2; E-异绿原酸-PTGS2; F-异绿原酸 B-PPARG; G-异绿原酸 C-MMP9。

A-heatmap of binding energy for blood-absorbed component and core target molecules; B-isochlorogenic acid C-PTGS2; C-leutheroside E-PTGS2; D-acanthoside B-PTGS2; E-isochlorogenic acid-PTGS2; F-isochlorogenic acid B-PPARG; G-isochlorogenic acid C-MMP9.

图 3 核心靶点与活性成分分子对接结果

Fig. 3 Molecular docking results of active components binding to core targets

2.4 五加皮药材 UHPLC 指纹图谱的建立

2.4.1 供试品溶液的制备 精密称取五加皮药材粉末 1.5 g, 置 50 mL 具塞锥形瓶中, 精密加入 80% 甲醇 25 mL, 超声 (600 W、40 kHz) 提取 40 min, 取出放冷, 用 80% 甲醇补足减失质量, 用 0.22 μm

微孔滤膜滤过, 待测。

2.4.2 对照品溶液的制备 精密移取各对照品储备液适量, 配制刺五加苷 B、咖啡酸、刺五加苷 D、无梗五加苷 B、异绿原酸 B、异绿原酸 C、8-O-4,8-O-4-去氢三阿魏酸、五加酸、异贝壳杉烯酸和长

白槲木酸质量浓度分别为 70.0、116.0、120.0、40.0、96.0、100.0、250.0、1 200.0、1 000.0、224.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液。

2.4.3 色谱条件 参考王力弘等^[20]方法并优化, 采用 Waters Acquity UPLC[®] HSS T3 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm), 柱温 20 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 2 μL , 检测波长为 210 nm。流动相为 0.05% 磷酸水溶液 (A) - 乙腈 (B), 梯度洗脱: 0~2 min, 5% B; 2~12 min, 5%~10% B; 12~30 min, 10%~21% B; 30~42 min, 21%~30% B; 42~60 min, 30%~70% B; 60~72 min, 70%~90% B; 72~75 min, 90%~95% B; 75~80 min, 95% B。

2.4.4 精密度考察 取五加皮药材 (S1) 粉末, 按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.4.3”项下色谱条件连续 6 次进样测定, 记录色谱图, 以 8-*O*-4,8-*O*-4-去氢三阿魏酸峰为参照峰, 计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 各峰的相对保留时间 RSD 均小于 0.56%, 相对峰面积 RSD 均小于 2.06%。

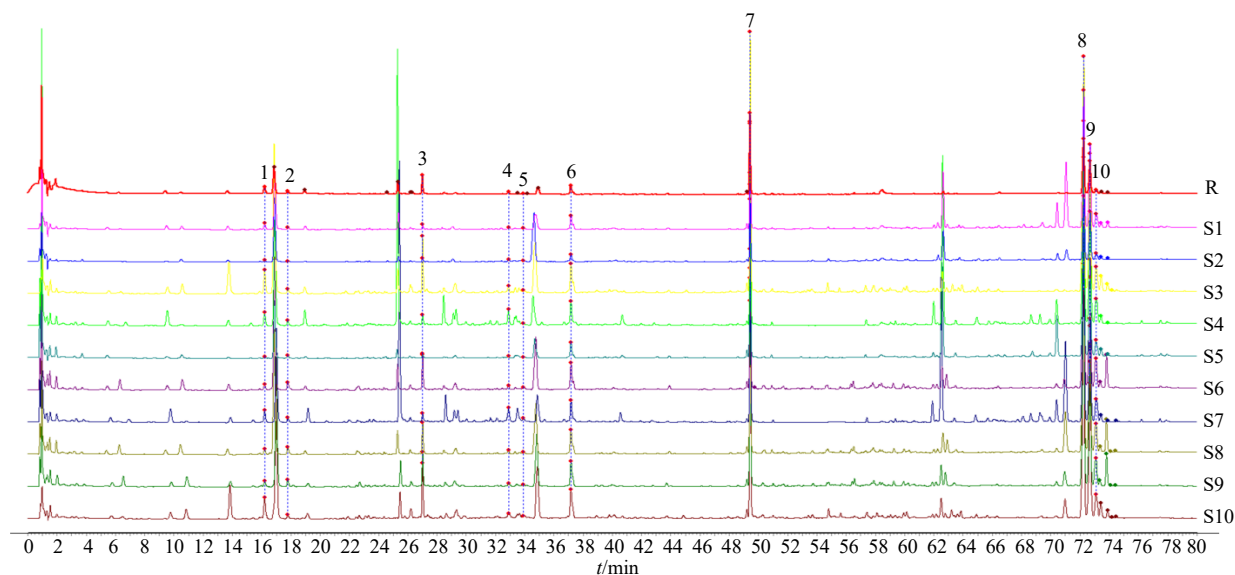
2.4.5 稳定性考察 取五加皮药材 (S1) 粉末, 按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液, 按“2.4.3”项下色谱条件分别于制备后 0、1、2、6、12、18、24 h 进样测定, 记录色谱图, 以 8-*O*-4,8-*O*-4-去氢三阿魏酸峰为参照峰, 计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 各峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.91%,

