

DOI:10.13350/j.cjpb.221111

• 论著 •

基于转录组学数据分析大黄素对阴道毛滴虫的作用及机制研究*

谢祎婷,杨树国,李琛,赵燕清**

(湖北医药学院基础医学院,湖北十堰 442000)

【摘要】 目的 阴道毛滴虫寄生于人体泌尿生殖道,引起阴道毛滴虫病。用大黄方治疗滴虫性阴道炎,基于转录组学数据分析其对阴道毛滴虫的作用及机制。 方法 将大黄素体外作用于阴道毛滴虫,使用显微计数法定量检测滴虫增殖情况,光镜及电镜观察滴虫形态变化,转录组测序分析差异表达基因及 GO、KEGG 富集情况。 结果 50~1 000 $\mu\text{mol/L}$ 大黄素可抑制阴道毛滴虫增殖,且抑制率与药物浓度呈正相关。药物作用后,扫描电镜观察虫体表面皱缩,表膜凹陷、破裂,鞭毛及波动膜受损。与正常对照组比较,大黄素作用后的阴道毛滴虫转录组测序得到 4 833 个差异基因,其中上调基因 3 296 个,下调基因 1 537 个。差异基因主要富集于 peroxisome,PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) signaling pathway,ferroptosis 等信号通路。 结论 大黄素可抑制阴道毛滴虫体外增殖且对其有杀伤作用,激活 peroxisome,PPAR,ferroptosis 信号通路可能是其抑制和杀伤阴道毛滴虫的关键机制。

【关键词】 大黄素;阴道毛滴虫;抑制作用;转录组测序

【中图分类号】 R382.21

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)11-1293-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Nov.;17(11):1293-1296, 1320.]

Analysis of the effect and mechanism of emodin on *Trichomonas vaginalis* based on transcriptome

XIE Yi-ting, YANG Shu-guo, LI Chen, ZHAO Yan-qing (School of Basic Medical Science, Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 442000, China)

【Abstract】 **Objective** *Trichomonas vaginalis* usually colonizes the human urogenital tract and causes trichomoniasis. The external treatment with rhubarb root and rhizome-based Chinese herbal prescription exhibited antitrichomonal activity, but the precise mechanisms underlying this inhibitory activity is still unclear. **Methods** In this study, trichomonad growth inhibition assays using microscopy, morphological observation with light microscope and scanning electron microscope, differentially expressed genes, GO function, KEGG pathway enrichment analysis based on transcriptome sequencing were performed. **Results** Emodin can inhibit the proliferation of *T. vaginalis* in a concentration dependent manner within a certain range (50–1 000 $\mu\text{mol/L}$). After treatment with 70 $\mu\text{mol/L}$ emodin for 24 h, the surface creases of trophozoites became deepened, the cytoplasmic membrane was hollowed, exfoliated and even ruptured, and the flagella and undulating membrane were also damaged under the observation with scanning electron microscope. Compared with control group, a total of 4 833 differentially expressed genes, including 3 296 up-regulated genes and 1 537 down-regulated genes, were screened out after emodin treatment. The differentially expressed genes were mainly enriched in peroxisome, PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) signaling pathway, ferroptosis and other signaling pathways. **Conclusion** Our results manifest that emodin can inhibit the proliferation of *T. vaginalis* and even kill them *in vitro*. While the activation of signaling pathways including peroxisome, PPAR, ferroptosis may be the main mechanism referring to emodin against *T. vaginalis*.

