

黄药子毒性成分及其致毒机制研究进展^{*}

张盼盼 仵琼 葛肖肖 王乐 张雨轩 谢允东^{**}

(陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046)

摘要:黄药子具有很长的药用历史,临床应用广泛,且具有显著的抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗氧化以及免疫调节等功能。现通过综述黄药子毒性成分,并从肝毒性、肾毒性、胃肠系统毒性、甲状腺毒性等多个方面总结其毒性机制,为黄药子的毒理学评价提供依据以及为后期药物临床应用提供参考。

关键词:黄药子;毒性;毒性机制;临床应用

中图分类号:R285.5 文献标识码:A

文章编号:1672-0571(2023)02-0008-05

DOI:10.13424/j.cnki.mtcm.2023.02.002

Research Progress in Toxic Components and Toxic Mechanism of *Dioscorea bulbifera* L.

ZHANG Panpan WU Qiong GE Xiaoxiao WANG Le ZHANG Yuxuan XIE Yundong

(Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi Xianyang 712046, China)

Abstract: *Dioscorea bulbifera* L. has a long history of medicinal use and is widely used in clinic, and has significant anti-tumor, anti-inflammatory, antibacterial, antioxidant and immune regulation functions. In this paper, the toxic components of *Dioscorea bulbifera* L. are reviewed, and its toxic mechanism is summarized from hepatotoxicity, nephrotoxicity, gastrointestinal toxicity, thyroid toxicity and other aspects, so as to provide basis for toxicological evaluation of *Dioscorea bulbifera* L. and provide reference for later clinical application of drugs.

Key words: *Dioscorea bulbifera* L.; Toxicity; Toxicity mechanism; Clinical application

黄药子别名黄独、零余薯、黄狗头等,为薯蓣科多年生草质缠绕藤本黄独 *Dioscorea bulbifera* L. 的干燥块茎。主产于湖北、湖南、江苏等地。秋冬两季采挖,除去根叶及须根,洗净、切片、晒干,生用。黄药子味苦,性寒,有小毒,入肺、肝经。对于其功效,中医典籍《本草纲目》中写道“凉血,降火,消瘿,解毒”,既能清泻肺肝实火、化痰软坚而散结消瘿,治痰火凝结的瘰疬,又能清热解暑、凉血消肿,治热毒诸证及血热出血^[1-2]。近年来,国内外有关黄药子的化学成分、药理作用和临床应用等方面进行了大量的研究。本文章从黄药子的毒性

成分、毒性机理等方面进行了论述,为临床应用奠定了科学基础。

1 毒性成分

黄药子在发挥其药理效应的同时,也会对肝脏、肾脏等组织产生损伤,而肝毒性是该药最典型的毒性形式,主要表现为恶心、呕吐、肝功能障碍或黄疸。有一项关于黄药子的急性、亚急性和慢性毒性的研究^[3],结果表明,小鼠腹腔 LD₅₀ 为 25.49 g·kg⁻¹,口服 LD₅₀ 为 79.98 g·kg⁻¹,且毒性主要表现为对肝、肾的损害,且对肝肾损伤程度与给药的剂量和时间有关。

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(82204790);陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2021JQ-730);陕西省教育厅专项科研计划项目(21JK0598)

^{**} 通讯作者:谢允东,副教授。E-mail:eng0522@126.com

按照其化学结构来看,黄药子的成分可以划分为:二萜内酯、甾类皂苷、黄酮类等。有研究表明^[4],发现其含有的二萜内酯类物质,是黄药子的主要活性成分和毒性成分,而黄独素 B 则是其主要的毒性成分。黄药子 75% 乙醇提取物用乙酸乙酯进行提取,在对其乙酸乙酯部分中黄独素 B 含量的化学分析基础上,比较从黄独中分离出的黄独素 B 与乙酸乙酯部分诱导的肝损伤,从而发现黄独素 B 可能是主要的肝毒性化合物^[3]。马敏等^[5]利用酶活法检测黄药子二萜内酯类成分对肝细胞的毒性,且其机制可能与二萜内酯类成分引起的肝细胞氧化应激有关。