相对峰面积的 RSD 均小于 3.0%。

2.4.6 重复性考察 取五加皮药材 (S1) 粉末, 按“2.4.1”项下方法制备 6 份供试品溶液, 按“2.4.3”项下色谱条件进样测定, 记录色谱图, 以 8-*O*-4,8-*O*-4-去氢三阿魏酸色谱峰为参照峰, 计算共有峰的相对保留时间和相对峰面积, 各峰的相对保留时间的 RSD 均小于 0.33%, 相对峰面积的 RSD 均小于 2.9%。

2.4.7 指纹图谱的建立及特征峰标定 按“2.4.1”项方法制备供试品溶液, 按“2.4.3”项下色谱条件进样分析, 记录色谱图。将所得色谱数据导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件 (2012 版), 以五加皮对照药材的色谱图作为参照图谱, 经多点校正及 Mark 峰匹配, 建立 10 批五加皮药材 UHPLC 指纹图谱, 见图 4。共标定 10 个共有峰, 分别为刺五加苷 B、咖啡酸、刺五加苷 D、无梗五加苷 B、异绿原酸 B、异绿原酸 C、8-*O*-4,8-*O*-4-去氢三阿魏酸、五加酸、异贝壳杉烯酸、长白槲木酸。

2.4.8 药材相似度评价 采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”软件 (2012 版), 以五加皮对照药材的色谱图作为参照图谱, 对 10 批五加皮药材进行相似度评价。结果显示, 不同五加皮药材相似度分别为 0.995, 0.991, 0.997, 0.999、0.992、0.999、0.999、0.998、0.998、0.997, 提示不同五加皮药材在化学成分整体构成上具有较高的一致性。



1-刺五加苷 B; 2-咖啡酸; 3-刺五加苷 D; 4-无梗五加苷 B; 5-异绿原酸 B; 6-异绿原酸 C; 7-8-*O*-4,8-*O*-4-去氢三阿魏酸; 8-五加酸; 9-异贝壳杉烯酸; 10-长白槲木酸; 图 5 同。

1-eleutheroside B; 2-caffeic acid; 3-eleutheroside D; 4-acanthoside B; 5-isochlorogenic acid B; 6-isochlorogenic acid C; 7-8-*O*-4,8-*O*-4-dehydrotriferulic acid; 8-acanthoic acid; 9-kaurenoic acid; 10-continentalic acid; Same as fig. 5.

图 4 10 批五加皮药材的 UHPLC 指纹图谱

Fig. 4 UHPLC fingerprint of 10 batches of *Acanthopanax Cortex* samples

2.5 五加皮药材含量测定方法的建立

2.5.1 系统适用性试验 精密吸取混合对照品溶液、药材供试品溶液，分别按“2.4.3”项下色谱条件进样测定，各被测成分色谱峰与其相邻色谱峰的分度度均≥1.5，各色谱峰理论塔板数均>10 000。混合对照品及五加皮药材叠加色谱图见图 5。

2.5.2 线性关系考察 精密吸取混合对照品溶液适量，分别加入 80%甲醇水溶液稀释 2、4、10、20、100、200、500 倍，制得系列混合对照品溶液，按“2.4.3”项下色谱条件进样测定。分别以对照品质量浓度为横坐标 (X)、峰面积为纵坐标 (Y) 绘制标准曲线，结果见表 3。

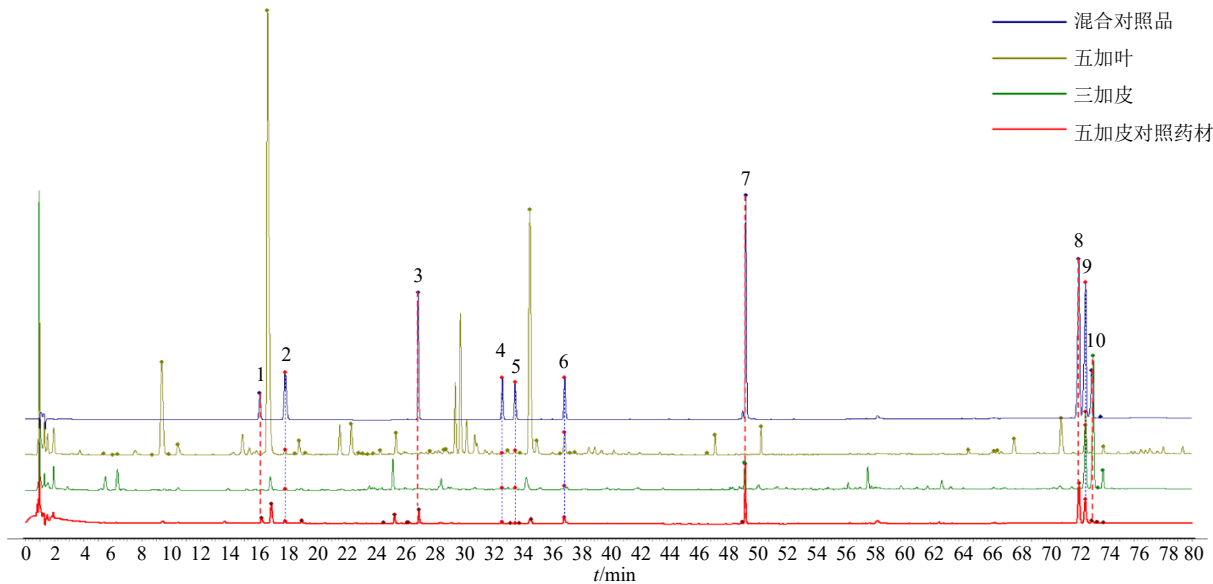


图 5 五加皮对照药材、三加皮、五加叶及混合对照品 UHPLC 图

Fig. 5 UHPLC chromatograms of *Acanthopanax Cortex* reference medicinal material, root bark of *A. trifoliatum*, leaves of *A. gracilistylus* and mixed reference substances

