

大黄蒽醌与鞣质对大鼠肝脏的保护和损伤双向作用

章鲁珊^{1,2} 赵海平^{1,2} 赵艳玲¹ 马致洁^{1,3} 曾灵娜¹ 张雅铭¹ 张 萍¹
鄢 丹¹ 柏兆方¹ 李 越⁴ 郝庆秀⁴ 赵奎君³ 王伽伯¹ 肖小河¹

摘要 目的 比较大黄总蒽醌与总鞣质提取物对肝脏的保护和损伤双向作用。**方法** 100 只大鼠随机分为空白组、模型组;空白加蒽醌低、高剂量组,空白加鞣质低、高剂量组;模型加蒽醌低、高剂量组,模型加鞣质低、高剂量组;每组 10 只,共 10 组。采用四氯化碳(CCl_4)制备急性肝损伤模型。各给药组分别给予大黄总蒽醌和总鞣质低、高剂量(5.40、14.69 g 生药/kg)灌胃,1 天 1 次,共 6 天。观察大鼠一般状态、生化指标(ALT、AST、ALP)、层黏蛋白(LN)、透明质酸(HA)、转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)和肝组织病理结果,并用因子分析方法研究大黄蒽醌和鞣质对大鼠肝脏的作用规律。**结果** 与空白组比较,模型组各生化指标均升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),空白加蒽醌高剂量组 HA、空白加鞣质高剂量组 AST、ALT、HA 亦升高($P < 0.05$)。与模型组比较,模型加蒽醌低、高剂量组及模型加鞣质低剂量组 AST、ALT、ALP、HA、TGF- β_1 均降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),模型加鞣质高剂量组大鼠血清 AST、ALT、ALP 亦降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。病理结果显示:空白加蒽醌高剂量组肝细胞轻度肿胀,空白加鞣质高剂量组肝脏中央静脉周围肝细胞脂肪变性、小片状坏死。模型加蒽醌低剂量组能改善模型大鼠肝组织病理损伤。因子分析提取到肝纤维化和肝细胞损伤两个公因子,大黄总蒽醌对大鼠两个公因子的改善作用均强于总鞣质。**结论** 大黄蒽醌和鞣质类成分对肝脏具有保护和损伤双向作用,在相当于药材生药量可比的剂量下,大黄蒽醌类成分对肝脏的保护作用优于鞣质类成分,而高剂量大黄鞣质具有一定的肝损伤作用。

关键词 大黄;蒽醌;鞣质;肝损伤;肝保护;纤维化;因子分析

Protection and Bidirectional Effect of Rhubarb Anthraquinone and Tannins for Rats' Liver QIN Lu-shan^{1,2}, ZHAO Hai-ping^{1,2}, ZHAO Yan-ling¹, MA Zhi-jie^{1,3}, ZENG Ling-na¹, ZHANG Ya-ming¹, ZHANG Ping¹, YAN Dan¹, BAI Zhao-fang¹, LI Yue⁴, HAO Qing-xiu⁴, ZHAO Kui-jun³, WANG Jia-bo¹, and XIAO Xiao-he¹ 1 China Military Institute of Chinese Medicine, The 302th Military Hospital, Beijing (100039), China; 2 College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang (330004), China; 3 Department of Pharmacy, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing (100050), China; 4 National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100700), China

ABSTRACT Objective To compare the bidirectional effect of rhubarb total anthraquinone (TA) and total tannins (TT) on rats' liver. **Methods** One hundred rats were randomly divided into 10 groups, i.e., the blank group, the model group, the blank + high dose TA group, the blank + low dose TA group, the blank + high dose TT group, the blank + low dose TT group, the model + high dose TA group, the model + low dose TA group, the model + high dose TT group, and the model + low dose TT group, 10 in each group. The carbon tetrachloride (CCl_4) was used to prepare the acute liver injury rat model. TA and TT of rhubarb (at 5.40 g crude drugs/kg and 14.69 g crude drugs/kg) were intragastrically administrated to rats in all groups except the blank group and the model group, once daily for 6 successive days. The general state of rats, biochemical indices such as alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), laminin (LN), hyaluronic acid (HA), transforming growth factor β_1 (TGF- β_1), as well pathological results of rat liver tissues. Finally the protection laws of TA and TT for rats' liver were analyzed using factor analysis. **Results** Compared with the blank control group, all biochemical

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81373984, 81274026);中央本级课题资助项目(No. 20603020101)

