

含蒽醌、二苯乙烯苷类中药效-毒转换物质基础及作用机制研究进展

商佳¹, 郑彬茹¹, 陶倩倩¹, 刘睿^{1,2,3}, 韦源青^{1,3}, 韩疏影^{1*}

1. 南京中医药大学药学院, 江苏南京 210023

2. 南京中医药大学/江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心/国家中医药管理局中药资源循环利用重点研究室, 江苏南京 210023

3. 南京中医药大学, 江苏省海洋药用生物资源研究与开发重点实验室, 江苏南京 210023

摘要: 有毒中药效-毒转换机制的研究一直是中药合理应用的难点, 以蒽醌类、二苯乙烯苷类成分及含有该类成分的中药为研究对象, 梳理了这2类效-毒同源物质及其体内代谢规律与产物, 分析了效-毒同源物质原型及其代谢产物的构-效与构-毒关系, 整合并总结了含蒽醌、二苯乙烯苷类有毒中药的药效与毒性作用机制及毒-效转换关系与规律。为进一步阐释中药效-毒转换机制的研究, 基于蛋白组学技术、药物靶点及药物作用机制研究方法, 提出了以蒽醌类、二苯乙烯苷类成分为例的中药效-毒转换靶点与机制研究的策略与展望, 为中药效-毒转换机制与转换规律的探究提供思路与方法借鉴。

关键词: 效-毒转换; 蒽醌; 二苯乙烯苷; 大黄素甲醚; 大黄酚; 芦荟大黄素; 大黄酸; 大黄素

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)19-6482-15

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.19.029

Research progress on substance basis and mechanism of traditional Chinese medicines containing anthraquinone and stilbene glycosides in effect-toxicity conversion

SHANG Jia¹, ZHENG Bin-ru¹, TAO Qian-qian¹, LIU Rui^{1,2,3}, WEI Yuan-qing^{1,3}, HAN Shu-ying¹

1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae Innovative Medicine, National Administration of Traditional Chinese Medicine Key Laboratory of Chinese Medicinal Resources Recycling Utilization, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

3. Jiangsu Key Laboratory of Research and Development in Marine Bio-Resource Pharmaceutics, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: The study of the efficacy-toxicity conversion mechanism of toxic traditional Chinese medicine (TCM) has always been a difficult point in the rational application of Chinese herbal medicine. In this paper, we have taken the anthraquinones, stilbene glycosides and TCM containing these components as the research objects, sorted out these two types of efficacy-toxicity homologous substances and their metabolism patterns and products *in vivo*, analyzed the efficacy-toxicity of prototypes of these homologous substances and structure-activity and structure-toxicity relationships of their metabolites, and integrated and summarized the mechanism of efficacy and toxicity, as well as the relationships and patterns of efficacy-toxicity conversion for toxic TCM containing anthraquinone and stilbene glycosides. To further elucidate the mechanism of the efficacy-toxicity conversion of TCM, we proposed strategies and prospects for the study of the targets and mechanism of efficacy-toxicity conversion of Chinese medicines based on proteomics technology, drug targets and drug mechanism of action by taking anthraquinones and stilbene glycosides as examples, in order to provide ideas and methodological reference for the investigation of the rules of efficacy-toxicity conversion of TCM.

Key words: efficacy-toxicity conversion; anthraquinones; stilbenes glycosides; physcion; chrysophenol; aloë-emodin; rhein; emodin

收稿日期: 2023-02-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(82174090); 江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人; 江苏省高校333工程第三层次培养对象

作者简介: 商佳, 硕士研究生, 研究方向为药物分析。E-mail: shangjiayx@163.com

*通信作者: 韩疏影, 副教授, 从事有毒中药的效-毒同源组分筛选及转换机制研究。E-mail: syhan@njucm.edu.cn

在对中草药的研究和临床应用过程中,许多具有强活性的中药药效成分具有良好的临床疗效。因此中药作为传统药物或保健品在全球得到了广泛使用。然而,近年来中药使用过程中所产生的过敏反应和毒性反应等不良反应也备受关注。其中,中药及膳食补充剂引起的药物性肝损伤称为中药肝损伤(herb-induced liver injury, HILI),可导致肝功能衰竭甚至死亡。数据显示,HILI在美国占肝毒性病例的20%^[1],在中国占26.81%^[2];近年来,韩国^[3]、西班牙^[4]和日本^[5]等多个国家的HILI发病率也逐年上升。其中何首乌的肝损伤事件极具代表性。据报道,何首乌导致的肝损伤病例占全部中药肝损伤病例的5.69%,位居第1^[6]。自2003年加拿大卫生部发布有关何首乌及其制剂引起肝损伤的安全警告后,国际上已有30多个国家和地区报道了何首乌及其制剂的肝损伤问题,多国药监部门先后发布了警示信息^[7];2006—2018年国家食品药品监管总局也多次发布了含何首乌及其制剂肝损伤警示风险和监管通告^[8-11]。

研究表明,何首乌中蒽醌类成分如大黄素、大

黄酚、大黄酸等及二苯乙烯苷类成分如2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷(2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside, TSG)可引起实验动物肝损伤,而这些成分又为何首乌治疗多种肝病的药效成分^[12],体现了何首乌的效-毒同源的特性,而这些组分也存在于大黄、虎杖和决明子等其他中药中^[13-14]。本文对含蒽醌类、二苯乙烯苷类成分(表1和图1)的中药发生效-毒转换的物质基础进行综述,对效-毒同源组分的量-效-毒关系及其在体内代谢过程中药效与毒性的作用机制进行总结,并基于此提出了中药效-毒转换研究的思路和方法策略,为揭示中药的效-毒转换机制和作用靶点的研究提供了新视角。

1 中药中效-毒同源的物质基础与代谢规律研究

1.1 效-毒同源的物质基础

具有效-毒同源特性的中药,其主要活性成分会因“时-量”变化而产生药效或毒性。含有蒽醌类、二苯乙烯苷类成分的中药中,蒽醌和二苯乙烯苷类均具有较强的药理作用,但研究发现,在一定剂量或时间下,这些成分存在着潜在的肝毒性。如大黄

表1 常见蒽醌、二苯乙烯苷类效/毒成分及化学结构与来源中药

Table 1 Common active/toxic components and chemical structures of anthraquinone and stilbene glycosides and their sources of traditional Chinese medicine

编号	分类	化合物	效性/毒性	来源中药	文献
1	蒽醌类	大黄素	效性、毒性	大黄、何首乌、虎杖、决明子	15-16
2		芦荟大黄素	效性、毒性		17-18
3		大黄酸	效性、毒性		19-20
4		大黄酚	效性、毒性		21-22
5		大黄素甲醚	效性、毒性		23-24
6		大黄素甲醚-8-O-β-D-葡萄糖苷	效性、毒性		25-29
7		大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷	效性、毒性		25-29
8		大黄酚-8-O-β-D-葡萄糖苷	效性、毒性	大黄、何首乌、虎杖	25-29
9		大黄素-8-O-(6'-O-丙二酰)-葡萄糖苷	效性		30
10		大黄素-1-β-D-葡萄糖苷	效性	何首乌	31
11	二苯乙烯苷类	2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-葡萄糖苷	效性、毒性		32-33
12		2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-(6"-O-α-D-吡喃葡萄糖)-β-D-吡喃葡萄糖苷	毒性		34
13		2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D-木糖苷	毒性		30
14		2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O-(6"-O-乙酰基)-β-D-葡萄糖苷	毒性		30
15		3,5,4'-三羟基二苯乙烯-3-β-D-吡喃葡萄糖苷	效性	何首乌、虎杖	30
16		土大黄昔	效性	大黄、何首乌	30,35
17		3,5,4'-三羟基二苯乙烯	效性、毒性	大黄、何首乌、藜芦	30

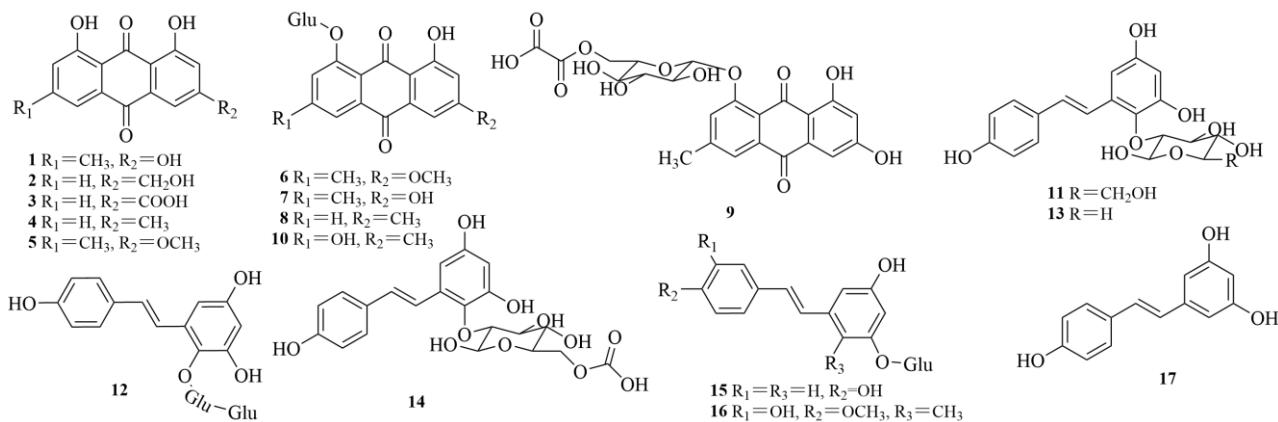


图1 常见蒽醌、二苯乙烯苷类效/毒成分化学结构

Fig. 1 Chemical structures of active/toxic components of common anthraquinone and stilbene glycosides