表 3 10 个共有化学成分方法学考察

Table 3 Methodological validation of 10 common chemical constituents

成分	回归方程	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	r	定量限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	检测限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
刺五加苷B	$Y=0.0628X-0.1506$	0.7~70.0	0.9997	0.3500	0.0700
咖啡酸	$Y=0.0422X+0.0363$	0.3~116.0	0.9996	0.2900	0.1160
刺五加苷D	$Y=0.0333X-0.2164$	0.3~120.0	0.9997	0.1200	0.0600
无梗五加苷B	$Y=0.0262X-0.2556$	0.1~40.0	0.9993	0.1000	0.0400
异绿原酸B	$Y=0.0634X-0.2254$	0.5~96.0	0.9997	0.2400	0.0960
异绿原酸C	$Y=0.0543X-0.2522$	0.3~100.0	0.9998	0.2500	0.1000
8-O-4,8-O-4-去氢三阿魏酸	$Y=0.0351X+0.0153$	0.6~250.0	0.9993	0.1250	0.0625
五加酸	$Y=0.1714X-1.4159$	3.0~1200.0	0.9996	0.6000	0.3000
异贝壳杉烯酸	$Y=0.1601X-1.2266$	2.5~1000.0	0.9996	0.5000	0.2500
长白榧木酸	$Y=0.1232X-0.1426$	0.6~224.0	0.9995	0.2240	0.1120

成分	精密度RSD/%	稳定性RSD/%	重复性RSD/%	加样回收率	
				均值	RSD/%
刺五加苷B	1.9	0.7	1.6	104.6	2.6
咖啡酸	1.7	1.4	1.6	89.5	2.0
刺五加苷D	1.7	1.2	1.2	96.1	0.6
无梗五加苷B	1.7	2.4	2.9	93.7	1.4
异绿原酸B	1.9	0.9	2.3	101.5	2.8
异绿原酸C	2.1	2.9	1.0	92.2	2.4
8-O-4,8-O-4-去氢三阿魏酸	1.8	0.8	0.7	105.9	1.1
五加酸	1.5	1.5	0.8	99.3	1.5
异贝壳杉烯酸	1.6	1.2	0.6	96.4	1.8
长白榧木酸	1.6	1.4	0.4	104.3	1.9

2.5.3 精密度试验 取“2.5.2”项下制得的 2 倍稀释混合对照品溶液，按“2.4.3”项色谱条件连续进样 6 次，记录色谱峰面积并计算 RSD。结果表明精密度良好（表 3）。

2.5.4 稳定性试验 取五加皮药材（S1）粉末，按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液，分别于放置 0、1、2、6、12、18、24 h 按“2.4.3”项下色谱条件进样分析，记录色谱峰面积并计算 RSD。结果（表 3）表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.5.5 重复性试验 取五加皮药材（S1）粉末 6 份，分别按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.4.3”项下色谱条件进样分析，记录色谱峰面积并计算平均含量及其 RSD。结果（表 3）表明方法的重复性良好。

2.5.6 加样回收试验 取五加皮药材（S1）粉末 6

份，每份 0.75 g，精密称定，分别置于具塞锥形瓶中，分别加入与样品中成分含量近似相等的对照品，按“2.4.1”项下方法制备供试品溶液，按“2.4.3”项下色谱条件进样分析，记录色谱峰面积，计算加样回收率及 RSD，见表 3。

2.5.7 含量测定 按“2.4.1”项下方法制备五加皮药材供试品溶液，按“2.4.3”项下色谱条件进样分析，记录色谱峰面积，代入“2.5.2”项下回归方程计算各批次样品中各成分含量，结果见表 4。

2.5.8 层级聚类分析 将“2.5.7”项下计算所得各成分含量导入 Origin 2025 版软件进行层级聚类分析，见图 6。结果表明，S1、S2 与 S5 样品聚为一类，与其余批次样品之间存在一定含量差异，推测可能与五加皮样品来源植株生长年限的不同有关。

表 4 10 批样品中 10 个化学成分含量测定结果
Table 4 Determination results of content of 10 chemical components in 10 batches of samples