作者单位:1. 解放军 302 医院全军中医药研究所(北京 100039);2. 江西中医药大学药学院(南昌 330004);3. 首都医科大学附属北京友谊医院中药剂科(北京 100050);4. 中国中医科学院中药资源中心道地药材国家重点实验室(北京 100700)

通讯作者:王伽伯, Tel: 010-66933325, E-mail: wjb0128@126.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.06.0698

indices increased in the blank group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). HA also increased in the blank + high dose TA group; AST, ALT, and HA also increased in the blank + high dose TT group ($P < 0.05$). Compared with the model group, AST, ALT, ALP, HA, and TGF- β_1 significantly decreased in the model + low dose TA group, the model + high dose TA group, the model + low dose TT group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Serum AST, ALT, and ALP also decreased in the model + high dose TT group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Pathological results showed that mild swollen liver cells in the model + high dose TA group. Fatty degeneration and fragmental necrosis around the central veins occurred in the blank + high dose TA group. The pathological injury was improved in the model + low dose TA group. Two common factors, liver fibrosis and liver cell injury, were extracted by using factor analysis. TA showed stronger improvement of the two common factors than TT. Conclusions Rhubarb TA and TT showed protective and harmful effects on rats' liver. At an equivalent dosage, TA had better liver protection than TT. High dose TT played a role in liver injury to some extent.

KEYWORDS rhubarb; anthraquinone; tannin; liver injury; liver protection; fibrosis; factor analysis

近年来研究发现长期、大剂量使用大黄可致肝、肾损害^[1-3],引起国内外高度关注。笔者前期研究发现^[4],大黄在一定范围剂量内对肝脏具有双向作用,既可表现出对肝损伤动物的治疗作用,又可表现出对正常动物的肝损伤作用。大黄中具有多种活性成分,主要包括蒽醌类和鞣质类^[5,6]。蒽醌在大黄药材中含量为 1.5%~4%,是药典控制的指标成分;鞣质类成分在大黄中含量较高,可达 5%~15%。一般认为蒽醌类成分具有保肝作用,但也有报道认为蒽醌具有肝毒性。鞣质的肝毒性尚不肯定,一般认为可水解鞣质的毒性高于缩合鞣质^[7,8]。大黄鞣质主要为可水解鞣质,其是否具有肝毒性尚未见报道。为此,本研究将大黄蒽醌和鞣质进行分离,对比研究两类成分对正常大鼠和肝损伤模型大鼠的作用规律,以期阐明大黄对肝脏保护和损伤作用的物质归属。根据大黄蒽醌类成分极性较弱、易溶于乙醇等有机溶剂、鞣质极性较强、易溶于水的性质特点,在阐明肝保护和肝损伤物质归属的基础上,可以通过选择恰当的提取溶剂和方式提高临床疗效和避免肝脏不良反应发生,促进提高大黄临床用药科学水平。

材料与方法

1 动物 SD 大鼠 100 只,SPF 级,雌雄各半,6~8 周龄,体重(180±30)g,由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供,动物许可证号:SCXK-(军)2007-004。

2 药物 大黄药材采自甘肃礼县,经解放军第三〇二医院肖小河研究员鉴定为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 的干燥根及根茎。大黄总蒽醌和总鞣质提取物由前期工作制备^[4],按文献方法检测总蒽醌^[9]和总鞣质^[10]含量,总蒽醌提取物中蒽醌含量 56.73%、鞣质含量 1.78%,总鞣质提取物中蒽醌含量 0.83%、鞣质含量 38.26%,表明蒽醌和鞣质得到

较好分离。前期分析表明,大黄总鞣质提取物主要含没食子酸葡萄糖苷、儿茶素二聚体、没食子酰儿茶素等可水解鞣质衍生物^[11];大黄总蒽醌提取物主要含大黄酸、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素、大黄素甲醚及其葡萄糖苷等,以及少量番泻苷类成分^[12]。

3 试剂及仪器 四氯化碳(CCl_4 ,北京北化精细化学品有限责任公司,批号:20060525);橄榄油(国药集团化学试剂有限公司,批号:F20080219);TGF- β_1 试剂盒(北京普尔伟业科技有限公司,批号:090120);其他试剂均为分析纯。免疫计数器(上海核所日环光电仪器有限公司,型号 Sn-69513);超声波清洗器(江苏省昆山市超声仪器有限公司,型号 2500);旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司);全自动生化分析仪(日本,OLYMPUS Au 800);包埋机(美国,AO);切片机(美国,AO);光学显微镜(Galen™Ⅲ,江南光学仪器厂);电子天平(型号 DT1000,中国轻工业机械总公司常熟衡器公司)。