有研究^[6]采用高通量测序的肠道内微生物群技术,进一步探讨了黄独素 B 诱导的肝脏损伤机制,首先黄独素 B 组用黄独素 B 的混合悬浮液,正常组以 0.5% CMC-Na 等为溶液,观察小鼠血清中丙氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, AST)及肝脏组织丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)含量的变化,结果发现,与正常组相比,黄独素 B 组小鼠血清 ALT、AST 及肝脏组织 MDA 含量均明显增高,而肝脏组织 SOD 含量则明显降低;再将小鼠尿液、粪便、肝脏等标本先经过代谢组学的预处理,再利用核磁共振技术对其代谢产物进行形态学分析,结果表明,黄独素 B 能引起尿液、粪便、肝脏等代谢异常。叶晶等^[7]研究了黄独素 B 对人源性肝细胞的损害程度以及作用机理,结果发现不同浓度黄独素 B 使诱导的 L-02 细胞线粒体发生了明显的肿胀变形、脊消失,并有少量的凋亡细胞增加。

徐英等^[8]采用胆汁酸代谢网络分析法研究黄药子的肝毒性时发现单体化合物黄独素 B 是黄药子导致肝毒性损害的成分之一。有研究^[9]显示黄药子与当归与合适的比例配伍后,可使黄药子中黄独素含量下降,其中黄药子与当归在 2:1 比例配伍时,能够最有效的降低肝毒性。

2 毒性作用机制

2.1 肝毒性 陈红等^[10]研究黄药子及其制剂致药物性肝损伤的原因、治疗等情况,比较肝细胞损伤型、胆汁淤积型肝损伤、混合型肝损伤等各类型

相关指标;结果显示患者肝损伤的表现有皮肤、虹膜黄染,发热,乏力等。陈莹蓉^[11]应用 Caco-2 细胞模型来评估黄药子肝细胞损伤。黄药子对肝的损害作用在短时间内即可表现出来,组织形态学表现有脂肪样变及噬酸样变性、小灶性坏死、片状小灶性坏死等^[12]。

崔立然等^[13]通过研究尿液代谢的轨迹图,通过与空白组比较尿液内源性小分子代谢物的各种变化等,推断出黄药子对肝脏有损害作用。李玉洁等^[14]通过研究发现与对照组相比黄药子使小鼠肝微粒中抗氧化酶和药物代谢酶活性降低,且黄药子各剂量组可见肝细胞不同程度的病变。尚兰琴等^[15]研究发现,连续经口给予黄药子水煎剂 30 d 后,肝匀浆中 MDA 含量增加,但差别不是很显著;各剂量组肝细胞线粒体膜流动性随剂量增高而降低。

牛成伟等^[16]通过检测血清中 ALT、AST、ALP,发现黄独素 B 使其含量升高,黄独素 B 可诱导其肝损伤;同时采用酶联免疫法,发现黄独素 B 能增加血清中 TNF- α 的含量,降低 IL-4 的含量;通过免疫印迹法发现,黄独素 B 能诱导肝细胞中 HO-1 的表达。马敏等^[5]通过体外实验观察黄药子二萜内酯类成分对肝细胞的损伤中发现引起肝损伤的机制可能与该类成分引起的肝细胞氧化应激有关。陈勇等^[17]应用基因表达谱芯片来研究黄药子对小鼠肝脏的毒性机制,结果发现肝细胞基因表达谱发生变化,且黄药子使得肝细胞有关蛋白合成受阻,还可能抑制肝细胞的自我修复与再生能力。Ma 等^[18]研究了黄独素 B 降低小鼠各种肝细胞酶的基因表达,主要表现为氧化应激性肝损伤。