批次	质量分数/(mg·g ⁻¹)									
	刺五加苷B	咖啡酸	刺五加苷D	无梗五加苷B	异绿原酸B	异绿原酸C	8-O-4,8-O-4-去氢三阿魏酸	五加酸	异贝壳杉烯酸	长白橐木酸
S1	0.164	0.026	0.085	0.016	0.029	0.187	1.038	10.831	6.480	0.991
S2	0.043	0.010	0.021	0.018	0.008	0.142	0.615	4.771	3.625	0.458
S3	0.621	0.092	0.327	0.062	0.053	0.408	2.574	19.468	11.060	1.735
S4	0.348	0.080	0.182	0.167	0.010	0.451	1.985	16.743	9.056	1.959
S5	0.041	0.054	0.019	0.012	0.021	0.259	1.793	12.008	6.220	1.091
S6	0.161	0.167	0.083	0.037	0.060	0.400	2.024	19.415	10.414	2.235
S7	0.570	0.068	0.300	0.047	0.068	0.751	2.498	19.213	11.062	1.747
S8	0.301	0.077	0.158	0.155	0.072	0.397	1.790	15.352	8.401	1.826
S9	0.131	0.116	0.067	0.034	0.041	0.657	1.919	18.717	10.189	2.192
S10	0.144	0.144	0.074	0.032	0.046	0.343	1.865	18.750	10.165	2.163

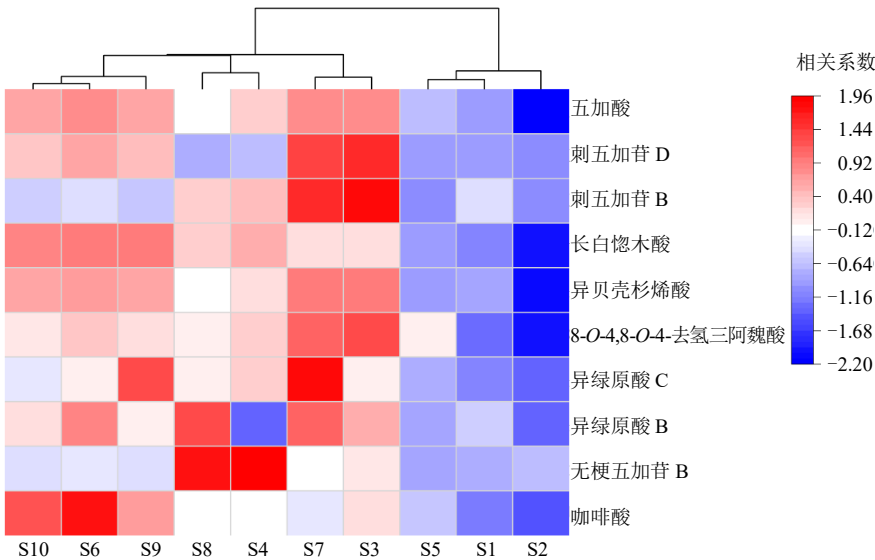


图 6 10 批五加皮药材的层级聚类分析热图
Fig. 6 Hierarchical clustering heat map of 10 batches of *Acanthopanax Cortex* samples

2.6 五加皮治疗 RA 和 OP “异病同治” Q-Marker 筛选分析

刘昌孝院士提出的中药 Q-Marker 理论强调, 应从“物质存在性”“物质特有性”“物质可测性”“物质功效关联性”“物质溯源性和传递性”等要素出发, 综合筛选能够表征中药内在质量及功效特点的关键物质, 从而建立以药效为导向的质量控制体系^[14]。据此, 以 Q-Marker “五原则”为筛选标准, 系统探索五加皮干预 RA 和 OP “异病同治”的潜在 Q-Marker。

2.6.1 基于传递性原则 本研究利用 UHPLC-TOF-MS 技术系统阐明了五加皮给药后的入血成分。在正、负离子模式下, 通过对照品比对, 共鉴定了 20 个原型入血成分, 以苯丙素类 (如刺五加苷 B、D、E 等木脂素类, 绿原酸、异绿原酸等酰基奎宁酸类成分) 和二萜类 (如五加酸、异贝壳杉烯酸、长白槲木酸等) 为主。上述 20 种入血成分符合 Q-Marker 的“传递性”原则, 为后续筛选提供了物质基础依据。

2.6.2 基于有效性原则 五加皮的传统功效为“祛风湿, 强筋骨”, 临床上常用于 RA 与 OP 等相关疾病。RA 是一种以慢性滑膜炎症及骨关节破坏为主要特征的自身免疫性疾病, 而 OP 是其常见并发症之一, 二者在炎症反应与骨代谢失衡等方面相互作用, 存在密切病理联系^[21]。因此, 本研究选取 RA 与 OP 为共病模型, 构建“入血成分-功效靶点-疾病”异病同治网络。结果发现, IL-6、TNF、PTGS2、CASP3、MMP9 和 PPARG 等是五加皮入血成分作用于 RA 和 OP 的共同核心靶点, 为其“异病同治”提供了直接靶点依据。已有研究表明, RA 患者滑膜及血清中 IL-6、TNF- α 、PTGS2 等炎症因子的高表达, 不仅可加剧关节滑膜炎症与软骨破坏, 还可通过核因子- κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL)/核因子- κ B 受体活化因子 (receptor activator of nuclear factor- κ B, RANK)/骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 通路促进破骨细胞分化, 抑制成骨细胞功能, 从而引发骨代谢异常及骨量流失, 最终诱发 OP^[22]。MMP9 在 RA 滑膜炎症及软骨与骨组织破坏过程中发挥重要作用, 其异常高表达可影响破骨细胞活性并加速骨吸收^[23]。且 MMP9 水平与 OP 的发生发展具有一定相关性, 可作为骨代谢异常的重要评价指标之一^[24]。CASP3 是半胱氨酸蛋白酶家族成员, 对

