

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.08.11

大黄素甲醚、大黄酸的研究进展

陈家琪¹, 刘佳琪¹, 胡会龙¹, 王长江¹, 何诚^{1,2*}

(1. 中国农业大学动物医学院, 北京 100193; 2. 中国东盟重大动物疫病防控专业科技创新院, 北京 100193)

[收稿日期] 2023-02-02 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 08-0079-09 [中图分类号] S859.79

[摘要] 2014 年世界卫生组织首份全球抗菌素耐药报告显示全世界面临严重的公共卫生威胁, 2021 年农业农村部制定了《全国兽用抗菌药使用减量化行动方案》(2021-2025), 从国家层面实施综合治理策略和措施, 鼓励替代抗菌药物的研制和创新。大黄素甲醚、大黄酸作为植物蒽醌类有效成分, 具有抗微生物、抗炎、抗氧化、神经保护等药理作用, 但对其抗菌、抗病毒、抗炎相关的作用机制和产业化工艺缺少详细报道。本文对国内外已经发表的专利文献、期刊文献进行综述, 总结其抗菌、抗病毒、抗炎作用机制及其生产工艺, 以期为进一步开发利用提供科学支撑。

[关键词] 大黄素甲醚; 大黄酸; 抗病毒; 抗菌; 抗炎; 制备工艺; 抗菌素替代

Research Progress of Physcion and Rhein

CHEN Jia - qi¹, LIU Jia - qi¹, HU Hui - long¹, WANG Chang - jiang¹, HE Cheng^{1,2*}

(1. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. China - asean Institute of Science and Technology Innovation for the Prevention and Control of Major Animal Diseases, Beijing 100193, China)

Corresponding author: HE Cheng, E - mail: chenghe@cau.edu.cn

Abstract: In 2014, World Health Organization released the first global report to alert public health induced by of antimicrobial resistance. Later on, National veterinary antibiotic stewardship program (2021 - 2025) was implemented comprehensive measures from national strategy and to encourage development and innovation of alternative to antibiotics by Ministry of Agriculture and Rural Affairs of China in 2021. As active components of plant - derived anthraquinones, both physcion and rhein show anti - microbial, anti - inflammatory, anti - oxidation and neuroprotective activities. However, their effects on antibacterial, antiviral and anti - inflammatory and workflow remain elusive. In present review, we took effort to summary their antibacterial, antiviral, anti - inflammatory and production process, to analyze neck - bottle of industrialization based on the published patents and articles. Hopefully, our review will shed light on utilizations of physcion and rhein in future.

Key words: physcion; rhein; antiviral substance; antimicrobial agent; anti - inflammatory component; workflow; alternative to antibiotics

基金项目: 国家重点研发计划 (NO. 2022YFC2304000)

作者简介: 陈家琪, 硕士研究生, 从事人畜共患病防控。

通讯作者: 何诚。E - mail: chenghe@cau.edu.cn

大黄素甲醚、大黄酸均属于蒽醌类化合物,主要存在于大黄、何首乌、虎杖、芦荟等多种陆生植物中,同时存在于部分植物内生真菌、海洋真菌的代谢产物中。目前,大黄素甲醚、大黄酸均被证实具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗炎、抗氧化等多种药理作用,其中大黄酸 1,8-二羟基乙酰化修饰产物双乙酰大黄酸在人体内能够迅速代谢成大黄酸以发挥抗炎作用,目前已经作为治疗骨关节药物上市销售,大黄素甲醚已经作为生物新农药批准上市销售。现本文就大黄素甲醚、大黄酸的制备工艺、生物活性和作用机制进行综述,为以上 2 种物质的开发利用提供科学依据。

1 大黄素甲醚和大黄酸来源

大黄素甲醚(1,8-二羟基-3-甲氧基-6-甲基蒽醌)和大黄酸(1,8-二羟基-3-羧基蒽醌)属于蒽醌类化合物,广泛存在于自然界中,多见于大黄、何首乌、虎杖、决明子等蓼科植物。受环境

地质、气候等多种因素影响,不同产地植物中所含有的大黄素甲醚、大黄酸含量区别较大^[1-4](表 1)。此外,植物的内生真菌在与植物长期共同进化过程中,具有能够合成与宿主植物相同或相似的代谢产物的能力,部分植物内生真菌的次级代谢产物中存在大黄素甲醚和大黄酸^[5-9](表 2)。此外,对海洋生物的次级代谢产物研究发现了海洋微生物来源的大黄素甲醚(表 2)。

表 1 蓼科植物中大黄素甲醚、大黄酸含量

Tab 1 Content of physcion and rhein in Liao family plants

植物	大黄素甲醚含量 /(mg·g ⁻¹)	大黄酸含量 /(mg·g ⁻¹)
大黄饮片	0.3978~4.036	0.07449~1.397
何首乌	0.14~0.72	8.231
虎杖根	0.011~0.02	0.90~2.99
决明子	0.24~0.73	0.69~1.39