素 10~80 $\mu\text{mol/L}$ 可诱发基础型自噬，可促进人正常肝 L02 细胞生长发育，而大黄素 160 $\mu\text{mol/L}$ 则会诱导边缘自噬，导致细胞凋亡^[36]；芦荟大黄素 0.16 $\mu\text{mol/L}$ 孵育高脂细胞 72 h 后，细胞中脂质水平降低，而芦荟大黄素 5.00 $\mu\text{mol/L}$ 孵育正常细胞 24 h 后，其细胞活性降低^[12,36]。既能发挥保护神经、降低胆固醇及保护肝脏等作用，又具有特异质肝毒性的 TSG 效-毒作用也与“时-量”相关^[37-39]。实验证明，以 TSG 150 $\mu\text{mol/L}$ 孵育高脂细胞 60 h 后，细胞的脂质水平显著降低，而 TSG 1000 $\mu\text{g/mL}$ 则会显著诱使人正常肝 WRL-68 细胞发生自噬现象，最终导致细胞死亡^[12,40]。

1.2 蒽醌、二苯乙烯苷类成分及其代谢产物的构效/构-毒关系

中药的效-毒同源特性与其成分结构和体内代谢过程密切相关。蒽醌、二苯乙烯苷类成分作为何首乌效-毒同源的主要组分，从结构上二者属于天然多酚类化合物，且本身兼具药效和毒性^[37-41]；蒽醌、二苯乙烯苷类成分进入体内循环，会同时经历 I 相和 II 相代谢，后者占主导地位^[42-43]。经肠道和肝脏代谢后，药物通过水解、氧化、葡萄糖醛酸化及硫酸化等一系列反应转换，所产生的多种代谢产物也兼具药效和毒性^[22,44-55]。

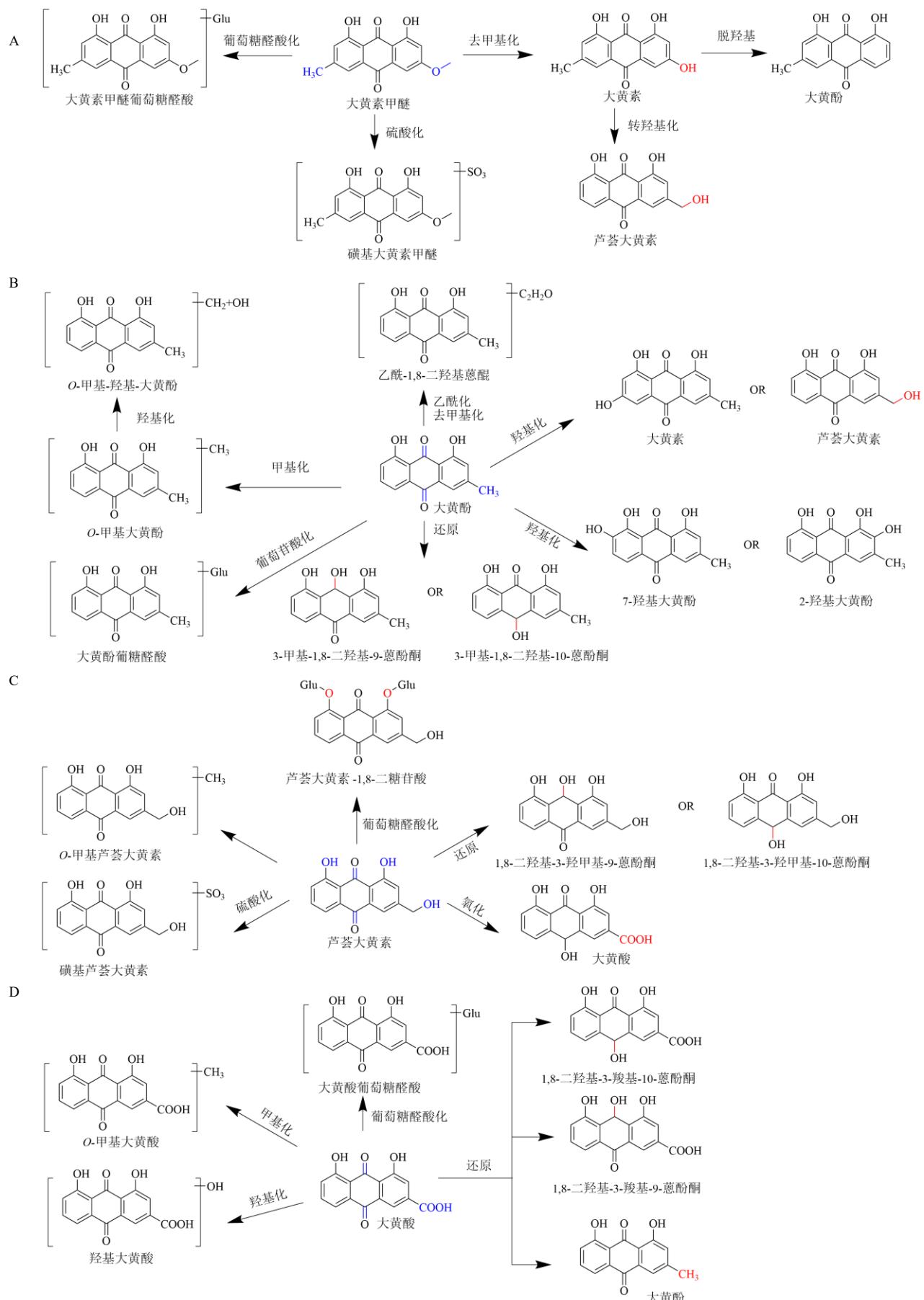
1.2.1 蒽醌类成分

蒽醌是具有 9,10-二氧杂蒽核的芳香族化合物，该成分结构中 2 个苯环上的氢常被酚羟基和脂肪族基团取代，不同位点处取代基的种类与数量均会影响该成分的生物学效力。蒽醌基本母核结构中 3 位取代基为活性基团，蒽醌类成分抗氧化作用的活性强弱大多与 3 位基团吸电子能力

相关^[56-57]。此外，因化学结构的不同，蒽醌类成分的抗炎效价强度存在差异，如芦荟大黄素分子结构的疏水作用最强，与细胞中具有疏水性结合口袋的蛋白激酶 C (protein kinases C, PKC) 结合性好，通过 PKC 调控肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 的产生，从而起到较强的抗炎效果^[58]。

作为典型的醌类化合物，蒽醌诱导毒性的机制可能是作为反应性亲电体与氨基酸、谷胱甘肽和蛋白质等亲核性成分发生共价结合。如大黄素可直接与 N-乙酰半胱氨酸或谷胱甘肽反应，靶向细胞线粒体，激活线粒体凋亡途径从而诱使肝细胞凋亡^[59-60]；芦荟大黄素^[61]和大黄酚^[21]等蒽醌类成分也可与含有巯基的亲核性成分发生反应，通过抑制胆盐输出泵和多药耐药相关蛋白 2，在肝脏中蓄积内源性胆汁酸产生毒性^[24]；蒽醌类成分还具三环共平面结构，与 DNA 嵌入剂结构类似，可产生基因毒性^[62]。

蒽醌类成分口服后在体内进行 I、II 相代谢。研究发现^[63]，蒽醌类成分在肠道吸收阶段便开始被代谢。Huang 等^[49]利用液质联用技术测定了大黄中蒽醌类成分在人肠道菌群中的代谢产物，并推导其相应的代谢途径，发现大黄主要活性成分在代谢过程中发生了相互转换，如大黄酸可通过还原反应转变为大黄酚，而大黄素甲醚则可经过去甲基化转变为大黄素；马红玉^[64]对比研究了何首乌与大黄蒽醌类成分在大鼠体内的代谢过程，发现大黄酸、大黄素和大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷是蒽醌类成分生物转换的倾向产物。蒽醌类主要效-毒同源成分的体内可能代谢途径及其代谢产物^[44-53]见图 2。



