

## 青黛及其有效成分抗溃疡性结肠炎药理作用及机制的研究进展

张曦<sup>1</sup>, 徐小婷<sup>1</sup>, MOHAMMED Ismail<sup>1</sup>, 肖莉<sup>2</sup>, 孙丽新<sup>1\*</sup>, 张陆勇<sup>1, 3\*</sup>

1. 中国药科大学 新药筛选中心, 江苏 南京 210009

2. 湖州大学 生命科学学院, 浙江 湖州 313000

3. 广东药科大学 新药研发中心, 广东 广州 510006

**摘要:** 青黛 (*Indigo Naturalis*) 是传统中药, 临床上已经用于治疗银屑病、急性早幼粒细胞白血病和溃疡性结肠炎。溃疡性结肠炎是一种慢性非特异性的炎症性肠病, 近年来发病率逐渐上升。青黛及其有效成分靛蓝和靛玉红治疗溃疡性结肠炎时取得显著疗效, 其药理作用机制涉及抗炎、促黏膜愈合、维护肠道免疫稳态和调节肠道菌群等多个方面。对近年来青黛及其有效成分靛蓝和靛玉红抗溃疡性结肠炎的药理作用及其机制进行总结, 以期临床合理用药及抗溃疡性结肠炎新药研发提供依据。

**关键词:** 青黛; 靛蓝; 靛玉红; 抗炎; 黏膜愈合; 免疫调节

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 05-0997-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.05.025

## Research progress of pharmacologic effects and mechanism on ulcerative colitis of *Indigo Naturalis* and its active ingredients

ZHANG Xi<sup>1</sup>, XU Xiaoting<sup>1</sup>, MOHAMMED Ismail<sup>1</sup>, XIAO Li<sup>2</sup>, SUN Lixin<sup>1</sup>, ZHANG Luyong<sup>1,3</sup>

1. Jiangsu Center for Pharmacodynamics Research and Evaluation, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

2. Key Laboratory of Vector Biology and Pathogen Control of Zhejiang Province, College of Life Science, Huzhou University, Huzhou 313000, China

3. Center for Drug Screening and Pharmacodynamics Evaluation, School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

**Abstract:** *Indigo Naturalis*, a traditional Chinese medicine, has been extensively used in the treatment of psoriasis, acute promyelocytic leukemia and ulcerative colitis (UC). UC is a chronic, nonspecific inflammatory disease of intestine with gradually increasing incidence in recent years. *Indigo Naturalis* and its active ingredients, indigo and indirubin, have been applied to treat UC with significant curative effects. The mechanisms include anti-inflammation, mucosal healing, and intestinal immune homeostasis maintaining. This article summarizes the pharmacological actions and potential mechanisms of *Indigo Naturalis*, indigo and indirubin in the treatment of UC in recent years, which provides some reference for the safety of clinical medication and drug discovery.

**Key words:** *Indigo Naturalis*; indigo; indirubin; anti-inflammatory; mucosal healing; immunomodulation

青黛为爵床科植物马蓝 *Baphicacanthus eusia* Bremek.、蓼科植物蓼蓝 *Polygonum tinctorium* Ait 或十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort 的叶或茎叶加工制得的干燥粉末、团块或颗粒, 其药用历史悠久, 入药始于唐代, 可解小儿疳热、消瘦, 杀虫。《本

草纲目》言其能“去烦热, 吐血, 咯血, 斑疮, 阴疮, 杀恶虫”。现代药理学研究表明青黛具有抗肿瘤、抑菌、镇痛、抗炎等功效, 临床上已经用于治疗银屑病<sup>[1]</sup>、特应性皮炎<sup>[2]</sup>、急性早幼粒细胞白血病<sup>[3]</sup>和溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC)<sup>[4]</sup>。国家药品监

收稿日期: 2022-02-10

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目 (81873084, 81573690); 双一流高校资助项目 (CPU2018GY06)

第一作者: 张曦, 女, 硕士研究生, 主要从事分子药理学研究。E-mail: 1072753421@qq.com

\*共同通信作者: 孙丽新, 女, 副研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为分子药理学和药物毒理学。E-mail: slxcpu@126.com