为进一步研究黄药子对肝脏的损伤机制,梁玉琼等^[19]将黄药子总皂苷连续灌胃 10 d、20 d、30 d,且每组设立空白对照组,观察小鼠状况、小鼠体重和肝脏系数的变化情况、肝组织形态变化情况等,结果显示其 ALT、AST 指标相较于空白对照组水平明显升高,且 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性降低,从而使得细胞膜内外离子稳态失衡,使肝细胞功能受到影响。除此之外,齐静^[20]通过研究发现了黄药子水提物能够造成小鼠肝脏损伤,且损伤机制与 ATP 合成减弱、线粒体氧化损伤

增强等有关,而且线粒体损伤可能是黄药子造成肝毒性的重要损伤机制。

王少珍等^[21]通过构建黄药子诱导组和对照组小鼠肝脏的数字化基因表达谱文库,对比两个基因表达谱文库的差异表达基因并对其进行 GO 功能注释以及 KEGG 通路分析,结果表明黄药子可通过引起生物分子的代谢紊乱而导致肝损伤,如氧化还原反应、影响酶活性从而导致代谢受阻、花生四烯酸代谢通路、PPARS 信号通路以及不饱和脂肪酸生物合成过程所涉及的脂质代谢过程等。

孙雅馨等^[22]采用网络毒理学方法对黄药子导致肝损伤的毒理作用以及机制进行预测,用动物实验验证预测结果,验证时,观察黄药子水煎液连续灌胃 14 d 后,与正常组相比,高剂量组与低剂量组对小鼠肝功能及肝脏组织病理学的影响、对小鼠肝脏氧化应激的影响以及对肝脏组织信号通路的影响,结果显示黄药子通过抑制 PI3K/Akt 信号通路,降低机体对自由基的消除能力,导致肝细胞脂质过氧化,使得出现一些非正常的病理学变化,而导致肝毒性。

为进一步研究黄独素 B 是主要毒性成分,叶晶等^[7]通过研究了黄独素 B 对人源性肝细胞损伤的作用及其机制,结果表明,其肝功能代表性指标 ALT/AST 未有明显改变,但 SOD 及 MDA 等指标显示氧化损伤会明显降低线粒体膜电位和 ATP 水平,说明氧化应激可能为黄独素 B 诱导产生的,而线粒体则是受损的靶细胞器。同时也表明黄独素 B 诱导的 L-02 细胞的坏死与自噬抑制剂 3-MA 有关,且随着自噬抑制作用的增强,线粒体损伤不断加剧,膜电位持续性降低,导致氧化应激损害。氧化应激产生的活性氧能诱导细胞产生自噬,而自噬则能缓解氧化应激对肝细胞的损伤,从而保护肝细胞的存活。因此,自噬参与了黄独素 B 损伤阶段,但它也是一种保护细胞免受损伤后的应激方式,同时加速对细胞内受损细胞器的清除。黄独素 B 还可引起半胱天冬酶 (Caspase-3) 活性增强, DNA 片段化,染色质浓缩,裂解调节结构分子,导致细胞凋亡^[23]。

谭兴起等^[24]将黄药子甲醇总提取物 T001 分别用石油醚、氯仿、甲醇洗脱,得到石油醚组

(F001)、氯仿组 (F002)、甲醇组 (F003); T001、F002、F003 三组每天定时给大鼠灌胃,观察各组对大鼠肝指数、GPT 的影响,结果显示 T001 和 F002 组大鼠肝指数和 GPT 相较于对照组明显升高;而 F003 组大鼠的肝指数和 GPT 与对照组相比无明显变化,除此之外 T001、F002 组大鼠肝细胞相较于对照组受损严重。因此,结果表明黄药子甲醇总提取物及其氯仿部位对肝组织的结构及其功能损伤最为严重。李伟等^[25]通过研究发现黄药子氯仿提取物有显著的肝毒性,且与自由基损伤有关。

另一项实验^[3]中,黄药子 75% 乙醇提取物用氯仿、乙酸乙酯和丁醇依次进行提取,然后各部分提取物作用于 SD 雄性大鼠,观察其外观、行为、食欲、肝组织形态和肝脏指标,其氯仿、乙酸乙酯提取物的损伤最为明显,研究显示是因为这些提取物中含有呋喃二萜内酯,而这类成分脂溶性很好,容易穿透细胞膜,使得线粒体呼吸链产生的自由基过度表达,造成细胞损伤,从而产生肝毒性。李军等^[26]通过过往大量文献证明黄独素 B 是一种呋喃二萜内酯化合物,它的肝毒性主要表现在其呋喃结构部分。