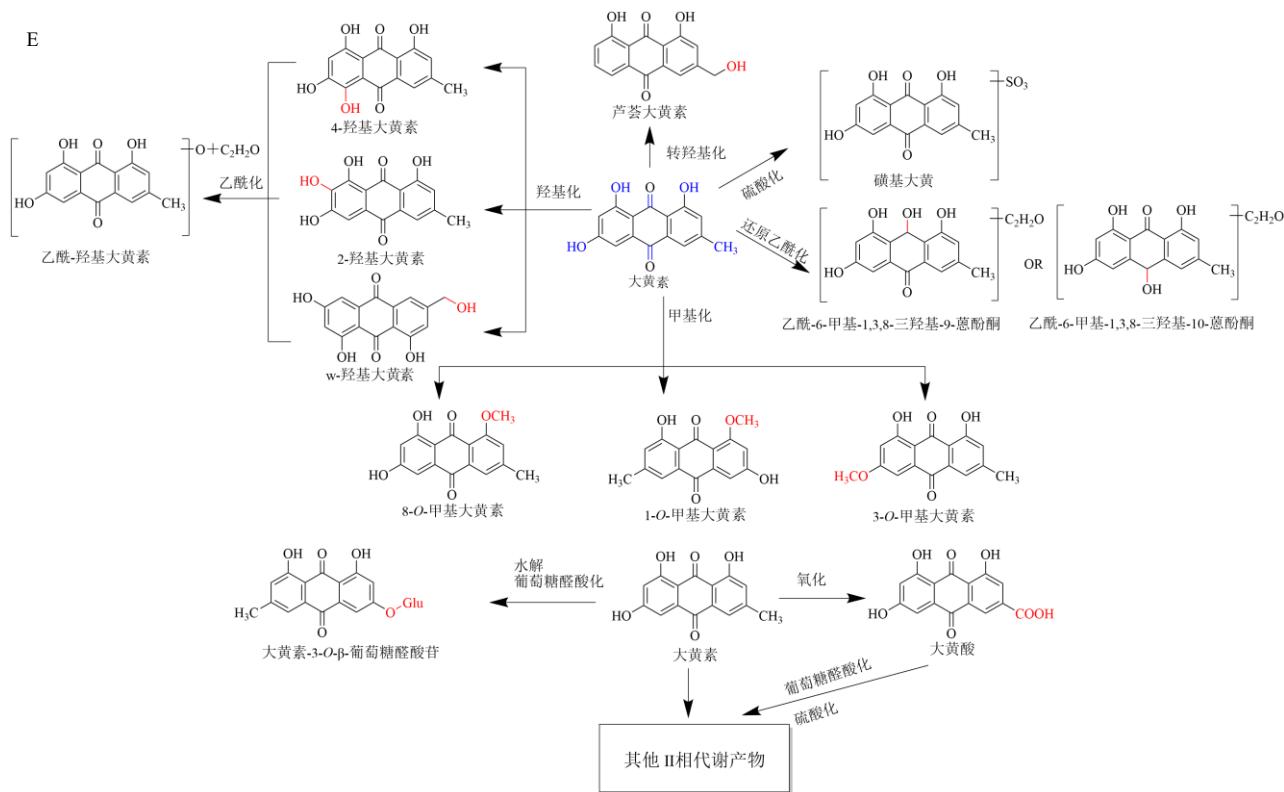


图2 大黄素甲醚 (A)、大黄酚 (B)、芦荟大黄素 (C)、大黄酸 (D) 和大黄素 (E) 在体内可能的代谢过程及其代谢产物
Fig. 2 Possible metabolic pathways and metabolites of anthraquinones of physcion (A), chrysophenol (B), aloë-emodin (C), rhein (D) and emodin (E) in vivo

进入体内后，蒽醌类成分常通过9,10位羰基还原、母环上3位取代基氧化/还原及母环上其他位点的葡萄糖醛酸化与硫酸化等途径进行代谢，其中硫酸化代谢产物毒性较小，可用于治疗自由基相关疾病^[65]；而当蒽醌类成分通过细胞色素酶P450(cytochrome P450, CYP450)系统代谢时，生成的代谢产物则具有肝毒性，且毒性增强^[66]。有研究发现，大黄酸经CYPs氧化生成的环氧化合物与半醌中间代谢物具有亲电性，可与细胞内的代谢酶或谷胱甘肽等亲核性成分反应形成加合物，引发谷胱甘肽耗竭和破坏氧化平衡，从而促使线粒体功能障碍及药物性肝损伤，最终导致肝毒性^[20]；大黄酚则通过CYPs代谢后转变成7-羟基-大黄酚、芦荟大黄素与2-羟基-大黄酚，这些代谢物与谷胱甘肽结合形成的加合物对脂质代谢产生影响，促进体内胆汁酸蓄积从而导致肝损伤^[22]；此外，大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷、大黄素甲醚相应的II相代谢物也可通过抑制尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶1A1(uridine diphosphate glucuronosyltransferase 1A1, UGT1A1)引发胆红素体内蓄积产生肝毒性^[30,67]。

1.2.2 二苯乙烯苷类成分 作为二苯乙烯苷类成分中主要的效-毒同源物质，TSG的活性官能团为乙烯双键和酚羟基^[68]。吕丽爽等^[69]通过计算推测出TSG苯环上的C₅-OH、C_{4'}-OH为发挥抗氧化活性的基团，且结构中2位上的葡萄糖苷键产生给电子效应，使C₅-OH形成的苯氧自由基更稳定，便于终止自由基链反应，增强了抗氧化活性；而C₃-OH由于邻位糖苷的空间位阻效应，抗氧化活性较弱。

已有大量研究表明TSG是何首乌肝毒性的物质基础。洪雪琪^[70]研究发现TSG单独给药并不会对肝组织与细胞造成损伤，但是TSG在脂多糖诱导的炎症应激模型或在对乙酰氨基酚诱导的肝毒性模型中能加剧肝损伤^[33,67]；TSG与大黄素等其他药物合用时，可通过抑制代谢酶使药物在体内蓄积产生肝毒性^[66]。研究发现，天然多羟基酚类化合物如白藜芦醇，可通过羟基化、双电子氧化生成邻醌中间体^[71]，也可先自发异构化为顺式结构，再氧化成不稳定的半醌，自由基偶联后转变为醌形式^[72]。因此，推测具有相似结构的TSG也可能经过类似途径转换为具有亲电性的醌式结构，从而消耗体内亲核性

成分，使二苯乙烯苷类化合物产生肝毒性。

TSG 在体内也会发生 I、II 相代谢，其中 II 相代谢为其主要的代谢途径^[73]，另外也伴随着少量的原型药物^[74]。梁幼玲等^[42]发现对大鼠进行 TSG 给药后，4 h 内在血浆和尿液等样品中检测到了不同的 TSG 代谢产物，其中异构化产物 *cis*-TSG 可下调过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferation activated receptor γ , PPAR γ)，进一步激活核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路从而导致肝损伤^[75]；但 TSG 葡萄糖醛酸化或硫酸化代谢产物毒性目前并不明确，有待深入研究。图 3 为二苯乙烯苷类主要效-毒同源成分 TSG 体内可能代谢途径及其代谢产物。

综上，蒽醌、二苯乙烯苷类均属于天然多酚类化合物，其母核结构及活泼的羟基数目、位置都会影响其与代谢酶的亲和力，由不同的代谢途径生成不同类型的代谢产物（图 3）。这 2 类成分基本骨架中的取代基也决定了代谢反应发生的类型，如环外甲基的单羟基化是大黄素的主要代谢修饰，含有羟甲基的芦荟大黄素主要通过甲基化反应代谢^[76]；对于 TSG，苯环上羟基的葡萄糖醛酸化为主要的代谢反应^[77]。通过代谢，原型药中可以引入更多的极性基团，容易与体内的葡萄糖醛酸、氨基酸和谷胱甘肽等内源性成分结合，生成极性大、易溶于水的代谢产物，也在一定程度上增加/减少了原型药物的毒性/活性。

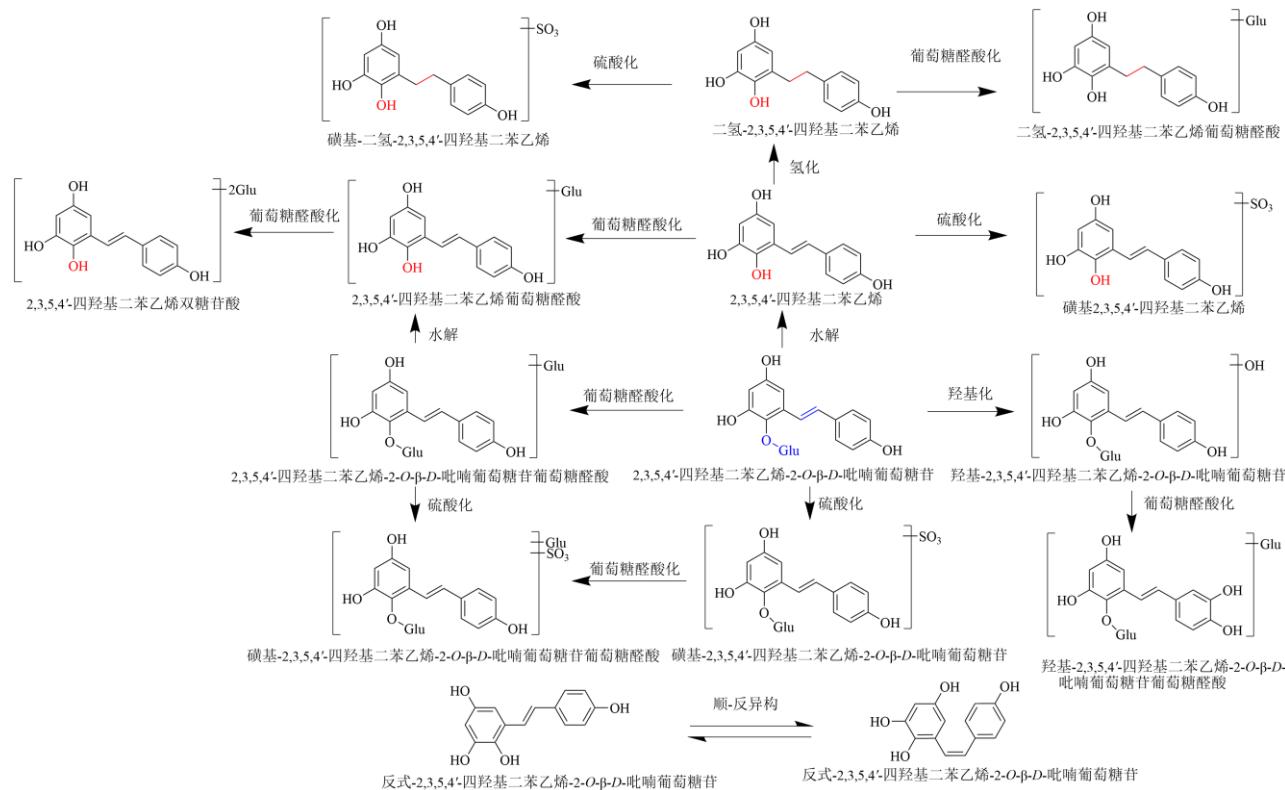


图 3 二苯乙烯苷类主要成分可能的体内代谢途径及其代谢产物

Fig. 3 Possible metabolic pathways and metabolites of major components of stilbene glycosides *in vivo*