4 实验方法

4.1 模型制备 参照文献[12]的方法。模型大鼠实验第 1 天 1 次性腹腔注射含 10% CCl_4 的橄榄油(2 mL/kg)。为了保证可比性,大黄总蒽醌和总鞣质均以相当于药材生药量给药。前期研究发现 5.4g、14.7 g 生药/kg(相当于临床成人用量的 1.80、4.89 倍)是大黄双向作用剂量范围^[12],故本研究以这 2 个剂量进行实验。

4.2 动物分组与干预方法 大鼠随机分为空白组、模型组;空白加蒽醌低、高剂量组、空白加鞣质低、高剂量组;模型加蒽醌低、高剂量组、模型加鞣质低、高剂量组,共 10 组,每组 10 只。各给药组分别于造模第 2 天开始灌胃给药 5 mL/kg,1 天 1 次,连续 6 天;同时空白组与模型组灌胃平行给予同体积生理盐水。

5 检测指标及方法

5.1 一般状况 观察大鼠的体重、饮食、排便等一般精神状况。

5.2 生化指标测定 末次给药前大鼠禁食不禁水 18 h, 给药 1 h 后, 股动脉取血, 离心后取血清, 测定 ALT、AST、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、透明质酸 (hyaluronic acid, HA)、层黏蛋白 (laminin, LN)、转化生长因子- β_1 (transforming growth factor β_1 , TGF- β_1) 等。

5.3 组织病理检测 实验结束后处死动物, 剖腹取肝脏, 用冰生理盐水清洗血迹, 滤纸吸尽表面水分, 精确称重, 然后切取左叶肝脏固定于 10% 福尔马林液中常规脱水, 石蜡包埋, 5 μm 切片, 采用 HE 常规染色, 光镜下观察组织病理变化情况。

5.4 因子分析 因子分析^[13] 原理是利用主成分降维的思想, 由研究原始变量相关矩阵内部的依赖关系出发, 把一组具有错综复杂关系的变量归纳为能反映原始变量主要信息的少数几个更基本的、但又无法直接测量到隐变量的多元分析方法。针对上述给药后变化明显的 6 个生化指标, 采用 SPSS 13.0 软件进行因子分析, 研究大黄萸醌和鞣质对肝脏的作用规律。

6 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件对数据进行处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间比较采用单因素方差检验及因子分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠一般状况变化 模型组大鼠以 CCl_4 造模后, 均表现出毛泽灰暗, 饮食量减少, 萎靡少动, 抓持力弱, 体重增长缓慢等现象。空白加萸醌低剂量组、空白加萸醌高剂量组大鼠均出现了不同程度的排稀便, 软便, 被毛脏乱、红染, 尿液棕黄色, 空白加萸醌低剂量组改变相对较轻; 空白加鞣质低剂量组、空白加鞣

质高剂量组大鼠粪便相对较干燥, 并随给药时间延长大便逐渐呈灰暗色, 体重随剂量增加略有变化。模型加萸醌低剂量组、模型加萸醌高剂量组大鼠出现不同程度的排稀便、软便, 被毛脏乱、红染, 尿液棕黄色; 模型加鞣质低剂量组、模型加鞣质高剂量组大鼠粪便干燥, 颜色呈灰暗色, 其中模型加鞣质高剂量组动物体重恢复情况较差。

2 各组大鼠血清生化指标变化比较 (表 1) 与空白组比较, 模型组大鼠各项生化指标均升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 空白加萸醌高剂量组大鼠 HA 及空白加鞣质高剂量组大鼠 AST、ALT、HA 均升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 模型加萸醌低剂量组、模型加萸醌高剂量组、模型加鞣质低剂量组大鼠 AST、ALT、ALP、HA、TGF- β_1 及模型加鞣质高剂量组大鼠血清 AST、ALT、ALP 均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与空白加鞣质高剂量组比较, 空白加萸醌高剂量组大鼠血清 AST 降低 ($P < 0.05$)。与模型加鞣质高剂量组比较, 模型加萸醌高剂量组大鼠血清 AST、HA、TGF- β_1 降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

