

N-对氯苯磺酰基-4-氨基水杨酸抑制 DSS 诱导的溃疡性结肠炎的作用

周雪沁¹, 苏畅¹, 李晓桐¹, 于雪敏¹, 齐淑婉¹, 刘涛², 张敬美³, 姚静^{4*}

(济宁医学院 1. 临床医学院, 2. 附属医院, 3. 行为医学教育研究所, 4. 基础医学院, 山东 济宁 272067)

摘要: 本研究旨在探讨 *N*-对氯苯磺酰基-4-氨基水杨酸对葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulfate, DSS) 诱导的溃疡性结肠炎的治疗作用。将 60 只 BALB/c 小鼠随机分为空白组、DSS 模型组、5-氨基水杨酸 (5-amino salicylic acid, 5-ASA) 组、给药组, 每组 10 只, 空白组正常饮水, 其他各组均饮用质量浓度 (w/v) 为 0.04 的 DSS, 5-ASA 组 (40 mg·kg⁻¹)、*N*-对氯苯磺酰基-4-氨基水杨酸 (10、20、40 mg·kg⁻¹) 采用灌胃给药方式。实验期间每日测量小鼠体重, 观察各组小鼠大便形态 (大便是否成形) 和肉眼血便情况以及精神状态等。建模 10 天, 取血后处死小鼠, 解剖并摘取重要脏器以及结肠组织, 称取脏器重量, 测量结肠长度。通过苏木精-伊红 (hematoxylin and eosin, HE) 染色对各组小鼠的重要脏器 (心、肝、肺、肾) 和结肠组织进行病理学评分。通过 ELISA 检测血清中肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin 1 beta, IL-1 β)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6)、巨噬细胞炎性蛋白 2 (macrophage inflammatory protein 2, MIP-2)、髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 等炎症因子的表达。实验结果显示, 建模第 4 天, DSS 模型组小鼠出现便血的情况, 第 7 日模型组便血小鼠数量上升至 10 只, 造模后 5-ASA 组及给药组小鼠出现便血和腹泻。DSS 模型组小鼠从建模第 4 天起出现精神状态差, 体重下降明显, 给药组和 5-ASA 组小鼠精神状态较好, 体重接近于空白组小鼠 ($P < 0.01$)。给药组的结肠长度明显大于 DSS 模型组。HE 染色结果显示, DSS 模型组小鼠结肠黏膜层出现重度炎症细胞浸润, 局部出现不同程度的坏死, 坏死处已有成纤维细胞增生, 黏膜肌层组织出现炎症细胞浸润; 中剂量组 (20 mg·kg⁻¹) 结肠黏膜表现为轻度慢性炎症和少量炎性细胞浸润, 情况略有改善; 高剂量组 (40 mg·kg⁻¹) 小鼠结肠黏膜结构基本恢复正常, 上皮结构较完整, 少量炎症细胞浸润。ELISA 结果显示, 给药组小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、MIP-2 及 MPO 的含量较模型组显著降低。因此可以得出, *N*-对氯苯磺酰基-4-氨基水杨酸有治疗 DSS 诱导 UC 模型的作用。

关键词: *N*-对氯苯磺酰基-4-氨基水杨酸; 葡聚糖硫酸钠; 溃疡性结肠炎; 炎症因子; 巨噬细胞炎性蛋白 2; 髓过氧化物酶

中图分类号: R967

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 10-1652-08

The inhibitory effect of *N*-*p*-chlorobenzenesulfonyl-4-aminosalicylic acid on dextran sodium sulfate-induced ulcerative colitis

ZHOU Xue-qin¹, SU Chang¹, LI Xiao-tong¹, YU Xue-min¹, QI Shu-wan¹, LIU Tao²,
ZHANG Jing-mei³, YAO Jing^{4*}

(Jining Medical University 1. School of Clinical Medicine, 2. Affiliated Hospital,

3. Institute of Behavioral Medicine Education, 4. School of Basic Medicine, Jining 272067, China)

Abstract: The study aims to explore the effects of *N*-*p*-chlorobenzenesulfonyl-4-amino salicylic acid on the

收稿日期: 2018-06-18; 修回日期: 2018-07-26.

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (81603143); 济宁医学院博士基金资助项目 (JY2015BS08); 山东省高等学校国家级大学生创新创业训练计划项目 (201710443013).

*通讯作者 Tel: 86-537-3616286, E-mail: yjing_87@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2018-0567