通过构-效分析，发现蒽醌、二苯乙烯苷类成分及其相应代谢物中，与苯环相连具有强亲电性的氢原子、双键及酚羟基为主要效应基团，苯环上的其他取代基则决定了该成分药效作用的强弱，并使成分各具有一些效应特性；而构-毒分析表明，蒽醌及其代谢物、二苯乙烯苷类代谢物所形成的醌式结构与药物肝毒性密切相关，结构骨架上的不同取代基会使这些药物肝毒性产生差异。此外，蒽醌、二苯

乙烯苷类的代谢产物大多保留了化合物本身的基本骨架，可能产生一种成分与其代谢产物间的“叠加作用”^[78]，即由于多种化学原型成分与代谢产物可能为同分异构体，会在同一个靶点上产生效应的加合作用，不同于“多成分多靶点的协同作用”，而是“多成分单靶点的叠加作用”。

2 效-毒同源成分的作用机制研究

蒽醌、二苯乙烯苷类成分的效/毒作用与其化学

结构密切相关。基于成分结构基础，多项研究表明该类成分具有抗氧化、调节血脂、抗病毒与神经保护等功效，如大黄素可通过细胞自噬改善顺铂诱导小鼠的肾毒性，还能抑制炎症小体缓解由脂多糖诱导的心肌损伤和减轻心肌肥大症状^[79-81]；而芦荟大黄素和大黄素可共同调节 PKC 使肺癌细胞坏死^[82]。同时，也发现了这些成分存在着如代谢紊乱、氧化应激与特异性肝损伤等毒副作用。

对目前这2类成分已知的效/毒作用进行归纳，发现蒽醌、二苯乙烯苷类成分在肝脏部位有显著的效/毒作用效果。故本文以其在肝脏发挥的效/毒作用为重点探讨蒽醌、二苯乙烯苷类成分的效-毒转换作用机制。

2.1 保肝作用

肝脏作为蒽醌、二苯乙烯苷类成分发挥作用的主要部位之一。何首乌、大黄等中药中的蒽醌类成分具有较强的抗纤维化特性，如大黄素能促进应激活化 c-Jun 氨基末端激酶（c-Jun N-terminal kinase, JNK）的磷酸化，减少甚至逆转肝纤维化^[83]；大黄酚可通过产生活性氧造成 DNA 损伤和三磷酸腺苷水平改变，诱导肝癌细胞坏死^[84]。二苯乙烯苷类成分能预防脂肪肝和减弱酒精性肝损伤。TSG 通过降低活性氧水平减少非酯化脂肪酸诱导的肝细胞中脂质积累，并降低三酰甘油水平，运用胞内机制在肝细胞中发挥调节血脂的作用^[85]；TSG 还可通过抑制肝脏丙二醛升高和谷胱甘肽消耗，促进超氧化物歧化酶和过氧化氢酶等蛋白的活性，从而抑制酒精诱导的氧化应激，发挥保护作用^[86]。

蒽醌、二苯乙烯苷类成分具有有效的抗炎作用。大黄素甲醚通过中断 JNK/ 抑制 NF-κB 蛋白 (inhibitory protein of NF-κB, IκB) /NF-κB 通路下调诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 表达，抑制小鼠肺泡巨噬细胞中一氧化氮的产生，表现出抗炎潜力^[87]。在人牙龈成纤维细胞和结扎诱导牙周炎的动物模型中，TSG 通过增强腺苷酸活化蛋白激酶和沉默信息调节因子 1 表达，降低脂多糖诱导的炎症因子的表达，从而改善牙周炎^[88]。

同时，蒽醌、二苯乙烯苷类成分作为抗氧化剂，可调节细胞氧化应激状态。在四氯化碳诱导的肝损伤模型中，大黄素可增强线粒体谷胱甘肽的抗氧化状态，有助于缓解肝细胞的氧化损伤^[89]；大黄酚可通过上调核因子 E2 相关因子 2 及其下游抗氧化信号分子的水平，保护心肌免受氧化损伤^[90]。TSG 能够恢复由 H₂O₂ 触发的 NF-κB 配体受体激活剂的正常水平，并降低 IL-6、活性氧和丙二醛的水平，抑制细胞的氧化损伤^[91]。

2.2 肝损伤作用

目前蒽醌、二苯乙烯苷类的肝毒性机制尚未完全阐明，根据上述总结的蒽醌、二苯乙烯苷类成分代谢规律，分析发现蒽醌类代谢产物及 TSG 羟基化、氧化产物均保留着醌式结构，肝毒性可能与该结构相关。此外，研究表明这2类成分的肝毒性还与抑制代谢酶活性与表达、影响多种代谢途径及基因多态性等方面有关，如图4所示。

蒽醌、二苯乙烯苷类成分及其亲电性代谢物可

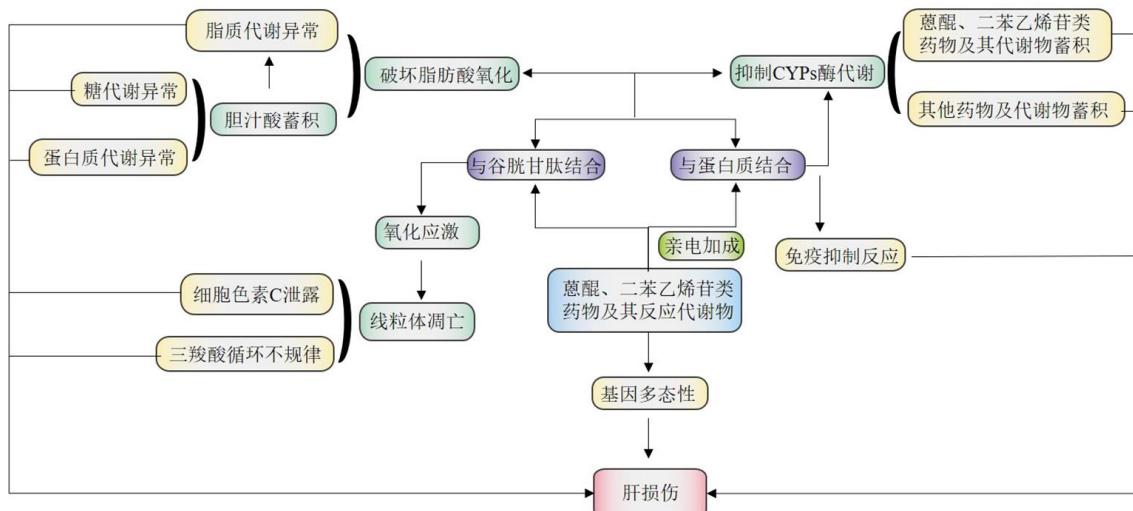


图4 蕤醌、二苯乙烯苷类药物肝毒性的可能作用机制

Fig. 4 Possible mechanism of action of anthraquinone and stilbene glycosides in hepatotoxicity

能通过与细胞内亲核性生物大分子生成共价加合物从而引发氧化应激、破坏线粒体稳态和免疫异质反应等一系列病理改变，最终导致肝损伤。如大黄素及反应性代谢物^[59,92]均具有亲电性，能消耗细胞内的谷胱甘肽，引发氧化应激造成肝损伤；大黄素还能促进 L02 细胞中过量活性氧生成，造成氧化还原失衡，并通过人内质网应激相关蛋白信号通路激活内质网应激，导致内质网相关的细胞凋亡^[93]；芦荟大黄素能抑制细胞生长，并产生活性氧，导致细胞中半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3（cysteinyl aspartate specific proteinases-3, Caspase-3）增加，使线粒体膜电位降低，最终诱导线粒体损伤和体外肝细胞凋亡^[36]。另外，药物或活性代谢物与内源性蛋白质共价结合形成抗原性免疫复合物，当发生急性炎症刺激或肝细胞被破坏时，自身免疫系统会识别这些抗原性免疫复合物，导致免疫特异性肝损伤^[94]；Meng 等^[75]通过用脂多糖诱导大鼠肝损，再分别给予一定剂量的 cis-TSG 和 trans-TSG 治疗，发现 cis-TSG 可抑制 PPAR γ 通路激活诱发异质肝毒性，而 trans-TSG 的免疫增强作用可能会加重脂多糖、cis-TSG 引起的肝损伤。