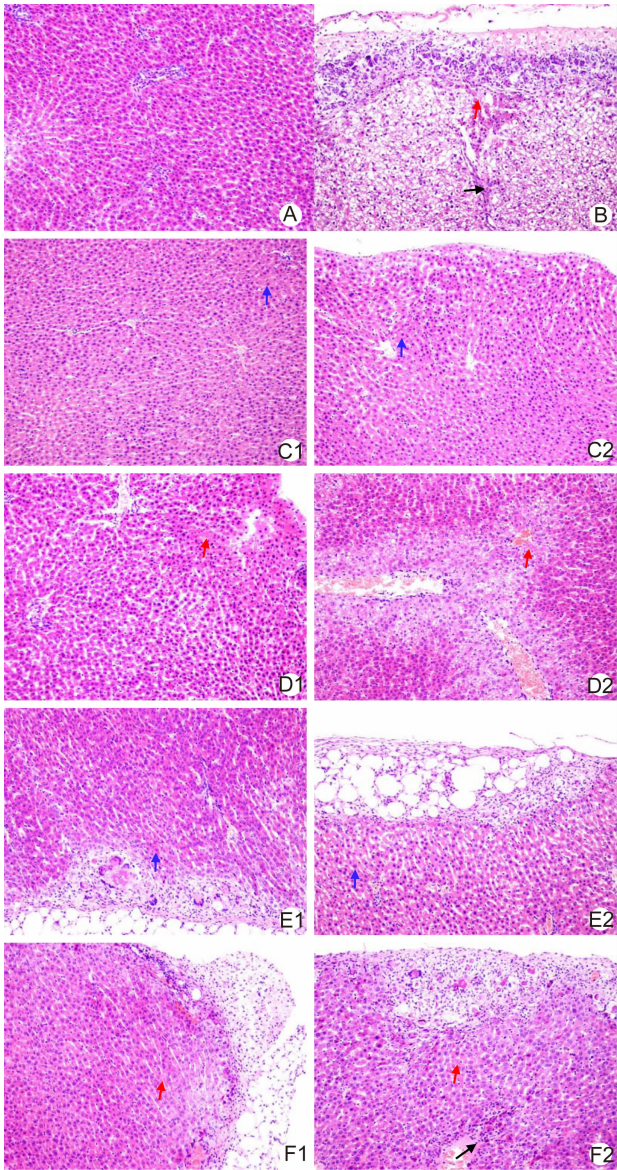
3 各组大鼠肝组织病理变化 (图 1) 模型组可见肝细胞弥漫性水样变性, 部分肝组织大片状坏死, 肝包膜处肝细胞变性、坏死, 包膜下可见纤维肉芽肿及多核巨细胞, 汇管区及包膜可见纤维组织增生 (图 B); 空白加萸醌低剂量组肝小叶结构基本正常, 部分肝细胞肿胀 (图 C1); 空白加萸醌高剂量组肝细胞核深染, 胞浆嗜酸性染色, 肝细胞轻度肿胀 (图 C2); 空白加鞣质低剂量组部分肝细胞嗜酸性变, 细胞核增大、深染, 可见肝细胞点状坏死 (图 D1); 空白加鞣质高剂量组中央静脉周围肝细胞脂肪变性、小片状坏死 (图 D2)。