【Key words】 Emodin; *Trichomonas vaginalis*; inhibitory activity; transcriptome sequencing

*** 阴道毛滴虫病 (trichomoniasis) 因阴道毛滴虫 (*Trichomonas vaginalis*) 寄生于人体引起, 是一种常见的非病毒性传播疾病。阴道毛滴虫病在不同性别、不同年龄、不同地区人群中的发病率差异较大, 在 0.3%~20%^[1]。阴道毛滴虫感染女性会导致滴虫性阴道炎, 其典型的临床表现为阴道分泌物增多且呈泡沫状、恶臭味、灰黄色, 严重时还可造成子宫颈病变、盆腔炎、不孕症, 并增加 HIV 感染及子宫颈癌患病的风

险^[2]。在男性, 阴道毛滴虫寄生于尿道、膀胱、前列腺、精囊、睾丸、附睾等, 多为无临床症状或临床症状较轻的感染, 但也可引起非淋菌性尿道炎、膀胱炎、前列腺

* **【基金项目】** 湖北医药学院人才启动金 (No. 2016QDJZR13)。

** **【通讯作者】** 赵燕清, E-mail: zhaoyq619@163.com

【作者简介】 谢祎婷 (1988-), 女, 陕西商洛人, 博士。主要研究方向: 阴道毛滴虫致病机制。E-mail: xieyt2011sys@163.com

炎和附睾炎等,进而导致男性不育^[3]。因此,阴道毛滴虫病对人体健康危害不容忽视。

阴道毛滴虫病的治疗首选口服硝基咪唑类药物,包括甲硝唑和替硝唑。然而,在临床应用中,阴道毛滴虫对甲硝唑已表现出不同程度的耐药率(4.3%~13.3%),且临床上关于阴道毛滴虫甲硝唑耐药的相关报道还在逐渐增多^[4]。甲硝唑治疗阴道毛滴虫病也存在诸多不良反应,如心率失常、呼吸困难、皮肤过敏等。因此,寻找和探究副作用较少、作用较强的中草药为治疗阴道毛滴虫病的有益尝试。

中草药大黄的重要活性成分之一大黄素(Emodin,1,3,8-三羟基-6-甲基蒽醌),是一类常见的蒽醌衍生物,具有多种药理作用,如镇痛、抗肿瘤、抗炎、抗病毒和抗氧化活性等^[5-9]。有研究报道大黄方外用能够治疗滴虫性阴道炎,但其具体作用机制尚不清楚^[10-11]。本研究通过检测大黄素对阴道毛滴虫增殖、细胞形态、转录表达的影响,阐述大黄素对阴道毛滴虫的抑制、杀伤作用及其机制,旨在为开发抗阴道毛滴虫药物提供理论依据。

材料与方法

1 材料

1.1 阴道毛滴虫虫株 实验用阴道毛滴虫取自十堰市太和医院。将未经治疗的滴虫性阴道炎患者阴道分泌物接种于肝浸汤培养基,37℃无菌培养,每隔约48h待其生长至对数期时传代一次。经多次传代,稳定培养纯化后置于液氮冻存。

1.2 主要试剂和仪器 阴道毛滴虫培养选用含10%灭活胎牛血清、终浓度为100 U/mL青霉素+100 μg/mL链霉素的肝浸汤培养基或改良的Diamond培养基,其中的试剂均购于武汉大风生物科技有限公司^[12-13],胎牛血清购于四季青公司,青霉素购于美国VWR chemicals公司,链霉素购于罗恩试剂(中国)公司。大黄素(批号为AF20021621),购于成都埃法公司;甲硝唑购于Aladdin(中国)公司;DMSO购于法国MP公司;台盼蓝购于美国Sigma公司;Trizol购于Takara(中国)公司。细胞培养箱(Forma Steri-cycle i160)和超净工作台(1300系列A2)为美国Thermo scientific公司产品;高速离心机(5810 R)为德国Eppendorf公司产品,倒置显微镜(CKX53)为日本Olympus公司产品。

2 方法

2.1 大黄素对阴道毛滴虫的抑制作用试验 以DMSO配制浓度为50 mmol/L大黄素母液,以含添加物的改良Diamond培养基将其稀释至不同浓度,4℃保存备用。试验组在阴道毛滴虫培养管中加入大黄