当 CYPs 酶的活性被抑制，使药物或其代谢物在肝脏中蓄积，引起不良反应，蒽醌及二苯乙烯苷类成分也可以通过影响代谢酶及相关蛋白活性和多种代谢途径致肝损伤。据报道，CYP1A2、CYP2C19 和 CYP2E1 是参与大黄素等蒽醌类成分 I 相代谢的主要 CYPs^[95]。蒽醌类成分诱发肝损伤可能是通过抑制 CYPs 的活性，导致蒽醌类成分或其他经这些 CYPs 代谢的有毒成分蓄积，从而引起肝损伤。同理，TSG 通过抑制芳烃受体、孕烷 X 受体和 PPAR α 的活化，进而抑制肝脏 CYP1A2、CYP2E1 和 CYP3A11 蛋白的表达^[33]，也可能使经 CYP1A2、CYP2E1 和 CYP3A11 代谢的其他成分长期积蓄在体内，产生毒性作用；另外，TSG 还可通过增强 CYP1A2 酶活性促进大黄素的吸收，降低 UGT1A8、UGT1A10 和 UGT2B7 的 mRNA 表达，抑制大黄素的葡萄糖醛酸化代谢，使大黄素在细胞积聚，诱导肝毒性作用^[96]。

蒽醌与二苯乙烯苷类的肝毒性还涉及到三羧酸循环与脂质、糖和蛋白质 3 大代谢途径。Dong 等^[16]研究表明，二苯乙烯苷与微量蒽醌可影响与三羧酸循环周期相关的线粒体酶的活性，通过增加草酰琥珀酸和琥珀酸盐导致三羧酸循环信号通路的不规则

传导，从而诱导肝毒性；大黄素会干扰细胞内 N-十一烷酰甘氨酸、L-棕榈酰肉碱和异油酸肉碱的含量水平，破坏脂肪酸氧化平衡，导致能量代谢功能障碍、肝细胞对氧化应激易感等^[97]；蒽醌类成分诱导的肝脏受损会使血液中胆汁酸含量增加，破坏线粒体膜，并且使机体反馈调节抑制了胆固醇的形成，进而影响到糖、蛋白质代谢等^[98-99]。

除以上肝损伤机制外，近年来有研究发现何首乌所致的肝损伤也与基因多态性有关。多项研究表明人类白细胞抗原-B (human leukocyte antigen-B, HLA-B)*35:01 等位基因可能是何首乌导致药物性肝损伤重要的潜在风险等位基因^[100]。Yang 等^[101]成功鉴定出 HLA-A 基因中的 rs111686806、HLA-B 基因中的 rs1055348 和 HLA-DRB1 基因中的 rs202047044，是何首乌致肝损伤敏感性的 3 种单核苷酸，其中，rs1055348 可能通过调节 HLA-B 基因的表达增加机体对何首乌诱导肝损伤的易感性。

综上，中药中多种活性成分可同时起到治疗与致毒的作用，但单独研究这些成分的药效或毒性并未解决有毒中药临床应用受限的问题，因此需对这类中药中效-毒同源组分的效-毒转换剂量及其转换机制进行研究，以更好地指导有毒中药在临床治疗上的安全使用。但目前对中药中效-毒同源组分进行药效与毒性综合性研究较少，而且大多仅限于活性成分效-毒转换临界剂量的研究。中药成分复杂、作用靶点多向及中药活性/毒性成分与体内代谢过程之间存在非线性关系的复杂作用系统，难以深入研究效-毒同源组分的体内转换机制，故需要合适的方法策略与先进的技术手段协助研究。

3 基于新方法和新技术应用的蒽醌、二苯乙烯苷类成分效-毒转换机制研究

“药物结构-作用靶点-表型”的三元模型常用于深入研究天然药物在细胞/动物体内的作用机制，便于人们更加透彻地理解药物分子参与调控生物体内的生命活动的过程并应用于临床治疗^[102]。本文以三元模型为基础，整合药效、毒性与原型药及反映代谢物间的关系，聚焦于使用新技术与新方法寻找和筛选作用靶标，从而阐明在该作用靶点上蒽醌、二苯乙烯苷类药物功效与毒性的转换机制。

3.1 靶标筛选常用技术

作为三元模型中研究难点之一的作用靶点部分，目前常用代谢组学、蛋白质组学和基因组学等技术进行寻找和筛选。在这些技术中，定量蛋白组

学技术与亲和(靶向)蛋白组学药物靶点筛选鉴定得到了广泛的应用。

3.1.1 定量蛋白组学技术 根据技术使用过程中可靶向性与否,定量蛋白组学技术被分为非靶向相对定量技术与靶向绝对定量技术,2类技术均已发展成熟。其中,非靶向相对定量技术中的同位素标记定量技术与无标记定量技术因可对低丰度蛋白精准量化和扩大蛋白应用范围等优点而在靶点研究中普遍应用;靶向绝对定量技术中的多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)因其不受抗体限制的特性也多用于靶点研究。

非靶向相对定量技术中,同位素标记相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantification, iTRAQ)技术在靶点研究策略中较为常用。Lin等^[103]通过运用iTRAQ技术,分析大鼠ig何首乌提取成分后肝脏中蛋白表达的变化,发现其中有2万多条肽段与2000多个蛋白质被何首乌提取成分特异性修饰;杨晓伟等^[104]采用无标签蛋白组学技术,检测出服用大黄素的大鼠肝组织差异表达的蛋白,并通过基因本体(gene ontology, GO)分析发现筛选出的差异蛋白主要与细胞代谢和催化活性相关,发现长期ig高/低剂量的大黄素均会使大鼠肝组织出现炎症反应,大黄素又会使组织蛋白酶家族中几个重要酶表达下调,进而影响正常肝脏功能,推断这些酶可能为大黄素效-毒转换的靶标。

iTRAQ与无标签技术操作简单且适用范围广,但是数据重复性较差、准确性不高,通常需要配合其他蛋白组学技术进行筛选。靶向绝对定量技术的发展弥补了前2种技术重复性与准确性不高的缺陷。Brioschi等^[105]运用不依赖抗体、可将多个蛋白/肽段进行同时定量的MRM蛋白组学技术,对心衰人群与健康人群的血浆蛋白进行研究,发现差异变化的神经纤毛蛋白-2、β2微球蛋白等蛋白可作为心衰的生物标志物,体现了MRM蛋白组学技术可作为蛋白组学中研究靶点的有效研究手段。

3.1.2 亲和(靶向)蛋白组学技术 亲和(靶向)蛋白组学技术是依靠药物分子/蛋白与靶标结合的亲和性而发展的技术,由于这类技术比定量蛋白组学更为精准地体现出药物分子/蛋白与靶标结合的情况而得到了迅速发展,包括药物亲和反应靶稳定性技术、蛋白质氧化速率稳定性技术、基于活性的蛋白组分析(activity-based protein profiling, ABPP)

及蛋白质芯片等技术,其中因ABPP技术在应用过程中表现出优越的筛选能力,在药物靶点寻找中得到普遍应用。

ABPP是一种药物高通量筛选的常用技术手段,通常利用药物类似物探针的合成,在复杂的蛋白质组体系中获得靶标蛋白的活性功能信息。Wei等^[106]为研究参与病原体-巨噬细胞相互作用的抗炎代谢物衣康酸的靶标及其作用机制,设计并合成衣康酸-炔基探针,通过基于串联正交水解与ABPP联用技术分析出862个蛋白与衣康酸-炔基探针特异性结合,并经过后续一系列实验研究发现受体结合丝氨酸苏氨酸激酶3(receptor-interacting serine-threonine kinase 3, RIPK3)蛋白为衣康酸靶标。近年来常用ABPP技术对药物靶标进行筛选研究,但这项技术需要将药物/小分子进行衍生化处理,不适用于缺乏化学修饰空间的药物/小分子的靶点筛选研究。

3.1.3 蛋白组学技术联用 随着科学技术的发展,现常将定量蛋白组学技术与亲和(靶向)蛋白组学技术进行联用,以提高药物靶标筛选的准确性和扩大可筛选靶标的范围,在实现高通量与灵敏度的基础上提高结果的重现性与准确性。Dai等^[107]设计合成了基于黄芩苷活性的炔基-光亲和探针,并通过联用细胞培养稳定同位素标记(stable isotope labeling with amino acids in cell culture, SILAC)与ABPP技术,从细胞中142个可被探针标记的蛋白质中筛选出肉碱棕榈基转移酶1(carnitine palmitoyltransferase 1, CPT1),并成功验证其为黄芩苷的作用靶标之一。

上述案例为蛋白组学技术有效应用于中药活性成分效应/毒性作用靶点提供了有力证明;而对于蒽醌、二苯乙烯苷这2类能发生效-毒转换作用的成分,效-毒转换靶点筛选应将蛋白组学技术与药物的给药剂量、作用时间结合进行分析,整合与效应/毒性作用相关的交集蛋白组,从中挖掘出效-毒转换的靶标,进而推动效-毒转换的作用机制研究。