杨凡等^[27]通过给小鼠单次给药黄药子乙醇部位的不同剂量的乙酸乙酯提取物或黄独素 B,给药 24 h 后取血,离心得血清;然后利用血清 miRNA 基因芯片检验血清生物标志物的敏感性,血清 ALT/AST 的监测结果显示乙酸乙酯提取物以及黄独素 B 可诱导显著的肝毒性;且 miR-122-3p 和 miR-194-5p 是黄药子肝毒性的敏感的血清生物标志物。

黄药子醇提取液不仅能损害肝脏的线粒体,还能引起肝组织 ATP 的丢失以及细胞膜的损害,使跨膜钙离子的内向流动增加,引起 Ca^{2+} 超载,使 Ca^{2+} 在细胞内的稳定状态发生紊乱,引起肝脏损害,导致肝脏毒性^[28]。此外,醇提物和黄独素 B 能显著增加 ALT、AST 酶活性与牛磺酸相关的胆汁酸水平,使得胆汁淤积,从而导致肝损伤。黄药子还通过诱导 P450 酶系的 CYP1A2 和 CYP2E1 的 mRNA 的表达,并将其自身的毒性前体转化为肝毒性物质,引起肝毒性^[29]。黄药子对肝脏的损害还有直接毒性作用,这是由于药物的代谢产物在肝

脏内达到一定浓度时会导致代谢紊乱,久服蓄积而中毒^[30]。

有研究表明,不同炮制方法^[31]对黄药子肝毒性也有一定影响,例如黄芪煎汤炙法,此炮制法可增强黄药子体外抗癌活性并且减少黄药子有毒成分对肝脏的损害,增强其疗效;炮制还可增强黄药子的止咳功效并降低其毒性^[32]。此外,配伍一些中药能减轻黄药子肝毒性。五味子可以减轻黄药子诱导的肝细胞坏死,防止脂质变性,其对各种原因造成的急慢性肝损伤也有保护作用^[33]。黄芩和黄柏及其二者配伍也可以减轻黄药子诱导的肝组织细胞的损伤,从而达到保肝的效果^[34],当归对黄药子诱导的肝细胞也有一定的保护作用^[35]。

2.2 肾毒性 除肝毒性外,黄独对肾脏也有损伤^[36],肾损伤的主要表现有肾小管部分上皮细胞坏死、线粒体嵴消失、细胞器悬浮于肿胀细胞浆中、细胞膜损坏以及肾小管腔狭窄;且在肾脏排泄过程中黄独素 B 还会反复刺激肾组织,损伤肾小管。杨辉等^[37]通过研究发现黄药子大剂量组与对照组相比肾脏近、远曲小管肿胀明显,表现为曲管上皮肿大,内膜脱落,且集合管有小面积蛋白颗粒及淤血,部分肾小球增大,系膜细胞增多。黄药子对肾脏具有毒性作用,研究发现黄药子配伍甘草水煎液对大鼠造成的肾脏的结构与功能损伤较黄药子轻,因此说明甘草可以减轻黄药子对大鼠的肾毒性^[38]。

2.3 胃肠系统的毒性 黄药子对胃肠系统也有一定毒性,三组正常小鼠给予不同剂量 200% 黄药子煎剂,结果显示三组中死亡小鼠胃肠血管系统充血且高度胃肠胀气,同时发现胃黏膜表面坏死,因此,表明黄药子对胃肠系统具有损伤作用。

2.4 甲状腺的毒性 黄药子对甲状腺也有毒性,长期喂食黄药子的小鼠可导致甲状腺肿块增加,毒性反应可见于弥漫性胶体甲状腺肿,与碘中毒引起的甲状腺肿症状非常相似。而且用黄药子长期喂养小鼠,其小鼠的甲状腺重量和体积均有增大,滤泡直径变大,滤泡上皮成扁平状,滤泡腔内充满浓稠的胶质^[3,39]。