表 2 真菌中的大黄素甲醚、大黄酸

Tab 2 Physcion and rhein produced by fungus

微生物来源	种属	大黄素甲醚含量 /(mg·L ⁻¹)	大黄酸含量 /(mg·L ⁻¹)
毛脉酸模内生真菌	链格孢属真菌	*	0.011~0.045
掌叶大黄内生真菌	腐皮镰刀菌	*	5.672
仙人掌属植物内生真菌	土曲霉	22.5	*
海洋红藻真菌	孢子菌属真菌	0.0069	*
海洋马尾藻真菌	温特曲霉	0.4133	*
海洋海绵共生菌	冠突散囊菌	25	*
海洋真菌	青霉属真菌	22.5	*

大黄素甲醚、大黄酸含量计算:纯化获得的化合物总量(mg)/菌株发酵培养基总量(L);“*”表示在该菌株的代谢产物中不存在此化合物

2 抗菌、抗病毒和抗炎特点及其作用机制

2.1 抗菌活性和作用机制 体外抑菌试验显示大黄酸和大黄素甲醚对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、链球菌等多种微生物都具有抑制效果,尤其大黄素甲醚对畜禽多种常见病原菌具有良好的抗菌活性(表 3~表 4)^[10-16]。其中,大黄酸对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的 MIC 分别为 5.6~64、25~125 μg/mL,大黄素甲醚对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的 MIC 分别为 7.8~90、15.6~250 μg/mL。

抗菌机制包括抑制细菌的呼吸代谢、破坏细菌的细胞膜或细胞壁、抑制蛋白质合成及作用于遗传物质、干预细菌生物膜形成过程等途径。在转录水平上大黄酸通过调控金黄色葡萄球菌的铁调节系统、核糖核苷酸还原酶系统以及呼吸和发酵相关基因,从而抑制金黄色葡萄球菌的活性^[17]。大黄酸能够显著提高细菌胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平,而过量的 ROS 能够引起细菌的氧化损伤,从而起到抑菌作用^[13]。耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的菌体形态在大黄酸的作用下发生

明显皱缩和破损,且其破损程度呈剂量依赖性,即大黄酸通过破坏细菌的细胞膜而实现抑菌作用^[10]。大黄酸处理后的大肠杆菌和沙门氏菌细胞膜被破坏,致使核酸和营养物质等大分子物质大量流失,最终导致菌体死亡^[11]。此外,大黄酸以谷氨酰胺酶、咪唑甘油磷酸酯脱水酶为靶点,在早期干预木糖葡萄球菌生物被膜形成^[15]。

此外,沙眼衣原体感染 Hela 细胞后大黄酸能够有效抑制多种血清型沙眼衣原体的生长繁殖,且这种抑制作用呈时间依赖性和浓度依赖性。大黄酸不能直接灭活感染态原体 EB (elementary body, EB),而可能通过调节宿主细胞的部分通路,如 ERK/PSK (细胞外信号调节激酶/核糖体 S6 激酶) 通路、PI3K - AKT 以干预沙眼衣原体在宿主细胞内的生长繁殖代谢^[18]。本课题组发现大黄素甲醚能够抑制多种鹦鹉热衣原体毒株生长,其 MIC 值为 128 ~ 256 $\mu\text{g}/\text{mL}$,并证明了大黄素甲醚通过阻断衣原体对细胞的黏附作用、抑制衣原体从繁殖态网状体 (reticulate body, RB) 向感染态原体 EB 的转化以及激活细胞自噬等多种方式实现对衣原体的抑制作用。动物试验显示大黄素甲醚能够减轻感染衣原体禽类的呼吸道组织损伤、降低脾脏中病毒载量,并且其疗效与多西环素相当^[19]。这提示大黄酸和大黄素甲醚是一种潜在的防治衣原体感染有效药物,具有替代多西环素的潜力。

表 3 大黄酸对常见致病菌的抑菌作用

Tab 3 Antibacterial effect of rhein against common pathogenic bacteria

菌种	MIC/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
金黄色葡萄球菌	15.625
耐甲氧西林金黄色葡萄球菌	8
大肠杆菌	125
沙门氏菌	250
幽门螺旋杆菌	50
猪胸膜肺炎放线杆菌	25
伪中间葡萄球菌	12.5
木糖葡萄球菌	64
变形链球菌	5.6

表 4 大黄素甲醚对常见致病菌的抑菌作用

Tab 4 Antibacterial effect of physcion against common pathogenic bacteria

菌种	MIC/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
大肠志贺氏菌	90.00
禽巴氏杆菌	22.50
禽大肠杆菌	11.25
猪大肠杆菌	11.25
链球菌	45.00
停乳链球菌	90.00
绿脓杆菌	200
沙门氏菌	31.3
金黄色葡萄球菌	7.8
肺炎克雷伯菌	250
奇异变形杆菌	15.6