3.2 靶标鉴定

经过蛋白组学技术分析后能得到数以百计的可被药物修饰的蛋白,为进一步筛选出目的蛋白(即靶标),常使用GO分析或京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路注释及富集等网络药理学技术分析这些修饰蛋白,根据生物功能将这些蛋白划分为不同的类别,

后续针对性地选择某一生物功能类别项下的蛋白组，深入研究进一步筛选出靶标。衣康酸已被证明是通过病原体驱动线粒体相关酶免疫应答基因1转换顺乌头酸而生成，与巨噬细胞免疫功能相关，故 Wei 等^[106]选择对免疫系统相关的生物功能类别项下的蛋白组进行分析，得到了与程序性细胞死亡中细胞坏死机制相关的 RIPK3 蛋白；而 Dai 等^[107]针对划分到“脂肪酸降解”这一生物功能簇下的蛋白组进行分析，得到黄芩苷促进脂质代谢的靶标 CPT1。

对于所筛选靶蛋白的鉴定，通常从结合位点及生物功能 2 个方面进行。无论是亲和（靶向）蛋白组学中的 ABPP 还是定量蛋白组学中 SILAC、MRM，均是基于质谱的技术，混合样品通过质谱仪不仅能得到与药物结合的肽段、蛋白质，还可精准定位到药物在某一肽段上结合到的氨基酸位点信息。在选取选定功能簇项下的蛋白组后，可通过突变结合位点判断药物与该蛋白的结合性以进一步确认所选择蛋白的准确性，此外还可以用分子对接技术模拟药物与蛋白上结合位点的对接程度及形成的化学键信息进行辅助性确定。而在确定位点信息后，可利用 RNA 干扰技术选择性沉默、过表达关键蛋白，或选用该蛋白已有的抑制剂，通过相关通路验证该关键蛋白的生物功能，进一步研究药物通过与靶标结合的作用机制。

对于效-毒转换靶点的鉴定，在对生物功能项下的强相关性蛋白组分析尤为关键，故在进行 GO 分析与 KEGG 通路注释及富集等网络药理学技术分析时，应结合前人研究的保肝与肝损伤机制综合性考虑，选择合适的蛋白组，进行研究与验证。

3.3 作用机制的研究与验证

药物作用机制研究分为体外研究和体内验证 2 部分。其中，药物作用靶点的确定是在细胞内探究药物作用机制的必要条件，可使用与关键蛋白的相关信号通路进行验证；而对于药物作用机制的研究，也可通过与关键蛋白的相关通路进行分析。通常药物作用靶点为信号通路的中游，能被上游信号调节，并控制下游信号表达；因此药物作用机制的研究是围绕靶标在通路中的上下游展开的。如 Wei 等^[106]在确定衣康酸的作用靶点后，对靶标所在的调节细胞坏死通路进行分析，通过免疫印迹分析证明了衣康酸作用 RIPK3 蛋白介导细胞坏死的作用机制。对于小檗碱抗肿瘤机制的研究中，Liu 等^[108]通过下拉实验与免疫印迹法筛选并确定了组成型光形态-9 信

号体亚基 5 (constitutive photomorphogenic-9 signalosome 5, CSN5) 为小檗碱的靶标，然后使用抑制剂抑低程序性细胞死亡-1 (programmed cell death-1, PD-1) /PD 配体 1 (PD-ligand 1, PD-L1) 通路上相关上下游蛋白，免疫印迹法结果证明小檗碱可通过与 CSN5 结合，阻止 PD-L1 泛素化，从而起到抗肿瘤的作用，并使用了裸小鼠与正常小鼠进行了体内验证。

同样，蒽醌、二苯乙烯苷类成分的效-毒转换作用机制也可以效-毒转换靶点为中心向相关通路上下游验证，可从低（有效）、临界与高（有毒）剂量出发，对通路上的相关蛋白研究比较，整合分析出合理的效-毒转换机制，并在体内进行验证。

4 结语与展望

中药因价格低廉、疗效良好等特点，得到了全球广泛的应用，并得到了普遍的认同；但近年来，中药引起的不良事件特别是药物性肝损伤的事例时有发生，中药所致的肝损伤占临床药物性肝损伤总病例的 4.8%~32.6%，而通过研究，人们推测中药导致肝损伤的原因可能是中药本身含的某种成分引起的肝损伤、中药本身含有的成分在肝脏代谢时的中间产物引起的肝损伤等。但目前对有毒中药中活性成分的效-毒转换机制研究不够深入，难以提供合理的使用剂量供临床参考，无法从根源上解决中药引发的药物性肝损伤问题，故需运用更多新技术与手段从多层面对中药效-毒同源成分的靶标及作用机制进行研究。本文以含蒽醌、二苯乙烯苷类成分的有毒中药的物质基础与代谢规律为起点，结合构-效与构-毒关系，系统地阐述了含蒽醌、二苯乙烯苷类成分中药的药效与毒性作用，以探究中药活性成分效-毒转换的可能机制。进一步地，本文整合了近年来蛋白组学中快速发展的新兴技术与方法策略，分析、评价与总结了有助于研究有毒中药效-毒转换机制靶标的方法，为推动肝毒性中药的合理应用提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Navarro V J, Khan I, Björnsson E, et al. Liver injury from herbal and dietary supplements [J]. *Hepatology*, 2017, 65(1): 363-373.
- [2] Shen T, Liu Y X, Shang J, et al. Incidence and etiology of drug-induced liver injury in mainland China [J]. *Gastroenterology*, 2019, 156(8): 2230-2241.

- [3] Lee W J, Kim H W, Lee H Y, et al. Systematic review on herb-induced liver injury in Korea [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 84: 47-54.
- [4] Medina-Caliz I, Garcia-Cortes M, Gonzalez-Jimenez A, et al. Herbal and dietary supplement-induced liver injuries in the Spanish DILI registry [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018, 16(9): 1495-1502.
- [5] Aiso M, Takikawa H, Tsuji K, et al. Analysis of 307 cases with drug-induced liver injury between 2010 and 2018 in Japan [J]. *Hepatol Res*, 2019, 49(1): 105-110.
- [6] 汪祺, 王亚丹, 文海若, 等. 基于 UGT1A1 酶抑制探讨何首乌中顺(反)式二苯乙烯苷体外肝微粒体中潜在毒性作用 [J]. 中国现代中药, 2019, 21(3): 291-295.
- [7] 佚名. 英国 MHRA 警告何首乌的肝损害不良反应 [J]. 中国药物警戒, 2006, 3(5): 313-314.
- [8] CFDA. 食品药品监管总局办公厅关于修订养血生发胶囊等 6 个含何首乌中药口服制剂说明书的通知 [EB/OL]. [2013-10-23]. <http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL1706/93676.html>.
- [9] CFDA. 食品药品监管总局办公厅关于加强含何首乌保健食品监管有关规定的通知 [EB/OL]. [2017-03-22] <http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL0847/102806.html>.
- [10] CFDA. 药品不良反应信息通报 (第 61 期) 关注口服何首乌机器成方制剂引起的肝损伤风险 [EB/OL]. [2014-07-16]. <http://www.sfda.gov.cn/WS01/CL1989/102903.html>.
- [11] CFDA. 国家食品药品监管总局提示关注口服何首乌肝损伤风险 [EB/OL]. [2014-07-16]. <http://www.sda.gov.cn/WS01/CL0051/102902.html>.
- [12] Xue X Y, Quan Y Y, Gong L H, et al. A review of the processed *Polygonum multiflorum* (Thunb.) for hepatoprotection: Clinical use, pharmacology and toxicology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 261: 113121.
- [13] Quan N V, Xuan T D, Teschke R. Potential hepatotoxins found in herbal medicinal products: A systematic review [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(14): 5011.
- [14] He S B, Zhang C Y, Zhou P, et al. Herb-induced liver injury: Phylogenetic relationship, structure-toxicity relationship, and herb-ingredient network analysis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3633.
- [15] Shen P, Han L, Chen G, et al. Emodin attenuates acetaminophen-induced hepatotoxicity via the cGAS-Sting pathway [J]. *Inflammation*, 2022, 45(1): 74-87.
- [16] Dong X, Zeng Y W, Liu Y, et al. Aloe-emodin: A review of its pharmacology, toxicity, and pharmacokinetics [J]. *Phytother Res*, 2020, 34(2): 270-281.
- [17] Lin H J, Chao P D L, Huang S Y, et al. Aloe-emodin suppressed NMDA-induced apoptosis of retinal ganglion cells through regulation of ERK phosphorylation [J]. *Phytother Res*, 2007, 21(11): 1007-1014.
- [18] 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.
- [19] Deng Z Y. Protective effect of rhein against oxidative stress-related endothelial cell injury [J]. *Mol Med Report*, 2012, 5(5): 1261-1266.
- [20] He L N, Yang A H, Cui T Y, et al. Reactive metabolite activation by CYP2C19-mediated rhein hepatotoxicity [J]. *Xenobiotica*, 2015, 45(4): 361-372.
- [21] Kuo C Y, Chiu V, Hsieh P C, et al. Chrysophanol attenuates hepatitis B virus X protein-induced hepatic stellate cell fibrosis by regulating endoplasmic reticulum stress and ferroptosis [J]. *J Pharmacol Sci*, 2020, 144(3): 172-182.
- [22] Sun Y, Xin X, Zhang K H, et al. Cytochrome P450 mediated metabolic activation of chrysophanol [J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 289: 57-67.
- [23] Park Y J, Lee K H, Jeon M S, et al. Hepatoprotective potency of chrysophanol 8-O-glucoside from *Rheum palmatum* L. against hepatic fibrosis via regulation of the STAT3 signaling pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23): 9044.
- [24] Kang L, Si L, Rao J, et al. *Polygoni Multiflori Radix* derived anthraquinones alter bile acid disposition in sandwich-cultured rat hepatocytes [J]. *Toxicol In Vitro*, 2017, 40: 313-323.
- [25] 张志国, 吕泰省, 姚庆强. 何首乌蒽醌类化学成分研究 [J]. 中草药, 2006, 37(9): 1311-1313.
- [26] 孙晋苓, 黄晓兰, 吴惠勤, 等. 液相色谱/离子阱质谱法研究何首乌中糖苷类化合物 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(5): 806-812.
- [27] Yang X W, Gu Z M, Ma C M, et al. A new indole derivative isolated from the root of tuber fleeceflower (*Polygonum multiflorum*) [J]. 中草药, 1998, 29: 5-11.
- [28] Yu H S, Wang L L, He Y, et al. Advances in the study of the potential hepatotoxic components and mechanism of *Polygonum multiflorum* [J]. *Evid Based Complementary Altern Med*, 2020, 2020: 1-12.
- [29] Lin L F, Lin H M, Zhang M, et al. A novel method to analyze hepatotoxic components in *Polygonum*

