

鲜掌叶大黄茎地上部分对秀丽隐杆线虫的生殖毒性和降脂作用

李 芸^{1,2,3}, 熊继东¹, 张国玉¹, 张云鹤¹, 魏家艳¹, 仲 楠¹

(1. 甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000; 2. 西北中藏药省部共建协同创新中心, 甘肃 兰州 730000; 3. 陇药产业创新研究院, 甘肃 兰州 730000)

摘要: **目的** 观察鲜掌叶大黄茎地上部分对秀丽隐杆线虫的生殖毒性和降脂作用。**方法** 以秀丽隐杆线虫为模式生物, 通过急性毒性实验、头部摆动次数、身体弯曲次数、寿命实验、急性热应激实验、急性氧化应激实验和后代数目评价其生殖毒性; 通过肥胖模型线虫的泵咽抽动频率、体长体宽、体面积、脂肪沉淀、甘油三酯含量, 评价其降脂作用。**结果** 鲜掌叶大黄茎地上部分对线虫头部摆动次数、身体弯曲次数、寿命、抵抗外界环境变化能力和 F1、F2 代后代数目无明显影响 ($P>0.05$); 对线虫咽泵跳动频率、体长及体宽无明显影响 ($P>0.05$), 但使其体面积、体内的脂肪堆积及 TG 水平减少 ($P<0.05$), 不影响其生长状况及进食量。**结论** 鲜掌叶大黄茎地上部分对秀丽隐杆线虫无生殖毒性, 具有降脂作用, 为鲜掌叶大黄茎地上部分的综合利用提供科学支撑。

关键词: 掌叶大黄; 茎; 地上部分; 鲜品; 秀丽隐杆线虫; 生殖毒性; 降脂作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)02-0612-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.02.042

鲜掌叶大黄茎地上部分为蓼科植物掌叶大黄 *Rheum palmatum* L. 幼嫩的茎(茎), 为促进地下部分(药用部位)的生长, 必须专门将其人工摘除。甘肃礼县为掌叶大黄的道地产区, 每年约产 3 万余吨掌叶大黄, 而大黄茎地上部分占大黄总资源的 1/2, 摘除的茎被任意废弃, 不仅造成植物资源的极大浪费, 更会因堆积腐烂, 引起环境污染。

文献记载, 大黄茎味酸多汁, 堪生啖, 能解热、醒酒, 不仅可药用, 还能食用。实地考察发现, 产区自古就有食用大黄的习俗。当地水果店均有大量售卖, 因其口感酸爽, 购买者多为孕妇, 说明鲜大黄茎具有食用安全性, 但目前有关其生殖毒性的研究未见报道。

现代研究发现, 大黄地上部分有机酸类含量高, 主要为苹果酸、琥珀酸等^[1], 且包含大量的多糖类成分, 具有降脂和抗氧化活性^[2]。然而, 国内外尚未见鲜掌叶大黄茎地上部分提取物降脂作用的报道。本实验以秀丽隐杆线虫为模式生物, 对鲜掌叶大黄茎地上部分的生殖毒性和降脂作用进行研究, 以期为其有效利用提供科学支撑。

1 材料

1.1 药物 两年生新鲜掌叶大黄茎购自甘肃省礼县洮坪镇中滩村。取新鲜掌叶大黄茎, 洗净后去皮, 切成 1~2 cm 块, 5 倍量水煮沸提取 30 min, 过 300 目筛, 4 倍量水煮沸提取 20 min, 过滤, 合并滤液, 浓缩后冷冻干燥成粉末, 得掌叶大黄茎水提物冻干粉, 备用。使用时用去离子水配

成所需浓度。根据酸碱中和原理测得总酸含量为 21.40%, HPLC 法测得总蒽醌含量为 0.75%, 游离蒽醌含量为 0.23%。

1.2 试剂 琼脂、胆固醇、油红 O、TritonX-100 (批号 20191202、20191217、20200330、20200518, 北京索莱宝科技有限公司); 酵母粉、胰蛋白胨 (批号 20200328、20200702, 北京奥博星生物技术有限责任公司); 多聚甲醛 (批号 21230131, 广州赛国生物科技有限公司)。无水乙醇、异丙醇、甲醇、氯化钠 (批号 20200901、20210115、201903、20191005, 天津大茂化学试剂厂)。

1.3 仪器 58-06630 体式显微镜 (德国宝视德公司); DNP-9022 生化培养箱 (上海博讯实业有限公司); MXW-20D 涡旋震荡仪 (杭州齐威仪器有限公司); BSC-1500IIA2-X 生物安全柜 [赛默飞世尔 (苏州) 仪器有限公司]; GR60DR 高压蒸汽灭菌锅 (美国 Zealway 公司); TG16B 台式高速离心机 (江苏科析仪器有限公司); FDU-2100 冷冻干燥机 (上海爱朗仪器有限公司)。