于细胞凋亡有着重大意义, 而凋亡是 RA 成纤维样滑膜细胞一种重要的表型^[25], 其异常激活可能通过影响成骨-破骨平衡参与 OP 的发生发展。PPARG 作为核受体转录因子, 不仅参与脂质代谢及炎症反应调控, 还可通过影响成骨细胞与破骨细胞分化参与骨代谢^[26]。为进一步阐释核心靶点的通路基础, 对核心靶点进行 KEGG 通路富集分析, 筛选出 COX-2/EGFR 炎症轴等 4 条炎症相关通路和激素水平调控等 3 条激素相关通路。从机制层面来看, 骨代谢稳态不仅依赖于炎症信号的调控, 还与激素水平变化密切相关, 例如, 雌激素缺乏可促进破骨细胞分化并加速骨吸收^[27], 糖皮质激素水平异常则可抑制成骨细胞功能并诱导骨吸收, 从而打破骨成骨-破骨平衡^[28]。最后, 基于网络拓扑参数分析, 筛选出 9 个潜在活性成分, 分别为五加酸、长白槲木酸、咖啡酸、异贝壳杉烯酸、异绿原酸 C、无梗五加苷 B、刺五加苷 E、刺五加苷 D 和异绿原酸 B。分子对接确证了上述 9 个潜在活性成分与 6 个关键核心靶点均具有较强的结合能力。另外, 已有研究表明, 刺五加苷 B 具有显著的抗炎活性, 可通过阻断巨噬细胞与 RA 成纤维样滑膜细胞之间的相互作用发挥抗 RA 作用^[29]; 同时, 其还可通过肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (TNF receptor-associated factor 6, TRAF6)/核因子- κ B 及磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路, 提高 OPG/RANKL 值, 抑制破骨细胞生成、促进骨形成并减少骨量丢失, 表现出一定的抗 OP 作用^[30]。因此, 结合网络药理学结果及已有药效学研究证据, 基于 Q-Marker 的“有效性”原则, 初步选取五加酸、长白槲木酸、咖啡酸、异贝壳杉烯酸、异绿原酸 C、无梗五加苷 B、刺五加苷 E、刺五加苷 D、异绿原酸 B 和刺五加苷 B 为五加皮发挥 RA 和 OP “异病同治”作用的潜在 Q-Marker。

2.6.3 基于特有性原则 五加皮始载于《神农本草经》,《新修本草》中首次强调“五叶者良”, 明确了五叶者品质优良,《本草蒙筌》继承了前人的判断, 认为“五片叶子的较好, 三叶稍次”。经考证^[31], 历代本草提及的“质量稍次的三叶植物”, 可能为五加科五加属植物白筋 *A. trifoliatum* (L.) Merr.。白筋的根皮 (三加皮) 作为广西地区的特色药材, 收录于《广西省中药材标准》, 具有祛风除湿、清热解毒、散瘀止痛的功效。二者在本草记载与功效上均有一

定的关联,因此,本研究选取三加皮作为五加皮 Q-Marker 中“特有性”的同属参照药材,建立五加皮与三加皮的 UHPLC 图谱(图 5),通过对照品比对,鉴定了仅在五加皮中可测,而三加皮无法测出的特征成分:五加酸、刺五加苷 B、刺五加苷 D。为进一步分析五加皮药用部位各成分的特征性,本研究按“2.4”项下方法,建立五加皮、五加叶 UHPLC 色谱图(图 5)。结果显示,五加皮与五加叶中均可检出咖啡酸、无梗五加苷 B、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和异贝壳杉烯酸等成分,提示二者在化学组成上具有一定的相似性;而刺五加苷 B、刺五加苷 D、五加酸、长白橐木酸和 8-O-4,8-O-4-去氢三阿魏酸仅在五加皮中检出,表现出药用部位(根皮)与非药用部位(叶)之间明显的特征性差异。因此,可将刺五加苷 B、刺五加苷 D、五加酸、长白橐木酸以及 8-O-4,8-O-4-去氢三阿魏酸作为五加皮的“特有性”成分,符合 Q-Marker 理论中的“特有性”原则。

2.6.4 基于可测性原则 本研究建立了五加皮药材中 10 个共有成分的 UHPLC 含量测定方法,并对 10 批五加皮药材含量测定结果进行了层级聚类分析,结果发现各成分在不同批次间含量存在显著差异。据此,认为上述 10 个成分符合 Q-Marker 理论中的“可测性”原则。

综上,以 Q-Marker 理论为指导,从“传递性”“有效性”“特有性”和“可测性”4 个维度进行筛选,8-O-4,8-O-4-去氢三阿魏酸虽然为五加皮的“特有性成分”,但其未达到网络药理学靶点预测和筛选阈值,且无相关药理活性研究文献,不满足 Q-Marker 的“有效性”原则,因此从候选 Q-Marker 中予以剔除。五加皮中 9 种化学成分五加酸、刺五加苷 D、异贝壳杉烯酸、长白橐木酸、无梗五加苷 B、咖啡酸、异绿原酸 B、异绿原酸 C 和刺五加苷 B,不仅在药材中可以被定量检测,亦能进入血液循环,与 RA 和 OP 相关炎症及骨代谢调控过程密切相关,则可作为五加皮干预 RA 和 OP“异病同治”的潜在 Q-Marker。