素,终浓度分别为1 000,750,500,250,125,100,75,50 μmol/L,同时设置药物空白对照组(Diamond培养基)、阴性对照组(0.1% DMSO),阳性对照组(10 μg/mL甲硝唑)^[14]。取生长至对数期的阴道毛滴虫,用血球计数板计数,调整后使上述每管初始接种密度为 2×10^5 个/mL。各药物试验组和对照组管中均加入滴虫悬液5 mL,分别从每管取200 μL加入96孔板,每组3个复孔,剩余滴虫悬液同培养板一起置37℃细胞培养箱培养24 h,取滴虫悬液以终浓度为0.04%的台盼蓝染色,光镜下观察虫体形态变化后用血球计数板计数,采用GraphPad Prism 8.0软件计算滴虫生长抑制率,以及大黄素对阴道毛滴虫生长抑制的IC₅₀^[15]。以上试验独立重复3次。

相对抑制率(%) = $[1 - (\text{药物处理组滴虫数量平均值} / \text{药物阴性对照组滴虫数量平均值})] \times 100\%$

2.2 电镜样品的制备及观察 以70 μmol/L大黄素作用于 2×10^5 个/mL阴道毛滴虫,体外培养24 h后离心收集细胞沉淀,加入1 mL 2.5%戊二醛混匀固定,4℃避光保存。经一系列乙醇溶液梯度脱水后,临界点干燥处理,离子溅射仪喷金,扫描电子显微镜观察并采集图像。

2.3 RNA提取及转录组学测序分析 应用Trizol法提取滴虫总RNA,干冰低温送样至华大基因进行mRNA文库构建,上机测序,数据过滤及信息分析。经基因比对、基因注释、基因定量后进行差异表达基因分析,以Q值≤0.05为显著性阈值。最后,将得到的差异表达基因进行GO功能富集分析及KEGG通路富集分析。

结果

1 大黄素对阴道毛滴虫的生长抑制和杀伤作用

显微镜观察培养24 h的空白对照组滴虫呈梨形或椭圆形,虫体运动活跃;大黄素作用24 h的滴虫虫体胀大、变圆,活动力减弱(图1)。大黄素在一定浓度范围内(50~1000 μmol/L)可抑制阴道毛滴虫增殖,且抑制率与药物浓度呈正相关(表1)。当大黄素终浓度为62.79 μmol/L时,阴道毛滴虫增殖抑制率为50%,即大黄素对阴道毛滴虫作用的IC₅₀为62.79 μmol/L。

以70 μmol/L大黄素体外作用阴道毛滴虫24 h,扫描电镜观察虫体表面皱缩,发生橘皮样改变,表膜可见小的凹陷或破洞,鞭毛及波动膜受损,严重时虫体破裂后残留部分呈菜花状(图2)。

2 大黄素作用后阴道毛滴虫的差异基因表达情况

空白对照组和70 μmol/L大黄素处理24 h的试验组滴虫样品各取3份,使用DNBSEQ平台测序,每

个样品平均产出 6.35 Gb 数据。样品比对基因组的平均比率为 89.53%，比对基因集的平均比率为 88.20%；预测的新基因为 641 个。共检测到表达的基因数为 30 173，其中已知基因 29 559 个，预测的新基因为 614 个。共检测出 1 190 个新转录本，其中 549 个属于已知蛋白编码基因的新的可变剪接亚型，641 个属于新的蛋白编码基因的转录本。根据各个样品基因表达水平，试验组与对照组比较得到 4 833 个差异表达基因，其中上调基因 3 296 个，下调基因 1 537 个（图 3）。

表 1 大黄素对阴道毛滴虫的生长抑制作用
Table 1 Trichomonacidal effect of the emodin

| 组别 Group | 药物浓度(μmol/L) Drug concentrations | 相对抑制率($\bar{x} \pm s, \%$) Relative inhibition rates |
|-------------------|-------------------------------------|---|
| 甲硝唑 Metronidazole | 58.5 | 94.19 ± 1.80 |
| | 1000 | 91.68 ± 3.01 |
| | 750 | 88.57 ± 1.90 |
| | 500 | 88.46 ± 0.37 |
| | 250 | 89.27 ± 1.83 |
| 大黄素 Emodin | 125 | 68.42 ± 3.45 |
| | 100 | 70.97 ± 5.88 |
| | 75 | 54.56 ± 3.91 |
| | 50 | 29.36 ± 16.68 |