2.2 抗病毒谱和作用机制 大黄或虎杖的蒽醌类化合物对流感病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒、单纯疱疹病毒、柯萨奇病毒等多种病毒引起的细胞病变具有显著抑制作用,该抑制作用呈量效关系(表 5)^[20-21]。体外增殖试验发现,大黄素甲醚对感染了猪传染性胃肠炎病毒的 ST 细胞表现出抑制增殖的效果,直接灭活作用效果明显优于对病毒的吸附保护作用或生物合成抑制作用,感染抑制率达到 71.28%^[22]。5 种蒽醌类成分的抗 HIV 活性显示大黄素甲醚对 HIV - 1 病毒急性感染 C8166 细胞 p24 抗原的产生以及病毒感染 C8166 细胞形成的合胞体表现出抑制作用^[23]。此外,大黄酸能够使逆转录酶活性下降而抑制乙肝病毒 DNA 的复制,大黄酸和贺普丁 (抗乙肝病毒药) 联合用药显著增强低浓度贺普丁的药效,从而降低其副作用,显示其治疗乙肝病毒的潜力^[24]。大黄酸能够抑制甲型流感病毒 (Influenza A virus, IAV) 对细胞的吸附和增殖过程,且抑制 IAV 引起的氧化应激反应和 TLR4、Akt、MAPK、NF - κ B 等信号通路的激活,从而减轻小鼠流感性肺炎模型的急性肺损伤^[25]。临床上证明连花清瘟胶囊具有抵抗 COVID - 19 作用,分析给药后的人体血浆、尿液成分及针对血管紧张素转换酶 (Angiotensin converting enzyme2, ACE2) 受体的 2D - 生物色谱,发

现大黄酸、连翘酯苷 A、连翘酯苷 I、绿原酸及其异构体这几种成分对 ACE2 具有显著抑制作用,其中大黄

酸在人体内的暴露浓度高、活性好,可能是连花清瘟胶囊抑制 ACE2 的主要活性成分^[26]。

表 5 植物源蒽醌类化合物抗病毒活性

Tab 5 Antiviral activity of plant derived anthraquinones

药物	病毒	细胞系	IC50/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	治疗指数 TI
虎杖蒽醌 提取物	柯萨奇 A9 型病毒		27.02	6.93
	单纯疱疹病毒 I 型		22.93	8.17
	腺病毒 7 型	Hela	25.35	7.4
	流感病毒 H1 N1		30.43	6.16
	埃可病毒 6 型		27.03	6.93
大黄蒽醌 类化合物	流感病毒	MDCK	122.4	1.9
	呼吸道合胞病毒	Hep-2	96.7	2.3

3 抗炎症活性及其作用机制

针对多种炎症性疾病如关节炎、结肠炎、肺炎、肾炎等,大黄酸能够通过参与 NF- κ B 信号通路、NLRP3 炎症小体通路、PI3K/Akt/mTOR 信号通路的上下游调控,以及调节多种促炎因子表达水平等途径实现抗炎作用(表 6)^[27-31,34-35]。Th1/Th2 失衡与多种呼吸道炎症、关节炎相关,而大黄素甲醚被证实能够通过上调树突状细胞表面分子 CD40、CD80、CD86、MHC II 的表达水平,诱导树突状细胞

成熟为抗原呈递细胞,促进 Th1 细胞分化,是 Th1/Th2 失衡相关炎症疾病的潜在治疗药物^[32]。此外,大黄素甲醚以多靶点、多途径的方式抑制巨噬细胞的炎症反应。LPS 诱导的人急性单核白血病 THP-1 细胞炎症的模型中,大黄素甲醚抑制 Akt 蛋白磷酸化而实现对 ERK 和 mTOR 炎症信号通路的调控^[33]。大黄素甲醚的抗炎作用探究大多仍处于体外实验阶段,相关的抗炎作用机制有待进一步深入研究。

表 6 大黄酸抗炎作用主要适应症及其机制

Tab 6 Main indications and mechanisms of anti-inflammatory effects of rhein

适应症	作用机制
骨关节炎	(1) 阻断 IL-1 β 诱导的核因子抑制剂 I κ B- α 的降解以及 p65 蛋白的核转位,从而抑制 NF- κ B 通路的激活,且该阻断作用呈剂量依赖性 ^[34] 。 (2) 抑制 NF- κ B 下游的诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的表达,从而减少 NO 的合成 ^[34] 。 (3) 抑制骨关节炎软骨细胞中的 ICE(白细胞介素-1 β 转化酶)的表达水平,降低了促炎因子 IL-1 β 的水平 ^[35] 。
痛风性关节炎	抑制 NLRP3 炎症小体的形成以降低 caspase-1 蛋白酶活性和 IL-1 β 的合成 ^[30] 。
类风湿性关节炎	作为腺嘌呤 P2 类受体拮抗剂,抑制 ATP 诱导的炎症反应中胞内 Ca ²⁺ 浓度升高、胞内 ROS 的合成以及相关炎症基因表达水平,在类风湿性关节炎中起抗炎作用 ^[31] 。
结肠炎	调节肠道菌群,间接引起肠道中部分促炎因子如 TNF、IL-6、IL-1 β 的水平下降 ^[27] 。
慢性肾小球性肾炎	(1) 抑制肾脏肾组织中炎症因子如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 ICAM-1 的表达水平,进而抑制 NF- κ B 通路的活化 ^[28] 。 (2) 抑制炎症过程中的氧化应激反应 ^[28] 。
RSV 感染小鼠肺炎	(1) 抑制促炎因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、IL-18 和 IL-33 的释放 ^[29] 。 (2) 抑制 NF- κ B 信号通路的活化,进而抑制 NLRP3 炎症小体的激活 ^[29] 。