张陆勇, 男, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向为新药筛选及早期成药性评价和分子毒理学。E-mail: lyzhang@cpu.edu.cn

督管理局官网收录了多个青黛复方药品,包括复方青黛片、复方青黛胶囊、复方青黛丸、珠黄散和锡类散等。

UC是一种肠道慢性炎症性疾病,病程长、复发率高,病因涉及遗传易感性、环境因素、肠道菌群失调和肠黏膜免疫反应异常等多方面<sup>[5]</sup>。在中国和日本,青黛单味药或其复方制剂用于治疗UC取得显著疗效,青黛散<sup>[6]</sup>、溃结灵<sup>[7]</sup>、清肠温中方<sup>[8]</sup>、复方苦参汤<sup>[9]</sup>、红藤合剂<sup>[10]</sup>及清肠栓<sup>[11]</sup>等以汤剂、胶囊剂、栓剂或灌肠剂等形式治疗UC,可改善腹痛、便溏、腹胀、便脓血等临床症状及促进肠黏膜愈合。在日本,通常以单味青黛口服治疗UC,即使在常规药物无效的患者中也显示出显著的疗效<sup>[12-13]</sup>。动物实验研究也表明青黛有效成分靛蓝和靛玉红有治疗UC的作用,能够减少炎性细胞的浸润,修复肠黏膜损伤<sup>[14]</sup>。虽然青黛对UC的疗效已被证明,但对其药理作用机制尚未见系统总结。因此,本文对近10年青黛在UC方面的药理作用及其机制进行汇总,以期为指导临床合理用药及抗溃疡性结肠炎新药研发提供依据。

## 1 抗炎

UC为慢性、非特异性炎症,主要累及乙状结肠和直肠,黏膜及黏膜下层均有受损,患者的肠道病变部位组织显示持续的炎症<sup>[15]</sup>。青黛在治疗UC的抗炎作用机制主要表现为抑制炎症因子的表达和炎症小体的形成,并缓解炎性细胞在结肠组织中的浸润。

### 1.1 抑制炎症因子表达

动物在体实验研究表明,在1.0%~1.3%的葡聚糖硫酸钠(dextran sodium sulfate, DSS)诱导的小鼠结肠炎模型中,以约7.5 g·kg<sup>-1</sup>剂量的青黛混入饲料,使之以自由膳食的方式给药10 d,可以改善结肠炎小鼠体质量减轻、腹泻和直肠出血的现象,并且其疗效优于5-氨基水杨酸盐阳性对照组。对炎症相关指标进行检测,发现青黛给药后,能够抑制金属基质蛋白酶(matrix metalloprotein, MMP)-3、白细胞介素(interleukin, IL)-6、趋化因子配体-2、前列腺素内过氧化物合酶-2、金属蛋白酶组织抑制剂-1(tissue inhibitor of metalloproteinases 1, TIMP1)、MMP-9等炎症相关基因的表达;抑制结肠中促炎因子 $\gamma$ -干扰素(interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、IL-17、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和IL-1 $\beta$ ,及血清中促炎因子IL-6、IL-8、TNF- $\alpha$ 的水平;上调血清中抗炎细胞因子IL-10的表达水平<sup>[16]</sup>。

### 1.2 抑制炎症小体活化

网络药理学及分子对接实验表明芳烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AHR)是青黛主要成分靛蓝、靛玉红、色胺酮的作用靶点<sup>[17]</sup>,而有研究表明激活AHR可通过抑制核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(nucleotide-binding domain-like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3)转录,负向调节NLRP3炎性小体的活化<sup>[18]</sup>。NLRP3炎症小体由NLRP3、凋亡相关微粒蛋白和半胱氨酸蛋白酶-1组成,可导致前体IL-1 $\beta$ 和IL-18分别转化为活性形式并诱导细胞死亡,靶向NLRP3炎症小体的抑制剂WT161已被证明可以缓解炎症性肠病<sup>[19]</sup>。

