

## 香连丸有效部位对小鼠急性溃疡性结肠炎的治疗作用

张文新, 谭晓梅\*, 胡元利, 王新雨

(南方医科大学中医药学院广东省中药制剂重点实验室, 广州 510515)

**[摘要]** 目的: 研究香连丸有效部位对葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 和 20% 乙醇联合诱导小鼠急性期溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的治疗作用。方法: 建立 DSS 和 20% 乙醇联合诱导的小鼠急性期 UC 模型, ig 给予香连丸有效部位 (0.292, 0.584, 1.168 g·kg<sup>-1</sup>), 观察各组小鼠的一般状态、疾病活动指数、结肠性状、结肠组织病理学变化, 进行疾病活动指数评分 (disease activity index, DAI)、测定各鼠结肠长度质量比、脾脏系数、血清中丙二醛 (MDA) 的含量。结果: 香连丸有效部位能显著改善结肠炎小鼠的一般状态, 改善结肠的性状, 减轻其结肠组织病理学损伤, 降低其血清中 MDA 的含量。结论: 香连丸有效部位对小鼠溃疡性结肠炎有较好的治疗作用。

**[关键词]** 香连丸有效部位; 黄连; 木香; 溃疡性结肠炎

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0170-04

### Effect of Effective Fraction of Xianglian Pill on Acute Ulcerative Colitis in Mice

ZHANG Wen-xin, TAN Xiao-mei\*, HU Yuan-li, WANG Xin-yu

(Key Research Laboratory of New Traditional Chinese Drugs, School of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the therapeutic effects of effective fraction of Xianglian Pill on acute

**[收稿日期]** 20101130(001)

**[第一作者]** 张文新, 硕士研究生, 从事中药新药制剂的研究, Tel: 13286834552, E-mail: zwx1348@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \* 谭晓梅, 研究员, 中药学博士, 从事中药新制剂的研究, Tel: 020-61648265, E-mail: txm@fimmu.com

#### [参考文献]

- [1] Lamireau T, Desmouliere A, Bioulac-Sage P, et al. Mechanisms of hepatic fibrogenesis [J]. Arch Pediatr, 2002, 21 (2): 392.
- [2] Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, et al. Reversibility of hepatic fibrosis; from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery [J]. Keio J Med, 2001, 50 (1): 58.
- [3] Oslow R A, Dannenberg A J, Rush D, et al. Cox-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors [J]. Cancer, 2000, 89 (12): 2637.
- [4] 曹承楼, 杨素霞, 张国梁, 等. 肝乐冲剂治疗慢性病毒性肝炎肝郁脾虚证疗效观察 [J]. 河南中医, 2007, 27 (10): 28.
- [5] 杨小军, 张国梁, 施卫兵. 肝乐冲剂治疗乙型肝炎肝郁脾虚型 60 例临床观察 [J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34 (3): 353.
- [6] 陈飞虎, 袁丽萍, 钟明媚, 等. 鬼针草总黄酮抗大鼠肝纤维化的实验研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11 (12): 1369.
- [7] 胡泰洪, 蒋祥虎, 蒋跃明, 等. 肝纤维化大鼠肝组织中 NF- $\kappa$ B 及 ERK-mRNA 的表达 [J]. 临床肝胆病杂志, 2009, 25 (1): 23.
- [8] 张久聪, 聂青和. 核因子- $\kappa$ B 与肝纤维化分子调控 [J]. 实用肝脏病杂志, 2009, 1 (12): 63.
- [9] 袁丽萍, 陈飞虎, 夏丽娟, 等. 鬼针草总黄酮对肝纤维化大鼠细胞因子的影响 [J]. 中国药理学通报, 2007, 23 (7): 987.