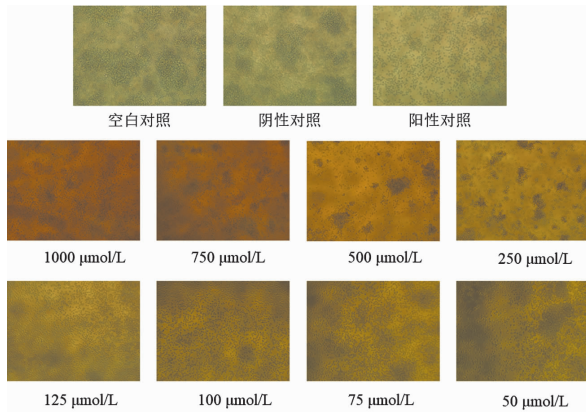
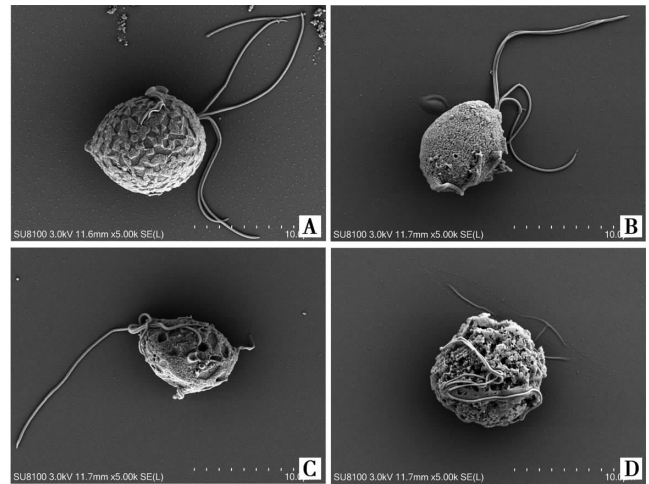


图 1 大黄素作用 24 h 后的阴道毛滴虫形态变化 (10×)
Fig. 1 Microscopy of *T. vaginalis* after treatment with emodin for 24 h (10×)

3 差异表达基因富集分析

将差异表达基因检测结果进行功能分类，GO 注释分类结果显示在生物过程分组中 cellular process, metabolic process, biological regulation, response to stimulus, localization, signaling 的差异表达基因占该类全部基因的比例较高；在细胞组分分组中，cellular anatomical entity, intracellular, protein-containing complex 的差异基因占该类全部基因比例较高；在分子功能分组中，差异表达基因在 binding, catalytic activity, structural molecule activity, transporter activity 中占比较高（图 4）。



A 对照组阴道毛滴虫 B~D 70 μmol/L 大黄素处理 24 h 的阴道毛滴虫

图 2 大黄素作用 24 h 的阴道毛滴虫扫描电镜观察

A *T. vaginalis* in control group B-D *T. vaginalis* after treatment with 70 μmol/L emodin for 24 h.

Fig. 2 Observation of *T. vaginalis* with Scanning electron microscope after treatment with emodin for 24 h