dextran sodium sulfate (DSS)-induced ulcerative colitis in mouse. A total of 60 BALB/c mice were randomly divided into 6 groups ($n=10$): control group, DSS model group, 5-amino salicylic acid (5-ASA) group, and administration groups (*N*-*p*-chlorobenzenesulfonyl-4-aminosalicylic acid) 10, 20, 40 mg·kg⁻¹. Model group were induced by drinking 4% (*w/v*) DSS solution for 7 days and normal water for the next 3 days. The positive group and drug group mouse were given 5-ASA (40 mg·kg⁻¹) and *N*-*p*-chlorobenzene sulfonyl-4-amino salicylic acid (10, 20, 40 mg·kg⁻¹) by gavage respectively. During the experiment, changes in body weight, bloody stool, fecal character and mental status were observed daily. Damage and repair of the colon mucosa and the pathological changes of important organs were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining. Expression of inflammatory factors such as tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 1 beta (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), macrophage inflammatory protein 2 (MIP-2), myeloperoxidase (MPO) in serum were detected by ELISA. The results showed that bloody stools and diarrhea emerged on the 4th day after model establishment in model mice. The number of bloody mice rose to ten, and blood and diarrhea began to appear in the administration group on the 7th day. Mental status was poor and body weight decreased significantly in model group since the 4th day, and the situation was improved in the administration group and 5-ASA group. Colons in the administration groups (10, 20, 40 mg·kg⁻¹) were longer than those in the DSS model group. In the DSS model group, the colonic mucosa and submucosa of mice exhibited severe inflammatory cell infiltration, various degrees of necrosis, proliferation. In the middle dose group (20 mg·kg⁻¹), the situation has improved slightly and the colonic mucosa showed mildly chronic inflammation and a small amount of inflammatory cells infiltration. The high dose group (40 mg·kg⁻¹) showed normal colon mucosal, relatively complete epithelial structure and few inflammatory cell infiltration. The levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , MIP-2 and MPO in the serum of mice were lower in the administration group (40 mg·kg⁻¹) than in model group. Therefore, *N*-*p*-chlorobenzenesulfonyl-4-amino salicylic acid might be a feasible treatment for DSS-induced UC.

Key words: *N*-*p*-chlorobenzenesulfonyl-4-amino salicylic acid; dextran sodium sulfate; ulcerative colitis; inflammatory factor; macrophage inflammatory protein 2; myeloperoxidase

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是目前发病机制不明的慢性炎症, 且有终身复发倾向^[1]。患者可出现反复发作的腹泻、黏液脓血便和腹痛, 并可出现结节性红斑、外周关节炎等肠外表现, 给患者带来持久的痛苦^[2]。临床药物应用以控制炎症为主, 其中柳氮磺吡啶为常用药物^[3], 但是随着临床广泛应用, 逐渐发现这类药物存在较多的不良反应以及部分治疗无效的患者^[4]。目前, UC 的临床治疗仍需高效、专一、不良反应少的药物。

N-对氯苯磺酰基-4-氨基水杨酸 (*N*-*p*-chlorobenzenesulfonyl-4-amino salicylic acid, 缩写为 *N*-*p*-Cl-Bs-4-ASA, 图 1) 是自主合成的化合物, 为 5-氨基水杨酸 (5-amino salicylic acid, 5-ASA) 类似物, 具有 5-ASA 发挥疗效的活性基团, 目前并没有相关文献报道, 尤其是对 UC 的作用。葡聚糖硫酸钠 (dextran sodium sulfate, DSS) 诱导的 UC 模型是科研中稳定可靠的临床前模型, 与人类 UC 在症状和病理中有许多相似之处^[5,6]。因此, 本研究以 DSS 诱导的小鼠 UC 模型为基础, 通过对体重变化、精神状态、大便形态 (大便是否成形)、肉眼血便、饮食饮水量、炎症因子表达、炎细胞浸润、结肠长度等, 研究 *N*-*p*-Cl-Bs-4-

ASA 对小鼠 UC 的疗效, 为临床药物应用提供参考。

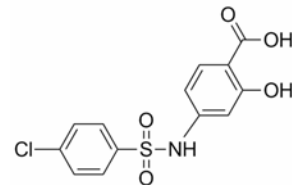


Figure 1 The chemical structure of *N*-*p*-chlorobenzenesulfonyl-4-amino salicylic acid (*N*-*p*-Cl-Bs-4-ASA)

材料与amp;方法

药品和试剂 *N*-*p*-Cl-Bs-4-ASA 由济宁医学院自主合成; DSS 购自美国 MP Biomedicals 公司; 福尔马林购自西陇化工股份有限公司; H&E 染色试剂由碧云天生物技术研究所购得; 髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 检测试剂购自江苏科晶生物科技有限公司; 小鼠肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin 1 beta, IL-1 β)、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6)、巨噬细胞炎性蛋白 2 (macrophage inflammatory protein 2, MIP-2) 的 ELISA 试剂盒购自江苏科晶生物科技有限公司。

实验动物 BALB/c 小鼠由济南朋悦实验动物繁育有限公司提供 [实验动物使用许可证: SCXK (鲁) 2014-0007]。周龄 6~8 周, 体质量 18~22 g, 饲养室内保持适宜的温度和湿度, 并建立正常昼夜节律以维持小鼠正常生理活动。所有小鼠在实验开始前均适应性饲养 1 周。

实验仪器 702 型超低温冰箱购自美国 Thermo Electron 公司; LD4-2 普通离心机购自北京医用离心机厂; 电子天平购自北京赛多利斯仪器系统有限公司; DGX-9003 型鼓风干燥箱购自上海福玛实验设备有限公司; 光电分析天平购自北京赛多利斯仪器系统有限公司; Research 型单道可调移液器、5417R 型台式冷冻高速离心机购自德国 Eppendorf 公司; Varioskan 全波长酶标仪购自美国 Thermo 公司。光学显微镜购自日本奥林巴斯公司。