4 大黄酸和大黄素甲醚制备技术

4.1 溶剂提取法 利用乙醇、氯仿等有机溶剂经回流提取法或渗漉法,可以将植物中大黄素甲醚、大黄酸进行提取。以含水乙醇回流法提取虎杖中的有效成分,采用正交试验方法确定虎杖中蒽醌类化合物、二苯乙烯类化合物的最佳提取工艺:5 倍量 70% 乙醇 90 °C 下回流 3 次,每次 2 h,在该条件下,大黄素甲醚的提取率为 0.269%。以何首乌粗粉为原料,使用 3 倍量氯仿回流 2 次、每次 3 h,后经 pH 梯度萃取、硅胶柱层析分离纯化、重结晶获得纯度为 98.2% 的大黄素甲醚。大黄酸植物提取中常使用硫酸进行酸化水解后,再加入醇溶液或氯仿等有机试剂进行加热提取^[36]。以大黄粉末为原料,经 10% ~ 30% 硫酸酸化水解后,以药渣 10 倍量氯仿加热回流提取,氯仿液经萃取酸化后获得大黄酸粗提物,再经乙酸甲醇混合溶液重结晶获得精制大黄酸,产率为 22.8 mg/g^[37]。大黄粗粉为原料,经硫酸酸化水解后,加入氯仿和乙醇混合溶液保温,使用碳酸氢钠溶液萃取后,盐酸酸化析出沉淀,再使用冰醋酸重结晶得到大黄酸。随着超声提取法、微波提取法等辅助手段的发展和应用,显著缩短了其提取时间、减少试剂耗量。通过超声细胞研磨法,从药用植物大黄中提取蒽醌类化合物,经工艺优化后获得的大黄素甲醚提取率可达到 4.22 mg/g 水平^[38]。靳丹虹等^[39]以决明子为原料,分别采用索式提取法、超声提取法和微波提取法提取其中的蒽醌类物质,微波提取法仅需要 10 min 的提取时间所获得的蒽醌类物质提取率已超过索式提取法和超声提取法 2 h 提取时间作用后的提取率,显著缩短了提取时间。尽管超声提取法、微波提取法相比传统的回流渗漉法更加快速、高效,但由于存在噪声、对设备材料要求较高等问题,目前仍多处于实验室应用阶段,尚未进行大规模产业化推广。

4.2 化学合成 Ayyangar 等以染料中间体 1-氨基-5-氯蒽醌和 β 甲基蒽醌为原料,经卤代、脱氨基、甲氧基化、脱甲基等一系列反应,制备了包括大黄素、大黄素甲醚、大黄酸、大黄酚在内的蒽醌类化

合物^[40]。此外,大黄素甲醚的化学合成多以大黄素为反应底物溶于碱性溶液中,与硫酸二甲酯混合加热反应后,经萃取、干燥、硅胶柱层析分离纯化后获得大黄素甲醚,收率为 82%^[41]。裴章宏^[42]等以大黄酚为原料,通过乙酰化反应得到中间体二乙酰大黄酚,中间体二乙酰大黄酚经过高氯酸钠氧化反应、脱保护反应后得到大黄酸。夏士朋等^[43]以提取自大黄的大黄酚为原料,经过羟基保护、铬酸氧化、脱保护反应合成大黄酸,此法从 2.8 g 大黄酚原料中获得 238 mg 大黄酸,含量达到 98.78%。孔叶青等以芦荟大黄素为原料合成大黄酸,反应过程中使用浓硫酸-双氧水为氧化剂,相对于传统氧化剂高锰酸钾、铬试剂等减少了产品中重金属残留^[44]。

而相对于大黄酸半合成方法,化学全合成途径不需要消耗大量植物资源以获得反应原料。胡汉峰等以胡桃醌和 3-M-1-(甲氧基)-1,3-丁二烯经双烯合成得到混合物,混合物经石油醚结晶去除异构体后,于盐酸乙醇溶液回流加热冷却获得粗品,粗品经碱溶酸沉后析出精制大黄酸,收率为 60%。刘瀚文等^[45]以甲氧基邻苯二甲酸酐和格氏反应液为原料经缩合、脱水环合、甲氧基化、氧化、脱甲基反应后制备得大黄酸,产率为 56%。

4.3 生物制备

4.3.1 中药固态发酵 大黄经酵母菌、部分植物病原真菌发酵转化后,药材中的结合型蒽醌转化为游离型蒽醌,有效游离型蒽醌含量显著增加^[46-47],如以一株产洛伐他汀的红曲霉与山楂、决明子、泽泻为培养基组分进行固态发酵^[48],经单因素试验和正交试验优化后的 1000 mL 三角瓶规模固态发酵产物中,大黄素甲醚含量达到 1.7 mg/g 的水平。此外部分枯草芽孢杆菌在生长代谢过程中同样能够实现中药中部分苷类向游离苷元的转化,从而增加其有效成分的含量。如以决明子为微生物发酵基质,纳豆枯草芽孢杆菌固态发酵后,决明子中大黄素甲醚含量增加至发酵前的 1.34 倍^[49]。以上结果显示微生物固态发酵可以提高中药材中大黄素甲醚的含量,从而改善药材的生物利用度及大黄素甲醚提取效率。