在1项体外细胞实验中,青黛被证明通过激活AHR/细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)亚酶CYP1A1信号途径及抑制NLRP3炎症小体活化以减轻炎症,以10  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 脂多糖诱导LoVo细胞24 h建立肠上皮细胞炎症模型,分别以0.5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 青黛及1  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 柳氮磺胺吡啶进行干预24、48 h,与模型组相比,青黛干预后细胞上清液中炎症因子IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-18含量明显降低,IL-10、IL-22含量明显升高,同时可明显下调NLRP3和半胱氨酸蛋白酶-1的蛋白和mRNA表达,又明显上调AHR、CYP1A1蛋白及mRNA的表达<sup>[20]</sup>。

### 1.3 抑制中性粒细胞迁移和浸润

中性粒细胞在先天免疫中发挥重要作用,是构成人体抵御病原体的第一道防线。但在机体非平衡状态下,中性粒细胞浸润及随后的活化会促进组织损伤,参与炎症和自身免疫性疾病。在UC疾病过程中,中性粒细胞弹性蛋白酶和髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)能够促进中性粒细胞外陷阱的形成,维持和增强炎症损伤<sup>[21]</sup>。在UC患者的结肠活检样本中也发现结肠黏膜中性粒细胞数量的增加与不良预后有关<sup>[22]</sup>。青黛在UC中的抗炎机制与减少中性粒细胞向肠固有层的迁移和浸润,从而降低炎性因子表达有关。

动物在体实验研究表明,在3.5%DSS诱导的大鼠结肠炎模型中,将青黛颗粒以生理盐水制成混悬液,以4.2、8.4、16.8 g·kg<sup>-1</sup>ig给药7 d,并以5-氨基水杨酸作为阳性对照药,结果显示青黛能降低结肠组织中炎症因子IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-18的表达,并降低MPO的活性,而MPO活性可以用来评估结肠组织中中性粒细胞的浸润<sup>[23]</sup>。

此外,在DSS诱导小鼠UC急性模型中,将青黛溶于羧甲基纤维素钠,以455  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的剂量ig给药

7 d,并以美沙拉嗪作为阳性对照药。结果与模型组比较,青黛可显著降低肠固有层中性粒细胞比例,升高肠系膜淋巴结中中性粒细胞比例,并降低结肠组织中TNF- $\alpha$ 、IL-6及MPO含量<sup>[24]</sup>。

## 2 促进肠黏膜愈合

肠上皮细胞层、黏液层、肠道菌群和免疫细胞共同构成了肠黏膜屏障,能使宿主免于病原感染和炎症刺激物持续暴露。UC患者的肠道在慢性炎症刺激下,肠黏膜发生充血水肿和溃疡糜烂。在2015年进行的1项单中心、开放标签的前瞻试验中,20例中度UC患者每天口服2 g青黛胶囊进行为期8周的临床疗效和安全性研究(硫嘌呤使用已经超过12周,并且剂量已稳定4周以上,则允许被使用)。内窥镜检查及粪便隐血实验结果表明口服青黛胶囊可以提高中度UC的缓解率,促进黏膜愈合,改善大便潜血<sup>[25]</sup>。

1项多中心双盲临床试验显示,86名活动期UC患者每天给予0.5、1.0、2.0 g青黛胶囊或安慰剂进行为期8周的治疗(其中12名患者在入院时接受了糖皮质激素治疗),与安慰剂组比较,3个青黛治疗组均有疗效,临床缓解和黏膜愈合的患者比例均显著上升<sup>[26]</sup>。动物实验对青黛促进肠黏膜愈合的机制进行探索,表明紧密连接蛋白、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )/Smad和AHR/IL-22通路可能参与该过程。

### 2.1 增加紧密连接蛋白的表达

在1.2%DSS诱导的小鼠结肠炎模型中,将青黛粉末混悬于水中,以120 mg·kg<sup>-1</sup>ig给药10 d,通过检测上皮屏障相关分子的表达,发现与模型组比较青黛对于紧密连接蛋白(Claudin)-1、黏蛋白(Mucin)-1和Mucin-13的表达没有显著差异<sup>[27]</sup>。