药物配制 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 给药组分为高、中、低剂量组。高、中剂量组 (40、20 mg·kg⁻¹) 给药配制方法如下: 取 20 和 10 mg 分别溶于生理盐水 5 mL 中, 即为药物的工作浓度 4、2 mg·mL⁻¹。低剂量组 (10 mg·kg⁻¹) 给药配制方法如下: 取 10 mg 溶于生理盐水 10 mL 中, 即为药物的工作浓度 1 mg·mL⁻¹。5-ASA 组 (40 mg·kg⁻¹) 配制方法如下: 取 20 mg 溶于生理盐水 5 mL 中, 即为药物的工作浓度 4 mg·mL⁻¹。给药组每只小鼠灌胃量 0.2 mL。

分组、给药方法及 DSS 诱导小鼠结肠炎模型的建立 60 只健康雌性小鼠, 随机分为 6 组: 空白组、DSS 模型组、*N-p-Cl-Bs-4-ASA* 高、中、低剂量给药组 (40、20、10 mg·kg⁻¹) 和 5-ASA 组 (40 mg·kg⁻¹), 每组 10 只。小鼠自由饮用 DSS 溶液 7 天后更换为正常饮用水 3 天, 建立急性结肠炎小鼠模型^[5-7]。空白对照组 10 天均给予正常饮用水。建立模型的第 1 天至第 10 天, 高、中、低剂量组和 5-ASA 组以灌胃的方法给予 0.2 mL 溶液。第 11 天小鼠取血后, 处死所有小鼠, 摘取重要脏器 (心、肝、肺、肾) 及结肠组织。称重脏器并记录数据, 并通过 HE 染色对各组小鼠的重要脏器和结肠组织进行病理学评分, 观察其病理变化^[7, 8]。分离结肠, 精确测量结肠长度并记录, 对比各组别结肠长度并拍照记录。实验期间所有小鼠均可自由获得食物及水。

DSS 诱导小鼠结肠炎模型评价标准 实验期间每天同一时段观察并记录小鼠的活动状况、毛发光泽、饮食饮水情况, 观察小鼠精神状态 (好、一般、差), 对小鼠进行称重, 观察记录小鼠大便情况 (大

便的形态) 和肉眼血便情况。汇总每组小鼠的体质量下降百分比、粪便性状及血便为评价标准处理成疾病活动指数 (disease activity index, DAI), 依次进行评分, 评分公式 “疾病活动指数 = (体质量评分 + 粪便性状评分 + 隐血评分) / 10” 评分标准见表 1。

Table 1 Scoring method of disease activity index. Stool property: normal (0 points); forming stool; loose stool (2 points); a mushy, semi-formed stool which not attached to the anus; diarrhea (4 points); a watery stool which adhered to the anus

Scoring	Weight loss/%	Stool property	Bloody stool
0	None	Normal	Negative
1	1-5	-	-
2	5-10	Loose stool	Fecal occult blood
3	10-15	-	-
4	>15	Diarrhea	Bloody naked eye

结肠组织及重要脏器 HE 染色 将重要脏器 (心、肝、肺、肾) 和结肠样本置于 10% 福尔马林溶液固定, 固定后以浓度梯度酒精脱水, 继续处理组织块置于二甲苯中替换出组织中酒精。透明后浸蜡包埋切片。将切下的薄片置于 60 °C 烘箱中直至切片的石蜡呈液体状。二甲苯重复脱蜡 2 次, 每次均使用新配二甲苯。脱蜡后将切片依次放入无水乙醇 5 min, 90% 乙醇 2 min, 70% 乙醇 2 min, 蒸馏水 2 min 中浸泡处理。随后用苏木素染色液染色 10 min。PBS 缓冲液洗涤 10 min, 蒸馏水继续清洗 10 min。随后将样品切片置于 70% 乙醇中脱水 2 min, 换新配 90% 乙醇, 再次脱水 2 min。伊红染色 30 s。染色后无水乙醇脱水, 二甲苯中浸泡 5 min, 换新配二甲苯, 再次浸泡 5 min 使切片透明, 封片剂封片, 显微镜下观察。

血清 ELISA 检测 小鼠取血, 静置 30 min, 并离心 10 min, 移液枪收集上层血清进行 ELISA 检测。每次取样时均更换枪头。实验步骤包括加样、洗涤、加入酶标抗体、辣根过氧化物酶标记的亲和素酶并孵化洗涤, 最后加入酶反应底物、显色液和终止液, 用波长 450 nm 检测各组吸光度。

数据处理及分析 实验数据分析处理平行操作 3 次, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, one-way ANOVA 检验各组间差异, $P < 0.05$ 显示有统计学差异。

结果

1 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 对 DSS 诱导的 UC 小鼠的治疗作用

实验进行中发现, 空白组小鼠体重持续增长, 饮

食饮水正常, 精神状态佳, 活动频繁, 粪便形态未见明显异常; DSS 模型组小鼠体重明显下降, 饮食少, 食欲差, 精神状态萎靡, 不喜活动, 毛发灰暗无光泽, 出现腹泻、肉眼血便、脓便等症状, 出现早且严重; 给药组小鼠稀便和血便情况明显减少, 与 DSS 模型组小鼠相比各项症状得到明显改善。如图 2 所示, 相比于 DSS 模型组, 给予 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 后, 小鼠体重开始逐渐回升。