4.3.2 生物转化 大黄素能够在 O - 甲基转移酶的作用下转化为大黄素甲醚,从土曲霉菌中鉴定了一种大黄素氧 - 甲基转移酶,体外实验证明其能够催化大黄素羟基甲基化。Chen 等从土曲霉 IMI 16043 菌株中鉴定得到一种催化大黄素 C8 - 羟基甲基化的酶,该酶是一种依赖于 S - 腺苷 - L - 蛋氨酸的 O - 甲基转移酶,具有严格的底物特异性,对大黄素和 S - 腺苷 - L - 蛋氨酸的酶催化米氏常数分别为 $4.1 \times 10^{-7} \text{ M}$ 和 $4.1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 。分析 16 条真菌中的 O - 甲基转移酶进行生物信息,筛选到其中 5 个成分,采用原核表达和生物转化实验,结果表明 Bik3、Fsr2、PgmB、PtaI 这 4 个 O - 甲基转移酶均具有催化大黄素转化为大黄素甲醚的功能,且 Pta I 的转化效率最高,转化后大黄素甲醚浓度为 $19.72 \mu\text{g}/\text{mL}^{[50]}$ 。以大黄素为诱导药物,通过小剂量浓度递增法获得耐大黄素海洋青霉属真菌,该菌株能够将培养基中添加的大黄素成分转化为大黄酸,其转化率达 11.7%。

4.3.3 生物合成 生物合成多以丝状真菌进行基因工程改造后进行发酵培养获得。土曲霉中过表达大黄素生物合成途径的特异性转录因子 GedR,同时敲除大黄素 - 1 - OH - O - 甲基转移酶 GedA,获得一株产大黄素的土曲霉菌株,该菌株发酵液中大黄素含量最高可达 $1.71 \text{ g}/\text{L}^{[51]}$ 。在温特曲霉中,利用 CRISPR - Cas9 技术构建对编码负性转录调节因子的基因 *mcrA* 敲除以激活其大部分处于沉默状态的生物合成基因簇,并在 15 种次级代谢产物中检测到大黄素甲醚^[52]。丝状真菌作为一种重要的工业微生物在生物合成上具有工业应用潜力,但相对于其它成熟的模式微生物体系而言,丝状真菌在生物合成上存在以下缺陷:(1)丝状真菌大多存在的多核现象,导致菌种发酵性状不稳定;(2)基因改造技术限制较多,如可选择的遗传元件(筛选标记、启动子、终止子等)较少、丝状真菌中 CRISPR - Cas9 技术的基因编辑效率远低于酵母菌等;(3)丝状真菌次级产物的合成与调控机制复杂,影响因素多,次级代谢产物的代谢工程改造靶点需要对其转录组学、蛋白组学及代谢组学上的深入研究^[53]。

5 结语

大黄素甲醚、大黄酸证明具有抗微生物(细菌、病毒)、抗炎作用等,尤其发现莲花清瘟胶囊中的大黄酸可以抑制 ACE2 受体,因此,大黄素甲醚、大黄酸的衍生物适用于抑制微生物,发挥抗炎作用。但是其作用机制尚不清楚,需要深入研究。其次,随着畜禽健康养殖产业抗菌素减量行动的实施,大黄素甲醚、大黄酸作为潜在的替代抗菌素成分,在抗菌素减量行动计划中发挥重要的作用。在产业化领域,利用生物合成手段大量制备大黄素甲醚、大黄素,生产绿色、安全、有效和价格低廉的替抗产品,这将为畜禽安全生产和食品健康提供科学支撑。

参考文献:

- [1] 高慧宇,杨建波,孙 华,等. HPLC 测定不同产区生何首乌和不同炮制工艺制何首乌中蒽醌类成分含量[J]. 中国药物警戒, 2022,19(05):522 - 526. Gao H Y, Yang J B, Sun H, *et al.* Determination of anthraquinones in Polygoni Multiflori Radix from different origins and processed differently by HPLC[J]. Chinese Journal of Pharmacovigilance, 2022,19(05):522 - 526.
- [2] 罗建明,黄清松,李 桃. HPLC 法同时测定虎杖根中 4 种蒽醌类成分的含量[J]. 中药材,2012,35(05):736 - 738. Luo J M, Huang Q S, Li T. Simultaneous determination of four anthraquinone constituents in the roots of *Cyperus rotundus* by HPLC[J]. ZHONGYAOCAI, 2012,35(05):736 - 738.
- [3] 贾志鑫,刘力榕,张银环,等. UHPLC - FLD 法测定不同产地大黄中 6 种大黄蒽醌[J]. 药物评价研究,2022,45(05):926 - 931. Jia Z X, Liu L R, Zhang Y H, *et al.* Determination of six rhubarb anthraquinones of *Rhei Radix et Rhizoma* decoction pieces from different growing areas by UHPLC - FLD[J]. Drug Evaluation Research, 2022,45(05):926 - 931.
- [4] 龙远春,张 欣,万国栋,等. 不同产地决明子蒽醌化合物组成及其抗氧化活性测定[J]. 食品科学,2017,38(16):145 - 151. Long Y C, Zhang X, Wang G D, *et al.* Anthraquinone Composition and Antioxidant Activity of Semen Cassiae from Different Regions[J]. Food Science,2017,38(16):145 - 151.
- [5] You X, Feng S, Luo S, , *et al.* Studies on a rhein - producing endophytic fungus isolated from *Rheum palmatum* L. Fitoterapia. 2013 Mar;85:161 - 8.
- [6] Li X. , Li X. - M. , Xu G. - M. , *et al.* Antioxidant metabolites