3 讨论

RA 是一种以持续关节滑膜炎症为主要病理基础的自身免疫性疾病,表现出以 TNF、IL-6、IL-17 等炎症因子异常升高为特征的炎症微环境^[32-33]。在炎症环境作用下,RANKL/RANK/OPG 信号轴被异常激活,促进破骨细胞分化和成熟,同时抑制成骨

细胞分化及骨形成能力,导致骨吸收增强与骨形成减少,最终引起骨重塑失衡及骨量丢失,并发展为 OP^[34-35]。此外,RA 患者长期应用糖皮质激素治疗可进一步导致成骨细胞分化受阻,加速骨量丢失,从而显著增加继发性 OP 的发生^[36-37]。

基于上述共同病理机制,本研究利用网络药理学及分子对接技术,对五加皮治疗 2 种疾病的“有效性”预测分析,提示五加皮可能通过多成分、多靶点、多通路协同调控作用,干预炎症反应及骨代谢失衡过程,从而实现对 RA 与 OP 的“异病同治”。根据文献^[38-40]整理并结合本研究结果,绘制基于网络药理学分析的五加皮核心成分干预 RA 与 OP“异病同治”作用机制示意图,见图 7。在炎症反应层面,五加酸、刺五加苷 B 和长白橐木酸可能通过抑制 RA 及 OP 炎症微环境中 TNF- α 、IL-6 等关键促炎因子的释放,并下调成纤维样滑膜细胞中 PTGS2 的表达,减轻局部炎症反应,进而抑制破骨细胞生成。在骨代谢层面,PPARG 是连接炎症反应与骨代谢的关键转录因子^[26],其在 OP 中的异常激活可促进骨髓间充质干细胞向脂肪细胞分化,抑制成骨^[41];而在 RA 中,PPARG 参与炎症微环境及骨代谢平衡的调控,对破骨细胞分化和骨侵蚀进程具有重要影响^[26]。因此,五加酸、长白橐木酸和异贝壳杉烯酸可能通过调节 PPARG 信号通路,减轻 RA 和 OP 中炎症介导的骨吸收,并改善骨代谢失衡。此外,长白橐木酸、异贝壳杉烯酸、咖啡酸和无梗五加苷 B 可能通过减少 MMPs 的生成,抑制软骨基质降解;异绿原酸 B 和异绿原酸 C 可能通过促进 CASP3 活化,诱导 RA 中异常增殖的成纤维样滑膜细胞凋亡,从而减轻滑膜增生及骨侵蚀。本研究结果为阐释五加皮治疗 RA 与 OP“异病同治”的分子机制提供了可能的理论依据,但上述作用机制主要基于网络药理学及分子对接预测,尚缺乏体内外实验验证。后续仍需结合细胞及动物实验,进一步验证关键活性成分对核心靶点及信号通路的调控作用。

在本研究中,刺五加苷 B 和 8-O-4,8-O-4-去氢三阿魏酸虽为五加皮入血成分,但未能满足网络药理学筛选条件,未被纳入核心靶点网络分析。这可能与现有数据库覆盖不足、靶点预测方法局限以及体内代谢转化等因素有关,提示网络药理学预测结果仍需结合药效学及机制研究进一步验证。已有研究表明^[29-30],刺五加苷 B 具有一定的抗炎活性,并可能参与 RA 和 OP 病理过程,因此本研究仍将其