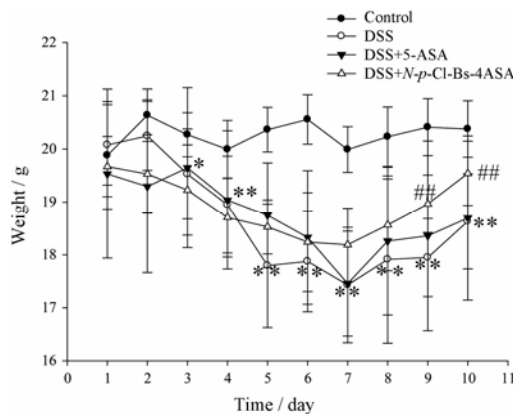


Figure 2 Body weight changes of each group after DSS induction of ulcerative colitis. $n=10$, $\bar{x} \pm s$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs normal mice; ### $P < 0.01$ vs DSS-treated ulcerative colitis mice. DSS: Dextran sodium sulfate; 5-ASA: 5-Amino salicylic acid

2 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 减轻 DSS 诱导的 UC 的病变程度

解剖后发现, 模型组较空白组结肠长度明显减少, 而给药组小鼠结肠长度较模型组明显增加 (低剂量组 $P < 0.05$; 中、高剂量组 $P < 0.01$), 如图 3。对结肠组织的 HE 染色 (图 4) 显示, DSS 模型组小鼠结肠黏膜层出现重度炎症细胞浸润, 局部出现不同程度的坏死, 坏死处已有成纤维细胞增生, 黏膜肌层组织出现炎症细胞浸润; 低剂量给药组 ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 小鼠黏膜层慢性炎症并伴有坏死, 嗜酸性粒细胞浸润, 局部泡沫样组织细胞聚集, 药效不明显; 中剂量给药组 ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 小鼠黏膜层中度炎症伴少量坏死, 少量嗜酸性粒细胞浸润, 局灶泡沫样组织细胞聚集, 情况略有改善; 高剂量给药组 ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 小鼠结肠黏膜结构基本恢复正常, 上皮结构较完整, 少量炎症细胞浸润, 情况明显好转。

3 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 抑制 DSS 诱导的 UC 小鼠的炎症因子表达

炎症因子在 UC 的进程与转归中起着重要作用^[9,10], 通过 ELISA 实验检测发现 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 显著降低血清中 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 的含量 (图 5)。

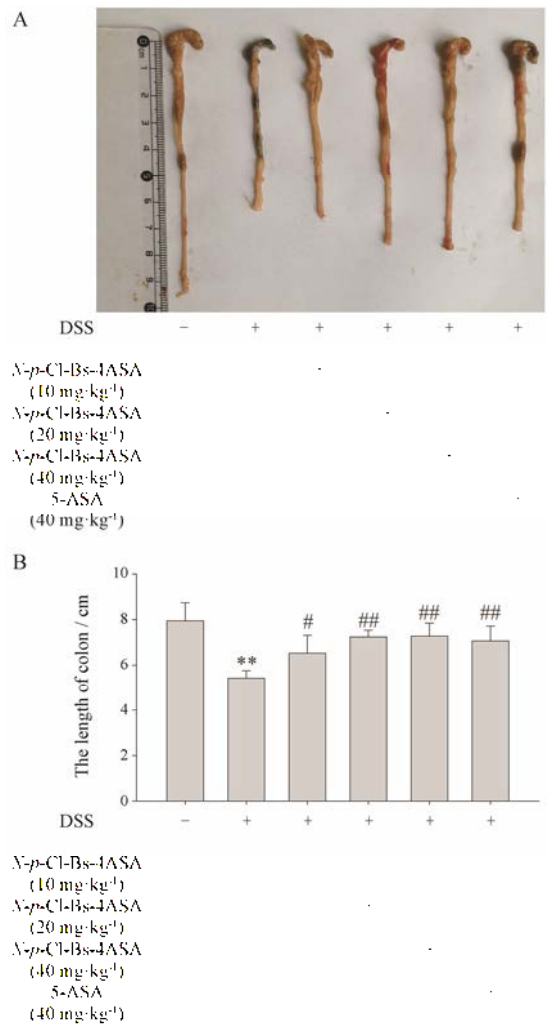


Figure 3 Macroscopic appearances (A) and the lengths (B) of colons from each group of mice were measured. $n=10$, $\bar{x} \pm s$. ** $P < 0.01$ vs normal mice; # $P < 0.05$, ### $P < 0.01$ vs the DSS-treated ulcerative colitis mice

4 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 减少 DSS 诱导的 UC 小鼠的炎症细胞浸润

如前所述, HE 染色观察结肠组织病理发现, 给药组小鼠结肠组织只有少量炎症细胞浸润, 进一步检测血清中 MIP-2 和 MPO 水平, 结果显示 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 显著降低 MIP-2 和 MPO 水平。MIP-2 水平显示巨噬细胞的数量^[11], MPO 是中性粒细胞的功能标志^[12], 证实 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 减少 DSS 诱导的 UC 小鼠的炎症细胞浸润 (图 6)。