- miltiflorum* using ultra-performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Hazard Mater*, 2015, 299: 249-259.
- [30] 王浩. 何首乌药材生产技术研究 [D]. 广州: 广东药科大学, 2021.
- [31] Teka T, Wang L M, Gao J, et al. *Polygonum multiflorum*: Recent updates on newly isolated compounds, potential hepatotoxic compounds and their mechanisms [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 271: 113864.
- [32] Zhang Y, Jiang M, Cui B W, et al. P2X7 receptor-targeted regulation by tetrahydroxystilbene glucoside in alcoholic hepatosteatosis: A new strategy towards macrophage-hepatocyte crosstalk [J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(12): 2793-2811.
- [33] Wang W G, He Y R, Lin P, et al. *In vitro* effects of active components of *Polygonum Multiflorum Radix* on enzymes involved in the lipid metabolism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(3): 763-770.
- [34] Wang Y Y, Yang J, Liu H, et al. Effects of tetrahydroxystilbene glucoside on mouse liver cytochrome P450 enzyme expressions [J]. *Xenobiotica*, 2015, 45(4): 279-285.
- [35] He J B, Chen K, Deng T C, et al. Inhibitory effects of rhaponticin on osteoclast formation and resorption by targeting RANKL-induced NFATc1 and ROS activity [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 645140.
- [36] Dong X, Fu J, Yin X B, et al. Induction of apoptosis in HepaRG cell line by aloe-emodin through generation of reactive oxygen species and the mitochondrial pathway [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(2): 685-696.
- [37] 林艳, 肖榕, 尹林子, 等. 基于粗糙集理论构建“谱毒”关系研究何首乌特异质肝毒性物质基础 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(3): 509-517.
- [38] Yang L, Xing W, Xiao W Z, et al. 2,3,5,4'-tetrahydroxy-stilbene-2-O-beta-D-glucoside induces autophagy-mediated apoptosis in hepatocytes by upregulating miR-122 and inhibiting the PI3K/Akt/mTOR pathway: Implications for its hepatotoxicity [J]. *Pharm Biol*, 2020, 58(1): 806-814.
- [39] Qiu X H, Zhang J, Huang Z H, et al. Profiling of phenolic constituents in *Polygonum multiflorum* Thunb. by combination of ultra-high-pressure liquid chromatography with linear ion trap-Orbitrap mass spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1292: 121-131.
- [40] 陈万生, 刘文庸, 杨根金, 等. 制首乌中 1 个新的四羟基二苯乙烯苷的结构鉴定及其心血管活性研究 [J]. 药学学报, 2000(12): 906-908.
- [41] Zheng X Y, Yang S M, Zhang R, et al. Emodin-induced autophagy against cell apoptosis through the PI3K/Akt/mTOR pathway in human hepatocytes [J]. *Drug Des Dev Ther*, 2019, 13: 3171-3180.
- [42] 梁幼玲, 史旭华, 白俊其, 等. 采用UHPLC-MS和质量亏损过滤技术分析二苯乙烯苷在大鼠体内的代谢产物和代谢途径 [J]. 中国药房, 2021, 32(6): 675-681.
- [43] Wu W J, Yan R, Yao M C, et al. Pharmacokinetics of anthraquinones in rat plasma after oral administration of a rhubarb extract [J]. *Biomed Chromatogr*, 2014, 28(4): 564-572.
- [44] Shia C S, Juang S H, Tsai S Y, et al. Metabolism and pharmacokinetics of anthraquinones in *Rheum palmatum* in rats and *ex vivo* antioxidant activity [J]. *Planta Med*, 2009, 75(13): 1386-1392.
- [45] Liu W, Tang L, Ye L, et al. Species and gender differences affect the metabolism of emodin via glucuronidation [J]. *AAPS J*, 2010, 12(3): 424-436.
- [46] Shia C S, Hou Y C, Tsai S Y, et al. Differences in pharmacokinetics and *ex vivo* antioxidant activity following intravenous and oral administrations of emodin to rats [J]. *J Pharm Sci*, 2010, 99(4): 2185-2195.
- [47] Bachmann M, Schlatter C. Metabolism of [¹⁴C] emodin in the rat [J]. *Xenobiotica*, 1981, 11(3): 217-225.
- [48] Song R, Xu F G, Zhang Z J, et al. Structural elucidation of *in vitro* metabolites of emodin by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2008, 22(11): 1230-1236.
- [49] Huang Z H, Xu Y, Wang Q, et al. Metabolism and mutual biotransformations of anthraquinones and anthrones in rhubarb by human intestinal flora using UPLC-Q-TOF/MS [J]. *J Chromatogr B*, 2019, 1104: 59-66.
- [50] Song R, Xu L, Xu F G, et al. *In vivo* metabolism study of rhubarb decoction in rat using high-performance liquid chromatography with UV photodiode-array and mass-spectrometric detection: A strategy for systematic analysis of metabolites from traditional Chinese medicines in biological samples [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217(45): 7144-7152.
- [51] Yu C P, Shia C S, Lin H J, et al. Analysis of the pharmacokinetics and metabolism of aloe-emodin following intravenous and oral administrations in rats [J]. *Biomed Chromatogr*, 2016, 30(10): 1641-1647.