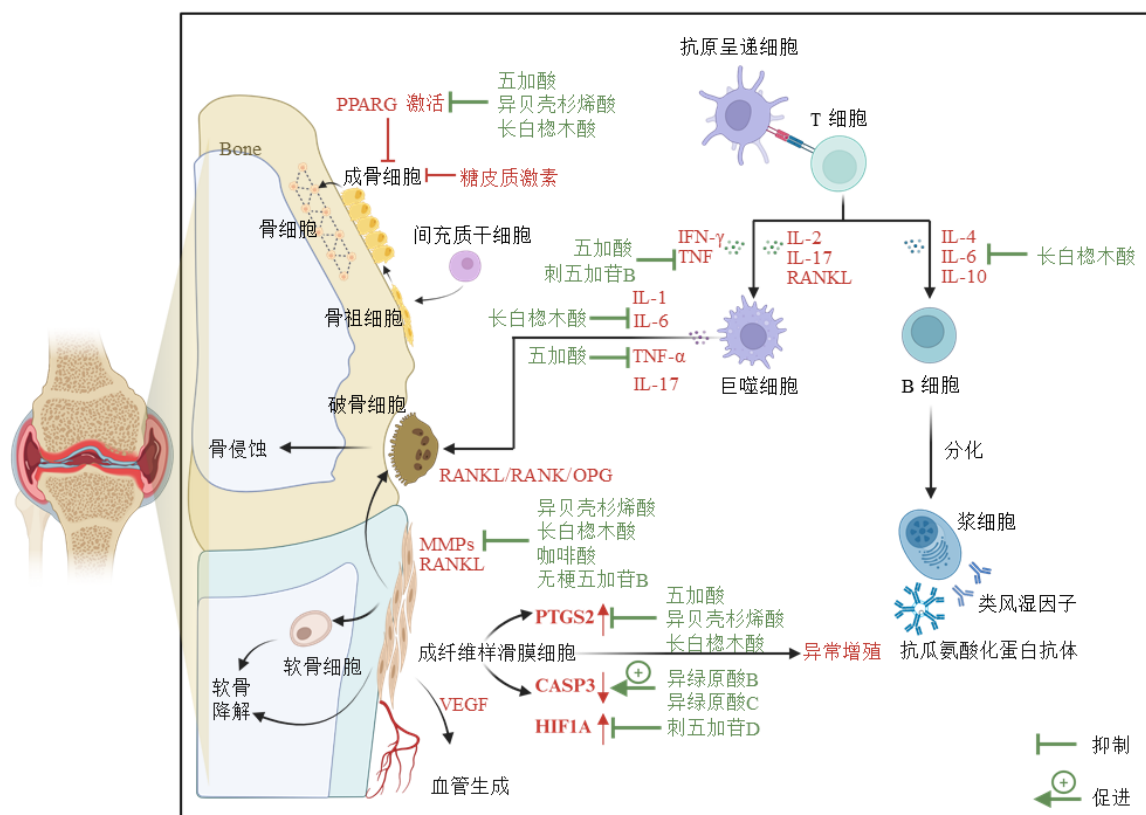


图 7 基于网络药理学分析的五加皮核心成分干预 RA 与 OP “异病同治” 作用机制示意图

Fig. 7 Schematic diagram of mechanism of action of core constituents of *Acanthopanax Cortex* intervene in “same treatment for different diseases” of RA and OP based on network pharmacology analysis

作为潜在 Q-Marker。8-*O*-4,8-*O*-4-去氢三阿魏酸作为五加皮的特征性成分, 虽在药材中含量较高, 但由于目前缺乏系统的药理学研究证据, 且未达到网络药理学靶点预测及筛选阈值, 现有证据尚不足以支持其“有效性”, 因此未将其纳入潜在 Q-Marker。未来仍需结合药效学实验及作用机制研究, 进一步明确其药理活性及在五加皮质量评价中的应用价值。

既往五加皮研究文献中, 常因缺乏化学成分的系統评价及对照品的指认, 难以确定关键的鉴别成分和与质量相关的成分^[13]。本研究结合 UHPLC-Q-TOF 技术、UHPLC 指纹图谱方法及对照品比对, 指认了五加酸、8-*O*-4,8-*O*-4-去氢三阿魏酸、无梗五加苷 B、长白槲木酸等成分, 为五加皮特征性成分研究提供了补充依据。其中, 五加酸、刺五加苷 B 和刺五加苷 D 具有较好的有效性、特异性和可测性, 可作为五加皮质量标准进一步完善的候选指标成分, 建议进一步评价其作为定性鉴别或含量测定指标成分的可行性, 为建立兼顾专属性和有效性的五加皮质量控制体系提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 69.
- [2] Jo N Y, Du Roh J. Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of *Acanthopanax cortex* hot aqueous extract on lipopolysaccharide (LPS) simulated macrophages [J]. *Acupuncture*, 2014, 31(1): 131-137.
- [3] Shan, Yoshita, Sugiura, *et al.* Suppressive effect of Chinese medicinal herb, *Acanthopanax gracilistylus*, extract on human lymphocytes *in vitro* [J]. *Clin Exp Immunol*, 1999, 118(1): 41-48.
- [4] 钟焯岚, 彭芝娜, 田晓红, 等. 五加皮外泌体样纳米囊泡促进人骨髓间充质干细胞成骨分化 [J]. *中国组织工程研究*, 2026, 30(19): 4825-4835.
- [5] Zhang Z G, Dong J Z, Liu M J, *et al.* Therapeutic effects of cortex *acanthopanax* aqueous extract on bone metabolism of ovariectomized rats [J]. *Evid Based Complement Altern Med*, 2012, 2012(1): 492627.
- [6] 杨帆, 曹晶. 金实教授以益肾通络法论治类风湿性关节炎继发骨质疏松症 [J]. *南京中医药大学学报*, 2022, 38(12): 1160-1163.
- [7] 黄帝内经素问 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 164.