1.4 线虫和菌株 线虫品系为野生型秀丽隐杆线虫 N2 Bristol, 由北京中医药大学杜红教授实验室惠赠。大肠埃希氏菌 OP50 (*E. coli* OP50) (以下简称 OP50) 购自上海南方模式生物科技股份有限公司。

1.5 线虫培养和同步化

1.5.1 线虫培养 将线虫培养于涂有大肠杆菌 OP50 的线虫生长培养基 (NGM), 置于 20 ℃ 恒温培养箱。每 3 d 转

收稿日期: 2024-02-02

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目 (22ZY1QA012); 国家自然科学基金 (82360773); 甘肃省重点研发计划项目 (21YF5FA132); 2022 年甘肃省中药炮制技术传承基地建设项目 (2022288)

作者简介: 李 芸 (1973—), 女, 教授, 博士生导师, 从事中药分析、中药炮制工艺研究与中药大健康产品开发工作。E-mail: liyunherb@163.com

板 1 次，防止线虫过老或处于饥饿抑制状态，同时保证线虫干净。

1.5.2 线虫同步化 NGM 及 M9 缓冲液参照文献 [3] 配制，将处于产卵期的线虫用 M9 缓冲液洗下，采用裂解法对线虫进行同步化处理^[4]，在培养箱中孵育 24 h，此时孵化的线虫都处于幼虫期（L₁ 期），即实现线虫同步化。

1.6 秀丽隐杆线虫给药 使用已灭菌的超纯水溶解冻干粉，使质量浓度为 100 mg/mL，0.22 μm 无菌滤器过滤除菌后，配制含 10、1、0.1 mg/mL 鲜掌叶大黄茎提取物的培养基，每个培养皿接种同步化处理后的 L₄ 期幼虫。

2 方法

2.1 生殖毒性研究

2.1.1 急性毒性实验 将 L₄ 期 N₂ 线虫移至含药固体培养板，给药 24 h 后记录仍存活的线虫数目（用铂金丝轻触线虫身体，如果被触碰的线虫未出现扭动即可认为死亡），计算半数致死浓度（LC₅₀）。设置鲜掌叶大黄茎提取物高、中、低剂量组（10、1、0.1 mg/mL）和空白组，每组重复 3 次，每皿 45 条。线虫因爬出培养基失踪、死亡及虫卵在体内孵化压迫内脏致死并产生虫卵的情况将不记录^[5]。

2.1.2 头部摆动次数实验 同步化后的线虫，L₁ 期线虫转至药板上，测定在 3 个不同年龄段（分别代表线虫寿命早期、早期到中期、中期的第 3、7、11 天）的头部摆动次数^[6]。将线虫转至不含 OP50 的 NGM 板中，记录 30 s 内线虫头部摆动次数，每组 45 条（线虫头部从一侧摆到另一侧再摆回来记为 1 次头部摆动）。

2.1.3 身体弯曲次数实验 同步化后的线虫，L₁ 期线虫转至药板上，分别测定第 3、7、11 天时线虫在 30 s 内的身体弯曲次数。将线虫转至载玻片上，滴一滴 M9 溶液，记录线虫在 30 s 内身体弯曲次数，每组 45 条（线虫相对于其身体长轴方向一个波浪状的运动记为 1 次身体弯曲）。

2.1.4 寿命实验 挑取同期化后的 L₁ 期秀丽线虫幼虫于含大肠杆菌 OP50 的 NGM 上，之后每天将培养基中活着的秀丽线虫转移至新培养基中培养，记录秀丽线虫存活数量，直至全部死亡，线虫存活天数的平均数为平均寿命^[7-9]。每组 20 条线虫，重复 3 次。

平均寿命和相对寿命变化率的计算公式如公式 1、2。

$$\text{平均寿命} = \frac{\sum T}{D} \tag{1}$$

式中：T 为每条线虫的存活天数，D 为线虫总条数。

$$\text{相对寿命变化率} = \frac{S - K}{K} \times 100\% \tag{2}$$

式中：S 为实验组平均寿命，K 为空白组平均寿命。

2.1.5 急性热应激实验 取给药 48 h 后的线虫，每组重复 3 次，每皿约 20 条，置 37 ℃ 培养箱中培养，每隔 1 h 记录线虫存活数目，直至线虫全部死亡。

2.1.6 急性氧化应激实验 制作 0.1% H₂O₂ 的培养基，取给药 48 h 后的线虫，每个平板约 20 条，转至含 H₂O₂ 培养基上，每隔 1 h 记录线虫存活数目，直至线虫全部死亡，