然而有研究表明,在3.5%DSS诱导的大鼠结肠炎模型中,将青黛颗粒混悬于生理盐水,以4.2、8.4、16.8 g·kg<sup>-1</sup>青黛ig给药7 d,并以5-氨基水杨酸作为阳性对照药,可以增加结肠炎模型大鼠结肠黏膜中的闭合蛋白(Occludin)的含量,促进血清和结肠中血管内皮生长因子和血清中内皮生长因子的表达,修复结肠黏膜损伤,但其机制尚不明确<sup>[23]</sup>。

### 2.2 激活TGF- $\beta$ /Smad信号通路

TGF- $\beta$ 是多效性细胞因子,TGF- $\beta$ /Smad信号通路调节黏膜免疫反应,促进组织修复,是治疗UC的关键靶标<sup>[28]</sup>。苑致维等<sup>[29]</sup>进行的动物在体实验表明,青黛可能通过TGF- $\beta$ /Smad信号通路抑制炎症反应,促进黏膜修复。该实验以5%DSS给药7 d建

立UC大鼠模型,青黛组和美沙拉嗪阳性对照药组每天分别以0.27 g·kg<sup>-1</sup>青黛混悬液或0.1 g·kg<sup>-1</sup>美沙拉嗪液溶液连续灌肠7 d。与模型组比较,青黛组和美沙拉嗪组疾病活动指数降低,结肠组织损伤明显改善,腺体排列较整齐,炎性细胞浸润明显减少;青黛组大鼠结肠组织TGF- $\beta$ 、Smad 2、Smad 3、p-Smad 2/3蛋白表达升高,TGF- $\beta$ 、Smad 3 mRNA表达升高。

### 2.3 激活AHR/IL-22信号通路

IL-22在炎症性肠病中能够刺激抗菌肽和黏蛋白的表达,促进上皮细胞再生,增强黏膜屏障完整性。动物在体实验研究表明,青黛促进肠黏膜愈合的作用与激活AHR/IL-22通路密切相关<sup>[27]</sup>。在1.2%DSS诱导的小鼠结肠炎模型中,将青黛混悬于水溶液,以120 mg·kg<sup>-1</sup>ig给药10 d,能够增加产生IL-10的CD4<sup>+</sup>T细胞和产生IL-22的CD3<sup>-</sup>ROR $\gamma$ <sup>+</sup>细胞,从而上调肠固有层单个核细胞中IL-10、IL-22的mRNA水平;而在肠系膜淋巴结和脾脏中IL-10、IL-22和CYP1A1的mRNA表达水平无明显差异,表明青黛被吸收后可以通过与黏膜免疫细胞直接结合而在固有层局部发挥作用,而在肠系膜淋巴结和脾脏等远处器官则不起作用。

然而,在1.2%DSS诱导的AHR缺陷小鼠结肠炎模型中,以高剂量青黛(600 mg·kg<sup>-1</sup>)和靛蓝(300 mg·kg<sup>-1</sup>)混悬于水溶液ig给药7 d,也无法改善AHR缺陷小鼠结肠炎症状;且与野生鼠相比,青黛和靛蓝无法增加从AHR缺陷小鼠分离的脾细胞中IL-10、IL-22或颗粒酶B的表达水平,表明青黛修复肠黏膜损伤、减轻出血的机制可能与通过AHR激活IL-22通路有关<sup>[27]</sup>。

## 3 调节免疫稳态

肠固有层淋巴细胞和上皮内淋巴细胞构成了肠黏膜的免疫屏障,而在慢性炎症情况下,这种免疫稳态也会被打破。在UC患者中,CD3<sup>+</sup>树突状细胞(dendritic cells, DC)产生调节性T细胞(regulatory cell, Treg)的能力受损,但能诱导Th1/Th2/Th17反应<sup>[30]</sup>。对24例UC患者及17名健康志愿者的外周血标本中CD4<sup>+</sup>T细胞各亚群的比例进行检测,发现病例组Treg细胞比例低于对照组,Th2、Th17细胞比例高于对照组,且Treg/Th2和Treg/Th17均显著低于对照组<sup>[31]</sup>。