模型加萸醌低剂量组肝细胞见散在的空泡变性 (图 E1); 模型加萸醌高剂量组肝细胞轻度肿胀, 偶见

表 1 各组大鼠血清生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	HA (ng/mL)	LN (ng/mL)	TGF- β_1 (ng/mL)
空白	10	96.33 $\pm$ 12.18	37.00 $\pm$ 8.67	247.70 $\pm$ 87.29	194.93 $\pm$ 45.06	73.99 $\pm$ 13.74	22.95 $\pm$ 8.04
模型	10	674.40 $\pm$ 165.95 **	174.80 $\pm$ 57.19 **	362.30 $\pm$ 131.62 *	447.80 $\pm$ 106.96 **	97.19 $\pm$ 10.63 *	77.28 $\pm$ 19.05 **
空白加萸醌低剂量	10	91.60 $\pm$ 3.42	43.67 $\pm$ 5.77	213.00 $\pm$ 31.02	253.49 $\pm$ 20.10	82.81 $\pm$ 15.74	24.11 $\pm$ 21.30
空白加萸醌高剂量	10	122.70 $\pm$ 8.77	38.25 $\pm$ 1.50	221.80 $\pm$ 79.82	269.66 $\pm$ 10.53 *	72.97 $\pm$ 16.27	36.17 $\pm$ 15.23
空白加鞣质低剂量	10	115.00 $\pm$ 7.87	39.50 $\pm$ 6.03	232.60 $\pm$ 54.05	222.71 $\pm$ 36.62	84.34 $\pm$ 13.15	30.16 $\pm$ 28.51
空白加鞣质高剂量	10	159.70 $\pm$ 15.09 * [▲]	52.25 $\pm$ 10.56 *	262.50 $\pm$ 38.23	270.73 $\pm$ 47.71 *	90.09 $\pm$ 11.38	45.70 $\pm$ 19.47
模型加萸醌低剂量	10	98.00 $\pm$ 16.73 ^{ΔΔ}	41.50 $\pm$ 7.98 ^{ΔΔ}	228.50 $\pm$ 94.89 ^Δ	260.02 $\pm$ 98.56 ^Δ	84.44 $\pm$ 13.36	18.67 $\pm$ 8.62 ^{ΔΔ}
模型加萸醌高剂量	10	129.40 $\pm$ 20.16 ^{ΔΔ} [○]	44.86 $\pm$ 9.79 ^{ΔΔ}	229.80 $\pm$ 57.13 ^Δ	239.89 $\pm$ 68.01 ^Δ [○]	93.44 $\pm$ 17.89	47.31 $\pm$ 11.28 ^Δ [○]
模型加鞣质低剂量	10	127.20 $\pm$ 12.12 ^{ΔΔ}	43.75 $\pm$ 2.87 ^{ΔΔ}	214.00 $\pm$ 55.85 ^Δ	346.75 $\pm$ 99.40 ^Δ	88.29 $\pm$ 6.61	44.24 $\pm$ 13.62 ^Δ
模型加鞣质高剂量	10	178.00 $\pm$ 12.04 ^{ΔΔ}	48.60 $\pm$ 5.32 ^{ΔΔ}	256.50 $\pm$ 77.32 ^Δ	436.02 $\pm$ 78.21	4.30 $\pm$ 35.41	79.26 $\pm$ 7.45

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$; 与空白加鞣质高剂量组比较, [▲] $P < 0.05$; 与模型加鞣质高剂量组比较, [○] $P < 0.05$



注:A 为空白组;B 为模型组;C1 为空白加茵陈低剂量组;C2 为空白加茵陈高剂量组;D1 为空白加赭质低剂量组;D2 为空白加赭质高剂量组;E1 为模型加茵陈低剂量组;E2 为模型加茵陈高剂量组;F1 为模型加赭质低剂量组;F2 为模型加赭质高剂量组;图中红色箭头表示肝细胞坏死;黑色箭头表示纤维组织增生;蓝色箭头表示细胞肿胀

图 1 空白大鼠和肝损伤模型大鼠灌胃大黄总茵陈和总赭质的肝脏病理观察 (HE, ×200)

汇管区炎症反应及小胆管增生(图 E2);模型加赭质低剂量组肝实质细胞可见散在小脂滴,部分肝细胞嗜酸性变,偶见小片状肝坏死及炎症细胞浸润(图 F1);模型加赭质高剂量组可见肝包膜增厚,汇管区周围肝细胞嗜酸性变性,部分肝细胞坏死,汇管区可见轻度的纤维组织增生(图 F2)。

4 因子分析结果(表 2、图 2) 因子分析模型的 KMO(Kaiser-Meyer-Olkin)值 >0.5, Bartlett's 检

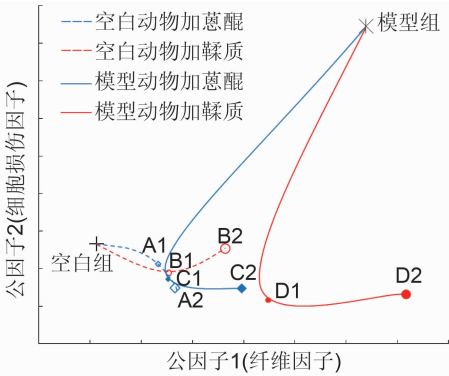
验 P 值 <0.0001,证明所建数学模型满足可靠性检验要求^[14]。根据特征值 >1 的判据^[14],因子分析共提取到 2 个公因子,累积贡献率 86.1%,表明 2 个公因子代表了原始数据 86.1%的信息。以因子载荷 >0.5 为显著性判据,公因子 1 主要由 $TGF-\beta_1$ 、HA、LN 决定;公因子 2 主要由 AST、ALT、ALP 决定。HA 和 LN 是肝细胞外基质代谢过程中的产物,是肝纤维化和基质沉积相关的直接指标^[15], $TGF-\beta_1$ 水平可反映慢性肝病纤维化中组织炎症坏死及纤维化程度^[16,17],提示公因子 1 可解释为肝纤维化因子;AST、ALT 和 ALP 反映肝细胞损伤程度^[18],提示公因子 2 可解释为肝细胞损伤因子。