每组重复 3 次^[10]。

2.1.7 后代数目实验

2.1.7.1 原代（F1）后代数目测定 将同步化后生长至 L₁ 期 N₂ 幼虫挑至含不同质量浓度 NGM 上，每皿 1 条，给药 48 h 后，每天记录每条线虫产卵量、后代数，并将卵及幼虫移除，以免影响观察，直至不再产卵，记录该条线虫所有产卵数、幼虫数及后代数，并计算卵的孵化率（公式 3），每组 10 条线虫，重复 3 次。

$$\text{卵孵化率} = (\text{后代数} / \text{产卵个数}) \times 100\% \tag{3}$$

2.1.7.2 子代（F2）后代数目测定 同步化经给药后进入旺盛产卵期的原代线虫，获取 L₁ 期子代，挑至不加药的 NGM 上，每皿 1 条，随后按“2.1.7.1”项下方法进行测定。

2.2 降脂作用研究

2.2.1 高糖 NGM 制备 通过添加高浓度葡萄糖建立高脂线虫模型，在 NGM 中加入葡萄糖（Glu，1 mol/L）建立高糖环境，灭菌后再将已除菌的不同质量浓度鲜掌叶大黄茎提取物（10、1.0、0.1 mg/mL）及其他相关试剂加入 NGM 中，铺板后，加入 OP50 即得高糖含药培养基^[11]。

2.2.2 泵咽抽动频率实验 将同步化后的 L₁ 期线虫转至培养基上，采用边造模边给药的方式，设置空白组，鲜掌叶大黄茎高、中、低剂量组（10、1.0、0.1 mg/mL），高糖模型组（1 mol/L Glu），高糖模型含药高、中、低剂量组（1 mol/L Glu+10、1.0、0.1 mg/mL 鲜掌叶大黄茎提取物），每组 50 条，重复 3 次，培养 48 h 后收集各组线虫，将线虫置于含有足够的 OP50 的 NGM 上于培养箱中培养 2 h。此时线虫已达到稳定进食的状态，记录线虫泵咽抽动次数（咽部跳动一次并回归原位记为 1 次抽动，每次计时 30 s）。

2.2.3 体长、体宽、体面积测定 按照上述方法给药 48 h 后，收集线虫并用 M9 液清洗 3 次后置于 60 ℃ 的水浴锅中 5 min，取出后离心，弃上清。线虫转移至制备好的 2% 凝胶片上，于体式显微镜下拍照。测量线虫体长、体宽和体面积，在测量过程中应避免计入仍处于弯曲状态的秀丽隐杆线虫^[12-13]。为保证每条线虫体宽的测量位置相同，每条线虫均从阴门处测量，重复 3 次，计平均值。为保证数据的可重复性，每个质量浓度至少测量 100 条线虫。

2.2.4 油红 O 染色观察线虫脂肪沉积 按上述方法边造模边给药 48 h 后，加 M9 移取线虫至离心管中，3 000 r/min 离心 90 s，弃上清，加入 500 μL 60% 异丙醇，4 000 r/min 离心 3 min，弃上清，加入 500 μL 油红 O 染色液，室温（25 ℃）避光静置 6~18 h，离心，弃上清。M9 缓冲液清洗一遍，离心，弃上清，加入 250 μL 0.01% Triton-X100，置琼脂垫上正置显微镜下拍照，得到油红 O 染色图^[13-14]。光密度校准后，测定每条线虫染色后的光密度，计算平均光密度，公式为平均光密度=总光密度/线虫体表面积。

2.2.5 甘油三酯（TG）水平测定 按上述方法边造模边给药 48 h 后，转移至匀浆管中，将线虫用 M9 浴匀后，

4 ℃、1 500 r/min 离心 1 min，再加入 1 mL 异丙醇-正庚烷（1：1），使用组织匀浆仪破碎线虫虫体，4 ℃、8 000 r/min离心 10 min，收集上清液，按照试剂盒说明书检测线虫体内 TG 水平，同时按照 BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度^[15-16]。

2.3 统计学分析 采用 SPSS 24.0 软件进行处理，数据以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间比较采用单因素方差分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 生殖毒性研究

3.1.1 急性毒性实验 由于 100 mg/mL 属于掌叶大黄茎提取冻干粉溶解度的极限，在药板上最大溶解浓度为 10 mg/mL，秀丽隐杆线虫在高剂量组（10 mg/mL）均无死亡情况发生，故鲜掌叶大黄茎提取物对线虫的 LC₅₀ 远高于 10 mg/mL，可将 10 mg/mL 作为高剂量组。