3 讨论

黄药子药用历史悠久,其具有广泛的临床应

用,在其发挥药效的同时,黄药子对机体会造成一定的损害,主要体现在肝毒性,对肾、胃肠道、甲状腺等也具有有有毒性。黄独素 B 是黄药子的主要毒性成分,黄独素 B 导致肝细胞损伤的原因有氧化应激、线粒体损伤、诱导细胞的凋亡、肝细胞 Ca^{2+} 超载、胆汁淤积、TNF- α 介导的炎症反应以及细胞色素 P450 酶代谢异常等。通过研究黄药子的毒性成分、毒性作用机制,对黄药子的临床应用研究,尽可能地保证其安全性,降低毒性风险有重要意义。

参考文献

[1] 朱大诚,况东,徐丽婷,等. 黄药子药理作用及临床应用[J]. 中国老年学杂志,2022,42(1):239-243.

[2] 谢敏,龚甜,赵勇,等. 黄药子及其组方在甲状腺疾病中的应用[J]. 江西中医药,2018,49(11):74-77.

[3] Guan XR, Zhu L, Xiao ZG, et al. Bioactivity, toxicity and detoxification assessment of Dioscorea bulbifera L.: a comprehensive review [J]. Phytochemistry Reviews, 2017, 16(3):573-601.

[4] 王君明,崔大鹏,崔琰. 黄药子二萜内酯类成分化学、药理及毒性研究进展[J]. 中医学报,2011,26(11):1319-1321.

[5] 马敏,江振洲,阮金兰,等. 黄药子二萜内酯类成分对肝细胞毒性的实验研究[J]. 中国天然药物,2011,9(4):280-285.

[6] 巫圣乾. 黄独素 B 诱导小鼠肝损伤代谢组学及肠道菌群研究[D]. 广州:广东药科大学,2019.

[7] 叶晶,钱知知,朱思睿,等. 黄药子主要成分黄独素 B 对入源性肝细胞 L-02 线粒体损伤机制研究[C]//第十四届中国中西医结合基础理论学术年会会议资料,2018.

[8] 徐英,陈崇崇,杨莉,等. 基于胆汁酸代谢网络分析中药黄药子的肝毒性[J]. 药学学报,2011,46(1):39-44.

[9] 李玉娟,田园,欧婉露,等. 以黄独乙素和儿茶素为指标成分研究黄药子-当归配伍组合[J]. 北京理工大学学报,2013,33(8):866-870.

[10] 陈红,高水群,肖锦仁,等. 黄药子及其制剂致药物性肝损伤病例临床分析[J]. 湖南中医药大学学报,2021,41(9):1442-1446.

[11] 陈莹蓉,杨水新. Caco-2 细胞模型在黄药子肝毒性评估中的应用研究[C]//第十届全国药物和化学异物代谢学术会议暨第三届国际 ISSX/CSSX 联合学术会议,2012.