[责任编辑 聂淑琴]

ulcerative colitis (UC) induced by dextran sulfate sodium (DSS) and 20% alcohol in mice. **Method:** Acute ulcerative colitis was induced by DSS and 20% alcohol, and effective fractions of Xianglian Pill were given by stomach for 7 days at the same time. The general situations and histopathological changes were observed during the experiment disease activity index (DAI) and colon length, intestinal weight index, spleen weight and The levels of serum MDA were evaluated. **Result:** Effective fraction of Xianglian Pill greatly ameliorated the symptom of UC and histopathological changes as compared with UC control. The levels of serum MDA were obviously reduced. **Conclusion:** Effective fraction of Xianglian Pill is much helpful to the colitis mouse induced by DDS and 20% alcohol.

[ **Key words** ] effective fraction of Xianglian Pill; Yuhuanglian; Aucklandiae Radix; ulcerative colitis

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种不明原因的非特异性肠道炎症性疾病,在我国发病率不断升高,但缺乏特异性治疗手段。香连丸始见于唐·李绛《兵部手集方》,由黄连(吴茱萸制)、木香组成,用于治疗大肠湿热所致的痢疾,症见大便脓血,里急后重,发热腹痛,与西医溃疡性结肠炎的症状相似,因此,本实验主要研究香连丸的有效部位组方对溃疡性结肠炎的治疗作用,其有效部位是指萸黄连总生物碱和木香挥发油。萸黄连生物碱从毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis Franch* (吴茱萸制) 中提取,总生物碱含量达 50% 以上,木香挥发油是从菊科植物云木香 *Aucklandia lappa Decne* 中提取。本实验成功建立了小鼠急性期 UC 模型,确定香连丸有效部位对 UC 急性期有治疗作用。

## 1 材料

**1.1 动物** BALB/c 小鼠,雌雄各半,8~9 周龄,南方医科大学动物中心提供,合格证号 SCXK(粤)2006-0015

**1.2 药品与试剂** 葡聚糖硫酸钠(DSS)(上海西宝生物有限公司生产,批号 OH2809A),香连丸有效部位由萸黄连总生物碱、木香挥发油包合物组成(本实验室自制),柳氮磺吡啶肠溶胶囊(潮州市强基制药厂,批号 090908),尿粪隐血试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所),其他试剂均为国产分析纯。

**1.3 仪器** PL2303 型电子天平(瑞典 Mettler Tole2do 公司);CP324S 1/万天平(德国 Sartorius);L420 台式低速自动平衡离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);DK28AD 型电子恒温水浴箱、K28AD 型电热恒温水槽(上海一恒科学仪器有限公司)。

## 2 方法

**2.1 DSS 溶液配制** DSS 溶于蒸馏水配制成 8%

DSS 水溶液,即配即用。20% 乙醇溶液的配制:无水乙醇加蒸馏水配制成 20% 的乙醇溶液。

**2.2 动物模型制作及分组** 57 只 BALB/c 小鼠适应性喂养 7 d 后,随机分为对照组,模型组,柳氮磺胺吡啶组(0.7 mg·kg<sup>-1</sup>),香连丸有效部位(0.292, 0.584, 1.168 g·kg<sup>-1</sup>)组,正常喂养。造模方法参照文献方法<sup>[1-3]</sup>并稍作调整,除对照组外,其余各组小鼠均每只每日 ig 给予 8% DSS 溶液 1 mL,连续 8 d,第 4 天用 20% 的乙醇溶液灌肠处理,建立小鼠急性期 UC 动物模型,对照组用生理盐水同方法处理。造模开始各给药组小鼠分别按上述药物及剂量 ig 给药,正常组和模型组给予等量生理盐水。

**2.3 症状、体征观察及评分** 每日观察小鼠进食、饮水、活动等一般情况,称量体重,观察粪便性状、大便隐血及便血情况,参照 Cooper H S<sup>[4]</sup> 评分系统,进行疾病活动指数(disease activity index, DAI)评分,评估结肠黏膜的炎症程度,评分标准见表 1。

表 1 DAI 评分标准

体重下降%	大便性状	大便隐血	计分
0	正常	3 min 后不显蓝绿色	0
1~5	松软	1~3 min 内显蓝色	1
5~10	松软	30~60 s 内显蓝色	2
10~15	腹泻	立即显蓝绿色	3
>15	腹泻	立即显深蓝色	4