3.1.2 头部摆动次数 给药第 3 天时，各质量浓度并没有对线虫的基本运动行为产生负面影响（ $P>0.05$ ），当给药第 7 天时，高质量浓度对线虫的头部摆动频率具有提高作用，随着给药质量浓度降低，线虫的头部摆动频率逐渐恢复正常。给药第 11 天时，各给药质量浓度有促进线虫头部摆动的趋势，并没有对线虫的基本运动行为产生影响，结果见图 1。

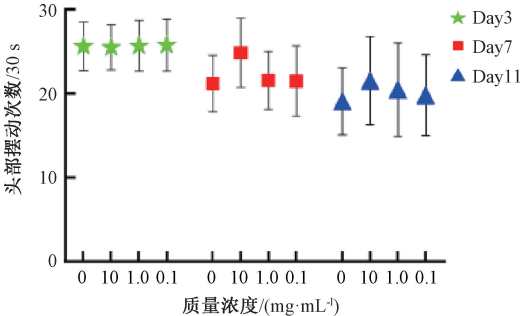


图 1 鲜掌叶大黄茎提取物质量浓度对线虫头部摆动次数的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=45$ ）

3.1.3 对身体弯曲次数的影响 身体弯曲频率可以反映秀丽线虫最基本的行为学表现。与头部摆动行为学表现类似，给予各质量浓度鲜掌叶大黄茎提取物后，不同生长时期的线虫身体弯曲频率无明显变化（ $P>0.05$ ），有促进头部摆动的趋势，不影响其行为学表现，结果见图 2。

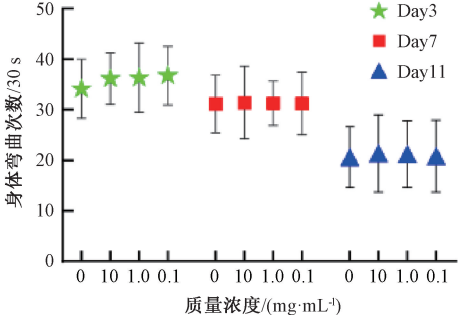


图 2 鲜掌叶大黄茎提取物质量浓度对线虫身体弯曲次数的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=45$ ）

3.1.4 对寿命的影响 由表 1 可知，各组最长寿命相差不大；鲜掌叶大黄茎高、中、低剂量组线虫平均寿命均增加，但与空白组比较无显著差异（ $P>0.05$ ）；寿命水平无明显变化（ $P>0.05$ ）。说明给予不同质量浓度的掌叶大黄茎提取物对线虫寿命无明显影响。

表 1 鲜掌叶大黄茎提取物对秀丽隐杆线虫寿命的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=60$ ）

组别	平均寿命/d	相对寿命变化率/%	最长寿命/d
空白组	14.78±2.48	—	22
鲜掌叶大黄茎高剂量组	15.43±2.28	4.43	21
鲜掌叶大黄茎中剂量组	15.02±2.46	1.62	23
鲜掌叶大黄茎低剂量组	15.32±2.62	3.63	23

3.1.5 急性热应激实验 衰老往往伴随应激抵抗力的下降。由表 2 可知，与空白组比较，鲜掌叶大黄茎各剂量组存活时间无显著变化（ $P>0.05$ ），表明鲜掌叶大黄茎对秀丽隐杆线虫抗热应激水平无影响。

表 2 鲜掌叶大黄茎提取物对线虫抗热应激水平的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=60$ ）

组别	存活时间/h	相对变化率/%
空白组	6.47±1.28	—
鲜掌叶大黄茎高剂量组	6.69±1.30	3.37
鲜掌叶大黄茎中剂量组	6.52±1.53	0.73
鲜掌叶大黄茎低剂量组	6.67±1.24	3.14

3.1.6 急性氧化应激实验 由表 3 可知，与空白组比较，鲜掌叶大黄茎各剂量组存活时间水平无明显变化（ $P>0.05$ ），表明鲜掌叶大黄茎提取物对秀丽隐杆线虫抗氧化应激水平无明显影响。

表 3 鲜掌叶大黄茎提取物对线虫抗氧化应激水平的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=60$ ）