5 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 对 UC 小鼠重要脏器无毒副作用

解剖小鼠后对小鼠重要脏器称量, 给药组 (10 、 20 、 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 与空白组无明显差异 (图 7)。HE 染色后镜下观察发现, 给药组 ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 小鼠心、肝、肺、肾并没有明显病变 (图 8)。

讨论

本研究选用 DSS 诱导的 UC 动物模型进行实验, 并对模型组和给药组小鼠进行症状评分, 结果显示 DSS 模型组小鼠结肠组织损伤情况均比空白组严重,

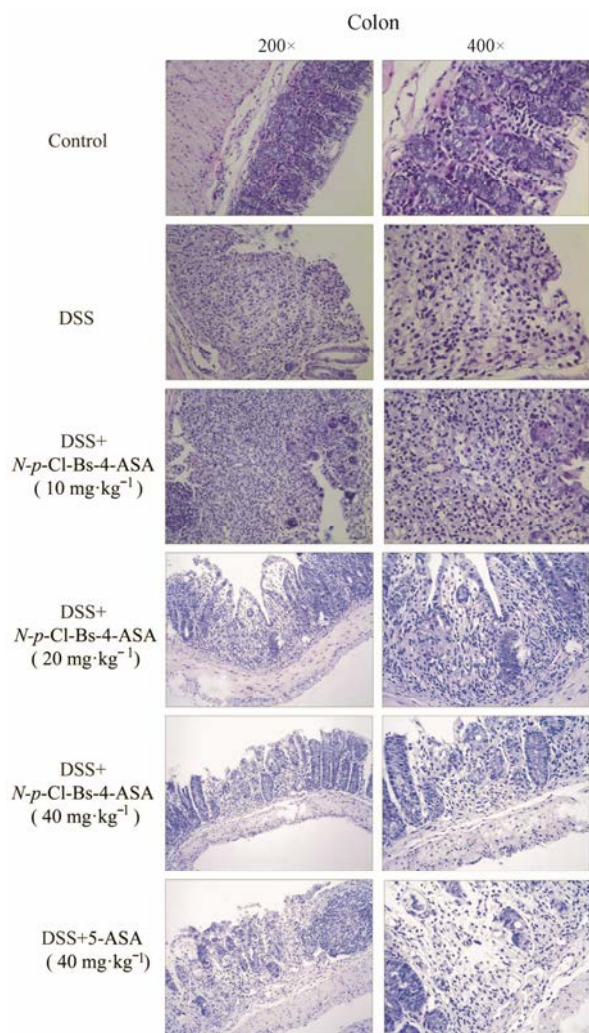


Figure 4 Serial sections of colon tissues were stained with hematoxylin and eosin (HE)

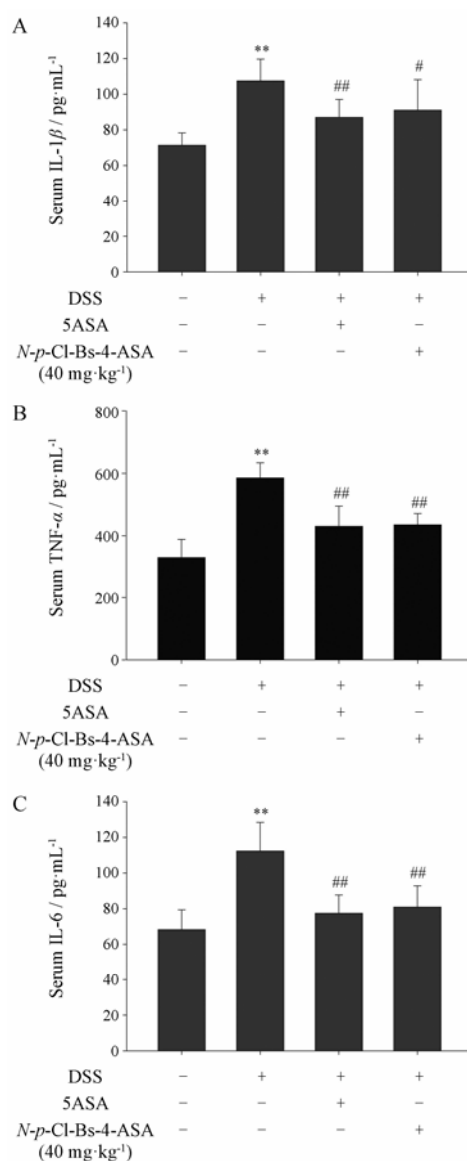


Figure 5 The production of inflammation-related cytokine IL-1 β (A), TNF- α (B) and IL-6 (C) in serum were determined by ELISA. $n=10$, $\bar{x} \pm s$. ** $P < 0.01$ vs normal mice; ## $P < 0.01$ vs DSS-treated ulcerative colitis mice. TNF- α : Tumor necrosis factor alpha; IL-1 β : Interleukin 1 beta; IL-6: Interleukin 6