在肝细胞损伤因子方向,空白加茵陈低剂量组、空白加茵陈高剂量组、空白加赭质低剂量组逐渐偏离正常组;模型加茵陈低剂量组、模型加茵陈高剂量组、模型加赭质低剂量组、模型加赭质高剂量组都偏离模型

表 2 各因子得分系数矩阵、特征值及模型贡献率

变量	公因子 1	公因子 2
AST	0.577	0.766
ALT	0.558	0.753
ALP	0.105	0.880
LN	0.914	0.039
$TGF-\beta_1$	0.882	0.303
HA	0.907	0.230
特征值	3.895	1.269
贡献率(%)	64.917	21.151
累计贡献率(%)	64.917	86.068
公因子释义	纤维化因子	细胞损伤因子

注:KMO 统计量 = 0.567 > 0.5, Bartlett's Test $\chi^2 = 97.479$, 单侧 $P < 0.0001$



注:A1 为空白加茵陈低剂量组;A2 为空白加茵陈高剂量组;B1 为空白加赭质低剂量组;B2 为空白加赭质高剂量组;C1 为模型加茵陈低剂量组;C2 为模型加茵陈高剂量组;D1 为模型加赭质低剂量组;D2 为模型加赭质高剂量组

图 2 大黄茵陈与赭质部位量-效/毒关系变化的因子荷载图

组,接近正常组;模型加蒽醌低剂量组和模型加蒽醌高剂量组更接近正常组,说明大黄蒽醌与鞣质部位对肝损伤大鼠均有治疗作用,蒽醌部位的治疗作用更强。

在肝纤维化因子方向,空白加蒽醌低剂量组、空白加蒽醌高剂量组、空白加鞣质低剂量组、空白加鞣质高剂量组都逐渐偏离正常组方向,向模型组靠近,空白加鞣质低剂量组和空白加鞣质高剂量组偏离更甚,说明大黄蒽醌与鞣质部位都能导致正常大鼠肝纤维化变化,鞣质部位的损伤作用更强;模型加蒽醌低剂量组、模型加鞣质低剂量组都偏离模型组,向正常组靠近,但模型加蒽醌高剂量组、模型加鞣质高剂量组又逐渐偏离正常组,向模型组靠近,模型加鞣质高剂量组向肝纤维化严重方向超出模型组,说明大黄蒽醌与鞣质部位都能修复大鼠肝纤维化,但随剂量增加修复效果越差,鞣质部位高剂量甚至能加重大鼠肝纤维化。

讨 论

本文在可比剂量下,对比了大黄蒽醌和鞣质类成分对肝脏的作用规律,综合生化和病理结果表明:(1)大黄总蒽醌对肝损伤大鼠有一定的治疗效果。蒽醌低剂量组疗效优于高剂量组,提示大黄蒽醌治疗肝病应注意选择合适的剂量。(2)大黄总鞣质可能是肝损伤的主要部位。

文献报道大黄蒽醌类成分可以阻断实验动物组织纤维化进程^[19,20]。肝纤维化是由各种致病因子所致肝内结缔组织异常增生,导致肝内纤维性细胞外基质(fibrillar extracellular matrix, ECM)过度沉积的病理过程。肝星型细胞(hepatic stellate cell, HSC)的激活与ECM生成过多和降解不足是肝纤维化形成的主要环节^[21]。TGF- β_1 能激活HSC,促进激活的HSC存活,刺激HSC转化、增值和合成ECM,同时抑制ECM的降解,导致肝纤维化,ECM是已知最强的促进肝纤维化细胞因子^[22,23]。正常的肝细胞无TGF- β_1 的表达,一旦肝脏受损,血小板、巨噬细胞、库普弗细胞等激活后释放出TGF- β_1 。大黄素和大黄酸等蒽醌类物质能够抑制TGF- β_1 的表达,从而抑制HSC的活化,阻止肝纤维化的发生^[24,25],推测是大黄保肝作用的重要机制。

鞣质又称单宁,是一类比较复杂的多元酚类化合物,分为可水解鞣质和缩合鞣质两大类^[26]。鞣质的肝毒性多有报道,但研究较为薄弱,一般认为可水解鞣质的肝毒性较大。大黄鞣质主要为可水解鞣质类。本实验结果显示,高剂量大黄鞣质可引起肝损伤,且主要是沿着纤维化方向发展。大黄鞣质肝毒性研究较少,应引起关注深入研究并阐明其诱发肝纤维化损伤的分子