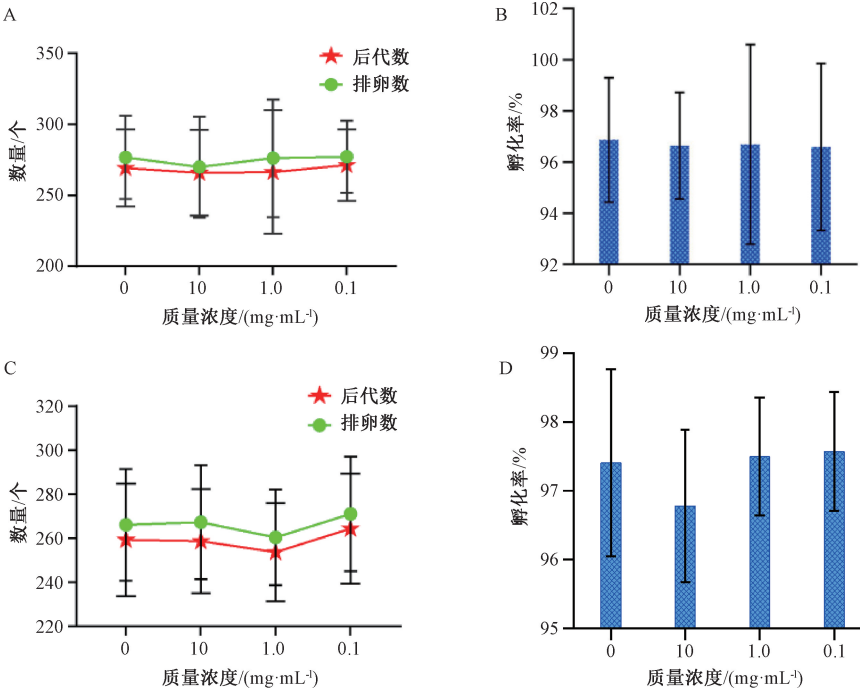
组别	存活时间/h	相对变化率/%
空白组	4.47±1.02	—
鲜掌叶大黄茎高剂量组	4.61±1.03	3.11
鲜掌叶大黄茎中剂量组	4.56±1.06	2.18
鲜掌叶大黄茎低剂量组	4.33±1.09	-3.10

3.1.7 后代数目实验

3.1.7.1 对 F1 代后代的影响 前期实验证明，鲜掌叶大黄茎提取物对秀丽隐杆线虫基本无毒性作用，对生理状态、运动行为无影响。但其对秀丽隐杆线虫后代数目是否有影响尚未可知。给予 F1 代 10、1、0.1 mg/mL 鲜掌叶大黄茎提取物后，排卵数分别为 269.89、276.13、277.18 个，与空白组（276.72 个）比较，排卵数无明显变化（ $P>0.05$ ）；给药组后代数分别为 265.84、266.30、271.33 个，与空白组（269.16 个）比较，后代数无明显变化（ $P>0.05$ ）；给药组卵的孵化率分别为 96.64%、96.69%、96.59%，与空白组（96.87%）比较，孵化率无明显变化（ $P>0.05$ ），见图 3A~3B。结果表明，鲜掌叶大黄茎提取物对秀丽隐杆线虫 F1 代的后代数无明显影响，无生殖毒性。

3.1.7.2 对 F2 代后代的影响 给予 F1 代 10、1、0.1 mg/mL 鲜掌叶大黄茎提取物后，F2 代排卵数分别为 267.33、260.40、271.00 个，与空白组（266.14 个）比较，排卵数无明显变化（ $P>0.05$ ）；F2 代后代数分别为 258.67、253.73、264.40 个，与空白组（259.29 个）比较，后代数

无明显变化（ $P>0.05$ ）；F2 代卵的孵化率分别为 96.78%、97.50%、97.57%，与空白组（97.41%）比较，孵化率无明显变化（ $P>0.05$ ），见图 3C~3D。结果表明，鲜掌叶大黄茎提取物对秀丽隐杆线虫 F2 代的后代数目无明显影响，无生殖毒性。



注：A~B 为 F1 代线虫，C~D 为 F2 代线虫。

图 3 鲜掌叶大黄茎提取物质量浓度对线虫后代数量的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=10$ ）

3.2 降脂作用研究

3.2.1 咽泵抽动频率实验 泵咽抽动频率可反映秀丽隐杆线虫的摄食能力。为探究受到影响的生长指标及脂肪积累程度所产生的降脂功能能否由摄食量减少或增加引起，排除实验结果出现假阳性的可能，对给药后秀丽隐杆线虫的泵咽抽动频率进行测试。随着给药质量浓度的增加，线虫泵咽吞食频率未发生明显变化（ $P>0.05$ ），各给药组 30 s 内的线虫泵咽频率平均值为 78~81 次，见图 4。由此可知，鲜掌叶大黄茎提取物质量浓度在 10 mg/mL 及以下时不会对秀丽隐杆线虫的进食过程产生影响，因此，其不会通过刺激或抑制泵咽频率而引发卡路里增高或限制，从而导致秀丽隐杆线虫出现生长发育及脂肪贮存异常等现象，排除了实验结果可能发生的假阳性结果。