- from marine alga - derived fungus *Aspergillus wentii* EN - 48. *Phytochem. Lett.* 2014;7:120 - 123.
- [7] Wijesekara I, Zhang C, Van Ta Q, *et al.* Physcion from marine - derived fungus *Microsporium* sp. induces apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells. *Microbiol Res.* 2014 Apr; 169(4):255 - 61.
- [8] Li Q, Zhu R, Yi W, *et al.* Peniciphenalenins A - F from the culture of a marine - associated fungus *Penicillium* sp. ZZ901. *Phytochemistry.* 2018 Aug;152:53 - 60.
- [9] Wu SH, Chen YW, Qin S, *et al.* A new spiroketal from *Aspergillus terreus*, an endophytic fungus in *Opuntia ficusindica* Mill. *J Basic Microbiol.* 2008 Apr;48(2):140 - 2.
- [10] 李洁,王琦,张群,等. 大黄酸对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的体外内抗菌作用研究[J]. *中药药理与临床*,2022,38(03):70 - 76. Li J, Wang Q, Zhang Q, *et al.* In Vitro and In Vivo Inhibitory Effect of Rhein on Methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica*,2022,38(03):70 - 76.
- [11] 侯媛媛. 大黄和黄芩抑菌活性物质追踪及其抑菌机理研究[D]. 上海海洋大学,2015. Hou Y Y. Chemical compositions of Rhubarb and *Scutellaria baicalensis* and Antibacterial Mechanism [D]. Shanghai Ocean University,2015.
- [12] 黄俊杰. 大黄酸和鞣花酸抗猪胸肺炎放线杆菌感染的作用研究[D]. 河南科技学院,2022. Huang J J. Study of the effect of rhein and ellagic acid against *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection [D]. Henan Institute of Science and Technology,2022.
- [13] 宋军,周志新,付琳清,等. 大黄酸对伪中间葡萄球菌的抗菌活性及作用机制[J]. *畜牧兽医学报*,2021,52(08):2275 - 2283. Song J, Zhou Z X, Fu L Q, *et al.* Antimicrobial Activity and Mechanism of Rhein against *Staphylococcus pseudintermedius* [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2021, 52(08):2275 - 2283.
- [14] 高峰,周培根,余鹏. 黄芩素、小檗碱、大黄酸、大黄素与阿莫西林联合抗幽门螺杆菌的药敏实验研究[J]. *四川中医*, 2017,35(10):141 - 144. Gao F, Zhou P G, Yu P, *et al.* Study on the Anti - *Helicobacter Pylori* Activity of Berberine, Baicalin, Rhein and Emodin Combined with Amoxicillin [J]. *Journal of Sichuan of Traditional Chinese Medicine*,2017,35(10):141 - 144.
- [15] 吕婷婷,张忠斌,贺爽,等. 大黄酸干预木糖葡萄球菌生物被膜及其作用机制研究[J]. *饲料研究*,2022,45(01):72 - 76. Lv T T, Zhang Z B, He S, *et al.* Intervention and mechanism research of rhein on *Staphylococcus xylosum* biofilms [J]. *Feed Research*,2022,45(01):72 - 76.
- [16] Basile A, Rigano D, Loppi S, *et al.* Antiproliferative, antibacterial and antifungal activity of the lichen *Xanthoria parietina* and its secondary metabolite parietin. *Int J Mol Sci.* 2015 Apr 9;16(4):7861 - 75.
- [17] Yu L, Xiang H, Fan J, *et al.* Global transcriptional response of *Staphylococcus aureus* to rhein, a natural plant product. *J Biotechnol.* 2008 Jun 30;135(3):304 - 8.
- [18] Yu X, Xu Q, Chen W, *et al.* Rhein inhibits *Chlamydia trachomatis* infection by regulating pathogen - host cell. *Front Public Health.* 2022 Sep 26;10:1002029.
- [19] Liu X, Hu H, Liu J, Chen J, Chu J, Cheng H. Physcion, a novel anthraquinone derivative against *Chlamydia psittaci* infection. *Vet Microbiol.* 2023 Jan 24;279:109664.
- [20] 李凤新. 虎杖提取物抗病毒物质基础、药理作用及代谢研究[D]. 吉林大学,2009. Li F X, The studies on anti - virus material foundation, pharmacologic action and metabolism of *Polygonum cuspidatum* extraction [D]. Jilin University,2009.
- [21] 梁荣感,刘卫兵,李丽亚,等. 大黄蒽醌类化合物体外抗呼吸道合胞病毒作用的研究[J]. *广西医科大学学报*,2007(02):280 - 281. Liang R G, Liu W B, Li L Y, *et al.* In vitro study on the anti - respiratory syncytial virus effect of anthraquinones from Rhubarb [J]. *Journal of Guangxi Medical University*, 2007(02):280 - 281.
- [22] 张为民,胡蓉,郭抗抗,等. 9 种中药成分对猪传染性胃肠炎病毒体外增殖的抑制作用[J]. *中国兽医学报*,2015,35(05):799 - 803. Zhang W M, Hu R, Guo K K, *et al.* Nine kinds of Chinese traditional medicine components inhibit proliferation of swine transmissible gastroenteritis virus *in vitro* [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2015,35(05):799 - 803.
- [23] 欧阳东云,刘春永,曾耀英,等. 大黄素等 5 种蒽醌衍生物的体外抗 HIV - 1 活性(英文)[J]. *中国病理生理杂志*,2010,26(06):1187 - 1192. Ouyang D Y, Liu C Y, Zeng Y Y, *et al.* Anti - HIV - 1 activity of five anthraquinone derivatives [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2010,26(06):1187 - 1192.