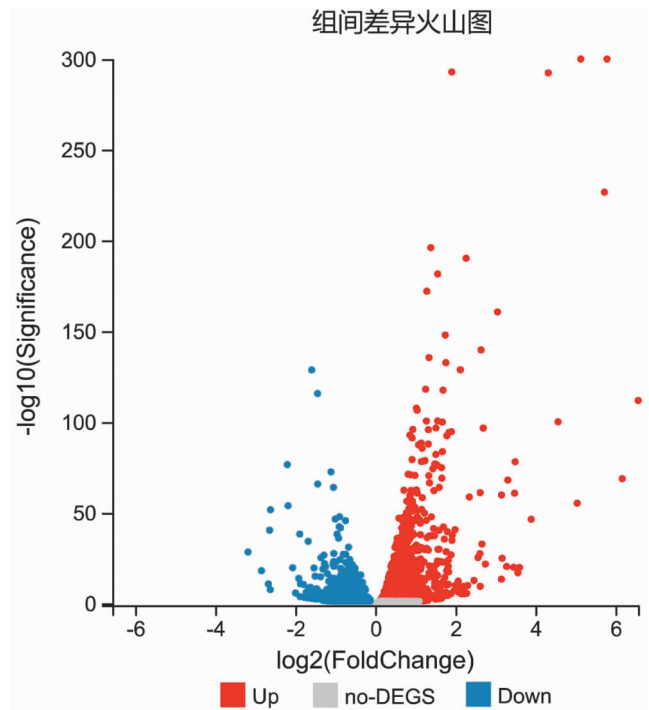


图 3 阴道毛滴虫差异表达基因散点图
Fig. 3 Volcano map of differentially expressed genes

根据 KEGG Pathway 注释分类结果，差异表达基因显著富集在 ribosome, carbon metabolism, Glycolysis/Gluconeogenesis, Biosynthesis of amino acids, Proteasome, Necroptosis 等信号通路。此外，与阴道毛滴虫抑制作用机制有关的信号通路 peroxisome, PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) signaling pathway, ferroptosis, 也有差异表达基因显著富集（图 5）。

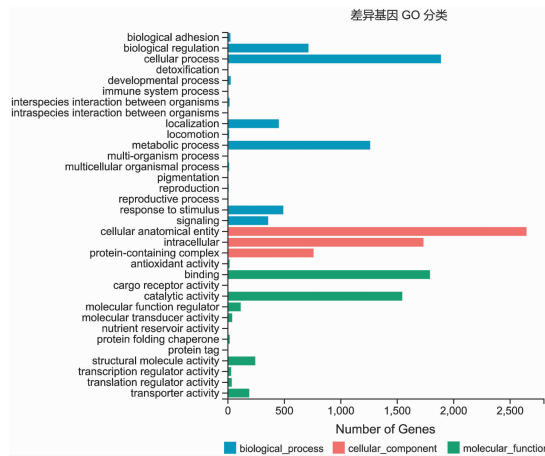


图4 阴道毛滴虫差异表达基因 GO 注释分类图
Fig. 4 GO enrichment histogram of differentially expressed genes

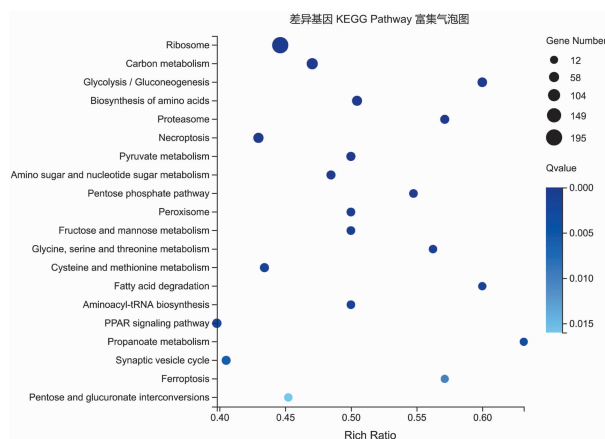


图5 差异表达基因 KEGG Pathway 富集气泡图
Fig. 5 KEGG enrichment scatter plot of differentially expressed genes