**2.4 标本的制备及组织病理学观察** 造模 8 d 后,各组小鼠眼球取血,分离血清,-20℃ 保存。处死,迅速剖开腹腔,取各组小鼠脾脏并迅速称重,取结肠称重并测量长度,计算结肠长度/质量(cm·g<sup>-1</sup>)。观察结肠的大体形态并取炎症最明显处长约 1 cm 的组织,用 10% 中性福尔马林固定,石蜡包埋切片,进行 HE 染色,光镜下观察结肠黏膜损伤情况。各

组小鼠剖腹摘取小鼠脾脏,称质量,计算每只小鼠的脾脏系数[湿质量(mg)/体重(g)]。

**2.5 血清中 MDA 的测定** 采用酶联免疫吸附法(ELISA),按试剂盒说明书检测血清 MDA 水平。

**2.6 统计学分析** 采用 SPSS 13.0 统计软件包分析,实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示。采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异具有显著性。

### 3 结果

**3.1 小鼠的一般情况和 DAI 评分** 对照组小鼠大便正常,毛色光泽,活动自如,体重增加。模型组小鼠在 ig 给予 DSS 后 2 d 后出现软便稀便,灌肠后出现严重腹泻,1 周后体重减轻、毛无光泽、食量明显减少、活动减少。各给药组小鼠毛色、精神及活动度较模型组健康,其腹泻、便血症状及 DAI 有不同程度的减轻。DAI 评分显示模型组小鼠 DAI 显著高于对照组,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ),各治疗组 DAI 均低于模型组,其中香连丸有效部位中剂量组和高剂量组差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),但各治疗组间无统计学差异。结果见表 2。

表 2 香连丸有效部位对 UC 小鼠的 DAI 影响( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	DAI 评分
对照	9	-	0.875 ± 0.353 <sup>2)</sup>
模型	9	-	7.444 ± 2.603
柳氮磺胺吡啶	8	0.700	5.250 ± 1.165 <sup>2)</sup>
	12	0.292	4.000 ± 1.348 <sup>2)</sup>
香连丸有效部位	10	0.584	3.400 ± 0.966 <sup>1)</sup>
	9	1.168	3.333 ± 1.658 <sup>1)</sup>

注:与模型组相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (表 3~5 同)。

**3.2 对小鼠脾脏系数的影响** 模型组小鼠脾脏肿大,脾脏系数升高,与对照组小鼠相比具有显著性差异( $P < 0.01$ );与模型组相比,各给药组小鼠脾脏肿胀明显减轻,脾脏系数下降,具有显著性差异。见表 3。

**3.3 对小鼠结肠大体形态影响** 对照组小鼠结肠外观正常,未见充血水肿,粪便成型,模型组小鼠全结肠充血、水肿、严重者肠腔内有大量血性分泌物,比对照组小鼠的结肠明显缩短,各给药组结肠有轻度水肿,结肠较对照组略有缩短。肠壁增厚,结肠长度质量比显示模型组显著高于对照组,且具有显著性差异( $P < 0.01$ ),各给药组结肠长度质量比显著低于模型组( $P < 0.01$ ),各组间无统计学差异。结果见表 4。

表 3 香连丸有效部位对 UC 小鼠的脾脏系数影响( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	脾系数 /mg·g <sup>-1</sup>
对照	9	-	3.43 ± 1.29 <sup>2)</sup>
模型	9	-	4.91 ± 1.37
柳氮磺胺吡啶	8	0.700	3.95 ± 0.40 <sup>1)</sup>
	12	0.292	3.54 ± 0.69 <sup>2)</sup>
香连丸有效部位	10	0.584	3.70 ± 0.80 <sup>2)</sup>
	9	1.168	3.75 ± 0.45 <sup>2)</sup>