- [24] 张晨. 大黄酸联合贺普丁对乙肝病毒逆转录酶影响[J]. 中国公共卫生, 2015, 31(06): 781-783.
Zhang C. Effect of their combined with heptodin on HBV reverse transcriptase activity[J]. Chinese Journal of Public Health, 2015, 31(06): 781-783.
- [25] Wang QW, Su Y, Sheng JT, *et al.* Anti-influenza A virus activity of rhein through regulating oxidative stress, TLR4, Akt, MAPK, and NF- κ B signal pathways. PLoS One. 2018 Jan 31; 13(1):e0191793.
- [26] Chen X, Wu Y, Chen C, *et al.* Identifying potential anti-COVID-19 pharmacological components of traditional Chinese medicine Lianhuaqingwen capsule based on human exposure and ACE2 biochromatography screening. Acta Pharm Sin B. 2021 Jan; 11(1): 222-236.
- [27] Dong L, Du H, Zhang M, *et al.* Anti-inflammatory effect of Rhein on ulcerative colitis via inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway and regulating gut microbiota. Phytother Res. 2022 May; 36(5): 2081-2094.
- [28] Chen Q, Guo H, Hu J, *et al.* Rhein Inhibits NF- κ B Signaling Pathway to Alleviate Inflammatory Response and Oxidative Stress of Rats with Chronic Glomerulonephritis. Appl Bionics Biomech. 2022 Apr 13; 2022: 9671759.
- [29] Shen C, Zhang Z, Xie T, *et al.* Rhein Suppresses Lung Inflammatory Injury Induced by Human Respiratory Syncytial Virus Through Inhibiting NLRP3 Inflammasome Activation via NF- κ B Pathway in Mice. Front Pharmacol. 2020 Jan 28; 10: 1600.
- [30] Chang WC, Chu MT, Hsu CY, *et al.* Rhein, An Anthraquinone Drug, Suppresses the NLRP3 Inflammasome and Macrophage Activation in Urate Crystal-Induced Gouty Inflammation. Am J Chin Med. 2019; 47(1): 135-151.
- [31] Hu F, Zhu D, Pei W, *et al.* Rhein inhibits ATP-triggered inflammatory responses in rheumatoid rat fibroblast-like synoviocytes. Int Immunopharmacol. 2019 Oct; 75: 105780.
- [32] Hwang YH, Kim SJ, Yee ST. Physcion-Matured Dendritic Cells Induce the Differentiation of Th1 Cells. Int J Mol Sci. 2020 Mar 4; 21(5): 1753.
- [33] 刘钊, 杨鸿, 李雪丽. 大黄素甲醚通过影响 AKT 信号通路抑制 LPS 诱导人巨噬细胞的炎症反应[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(03): 566-569.
Liu D, Yang H, Li X L. Study on effect of physcion on inflammatory mediators by influencing the AKT signaling pathway in stimulated macrophage [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2021, 32(03): 566-569.
- [34] Mendes AF, Caramona MM, de Carvalho AP, *et al.* Diacerhein and rhein prevent interleukin-1 β -induced nuclear factor- κ B activation by inhibiting the degradation of inhibitor κ B- α . Pharmacol Toxicol. 2002 Jul; 91(1): 22-8.
- [35] Moldovan F, Pelletier JP, Jolicoeur FC, *et al.* Diacerhein and rhein reduce the ICE-induced IL-1 β and IL-18 activation in human osteoarthritic cartilage. Osteoarthritis Cartilage. 2000 May; 8(3): 186-96.
- [36] 黄江虹. 何首乌中大黄素甲醚的提取、分离和纯化研究[J]. 中药材, 2007(03): 359-361.
Huang J H. Extraction, isolation and purification of rhodopsin methyl ether from He Shou Wu [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2007(03): 359-361.
- [37] 叶峰, 吕青林, 张杰. 大黄酸的提取富集方法[P]. 江苏省: CN108358775B, 2021-02-26.
Ye F, Lv Q L, Zhang J. Extraction and enrichment method of rhubarb acid [P]. Jiangsu Province: CN108358775B, 2021-02-26.
- [38] Wang G Y, Qi H Y, Shi Y P. Ultrasonic cell grinder extraction of anthraquinones from radix et rhizoma Rhei and determination by ultra-performance liquid chromatography. J Sep Sci. 2010 Jun; 33(12): 1730-8.
- [39] 靳丹虹, 梁芳慧, 李敬筠, 等. 微波辅助提取-HPLC 测定决明子中的 5 种蒽醌类化合物[J]. 分子科学学报, 2007(06): 429-433.
Jin D H, Liang F H, Li J J, *et al.* Determination of anthraquinones in Semen Cassiae by microwave assistant extraction-high performance liquid chromatography [J]. Journal of Molecular Science, 2007(06): 429-433.
- [40] Ayyangar N R, *et al.* Production of rhein and rhein derivatives [J]. J Sci Industr Res, 1961, 20B: 493.
- [41] 王兴坡, 徐文方. 大黄素衍生物的化学合成与抗肿瘤活性[J]. 中国药物化学杂志, 2005(06): 321-326.
Wang X P, Xu W F. Chemical synthesis and antitumor activities of emodin derivatives [J]. Chinese Journal of Medicinal Chemistry, 2005(06): 321-326.
- [42] 裴章宏, 蒋维, 胡孟奇. 一种大黄酸制备方法[P]. 安徽: CN107573232A, 2018-01-12.
Pei Z H, Jiang W, Hu M Q. A method of preparing rhubarb acid [P]. Anhui: CN107573232A, 2018-01-12.