- [52] 汪祺, 王亚丹, 杨建波, 等. 基于 II 相代谢酶探讨大黄中大黄酸潜在肝毒性 [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(2): 412-417.
- [53] 董萍萍, 王少平, 王喻淇, 等. UHPLC-Q-Exactive-Orbitrap HR-MS 分析大黄素甲醚在大鼠体内的代谢产物 [J]. 中成药, 2021, 43(12): 3524-3531.
- [54] Song R, Xu L, Xu F G, et al. Metabolic analysis of rhubarb extract by rat intestinal bacteria using liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Biomed Chromatogr*, 2011, 25(3): 417-426.
- [55] 张桔平. 何首乌大鼠体内代谢产物分析及鉴定 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2018.
- [56] Friedman M, Xu A, Lee R, et al. The inhibitory activity of anthraquinones against pathogenic *Protozoa*, bacteria, and fungi and the relationship to structure [J]. *Molecules*, 2020, 25(13): 3101.
- [57] 宗金锐, 巢志茂, 刘振丽, 等. 大黄中蒽醌衍生物的构效关系 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(20): 2424-2427.
- [58] 胡樱凡. 大黄蒽醌类化合物抑制 LPS 诱导巨噬细胞炎症反应的分子机制及其构效关系的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2019.
- [59] Qin B Y, Xu Y, Chen J M, et al. Chemical reactivity of emodin and its oxidative metabolites to thiols [J]. *Chem Res Toxicol*, 2016, 29(12): 2114-2124.
- [60] Cui Y T, Liu B, Xie J, et al. The effect of emodin on cytotoxicity, apoptosis and antioxidant capacity in the hepatic cells of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2014, 38(1): 74-79.
- [61] Wang X, Xin X, Sun Y, et al. Chemical reactivity of aloë-emodin and its hydroxylation metabolites to thiols [J]. *Chem Res Toxicol*, 2019, 32(2): 234-244.
- [62] 林佩, 陆建美, 张光远, 等. 何首乌活性成分在肝 L-02 细胞中吸收及代谢产物的 LC-MS/MS 定性分析 [J]. 中国药学杂志, 2015, 50(12): 1048-1053.
- [63] Wang J, Zhao H, Kong W, et al. Microcalorimetric assay on the antimicrobial property of five hydroxyanthraquinone derivatives in rhubarb (*Rheum palmatum* L.) to *Bifidobacterium adolescentis* [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17(8/9): 684-689.
- [64] 马红玉. 蕤醌类成分的体内外检测研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2015.
- [65] Wang D P, Wang X H, Yu X J, et al. Pharmacokinetics of anthraquinones from medicinal plants [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 638993.
- [66] 郭延丽, 唐瑜, 刘巧, 等. 何首乌及其主要成分肝毒性机制的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(10): 2252-2261.
- [67] Zhang L, Liu X Y, Tu C, et al. Components synergy between stilbenes and emodin derivatives contributes to hepatotoxicity induced by *Polygonum multiflorum* [J]. *Xenobiotica*, 2020, 50(5): 515-525.
- [68] 胡存华, 叶少剑, 赵立波, 等. 五种二苯乙烯类化合物对一氧化氮介导的血管舒张反应的影响及构效关系 [J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(7): 826-829.
- [69] 吕丽爽, Chi-Tang Ho, 汤坚. 二苯乙烯苷和白藜芦醇抗氧化构效关系研究 [J]. 食品与机械, 2009, 25(5): 57-58.
- [70] 洪雪琪. 何首乌活性成分二苯乙烯苷对胃癌细胞的生物学行为影响及肝毒性的研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2020.
- [71] Shen C, Sun F L, Zhang R Y, et al. Tetrahydroxystilbene glucoside ameliorates memory and movement functions, protects synapses and inhibits α -synuclein aggregation in hippocampus and striatum in aged mice [J]. *Restor Neurosci*, 2015, 33(4): 531-541.
- [72] Mu Y, Xu Z H, Zhou X X, et al. 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucoside attenuates ischemia/reperfusion-induced brain injury in rats by promoting angiogenesis [J]. *Planta Med*, 2016, 83(8): 676-683.
- [73] 王春英, 袁志芳, 王巧, 等. HPLC 法同时测定大鼠胆汁中二苯乙烯苷及其代谢物的浓度 [J]. 药物分析杂志, 2009, 29(1): 53-57.
- [74] Li D, Yang M B, Zuo Z. Overview of pharmacokinetics and liver toxicities of *Radix Polygoni Multiflori* [J]. *Toxins*, 2020, 12(11): 729.
- [75] Meng Y K, Li C Y, Li R Y, et al. Cis-stilbene glucoside in *Polygonum multiflorum* induces immunological idiosyncratic hepatotoxicity in LPS-treated rats by suppressing PPAR- γ [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(10): 1340-1352.
- [76] Song R, Lin H, Zhang Z J, et al. Profiling the metabolic differences of anthraquinone derivatives using liquid chromatography/tandem mass spectrometry with data-dependent acquisition [J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2009, 23(4): 537-547.
- [77] 林艳, 李亚梅, 吴萍, 等. 何首乌肝毒性的物质基础、毒性机制与防控策略 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2019, 21(9): 1862-1868.
- [78] 徐风, 杨东辉, 尚明英, 等. 中药药效物质的“显效形式”“叠加作用”和“毒性分散效应”：由中药体内代谢研究引发的思考 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2019, 21(9): 1862-1868.

- 化, 2014, 16(4): 688-703.
- [79] Liu H, Gu L B, Tu Y, et al. Emodin ameliorates cisplatin-induced apoptosis of rat renal tubular cells *in vitro* by activating autophagy [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37(2): 235-245.
- [80] Dai S S, Ye B Z, Chen L W, et al. Emodin alleviates LPS-induced myocardial injury through inhibition of NLRP3 inflammasome activation [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(9): 5203-5213.
- [81] Evans L W, Bender A, Burnett L, et al. Emodin and emodin-rich rhubarb inhibits histone deacetylase (HDAC) activity and cardiac myocyte hypertrophy [J]. *J Nutr Biochem*, 2020, 79: 108339.
- [82] Lee H Z. Protein kinase C involvement in aloe-emodin- and emodin-induced apoptosis in lung carcinoma cell [J]. *Br J Pharmacol*, 2001, 134(5): 1093-1103.
- [83] Zhuang T X, Gu X Y, Zhou N, et al. Hepatoprotection and hepatotoxicity of Chinese herb *rhubarb* (Dahuang): How to properly control the “General (Jiang Jun)” in Chinese medical herb [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110224.
- [84] Lu C C, Yang J S, Huang A C, et al. Chrysophanol induces necrosis through the production of ROS and alteration of ATP levels in J5 human liver cancer cells [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2010, 54(7): 967-976.
- [85] Zhang S B, Wu Z Q, Shi L, et al. 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside ameliorates NAFLD via attenuating hepatic steatosis through inhibiting mitochondrial dysfunction dependent on SIRT5 [J]. *Phytomedicine*, 2022, 99: 153994.
- [86] 刘美辰, 李芸霞, 全云云, 等. 何首乌二苯乙烯苷对肝脏的作用及机制研究进展 [J]. 辽宁中医杂志, 2018, 45(6): 1318-1321.
- [87] Kwon K S, Lee J H, So K S, et al. Aurantio-obtusin, an anthraquinone from cassiae semen, ameliorates lung inflammatory responses [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(8): 1537-1545.
- [88] Chin Y T, Hsieh M T, Lin C Y, et al. 2,3,5,4'-Tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucoside isolated from *Polygoni Multiflori* ameliorates the development of periodontitis [J]. *Mediators Inflamm*, 2016, 2016: 6953459.
- [89] Lee B H, Huang Y Y, Duh P D, et al. Hepatoprotection of emodin and *Polygonum multiflorum* against CCl₄-induced liver injury [J]. *Pharm Biol*, 2012, 50(3): 351-359.
- [90] Su S Y, Wu J S, Gao Y, et al. The pharmacological properties of chrysophanol, the recent advances [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 110002.
- [91] Wu J J, Hu W F, Gong Y, et al. Current pharmacological developments in 2,3,4',5-tetrahydroxystilbene 2-O-β-D-glucoside (TSG) [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 811: 21-29.
- [92] Jiang L L, Zhao D S, Fan Y X, et al. Detection of emodin derived glutathione adduct in normal rats administered with large dosage of *Polygoni Multiflori Radix* [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 446.
- [93] Qiu L Z, Yue L X, Ni Y H, et al. Emodin-induced oxidative inhibition of mitochondrial function assists BiP/IRE1α/Chop signaling-mediated ER-related apoptosis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 1-13.
- [94] He L Z, Yin P, Meng Y K, et al. Immunological synergistic mechanisms of *trans-/cis*-stilbene glycosides in Heshouwu-related idiosyncratic liver injury [J]. *Sci Bull*, 2017, 62(11): 748-751.
- [95] Zhang Y, Ding T, Diao T T, et al. Effects of *Polygonum multiflorum* on the activity of cytochrome P450 isoforms in rats [J]. *Pharmazie*, 2015, 70(1): 47-54.
- [96] Yu Q, Jiang L L, Luo N, et al. Enhanced absorption and inhibited metabolism of emodin by 2,3,5,4'-tetrahydroxystilbene-2-O-β-D-glucopyranoside: Possible mechanisms for *Polygoni Multiflori Radix*-induced liver injury [J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(6): 451-457.
- [97] Liu X Y, Liu Y Q, Cheng M C, et al. Metabolomic responses of human hepatocytes to emodin, aristolochic acid, and triptolide: Chemicals purified from traditional Chinese medicines [J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2015, 29(11): 533-543.
- [98] Perez M J, Briz O. Bile-acid-induced cell injury and protection [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(14): 1677-1689.
- [99] Li Y X, Gong X H, Liu M C, et al. Investigation of liver injury of *Polygonum multiflorum* Thunb. in rats by metabolomics and traditional approaches [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 791.
- [100] Huang D L, Li C P, Wang J B, et al. Correlational verification of drug-induced liver injury with HLA-B*35: 01 allele due to *Polygonum multiflorum* [J]. *Chin J Hepatol*, 2021, 29(11): 1106-1108.
- [101] Yang W N, Pang L L, Zhou J Y, et al. Single-nucleotide polymorphisms of HLA and *Polygonum multiflorum*-induced liver injury in the Han Chinese population [J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(12): 1329-1339.

- [102] Dai L Y, Li Z J, Chen D, et al. Target identification and validation of natural products with label-free methodology: A critical review from 2005 to 2020 [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 216: 107690.
- [103] Lin L F, Li H, Lin H M, et al. Application of iTRAQ-based quantitative proteomics approach to identify deregulated proteins associated with liver toxicity induced by *Polygonum multiflorum* in rats [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(5): 2102-2116.
- [104] 杨晓伟, 张银环, 段飞鹏, 等. 基于 Label-free 蛋白质组学技术研究大黄素致大鼠肝损伤作用机制 [J]. 世界中医药, 2019, 14(2): 320-325.
- [105] Brioschi M, Gianazza E, Agostoni P, et al. Multiplexed MRM-based proteomics identified multiple biomarkers of disease severity in human heart failure [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 838.
- [106] Wei Q, Ling Z Y, Huan T, et al. Chemoproteomic profiling of itaconation by bioorthogonal probes in inflammatory macrophages [J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(25): 10894-10898.
- [107] Dai J Y, Liang K, Zhao S, et al. Chemoproteomics reveals baicalin activates hepatic CPT1 to ameliorate diet-induced obesity and hepatic steatosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(26): E5896-E5905.
- [108] Liu Y, Liu X J, Zhang N, et al. Berberine diminishes cancer cell PD-L1 expression and facilitates antitumor immunity via inhibiting the deubiquitination activity of CSN5 [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(12): 2299-2312.

[责任编辑 赵慧亮]