3.2.2 体长、体宽、体面积测定 体长、体宽为评价线虫生长状态的常用指标，体面积为综合体长和体宽的指标，可用来评估线虫生长状态及肥胖模型的建立。由表 4 可知，与空白组比较，给予一定质量浓度的鲜掌叶大黄茎提取物后，体长、体宽、体面积均有所减小；与空白组比较，给予 1 mol/L Glu 造模后，体长、体宽均有所增加，体面积增加（ $P<0.05$ ），说明造模成功；边造模边给药后，与空白组比较，高糖模型含药高、中剂量组线虫体面积减小（ $P<0.05$ ），结果表明，鲜掌叶大黄茎提取物可在不影响秀丽隐

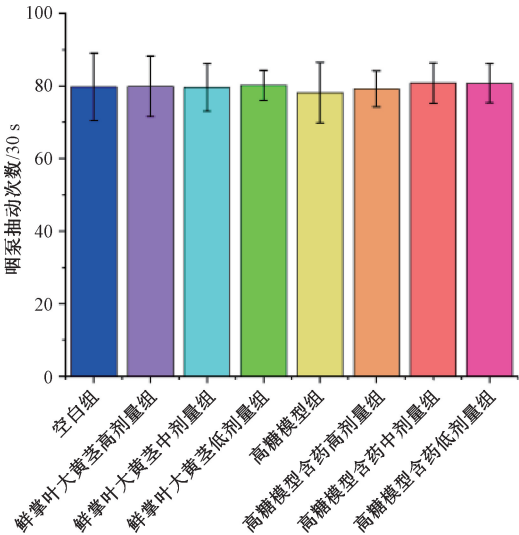


图 4 鲜掌叶大黄茎提取物对线虫咽泵抽动频率的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=50$ ）

杆线虫生长状态的前提下，使高浓度葡萄糖诱导的高脂模型线虫体面积减小。

3.2.3 脂肪沉积 由图 5 可知，线虫经染色处理后，可清楚地观察到其体内脂滴主要集聚在肠道和皮下组织，且以肠道中更明显。与空白组比较，鲜掌叶大黄茎高剂量组线

表 4 鲜掌叶大黄茎提取物对线虫体长、体宽、体面积的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=100$)

组别	体长/ μm	体宽/ μm	体面积/ μm^2
空白组	1 181.84 \pm 104.00	76.37 \pm 12.98	67 988.12 \pm 6 381.89
鲜掌叶大黄茎高剂量组	1 143.79 \pm 124.60	75.50 \pm 14.37	66 107.00 \pm 6 319.81
鲜掌叶大黄茎中剂量组	1 056.17 \pm 162.48 [*]	74.34 \pm 10.49	66 265.86 \pm 5 767.98
鲜掌叶大黄茎低剂量组	1 078.49 \pm 134.70 [*]	74.84 \pm 11.07	66 382.09 \pm 4 892.55
高糖模型组	1 195.22 \pm 97.98	76.48 \pm 10.37	72 358.61 \pm 8 131.44 [*]
高糖模型含药高剂量组	1 135.58 \pm 86.42	76.54 \pm 11.84	68 139.43 \pm 8 252.49 [#]
高糖模型含药中剂量组	1 185.59 \pm 102.96	73.41 \pm 8.36	68 433.86 \pm 6 027.82 [#]
高糖模型含药低剂量组	1 174.85 \pm 119.67	73.92 \pm 12.31	71 410.20 \pm 9 653.80

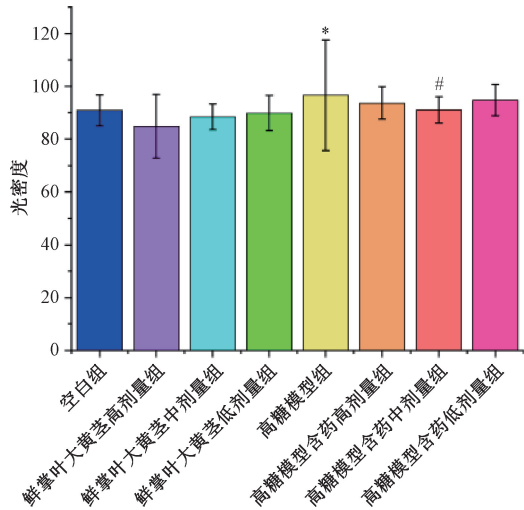
注：与空白组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ 。

虫脂滴集聚明显较少，高糖模型组线虫脂滴集聚明显增多，说明造模成功；与模型组比较，高糖模型含药高剂量组线虫脂滴聚集减少，且肠道着色范围更小，颜色更浅。光密度检测结果见图 6，与空白组比较，造模后光密度值增加 ($P<0.05$)，进一步验证了造模成功；与模型组比较，高糖模型含药中剂量组光密度值降低 ($P<0.05$)，表明中剂量的鲜掌叶大黄茎提取物可有效减少高糖模型线虫的脂肪堆积。