表 4 香连丸有效部位对 UC 小鼠的结肠质量长度比的影响( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	结肠长度质量比 /cm·g <sup>-1</sup>
对照	9	-	0.035 9 ± 0.001 8 <sup>2)</sup>
模型	9	-	0.051 8 ± 0.001 0
柳氮磺胺吡啶	8	0.700	0.040 7 ± 0.006 5 <sup>2)</sup>
	12	0.292	0.034 3 ± 0.005 2 <sup>2)</sup>
香连丸有效部位	10	0.584	0.032 6 ± 0.002 3 <sup>2)</sup>
	9	1.168	0.034 3 ± 0.007 2 <sup>2)</sup>

**3.4 结肠组织病理学观察** 光镜下观察显示,对照组小鼠结肠黏膜完整连续、腺体排列整齐规则、结构清楚、无炎细胞浸润和溃疡形成,模型组小鼠结肠黏膜呈明显的急性肠炎反应,表现为部分黏膜细胞破损、腺体正常结构丧失、排列紊乱、水肿。黏膜及黏膜下层大量炎性细胞浸润。各给药组小鼠症状明显改善,结肠黏膜完整,无明显充血水肿,局部有少量炎性细胞浸润,肠腺排列基本规则,结构清楚。

**3.5 对小鼠血清中 MDA 的影响** 模型组小鼠血清中 MDA 的含量与对照组相比,明显升高,给药后,各给药组小鼠血清中 MDA 含量下降,与模型组相比,具有显著性差异( $P < 0.01$ ),结果见表 5。

表 5 香连丸有效部位对 UC 小鼠血清中 MDA 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

分组	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	MDA /μmol·L <sup>-1</sup>
对照	9	-	14.6 ± 3.09 <sup>2)</sup>
模型	9	-	87.7 ± 21.8
柳氮磺胺吡啶	8	0.700	23.1 ± 5.75 <sup>2)</sup>
	12	0.292	28.0 ± 16.7 <sup>2)</sup>
香连丸有效部位	10	0.584	22.9 ± 11.8 <sup>2)</sup>
	9	1.168	22.5 ± 9.27 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

溃疡性结肠炎病变多累及直肠和远端结肠,结肠黏膜出现弥漫性炎性细胞浸润,伴有多发性溃疡形成。给予小鼠饮用不同浓度和不同周期的 DSS 水溶液处理后可以建立急性、慢性和急慢性交替 UC 模型<sup>[5]</sup>,其临床和病理表现与人类 UC 极为相似,是目前最为理想的 UC 模型,被广泛用于研究人类 UC 致病机制和抗炎药物的筛选。由于 DSS 的价格昂贵,自由饮水方式又容易出现漏水、剩水等浪费现象,另外,由于小鼠个体差异,造成饮水量不易控制等缺点,因此,本研究中,采用每只小鼠每天 ig 给予 8% DSS 1 mL,连续 8 d,在实验的第 4 天,用 20% 乙醇溶液灌肠,小鼠出现腹泻稀便、血便等典型的结肠炎症状,显微镜下可见肠黏膜破损、腺体紊乱、大量炎性细胞浸润、广泛糜烂、出血和大量深溃疡,呈现明显的急性炎症反应,表明造模成功。

目前,用于治疗 UC 的西药主要有氨基水杨酸类、类固醇激素和免疫抑制类等药物,其中氨基水杨酸类以柳氮磺吡啶(SASP)效果最佳,主要用于轻型及中型患者。但有恶心、消化不良、头痛、白细胞下降等,偶有引起关节痛、皮疹、溶血、蛋白尿及胰腺炎等不良反应。激素类和免疫抑制剂主要用于重度 UC 的支持治疗,但由于这两类药物毒性大、不良反应多,不能作长期治疗的用药。因此,研制安全、有效的纯中药制剂具有较大的优势和潜力。