青黛对UC的治疗作用与调节T细胞各亚群的比例有关。在2%DSS诱导的急性结肠炎小鼠中,表现出与UC患者相似的Th1/Th17特征的细胞因子模式,将青黛混悬于羧甲基纤维素钠溶液中,以0.5、

1 g·kg<sup>-1</sup> ig 给药 7 d,并以 0.2 g·kg<sup>-1</sup> 柳氮磺胺吡啶作为阳性对照药,检测肠系膜淋巴结 Th1 和 Th17 细胞相关转录因子和细胞因子时,发现 DSS 可显著诱导小鼠结肠中 IFN- $\gamma$ 、IL-17A 和 ROR- $\gamma$ t 的 mRNA 表达,而青黛治疗能显著降低其表达<sup>[32]</sup>。

在 4%DSS 诱导的急性结肠炎大鼠模型中,以 78.75 mg·kg<sup>-1</sup> 青黛混悬水溶液或以 157.5 mg·kg<sup>-1</sup> 苦参和 78.75 mg·kg<sup>-1</sup> 青黛配伍后的混悬液 ig 给药 7 d,并以美沙拉嗪作为阳性对照药,发现青黛或青黛与苦参配伍能够抑制 Th17 细胞分化的主要调控因子 IL-6、TGF- $\beta$ 、ROR $\gamma$ t、STAT3 水平<sup>[33]</sup>。同样,体外细胞实验表明,在 ROR $\gamma$ T 诱导的 Jukat T 细胞向 Th17 极化过程中,200  $\mu$ g·mL<sup>-1</sup> 青黛或 5 mmol·L<sup>-1</sup> 色胺酮给药 24 h,能够抑制 Th17 极化所需的几种细胞因子 IL-17A、IL-17F 和 IL-22 mRNA 表达<sup>[34]</sup>。

#### 4 调节肠道菌群

在 UC 患者中,随着持续的炎症和免疫紊乱,也伴随肠道菌群的失调。肠道菌群在黏膜免疫中扮演重要角色,可以作为保护性的生物屏障,抑制病原菌的过度增殖和病毒感染;通过激活肠道上皮细胞表面的微生物相关分子模式,影响下游信号转导途径。有研究表明 UC 患者肠道菌群结构会发生变化,主要表现为菌群的多样性及厚壁菌门的丰度降低<sup>[35]</sup>。

##### 4.1 促进抗菌肽的表达

再生基因(regenerating gene, REG)家族蛋白参与由胃肠道和全身炎症驱动的疾病发生,已发现结肠上皮 Reg3 $\beta$  和 Reg3 $\gamma$  在 DSS 诱导的结肠炎小鼠模型中过度表达<sup>[36]</sup>。动物在体实验已证明在 1.2%DSS 诱导的小鼠结肠炎模型中,将青黛粉末混悬于水中,以 120 mg·kg<sup>-1</sup> ig 给药 10 d,能够上调小鼠结肠上皮细胞中抗菌肽 Reg1 和 Reg3g 的 mRNA 表达水平<sup>[27]</sup>。

##### 4.2 调节菌群种类和丰度

青黛对肠道菌群的调节作用研究报道有限,目前只在结肠炎动物模型中有所涉及。动物在体实验表明 600 mg·kg<sup>-1</sup> 青黛混悬水溶液 ig 给药 7 d,能够提高 4.5%DSS 诱导的大鼠肠道瘤胃球菌属-1 和丁球菌属的丰度,这两种菌属都能产生丁酸,而丁酸作为结肠上皮细胞的重要能量来源,通过诱导编码紧密连接的基因,在维持肠屏障功能方面发挥重要作用,并且能通过游离脂肪酸受体-3 和游离脂肪酸受体-2 在肠黏膜中激活抗炎信号级联和调节免疫功能<sup>[37]</sup>。