注：A~D 分别为空白组、鲜掌叶大黄茎高剂量组、高糖模型组、高糖模型含药高剂量组。

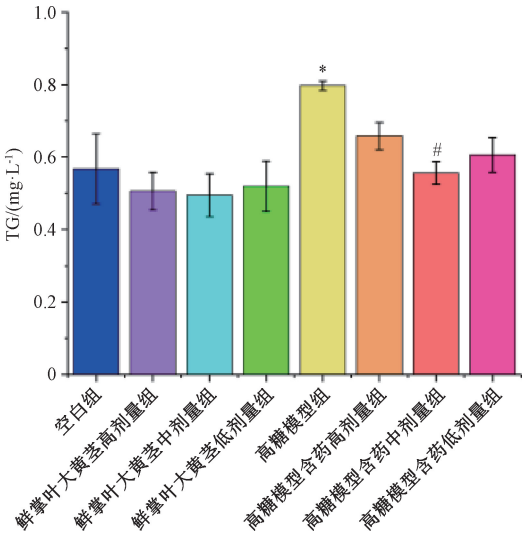
图 5 鲜掌叶大黄茎提取物对线虫脂肪沉积的影响 (油红 O 染色)



注：与空白组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ 。

图 6 鲜掌叶大黄茎提取物对线虫光度值的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=100$)

3.2.4 TG 水平测定 由图 7 可知，与空白组比较，药物干预后，各给药组线虫 TG 水平均有所下降。组间进行单因素 ANOVA 检验发现，不同浓度给药组与空白组之间无显著差异 ($P>0.05$)；与空白组比较，高糖模型组线虫 TG 水平升高；与模型组比较，高糖模型含药中剂量组线虫 TG 水平降低 ($P<0.05$)，表明中剂量 (1.0 mg/mL) 的鲜掌叶大黄茎提取物能显著降低高糖模型线虫体内的 TG 水平。



注：与空白组比较，^{*} $P<0.05$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$ 。

图 7 鲜掌叶大黄茎提取物对线虫 TG 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=100$)

4 讨论

秀丽隐杆线虫已广泛应用于生殖毒性研究^[17-20]，因其脂肪代谢通路与人类相似且十分明确，其在脂肪代谢方面也受到了广泛关注^[3,21]。与传统的使用大量动物实验比较，其具有周期短、成本低、易于在实验室培养等优势。故本实验采用组织结构简单、遗传背景清晰的秀丽隐杆线虫探究鲜掌叶大黄茎地上部分的生殖毒性及降脂作用。

本研究发现，鲜掌叶大黄茎提取物对秀丽隐杆线虫寿命和抗外界环境变化的能力、头部摆动频率、身体弯曲频率等基本行为学表现，以及线虫后代数均无明显影响，表明其没有生殖毒性。课题组前期对小鼠经口急性毒性进行了初步安全性评价，发现其无急性毒性。《中国医学大辞典》记载“大黄叶苦寒，无毒。辟虱虫（置席下）”“大黄苗苦寒，无毒”，《新修本草》《四部医典》等多部著作

均记载大黄茎味酸多汁，可以解渴，除翳，药食两用，本研究结果和本草记载一致。

线虫的脂肪主要以脂滴形式储存于肠道及皮下组织，且脂滴的代谢状态和大小都处于动态变化中。油红 O 可特异性地附着在中性脂肪分子上形成醒目的红色，有利于观察脂肪沉积情况，结果发现中剂量可降低线虫体内脂肪堆积，降低 TG 水平。本研究结果显示，在不影响秀丽线虫生长状况、不抑制其进食量的前提下，鲜掌叶大黄茎提取物具有显著的降脂活性，与文献[22]记载一致，也有通过减少进食量来减少脂肪积累的报道^[14]。有研究指出其降脂机制可能与调控脂肪代谢相关基因 *acs-2*、*pod-2*、*fat-5* 表达有关^[21]。综上所述，鲜掌叶大黄茎具有良好的降脂作用，其机制有待后续挖掘。

大黄降血脂成分可能与其中的蒽醌类成分以及多糖有关，在蒽醌类成分中大黄酸和大黄素更可能是其有效成分^[22]，还与其所含的有机酸有关。课题组前期研究发现^[1,23]，大黄地上部分有机酸类含量高，主要为苹果酸、琥珀酸、丁二酸、原儿茶酸等，另外还有大黄素。文献报道，苹果酸可促使体内脂肪分解，具有降脂作用^[24]。由此可知，鲜掌叶大黄茎的降脂作用可能是有机酸类、蒽醌类及多糖等多成分共同作用的结果。

综上所述，鲜掌叶大黄茎地上部分无生殖毒性，有显著的降脂活性。综合利用传统中药地上部分，开发适合现代医疗卫生保健的产品是当前中医药产业化的重点方向之一。同时可将大黄地上资源变废为宝，提高生物资源利用率，具有环境友好等生态效益；还可助力乡村振兴，增加就业机会，提高农户收入，促进当地经济发展，具有巨大的社会效益和经济效益。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献：

[1] 张文广,王 丹,贾春艳,等. 大黄非药用部位化学成分、药理作用及资源利用研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29(9): 139-144.