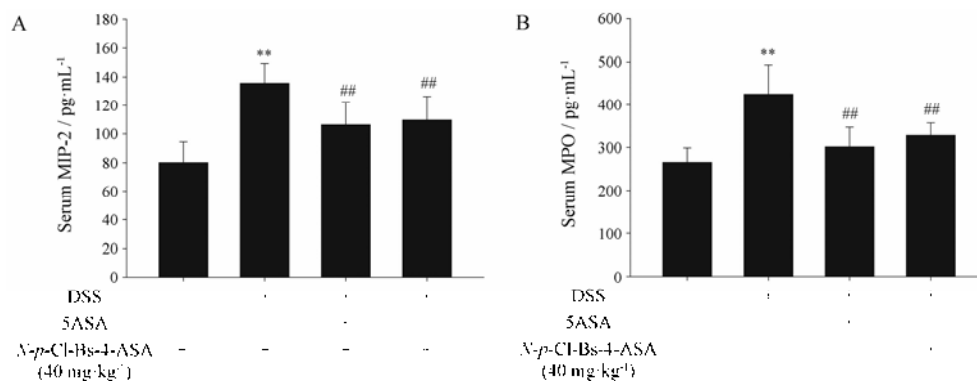


Figure 6 The production of MIP-2 (A) and MPO (B) in serum were determined by ELISA. $n=10$, $\bar{x} \pm s$. ** $P < 0.01$ vs normal mice; ## $P < 0.01$ vs DSS-treated ulcerative colitis mice. MIP-2: Macrophage inflammatory protein 2; MPO: Myeloperoxidase

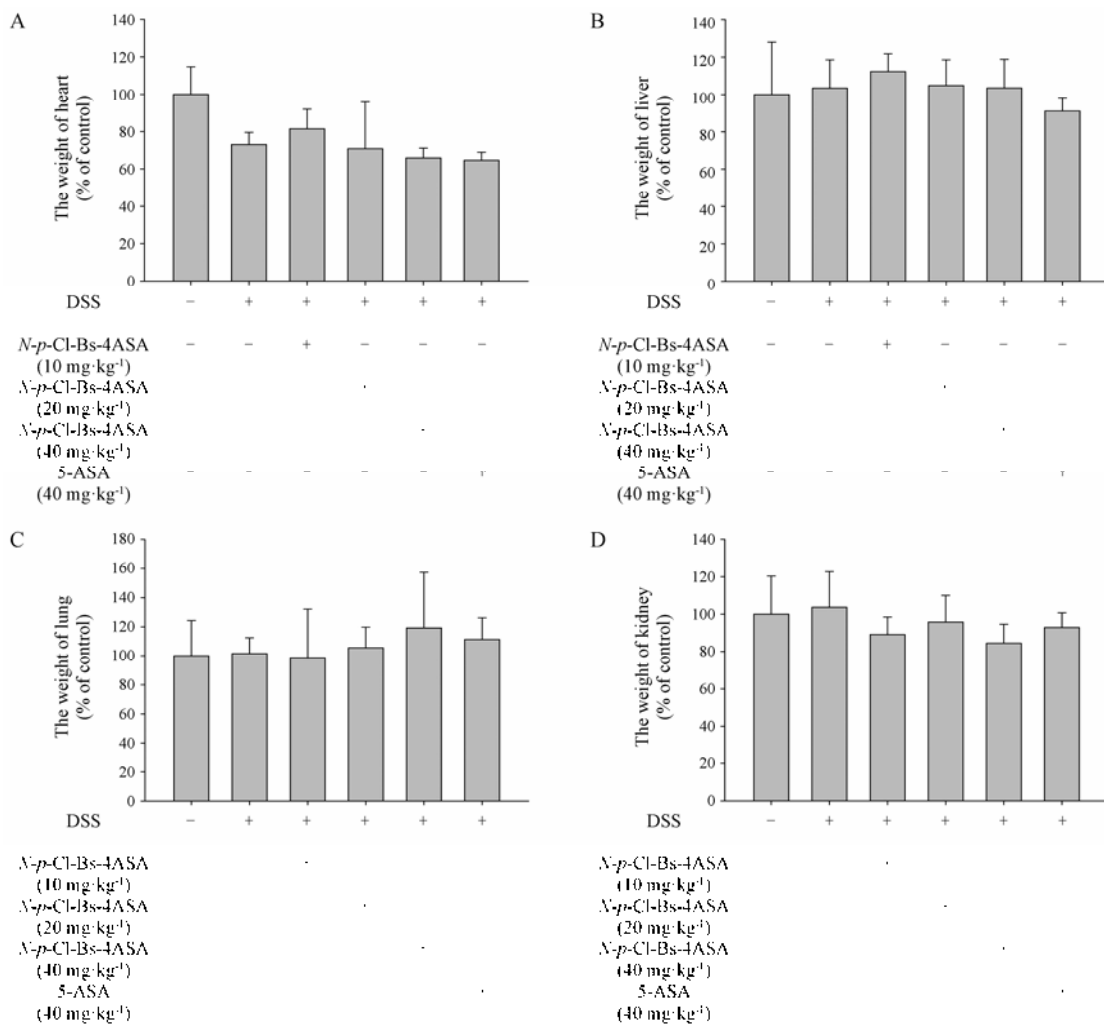


Figure 7 The weight changes of main organs (A, heart; B, liver; C, lung; D, kidney) during the colitis process. $n=10$, $\bar{x} \pm s$