讨论

阴道毛滴虫寄生于人体泌尿生殖道,引起滴虫性阴道炎、尿道炎或前列腺炎。多种中药具有体外杀灭阴道毛滴虫的作用,如常山、花椒、白头翁、青蒿、荆芥等^[16-18]。中药材大黄抗滴虫性阴道炎也有临床研究报告^[10-11]。单味大黄煎液介入治疗滴虫性阴道炎,可显著提升患者的阴道健康状况和生活质量,并缩短治疗时间^[11,19]。游离型蒽醌类化合物大黄素是大黄、何首乌、虎杖的主要有效成分。孙宝清等^[20]报道 0.5 mg/ml 大黄素体外作用 4 h 可杀灭 58% 阴道毛滴虫,作用 24 h 能够 100% 杀灭滴虫,即随着大黄素药物作用浓度的增加和作用时间的延长,对阴道毛滴虫杀灭作用逐渐增强。但大黄素作用于阴道毛滴虫的半抑制浓度或最小抑制浓度尚未检测,且具体作用机制仍不清楚^[14]。本研究中大黄素作用于阴道毛滴虫的 IC₅₀ 为 62.79 μmol/L,转录组学数据揭示大黄素可能通过调控 peroxisome、PPAR signaling pathway、ferroptosis 等信号通路而发挥抗滴虫作用。

大黄素可通过多种机制发挥其药理作用,如改变离子浓度及转运、抗氧化和清除氧自由基、影响炎症细胞因子的分泌和酶活性、调节细胞凋亡等^[21]。大黄素能够通过增加细胞内活性氧水平降低细胞线粒体膜电位,诱导 HepG2 细胞凋亡,从而抑制 HepG2 细胞增殖^[22]。阴道毛滴虫虽缺乏线粒体,但具有功能相似的氢化酶体,因此推测大黄素也可能通过类似的机制作用于氢化酶体而抑制滴虫增殖。大黄素作为 PPAR γ 的配体,能够通过上调 PPAR γ 表达抑制细胞增殖^[23-24]。本研究中大黄素作用后的阴道毛滴虫 PPAR signaling pathway 信号通路在转录水平显著富集,提示大黄素可能通过激活 PPAR 分子信号通路抑制滴虫增殖。

本研究未使用甲硝唑耐药株进行相关试验,缺乏细胞凋亡的相关检测指标,也未对转录组结果进行 real-time PCR 验证,有待补充的完善。

大黄素是多种中草药的主要成分,分布广泛,价格低廉。本研究证实大黄素对阴道毛滴虫的抑制和杀伤作用,初步探索了其作用机制,为将其用于阴道毛滴虫病的治疗提供了理论依据。

【参考文献】

- [1] 中华医学会妇产科学分会感染性疾病协作组. 阴道毛滴虫病诊治指南(2021 修订版)[J]. 中华妇产科杂志, 2021, 56(1): 7-10.
- [2] Leitsch D. Recent advances in the molecular biology of the protist parasite *Trichomonas vaginalis*[J]. Fac Rev, 2021(10): 26.
- [3] 段玉娟, 李朋举, 桑雨慧, 等. 阴道毛滴虫感染对男性生殖系统的影响及其机制[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2021, 39(4): 532-536.
- [4] Kissinger P. *Trichomonas vaginalis*: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues[J]. BMC Infect Dis, 2015(15): 307.
- [5] 张昊悦, 赵蓓, 王业皇, 等. 大黄素通过调节 Nrf2/HO-和 MAPKs 抑制炎症和氧化应激机制研究[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(9): 1063-1068.
- [6] 潘广涛, 刘宇寒, 周方园, 等. 大黄素通过减轻氧化应激和肝细胞凋亡对脂多糖诱导急性肝损伤的保护机制研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2021, 23(7): 2294-2301.
- [7] 刘阳, 张昊, 余伟, 等. 大黄素对口腔鳞状细胞癌增殖、侵袭和迁移的影响[J]. 口腔医学研究, 2021, 37(11): 1042-1047.
- [8] 雷湘, 陈科力, 杨占秋, 等. 大黄素配伍对柯萨奇病毒 B3 感染小鼠的病毒抑制作用研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(1): 121-126.
- [9] 李东辉, 王临艳, 吴红伟, 等. 大黄素药理作用研究新进展[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(9): 100-104.
- [10] 张玉兰, 王云霞. 大黄方治疗滴虫性阴道炎[J]. 山东中医杂志, 2002, 21(8): 485.
- [11] 张军银. 单味大黄煎液治疗滴虫性阴道炎 2 例的报告[J]. 西北人口, 2004, 99(5): 65.
- [12] 关玮, 杨树国, 李健, 等. CCK-8 法在阴道毛滴虫体外增殖检测中的应用研究[J]. 湖北医药学院学报, 2021, 40(6): 591-596.