机制。大黄鞣质主要是由没食子酸和儿茶素为基本单元结合或缩合形成的系列衍生物,一般认为没食子酸的肝毒性大于儿茶素,大黄鞣质的主要毒性成分及构—毒关系需要深入研究。

蒽醌和鞣质是大黄中最重要的两类活性成分。本文结果提示在一定的剂量范围,大黄蒽醌和鞣质对肝脏表现出相反的作用,蒽醌保肝、鞣质伤肝;而笔者课题组前期研究还发现,大黄蒽醌和鞣质对胃肠道也具有相反的作用,蒽醌致泻、鞣质止泻^[27],说明大黄具有双向作用的特点。由于组成成分复杂,很多中药都存在双向作用^[28],如人参既能升压又能降压^[29],人参所含不同皂苷类成分表现出促进血管生成和抑制血管生成的相反作用^[30],三七能止血又能活血^[31]等。有学者将中药的双向作用称为阴阳作用^[4,30]。本研究采用因子分析方法,直观反映出了大黄蒽醌与鞣质对肝脏的阴/阳矛盾作用,为研究大黄的效/毒双向作用提供了有益参考。

笔者前期研究大黄总提取物对肝脏的双向作用发现^[12],大黄在一定剂量下对正常动物表现出肝损伤作用,但对于肝损伤模型动物则表现出治疗作用,符合《黄帝内经》“有故无殒”思想对药物毒性作用的认识,即是指当药物选择对证(病),不仅不会发生毒性作用,还可以有效治疗疾病^[32],但该研究未设计实验探讨大黄“有故无殒”现象的物质基础。本实验在“有故无殒”思想指导下,采用肝损伤模型动物与正常动物对比考察大黄致肝损伤的化学成分,发现大黄总鞣质提取物是引起大鼠肝损伤的主要成分,总蒽醌提取物是肝保护作用的主要成分。与前期大黄总提取物的实验比较^[12],将大黄鞣质和蒽醌分离后,大黄鞣质引起大鼠肝损伤所需的用药周期比大黄总提取物更短,且损伤更明显,推测原因可能是总提取物中蒽醌成分的肝保护作用拮抗了鞣质成分的肝损伤作用。提示在临床治疗肝病时,应注意设法减少对大黄鞣质成分的煎出和提取,避免鞣质类成分对疗效的影响和潜在的肝毒性。目前中药不同组分间拮抗作用对临床疗效和安全性可能产生的影响尚未得到充分重视,应加强研究,提高中药临床合理用药水平。

参 考 文 献

- [1] Wen WY, Ouyang J, Xiao XH, et al. Antimicrobial properties and toxicity of anthraquinones by micro-calorimetric bioassay [J]. Chin J Chem, 2006, 24(1): 45-50.
- [2] 任红兵,王艳艳,王团结. 大黄总蒽醌对大鼠急性肾毒性研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(1): 69-71.
- [3] 笪红远,江振洲,王翠芬,等. 大黄酸和大黄素在体外对