中医把结肠炎归属为“泄泻”、“肠澼”、“五更泻”、“湿热痢”等范畴。认为与脾胃、肝肾、大小肠有关。病因为外感六淫(以风、湿、暑、热为常见,尤以湿热邪为主)、饮食所伤、情志失调、先天禀赋不足等,致湿邪内蕴大肠,湿热交结,气血阻滞,肠道功能失职,脉络受损而发病。病机为本虚标实、虚实夹杂,初病以实证为主,表现湿热内蕴之候;久病多虚,伤脾及肾,表现出气虚或阳虚,以及寒热错杂、虚实相兼之证。

香连丸由黄连(吴茱萸制)、木香组成,始见于唐·李绛《兵部手集方》<sup>[6]</sup>。在《局方》中,用于“丈夫妇人肠胃虚弱,冷热不调,泄泻烦渴,米谷不化,腹胀肠鸣,胸膈痞闷,胁肋胀满;或下痢脓血,里急后重,夜起频并,不思饮食;或小便不利,肢体倦怠,渐即瘦弱。”李时珍称“香连治目及痢为要药”,徐大椿称此方为“清化之剂,为湿热赤白痢之专方。”在《中国药典》中,香连丸或片的功能主治为:清热化湿,行气止

痛。用于大肠湿热所致的痢疾,症见大便脓血,里急后重,发热腹痛;肠炎细菌性痢疾。

现代临床中,香连制剂及其化裁方应用于上、下消化道炎症、腹泻和溃疡等,药理学实验研究证明香连丸具有抗消化性溃疡<sup>[7-8]</sup>、抑制胃酸分泌、解痉、抗菌<sup>[9]</sup>、抗腹泻<sup>[10]</sup>、抑制小肠推进、抗炎<sup>[11]</sup>等作用。本研究证明香连丸有效部位对葡聚硫酸钠和乙醇联合所致的小鼠溃疡性结肠炎有明显的治疗作用,关于其治疗溃疡性结肠炎的机制需进一步探讨。

#### [参考文献]

- [1] Egger B, Bajaj Elliott M, MacDonald T T, et al. Characterisation of acute murine dextran sodium sulphate colitis: cytokine profile and dose dependency [J]. *Digestion*, 2000, 62(4): 240.
- [2] 吴小平, 凌奇荷. 实验型溃疡性结肠炎模型的研究 [J]. *湖南医科大学学报*, 1998, 23(4): 359.
- [3] Abdin A A, Saeid M M. An experimental study on ulcerative colitis a potential target for probiotic therapy by *Lactobacillus acidophilus* with or without "olsalazine" [J]. *J Crohn Colitis*, 2008, 2: 296.
- [4] Cooper H S, Murthy S N, Shah R S, et al. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis [J]. *Lab Invest*, 1993, 69(2): 2381.
- [5] Cusuman M, Nagarathnam D, Gopal D, et al. Synthesis and evaluation of stilbene and dihydrostilbene derivatives as potential anticancer agents that inhibit tubulin polymerization [J]. *J Med Chem*, 1991, 34(8): 2579.
- [6] 刘更生, 王均宁. 香连丸源流发展与应用述略 [J]. *中成药*, 1999, 21(1): 40.
- [7] 王海, 肖洪彬. 香连丸治疗消化性溃疡拆方实验研究 [J]. *中医药信息*, 2005, 22(4): 86.
- [8] 李心. 香连颗粒的临床药理研究 [J]. *首都医药*, 1998, 5(7): 31.
- [9] 常向明, 刘小平, 姚垂宇, 等. 香连丸联用 TMP 抗菌作用的实验研究 [J]. *中国药房*, 1995, 6(4): 16.
- [10] 曹毓, 张磊, 彭龙玲, 等. 精制香连胶囊抗实验性腹泻研究 [J]. *时珍国医国药*, 2000, 11(3): 200.
- [11] 谭晓梅, 龙群. 香连丸有效部位镇痛、止泻、抗炎及小肠推进的药效学研究 [J]. *南方医科大学学报*, 2008, 23(3): 499.

[责任编辑 聂淑琴]