小鼠,发现重组的 LEL 区域具有较好的免疫效果。Dang 等^[10]评估了 7 种多房棘球绦虫对小鼠肺泡棘球蚴病模型的保护作用,发现 Em-TSP1 重组 LEL 诱导的包裹减少率可达到 80% 以上。本研究对 Eg-TSP3 蛋白进行了原核表达,Western blot 显示重组蛋白 Eg-TSP3 能被感染原头犬犬血清识别,而不与正常犬的血清发生反应,表明 Eg-TSP3 具有良好的反应原性,有望作为细粒棘球蚴病的诊断抗原或疫苗候选抗原。

本研究成功克隆了 Eg-TSP3 ORF 全长基因序列并表达了其主要抗原表位编码蛋白,经生物信息学预测 TSP3 可作为细粒棘球蚴免疫相关研究的重要分子,Western blot 鉴定该蛋白具有很好的反应原性,具有作为疫苗候选抗原的潜力。

【参考文献】

[1] 张文宝,张壮志,郑雪婷,等. 棘球蚴(包虫)病预防疫苗的研制与应用[J]. 中国人兽共患病学报,2018,34(9):834-838.
[2] Deplazes P, Rinaldi L, Rojas C, et al. Global distribution of alveolar and cystic echinococcosis [J]. Adv Parasitol,2017(95): 315-493.
[3] Kumar MJ, Toe K, Banerjee RD. Hydatid cyst of liver [J]. Postgrad Med J,2003,79(928):113-114.
[4] 王正荣,朱兴全,贾万忠,等. 包虫病的流行危害和防控技术[J]. 现代畜牧兽医,2019,(06):44-48.
[5] Kern P,Silva AM,Akhan O,et al. The echinococcoses:diagnosis, clinical management and burden of disease[J]. Adv Parasitol, 2017(96):259-369.
[6] 汪天平,操治国. 中国包虫病防控进展及其存在的问题[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2018,36(3):291-296.
[7] Avril C,Rhul T,James A,et al. Comparative genomics of the major parasitic worms[J]. Nat Gene,2019,51(1):318-326.
[8] Stipp CS,Kolesnikova TV,Hemler ME. Functional domains in tetraspanin proteins[J]. Trends Biochem Sci,2003,28(2):106-112.
[9] Hu DD,Song XJ,Xie Y , et al. Molecular insights into a tetraspanin in the hydatid tapeworm *Echinococcus granulosus*[J].