- 人肾小管上皮细胞的毒性作用研究[J]. 中草药, 2009, 40(1): 102–105.
- [4] Zeng LN, Ma ZJ, Wang JB, et al. The protective and toxic effects of rhubarb tannins and anthraquinones in treating hexavalent chromium-injured rats: The yin-yang actions of rhubarb[J]. J Hazard Mater, 2013, 246–247: 1–9.
- [5] 傅兴圣, 陈菲, 刘训红, 等. 大黄化学成分与药理作用研究新进展[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(16): 1534–1538.
- [6] 王伽伯, 马永刚, 张萍, 等. 炮制对大黄化学成分和肝肾毒性的影响及其典型相关分析[J]. 药学学报, 2009, 44(8): 885–890.
- [7] 邢晶晶, 曹婷婷, 杨帆, 等. 鞣质类化合物研究的进展情况[J]. 黑龙江医药, 2011, 24(5): 776–780.
- [8] 杜国成. 中药鞣质成分的药理作用探析[J]. 中国医药科学, 2000, 17(1): 27–33.
- [9] 孙玉琦, 肖小河, 马永刚, 等. 大黄煎煮过程中蒽醌类成分动态变化规律研究[J]. 解放军药理学学报, 2006, 22(4): 281.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社: 附录 XB.
- [11] Wang JB, Qin Y, Kong WJ, et al. Identification of the anti-diarrheal components in official rhubarb using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2011, 129(4): 1737–1743.
- [12] Wang JB, Zhao HP, Zhao YL, et al. Hepatotoxicity or hepatoprotection pattern recognition for the paradoxical effect of the Chinese herb *Rheum palmatum* L. in treating rat liver injury[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24498.
- [13] Tafeit E, Möller R, Sudi K, et al. Artificial neural networks compared to factor analysis for low-dimensional classification of high-dimensional body fat topography data of healthy and diabetic subjects[J]. Comput Biomed Res, 2000, 33(5): 365–374.
- [14] Sharma S. Applied multivariate techniques[M]. New York: Wiley, 1996: 90–143.
- [15] Miele L, Forcione A, La Torre G, et al. Serum levels of hyaluronic acid and tissue metalloproteinase inhibitor-1 combined with age predict the presence of nonalcoholic steatohepatitis in a pilot cohort of subjects with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Transl Res, 2009, 154(4): 194–201.
- [16] 党双锁, 李亚萍. TGF- β_1 在纤维化研究中的新进展[J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23(12): 2405–2409.
- [17] 邵祥强, 肖华胜. 肝纤维化发病机制与临床诊断的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(3): 268–274.
- [18] 张洁, 曹芸, 王之青, 等. 常规生化指标评估慢性肝功能损害的临床应用价值[J]. 胃肠病学, 2008, 13(10): 620–622.
- [19] Dong MX, Jia Y, Zhang YB, et al. Emodin protects rat liver from CCl₄-induced fibrogenesis via inhibition of hepatic stellate cells activation[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(38): 4753–4762.
- [20] 田瑗, 郭晓琳, 王丽强, 等. 大黄素对 TNBS 诱导大鼠肠纤维化的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2012, 20(28): 2703–2708.
- [21] Li JT, Liao ZX, Ping J, et al. Molecular mechanism of hepatic stellate cell activation and antifibrotic therapeutic strategies[J]. J Gastroenterol, 2008, 43(6): 419–428.
- [22] 黄艳, 黄成, 李俊. 肝纤维化病程中 Kupffer 细胞分泌的细胞因子对肝星状细胞活化增值、凋亡的调控[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(1): 9–13.
- [23] Matsuoka M, Tsukamoto H. Stimulation of hepatic lipocyte collagen production by Kupffer cell-derived transforming growth factor β : implication for a pathogenetic role in alcoholic liver fibrogenesis[J]. Hepatology, 1990, 11(4): 599–605.
- [24] 曾嵘, 王俭勤, 段书众, 等. 大黄酸对人肾小管上皮细胞血小板反应蛋白和 TGF- β_1 表达的影响[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2008, 17(3): 249–251.
- [25] Zheng JM, Zhu JM, Li LS, et al. Rhein reverses the diabetic phenotype of mesangial cells over-expressing the glucose transporter (GLUT1) by inhibiting the hexosamine pathway[J]. Br J Pharmacol, 2008, 153(7): 1456–1464.
- [26] 黄浩, 巢启荣. 大黄鞣质及相关物的研究概况[J]. 中草药, 1997, 29(3): 199–202.
- [27] Qin Y, Wang JB, Kong WJ, et al. The diarrhoeogenic and anti-diarrheal bidirectional effects of rhubarb and its potential mechanism[J]. J Ethnopharmacol, 2011, 133(3): 1096–1102.
- [28] 张晓双, 白黎明. 论中药的双向调节作用[J]. 甘肃中医学院学报, 2006, 23(4): 14–15.
- [29] Yue PY, Mak NK, Cheng YK, et al. Pharmacogenomics and the yin/yang actions of ginseng: anti-tumor, angiomodulating and steroid-like activities of ginsenosides[J]. Chin Med, 2007, 2: 6.
- [30] Sengupta S, Toh SA, Sellers LA, et al. Modulating angiogenesis: the yin and the yang in ginseng[J]. Circulation, 2004, 110(10): 1219–1225.
- [31] Ng TB. Pharmacological activity of Sanchi ginseng (*Panax notoginseng*) [J]. J Pharmacy Pharmacol, 2006, 58(8): 1007–1019.
- [32] Ni MS. The Yellow Emperor's Classic of Internal Medicine: A new translation of Neijing Suwen with commentary[J]. Boston: Shambhala Pub, 1995: 14–17.

(收稿: 2013-09-22 修回: 2014-03-02)