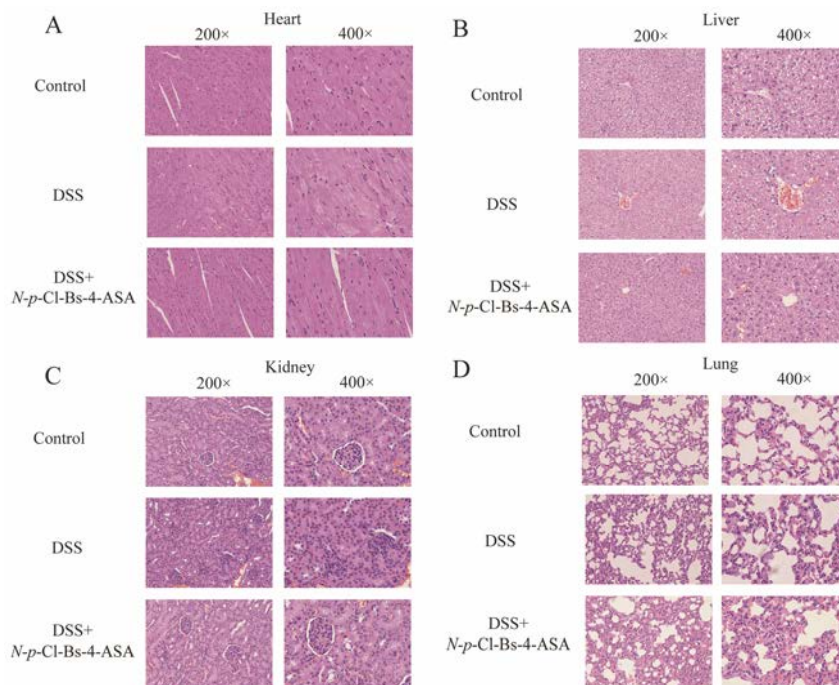


Figure 8 Serial sections of main organs tissues (A, heart; B, liver; C, kidney; D, lung) were stained with HE

证明建模成功。DSS 模型组小鼠出现不同程度体重下降, 粪便不成形和血便, 而中、高剂量给药组症状明显改善。病理分析发现, DSS 模型组小鼠结肠黏膜层出现重度炎症细胞浸润, 局部出现不同程度的坏死, 坏死处已有成纤维细胞增生, 黏膜肌层组织出现炎症细胞浸润; 低剂量给药组 ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 小鼠黏膜层慢性炎症并伴有坏死, 嗜酸性粒细胞浸润, 局部泡沫样组织细胞聚集, 药效不明显; 中剂量给药组 ($20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 小鼠黏膜层中度炎症伴少量坏死, 少量嗜酸性粒细胞浸润, 局灶泡沫样组织细胞聚集, 情况略有改善; 高剂量给药组 ($40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 小鼠结肠黏膜结构基本恢复正常, 上皮结构较完整, 少量炎症细胞浸润, 情况明显好转。5-ASA 组 ($40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 结肠病变改善程度与中剂量组 ($20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 相似。血清 ELSA 检测发现, 5-ASA 组与给药组均能显著降低炎症因子表达水平。结果表明, *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 对 UC 小鼠有改善症状、减轻炎症、保护体重的作用, 与 5-ASA 作用类似或优于 5ASA。

近年来, 出现了很多治疗 UC 的生物制品, 如抗 TNF- α 单克隆抗体 (英夫利昔单抗和阿达木单抗), 但是治疗中度到重度炎症性肠病仍以氨基水杨酸盐为主要选择。其中包括柳氮磺吡啶 (salazosulfapyridine, SASP) 和 5-ASA 等^[13]。SASP 可能的作用机制包括抑制局部和全身的炎症反应、抑制免疫反应及清除氧自由基等^[13]。5-ASA 作为 SASP 的替代药品, 已开发很久并广泛用于临床, 可以有效缓解 UC 的发生发展、预防复发和降低癌症风险^[14, 15]。目前研究认为, UC 的发病与肠黏膜免疫紊乱和细胞因子网络紊乱有密切联系, 5-ASA 通过调节促炎因子和抗炎因子平衡发挥疗效^[16]。5-ASA 作为花生四烯酸潜在的抑制剂, 减少花生四烯酸和前列腺素的合成, 其也被认为是自由基的清道夫^[13, 17, 18]。有文献报道, 5-ASA 能够抑制炎症细胞中 NO 和 IL-6 的产生, 降低 iNOS 的表达, 这些抗炎效应可能是由于抑制 JNK 和 p38 的磷酸化而不是 NF- κ B 通路的激活^[13]。本文采用的药物 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 为 4-aminosalicylic acid (4-ASA) 的类似物。4-ASA 不仅对抗结核有确切的药效, 在 UC 的治疗中也有很好的效果^[13, 19, 20], 这与本文的结果相符。4-ASA 不同于 5-ASA, 它不能抑制花生四烯酸的脂肪氧化作用, 对于自由基的清除也没有作用, 但是能够抑制 NF- κ B 通路的激活^[21]。综上所述, 下一步本课题组将着重探讨 *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 的作用机制以及与 5-ASA 作用机制的异同点, 研究寻找用药前后炎症因子水平变化的证据, 探讨 *N-p-Cl-Bs-4-ASA*