- [8] 王肯堂. 证治准绳-三-伤寒证治准绳 [M]. 宋立人, 点校. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 323.
- [9] 黄帝内经素问 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 168.
- [10] 张雪, 解盈盈, 刘琦, 等. 五加皮中二萜类化学成分及其抗炎活性研究 [J]. 中草药, 2023, 54(23): 7709-7716.
- [11] Yang H D, Tang Z S, Xue T T, *et al.* Acyl-quinic acids from the root bark of *Acanthopanax gracilistylus* and their inhibitory effects on neutrophil elastase and cyclooxygenase-2 *in vitro* [J]. *Bioorg Chem*, 2023, 140: 106798.
- [12] Yang J B, Yao L W, Gong K Y, *et al.* Identification and quantification of chlorogenic acids from the root bark of *Acanthopanax gracilistylus* by UHPLC-Q-exactive orbitrap mass spectrometry [J]. *ACS Omega*, 2022, 7(29): 25675-25685.
- [13] 熊菲, 倪倩, 孙彦敏, 等. 基于 HPLC 特征图谱的五加皮和三加皮药材鉴别研究 [J]. 中南药学, 2025, 23(10): 2971-2975.
- [14] 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.
- [15] 中华中医药学会《中药质量标志物研究技术指南》编写组. 中药质量标志物研究技术指南 [J]. 中草药, 2025, 56(7): 2249-2252.
- [16] 杨迎, 韦敏, 钱怡云, 等. 五加皮对环磷酸腺苷诱导的雄性大鼠生殖损伤的影响 [J]. 时珍国医国药, 2025, 36(8): 1415-1421.
- [17] Jiang X N, Shen Y T, Wang H X, *et al.* Determination of kaurenoic acid in rat plasma using UPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, 164: 27-31.
- [18] Qi W, Zhao T, Yang W W, *et al.* Comparative pharmacokinetics of chlorogenic acid after oral administration in rats [J]. *J Pharm Anal*, 2011, 1(4): 270-274.
- [19] Song Y, Deng Y, Huang D X, *et al.* LC-MS/MS determination and pharmacokinetic study of four lignan components in rat plasma after oral administration of *Acanthopanax sessiliflorus* extract [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 141(3): 957-963.
- [20] 王力弘, 钱怡云, 韦敏, 等. 基于多波长切换 HPLC 同时测定五加皮中 10 个成分研究 [J]. 药物分析杂志, 2023, 43(4): 558-563.
- [21] Gupta N, Kanwar N, Arora A, *et al.* The interplay of rheumatoid arthritis and osteoporosis: Exploring the pathogenesis and pharmacological approaches [J]. *Clin Rheumatol*, 2024, 43(5): 1421-1433.
- [22] Boyce B F, Xing L P. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2008, 473(2): 139-146.
- [23] Xue M L, McKelvey K, Shen K, *et al.* Endogenous MMP-9 and not MMP-2 promotes rheumatoid synovial fibroblast survival, inflammation and cartilage degradation [J]. *Rheumatology: Oxford*, 2014, 53(12): 2270-2279.
- [24] 刘童, 李兴锐, 谭悦. 血清 SOST、MMP-9 水平预测老年类风湿关节炎患者并发骨质疏松的临床价值 [J]. 中国老年学杂志, 2026, 46(2): 285-289.
- [25] 范欣荣, 张乐怡, 罗莎, 等. 基于指纹图谱-网络药理学-多指标定量分析预测树参中的差异活性成分 [J]. 中草药, 2025, 56(6): 2122-2134.
- [26] Wan Y H. PPAR γ in bone homeostasis [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2010, 21(12): 722-728.
- [27] Wang L T, Chen L R, Chen K H. Hormone-related and drug-induced osteoporosis: A cellular and molecular overview [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6): 5814.
- [28] Chotiarnwong P, McCloskey E V. Pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis and options for treatment [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2020, 16(8): 437-447.
- [29] Cong S, Wang N, Pei H, *et al.* Syringin inhibits the crosstalk between macrophages and fibroblast-like synoviocytes to treat rheumatoid arthritis via PDE4 [J]. *Phytomedicine*, 2025, 138: 156401.
- [30] Liu J J, Zhang Z Z, Guo Q, *et al.* Syringin prevents bone loss in ovariectomized mice via TRAF6 mediated inhibition of NF- κ B and stimulation of PI3K/AKT [J]. *Phytomedicine*, 2018, 42: 43-50.
- [31] 鞠康, 刘耀武. 五加皮的本草学研究 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014, 35(23): 3524-3525.
- [32] Andreev D, Kachler K, Schett G, *et al.* Rheumatoid arthritis and osteoimmunology: The adverse impact of a deregulated immune system on bone metabolism [J]. *Bone*, 2022, 162: 116468.
- [33] 王成志, 李松伟, 杜萌萌, 等. 中医药调控 AMPK 信号通路治疗类风湿关节炎的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2025, 48(10): 2989-3002.
- [34] Xu J, Yu L X, Liu F, *et al.* The effect of cytokines on osteoblasts and osteoclasts in bone remodeling in osteoporosis: A review [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1222129.
- [35] Guder C, Gravius S, Burger C, *et al.* Osteoimmunology: A

- current update of the interplay between bone and the immune system [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 58.
- [36] Kim Y, Kim G T. Positive effects of biologics on osteoporosis in rheumatoid arthritis [J]. *J Rheum Dis*, 2023, 30(1): 3-17.
- [37] Liu X N, Gu Y R, Kumar S, *et al*. Oxylin-PPAR γ -initiated adipocyte senescence propagates secondary senescence in the bone marrow [J]. *Cell Metab*, 2023, 35(4): 667-684.
- [38] Ding Q, Hu W, Wang R, *et al*. Signaling pathways in rheumatoid arthritis: Implications for targeted therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 68.
- [39] Chen L C, Liang L L. Osteoimmunology of osteoporosis in rheumatoid arthritis: Emerging mechanisms and therapeutic implications [J]. *Int J Gen Med*, 2025, 18: 7813-7822.
- [40] Song S S, Guo Y Y, Yang Y H, *et al*. Advances in pathogenesis and therapeutic strategies for osteoporosis [J]. *Pharmacol Ther*, 2022, 237: 108168.
- [41] Burkhardt L M, Bucher C H, Löffler J, *et al*. The benefits of adipocyte metabolism in bone health and regeneration [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1104709.

[责任编辑 李亚楠]