- [43] 夏士朋. 大黄酸合成新工艺[J]. 四川化工与腐蚀控制, 2001(05):1-2.
Xia S P. New process of rhubarb acid synthesis[J]. Sichuan Chemical Industry, 2001(05):1-2.
- [44] 孔叶青, 姜礼进, 冯玲琴, 等. 大黄酸的合成方法[P]. 浙江省; CN102875369B, 2014-09-24.
Kong Y Q, Jiang L J, Feng L Q, *et al.* Synthesis of rhein acid [P]. Zhejiang Province; CN102875369B, 2014-09-24
- [45] 刘瀚文, 王尧. 一种大黄酸的全合成工艺[P]. 黑龙江; CN106966891A, 2017-07-21. Liu H W, Wang Y. The invention relates to a total synthesis process of rhein [P]. Heilongjiang Province; CN106966891A, 2017-07-21
- [46] 段维和. 大黄和辛夷的微生物发酵改性研究[D]. 云南大学, 2016.
Duan W H. Study on the modification of Rhubarb and Caprazine by microbial fermentation[D]. Yunnan University, 2016.
- [47] 高洁, 董文宾, 王勇, 等. 陕产大黄结合型蒽醌转化游离型蒽醌的发酵条件优化[J]. 中医药导报, 2017, 23(09):59-61+65.
Gao J. Dong W B, Wang Y, *et al.* Optimization of Fermentation Conditions for Conversion of Conjugated Anthraquinone into Free Anthraquinone in Dahuang (Radix et Rhizoma Rhei) from Shaanxi[J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2017, 23(09):59-61+65.
- [48] 杨静云, 赖永勤, 李宇兴, 等. 山楂、泽泻、决明子与红曲霉混合发酵制备调血脂中药工艺研究[J]. 中草药, 2016, 47(12):2100-2107.
Yang J Y, Lai Y Q, Li Y X, *et al.* Preparation process of lipid-lowering medicines by solid state fermentation of *Crataegi cructus* *Alismatis ohizomal* = and *Cassiae pemen* mixed with *monascus*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2016, 47(12):2100-2107.
- [49] 金玲, 孟宪生, 包永睿, 等. 决明子发酵前后 5 种蒽醌类成分变化研究[J]. 中国药房, 2012, 23(03):228-230.
Jin L, Meng X S, Bao Y R, *et al.* Study on the Changes of Five Anthraquinones in *Cassia obtusifolia* before and after Fermentation [J]. China Pharmacy, 2012, 23(03):228-230.
- [50] 饶海密. 酿酒酵母中大黄素甲醚生物合成途径的重构[D]. 天津大学, 2020.
Yao H M. Restructuring of biosynthetic pathway of physcion in *Saccharomyces cerevisiae*[D]. Tianjin University, 2020.
- [51] Qi F, Zhang W, Xue Y, *et al.* Microbial production of the plant-derived fungicide physcion. *Metab Eng.* 2022 Nov 1;74:130-138.
- [52] Yuan B, Keller N P, Oakley B R, *et al.* Manipulation of the Global Regulator *mcrA* Upregulates Secondary Metabolite Production in *Aspergillus wentii* Using CRISPR-Cas9 with In Vitro Assembled Ribonucleoproteins. *ACS Chem Biol.* 2022 Oct 21;17(10):2828-2835.
- [53] 黄雪年, 唐慎, 吕雪峰. 工业丝状真菌土曲霉合成生物技术研究进展及展望[J]. 合成生物学, 2020, 1(02):187-211.
Huang X N, Tang S, Lv X F. Progress and prospect for synthetic biology research of the industrial filamentous fungi *Aspergillus terreus*[J]. Synthetic Biology Journal, 2020, 1(02):187-211.

(编辑:侯向辉)