的代谢、适合血药浓度和临床应用的可能。UC 的病因与发病机制研究不明, 给临床治愈和缓解症状带来极大的困难, 寻找新的治疗药物是医务工作者的任务和挑战, *N-p-Cl-Bs-4-ASA* 在本次动物实验中取得满意疗效, 并且未出现明显组织损伤和毒副作用, 给寻找、合成安全有效的抗 UC 药物提供新的方向。

References

- [1] Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis [J]. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol, 2006, 3: 390–407.
- [2] Rao SS, Holdsworth CD, Read NW. Symptoms and stool patterns in patients with ulcerative colitis [J]. Gut, 1988, 29: 342–345.
- [3] Azad Khan AK, Howes DT, Piris J, et al. Optimum dose of sulphasalazine for maintenance treatment in ulcerative colitis [J]. Gut, 1980, 21: 232–240.
- [4] Constantinidis KA. Letter: eosinophilic pneumonia: an unusual side effect of therapy with salicylazosulfapyridine [J]. Chest, 1976, 70: 315–316.
- [5] Zhao S, Wang P, Wang Q, et al. The establishment and evaluation of acute ulcerative colitis in mice induced with DSS [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med (辽宁中医药大学学报), 2016, 18: 42–44.
- [6] Zhang Y, Huang X. The establishment of acute ulcerative colitis in mice induced with DSS [J]. Chin J Gastroenterol Hepatol (胃肠病学和肝病学杂志), 2006, 15: 130–133.
- [7] Wang DF, Wang YL, Wang YW, et al. Effect of Huangqin Tang on the function of regulatory TLR4/MyD88 signal pathway in rats with ulcerative colitis [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2016, 51: 1558–1563.
- [8] Warren BF, Shepherd NA, Bartolo DC, et al. Pathology of the defunctioned rectum in ulcerative colitis [J]. Gut, 1993, 34: 514–516.
- [9] Zhuo X, Huang C, Zhang S. Value of serum homocysteine and inflammatory factor in the diagnosis of ulcerative colitis [J]. J Bethune Med Sci (白求恩医学杂志), 2016, 14: 145–147.
- [10] Sands BE, Kaplan GG. The role of TNF α in ulcerative colitis [J]. J Clin Pharmacol, 2007, 47: 930–941.
- [11] Driscoll KE. TNF α and MIP-2: role in particle-induced inflammation and regulation by oxidative stress [J]. Toxicol Lett, 2000, 112–113: 177–183.
- [12] Masoodi I, Kochhar R, Dutta U, et al. Evaluation of fecal myeloperoxidase as a biomarker of disease activity and severity in ulcerative colitis [J]. Dig Dis Sci, 2012, 57: 1336–1340.

- [13] Dhaneshwar SS. Colon-specific prodrugs of 4-aminosalicylic acid for inflammatory bowel disease [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 3564–3571.
- [14] Tang H, Xiang D, Wang F, et al. 5-ASA-loaded SiO₂ nanoparticles-a novel drug delivery system targeting therapy on ulcerative colitis in mice [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15: 1117–1122.
- [15] Hanauer SB. Oral or topical 5-ASA in ulcerative colitis [J]. *Dig Dis*, 2016, 34: 122–124.
- [16] Gisbert JP, Gomollon F, Mate J, et al. Role of 5-aminosalicylic acid (5-ASA) in treatment of inflammatory bowel disease: a systematic review [J]. *Dig Dis Sci*, 2002, 47: 471–488.
- [17] Ahnfelt-Ronne I, Nielsen OH, Christensen A, et al. Clinical evidence supporting the radical scavenger mechanism of 5-aminosalicylic acid [J]. *Gastroenterology*, 1990, 98: 1162–1169.
- [18] Williams JG, Hallett MB. Effect of sulphasalazine and its active metabolite, 5-amino-salicylic acid, on toxic oxygen metabolite production by neutrophils [J]. *Gut*, 1989, 30: 1581–1587.
- [19] Vadnerkar G, Dhaneshwar S. Macromolecular prodrug of 4-aminosalicylic acid for targeted delivery to inflamed colon [J]. *Curr Drug Discov Technol*, 2013, 10: 16–24.
- [20] Suneela D, Gaurav V, Himanshu R. Design and development of novel azo prodrugs using various permutations and combinations of 5- and 4-aminosalicylic acids for inflammatory bowel disease: a colon-targeted approach [J]. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 2013, 12: 328–340.
- [21] Nielsen OH, Ahnfelt-Ronne I. 4-Aminosalicylic acid, in contrast to 5-aminosalicylic acid, has no effect on arachidonic acid metabolism in human neutrophils, or on the free radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl [J]. *Pharmacol Toxicol*, 1988, 62: 223–226.