[12] 李江健. 中药肝毒性的探讨[J]. 湖北中医杂志,2012,

- 34(8):73-74.
- [13] 崔立然,于栋华,徐浩,等. 基于代谢组学整体表征的黄药子肝毒性研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(8):1942-1943.
- [14] 李玉洁,刘树民,罗明媚,等. 黄药子对小鼠肝脏毒性的表达及其机理研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,11(1):40-42.
- [15] 尚兰琴,张洁,郝卫东. 黄药子水煎剂灌胃对小鼠的肝毒性及其机制[J]. 北京大学学报(医学版),2007,39(2):200-202.
- [16] 牛成伟,陆宾,季莉莉,等. 黄独素 B 诱导小鼠急性肝损伤及其机制[J]. 中国中药杂志,2014,39(7):1290-1292.
- [17] 陈勇,夏启松,程明,等. 应用基因表达谱芯片研究黄药子对小鼠肝脏的毒性机制(简报)[J]. 分子细胞生物学报,2006,39(6):568-572.
- [18] Ma Y, Niu C, Wang J, et al. Diosbulbin B-induced liver injury in mice and its mechanism[J]. Hum Exp Toxicol, 2014,33(7):729-736.
- [19] 梁玉琼,黄庆,时乐,等. 黄药子总皂苷对小鼠的肝毒性及其机制[J]. 中华中医药学刊,2020,38(10):240-244,296.
- [20] 齐静. 黄药子水提物对小鼠肝脏毒性及其线粒体途径损伤机制的研究[D]. 大连:辽宁师范大学,2017.
- [21] 王少珍,廖联明. 黄药子中毒导致肝损伤的机制研究[J]. 中华卫生应急电子杂志,2018,4(1):33-44.
- [22] 孙雅馨,秦红岩,臧凯宏,等. 黄药子致肝脏损伤的网络毒理学分析及验证[J]. 中国现代应用药学,2021,38(24):3057-3063.
- [23] 李俊,肖瑶,晏蔚田,等. 黄药子肝毒性及减毒配伍研究进展[J]. 中华中医药学刊,2020,38(12):100-103.
- [24] 谭兴起,阮金兰,陈海生,等. 黄药子的肝脏毒性研究[J]. 中国中药杂志,2003,28(7):661-663.
- [25] 李伟,赵艳,汤青,等. 黄药子醇提物肝脏毒性部位筛选研究[J]. 中医药信息,2009,26(1):28-29,100.
- [26] 李军,刘晨,王君明,等. 黄药子黄独素 B 活性、毒性及配伍减毒[J]. 中国老年学杂志,2019,39(15):3846-3848.
- [27] 杨凡,杨睿,黄镇林,等. 利用血清 microRNA 芯片发现黄药子肝毒性的潜在生物标志物[C]//中国毒理学会中药与天然药物毒理专业委员会第二次(2017 年)学术交流大会论文集,2017.
- [28] 王加志,刘树民,汤青,等. 黄药子毒性组分对肝细胞内 Ca^{2+} 浓度的影响[J]. 中医药信息,2012,29(6):15-16.
- [29] 刘传梦,方静,王元霞,等. 中草药相关肝损伤机制研究进展[J]. 中华中医药学刊,2020,38(6):177-181.
- [30] 杜丽霞,罗明媚,刘树民. 黄药子现代毒理学研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报,2007,9(3):71-72.
- [31] 王灿,梁枫,刘学医,等. 不同炮制方法对黄药子抗胃癌作用及其肝毒性的影响[J]. 济宁医学院学报,2022,45(1):1-5.
- [32] 巫晓慧,王君明,刘晨,等. 炮制增强黄药子止咳功效并降低其毒性的研究[J]. 中国药学杂志,2020,55(10):817-823.
- [33] 杨辉,李多娇,王彦云,等. 五味子影响黄药子肝肾毒性的实验观察[J]. 临床药物治疗杂志,2008,6(1):29-34.
- [34] 王秋红,杨欣,王蒙,等. 黄芩与黄柏协同保护黄药子致肝毒性的实验研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(5):898-903.
- [35] 王新华,索晴. 黄药子及配伍当归含药血清对肝细胞毒性的实验研究[J]. 中国中医药科技,2008,15(6):434-435.
- [36] 苏莉,朱建华,程利宝,等. 亚急性黄药子中毒的实验病理学研究[J]. 法医学杂志,2003,19(2):81-83.
- [37] 杨辉,牟稷征,杨承,等. 黄药子对小鼠毒性的实验研究[J]. 中国药师,2009,12(6):706-709.
- [38] 范金晶,华碧春,刘娇,等. 甘草减轻黄药子对大鼠肾毒性的实验研究[J]. 医学研究杂志,2014,43(9):31-33.
- [39] 杜立娟,孟祥,倪青. 黄药子不良反应及配伍减毒方法研究进展[J]. 中华中医药杂志,2017,32(4):1659-1662.

(修回日期:2022-11-15 编辑:崔春利)