Parasit Vectors,2015,8(1):311.
[10] Dang ZS, Feng J, Yagi K, et al. Mucosal adjuvanticity offibronectin binding peptide (FBP) fused with *Echinococcus multilocularis* tetraspanin 3: systemic and local antibody responses[J]. PLoS Negl Trop Dis,2012,6(9):e1842.
[11] 阮班军,代鹏,王伟,等. 蛋白质翻译后修饰研究进展[J]. 中国细胞生物学学报,2014,36(7):1027-1037.
[12] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京:科学出版社,2016:1-464.
[13] Wang F,Ye B. In silico cloning and B/T cell epitope prediction of triosephosphate isomerase from *Echinococcus granulosus* [J]. Parasitol Res,2016,115(10):3991-3998.
[14] Zhang W, Liu J, Zhao M, et al. Predicting linear B-cellepitopes by using sequence-derived structural and physicochemical features[J]. Int J Data Min Bioinform,2012,6(5):557-569.
[15] Dang ZS,Yagi K,Yuzaburo O,et al. A pilot study on developing mucosal vaccine against alveolar echinococcosis (AE) using recombinant tetraspanin 3: Vaccine efficacy and immunology [J]. PLoS Negl Trop Dis,2012,6(3):e1570.
[16] 庞明泉. 多房棘球蚴抗原蛋白 Emy162 及 TSP3 的抗原表位的预测及鉴定[D]. 西宁:青海大学,2016.
[17] 刁晓艳,周虎,李润乐,等. 多房棘球蚴蛋白 TSP3 的原核表达及分离纯化[J]. 中国高原医学与生物学杂志,2018,39(3):191-196.
[18] 尹春光,杜立新,赵桂平,等. Mx 基因稀有密码子和 mRNA 结构及大肠埃希菌表达优化[J]. 遗传,2009,31(1):75-82.
[19] Grosjean H, Fiers W. Preferential codon usage in prokaryotic genes:the optimal codon-anticodon interaction energy and the selective codon usage in efficiently expressed genes[J]. Gene, 1982,18(3):199-209.
[20] Sorensen MA,Kurland CG,Pedersen S. Codon usage determines translation rate in *Escherichia coli* [J]. J Mol Biol,1989,207(2):365-377.
[21] 王炜焯. 细粒棘球蚴 TSP8、TSP11 基因的原核表达及免疫学初步分析[D]. 石河子:石河子大学,2020.
[22] Seigneuret M,Conjeaud H,Zhang H,et al. Structural bases for tetraspanin functions[J]. Tetraspanins Spr,2013:1-29.

【收稿日期】 2022-05-29 【修回日期】 2022-08-20

(上接 1296 页)

[13] 杨树国. 阴道毛滴虫有症状及无症状株黏附蛋白 33 基因的克隆、序列比较和表达研究[D]. 成都:四川大学,2007.
[14] Friedman M, Xu A, Lee R, et al. The Inhibitory activity of Anthraquinones against pathogenic protozoa, pacteria, and Fungi and the relationship to structure[J]. Molecules, 2020, 25(13): 3101.
[15] 王彦英,王秀菊,郭永和. 中药体外抗阴道毛滴虫的试验研究[J]. 中国寄生虫病防治杂志,2002,15(4):插页 20.
[16] 闫艳,陈建芳,董文杰,等. 三种中草药体外抗阴道毛滴虫作用研究[J]. 包头医学院学报,2010,26(3):6-7,10.
[17] 郭永和,刘永春,秦剑. 11 种中药体外灭阴道毛滴虫[J]. 时珍国医国药,2000,11(4):297-298.
[18] 潘玉华,徐亚利,杜秋燕,等. 八种中药体外抗滴虫试验研究[J]. 中医药研究,2002,18(3):45.
[19] 李哲敏,刘航. 滴虫性阴道炎介入单味大黄煎液治疗效果分析

[J]. 实用妇科内分泌电子杂志,2020,7(24):50-62.

[20] 孙宝清,张丽娟,谭桂莲,等. 大黄酸、大黄素和大黄酚体外抗阴道毛滴虫作用的观察[J]. 现代预防医学,2013,40(19):3654-3656.
[21] 刘晗,高云. 大黄素药理作用的分子机制研究进展[J]. 中国药理学通报,2009,25(12):1552-1555.
[22] 刘德明,周春燕,吴嘉思,等. 大黄素通过线粒体通路诱导 HepG2 细胞凋亡[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(3):104-108.
[23] 邓洁,张小霞,邓晓杨,等. 大黄素上调 PPAR γ 促进 HeLa 细胞 PTEN 表达的实验研究[J]. 西部医学,2015,27(10):1456-1459.
[24] Mohammed A, Ibrahim M, Tajuddeen N, et al. Antidiabetic potential of anthraquinones: A review [J]. Phytother Res, 2020(34):486-504.

【收稿日期】 2022-05-09 【修回日期】 2022-07-20