[2] 刘亚洲,姜静雨,拉毛才旦,等. 大黄的降血脂生物活性成分及作用机制研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(11): 272-282.

[3] 王丽萍,徐 佳,王琪菲,等. 以线虫为模型考察中国芦荟提取物的降脂作用[J]. 吉林大学学报(理学版), 2016, 54(5): 1181-1185.

[4] 李元通. 连翘花提取物减轻 AD 模型线虫 A β 诱导毒性及其机制研究[D]. 太原: 山西大学, 2021.

[5] Yang Z Z, Yu Y T, Lin H R, *et al.* Lonicera japonica extends lifespan and healthspan in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 310-322.

[6] 张宗敏,潘先花,周 姝,等. 金钗石斛多糖对秀丽隐杆线虫衰老的影响[J]. 贵州医药, 2018, 42(8): 913-916.

[7] Lin C X, Lin Y Z, Xiao J, *et al.* Effect of momordica saponin- and *Cyclocarya paliurus* polysaccharide-enriched beverages on oxidative stress and fat accumulation in *Caenorhabditis elegans*[J]. *J Sci Food Agric*, 2021, 101(8): 3366-3375.

[8] 崔 迪,石京山. 芒柄花素对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用及机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2023, 37(7): 555.

[9] 成 慧,方 菲,石嘉豪,等. *hil-1* 基因通过饮食限制通路调节秀丽隐杆线虫寿命[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(3): 271-281.

[10] 李海英. 紫杉醇与地塞米松对秀丽隐杆线虫的毒性效应[D]. 南宁: 广西医科大学, 2018.

[11] 马晓丽. 芝麻粕多肽延长秀丽隐杆线虫健康寿命的分子机制研究[D]. 太原: 山西大学, 2020.

[12] Xiao B, Chen S, Huang Q Q, *et al.* The lipid lowering and antioxidative stress potential of polysaccharide from *Auricularia auricula* prepared by enzymatic method[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 187: 651-663.

[13] 苗祥贞. 基于秀丽隐杆线虫模型探讨骆驼蓬子不同炮制品毒效作用及机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.

[14] 曹 雪. 环境激素壬基酚对秀丽隐杆线虫的多毒性效应及组学机制研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2020.

[15] 刘晓颖,王润圆,徐 芳,等. 丙醇二酸降低秀丽隐杆线虫体内脂肪含量的研究[J]. 中国食物与营养, 2023, 29(7): 66-71.

[16] 程 珂. 发酵大麦提取物调节秀丽隐杆线虫脂代谢及其机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2018.

[17] 许 峰. 秀丽隐杆线虫在生殖毒理学研究中的应用进展[J]. 东南大学学报(医学版), 2020, 39(3): 394-399.

[18] 阮秦莉,俞辰亚代,华永庆,等. 雷公藤甲素对模式生物雄性秀丽隐杆线虫的生殖毒性作用[J]. 中成药, 2018, 40(5): 1009-1014.

[19] 林 志,吕建军,霍桂桃,等. 临床前药物安全性评价中的毒性病理学[J]. 药物评价研究, 2017, 40(4): 450-454.

[20] 石 珏,杨亚宁,黎青青,等. 双酚 A 不同暴露方式对线虫生长生殖发育及凋亡的影响[J]. 环境化学, 2018, 37(6): 1203-1208.

[21] 黄 壮,李 静,杜鸿志,等. 三七醇提物对秀丽隐杆线虫的降脂作用[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2020, 22(5): 1648-1653.

[22] 马幸福. 唐古特大黄茎降血脂颗粒的制备、质量控制及初步药效学研究[D]. 银川: 宁夏医科大学, 2018.

[23] 张文广,冯银平,贾春艳,等. 掌叶大黄新鲜叶柄的化学成分研究[J]. 华西药学杂志, 2022, 37(5): 477-480.

[24] 王润圆,赵 歆,张梦媛,等. 外源添加 L-苹果酸降低秀丽隐杆线虫体内脂肪含量[J]. 中国食物与营养, 2022, 28(8): 43-48.