此外,200 mg·kg<sup>-1</sup> 青黛混悬水溶液给药 7 d 对 3%DSS 诱导的结肠炎小鼠的治疗作用,可能与降低螺旋杆菌的相对丰度,增加消化球菌的相对丰度密切相关。螺旋杆菌通过糖酵解产生乳酸,通常在人和动物的胃肠道和粪便中被检测到,现已证实与 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  等促炎细胞因子呈正相关。消化球菌不发生糖酵解,但能酵解蛋白质、肽和氨基酸<sup>[38]</sup>。

1 项动物在体研究表明,青黛、靛蓝、靛玉红都可以调节 DSS 诱导的 UC 小鼠肠道菌群结构,但其效果不同。在 3%DSS 导致的结肠炎模型小鼠中,以 200 mg·kg<sup>-1</sup> 青黛、4.76 mg·kg<sup>-1</sup> 靛蓝和 0.78 mg·kg<sup>-1</sup> 靛玉红的混悬水溶液分别 ig 给药 7 d,并以柳氮磺胺吡啶作为阳性对照药,与模型组比较,青黛、靛蓝和靛玉红可增加益生菌乳酸菌的丰度,青黛和靛蓝降低条件性病原体链球菌的丰度,而青黛和靛玉红可以将有害细菌脱硫弧菌恢复到正常<sup>[14]</sup>。

#### 5 结语

青黛用药历史悠久,在治疗 UC 时显现显著疗效。其活性成分靛蓝和靛玉红,在实验性结肠炎模型模型实验中也有改善症状作用。本文对青黛及其有效成分治疗 UC 的药理作用机制进行总结,发现其作用机制比较广泛,在抗炎、促进黏膜愈合、调节肠免疫稳态以及调节肠道菌群方面发挥多重作用。在抗炎方面,青黛及其有效成分不仅能够直接抑制炎症因子的表达和炎症小体的活化,还能通过抑制中性粒细胞的募集和浸润以减轻炎症。而青黛的促黏膜愈合作用与其增加紧密连接蛋白的表达,促进 TGF- $\beta$ /Smad 和 AHR/IL-22 信号通路密切相关。同时,青黛还能抑制 Th1 和 Th17 细胞从而调控 T 细胞亚群的比例,维持肠免疫稳态。此外,青黛及其有效成分能促进抗菌肽的表达,增加益生菌并减少有害菌的丰度,促进损伤的修复。青黛以多种机制协同作用改善 UC,但目前各方面的机制研究数量都有限,值得深入挖掘。

靛蓝和靛玉红既是外源性又是内源性的 AHR 配体<sup>[39-40]</sup>。AHR 广泛表达于肠道免疫和非免疫细胞,在炎症、免疫、组织修复中发挥重要作用<sup>[41-42]</sup>,对维持肠黏膜屏障功能和免疫稳态至关重要,是炎症性肠病治疗的潜在靶标。AHR/IL-22 信号通路已被证明参与青黛对 UC 的药理作用,尤其是促黏膜愈合方面,而 AHR 与青黛其他药理作用的关联尚不清楚。除靛蓝、靛玉红外,青黛中仍含多种吲哚类化合物,具有与靛蓝、靛玉红相似的药理活性<sup>[43]</sup>。

但目前,内源性吡啶类物质代谢对UC的影响,以及外源性吡啶类化合物对UC的药理作用机制都不太明确,值得深入研究。此外,青黛中各种化合物在治疗UC时的作用是否存在差异,及其如何协同发挥疗效的,仍未被完全阐述,需进一步深入探索。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Farahnik B, Sharma D, Alban J, et al. Topical botanical agents for the treatment of psoriasis: A systematic review [J]. *Am J Clin Dermatol*, 2017, 18(4): 451-468.
- [2] Lin Y K, Chang S H, Yang C Y, et al. Efficacy and safety of indigo naturalis ointment in treating atopic dermatitis: a randomized clinical trial [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 250:112477.
- [3] Zhu H H, Hu J, Lo-Coco F, et al. The simpler, the better: oral arsenic for acute promyelocytic leukemia [J]. *Blood*, 2019, 134(7): 597-605.
- [4] Naganuma M. Treatment with indigo naturalis for inflammatory bowel disease and other immune diseases [J]. *Immunol Med*, 2019, 42(1): 16-21.
- [5] Ungaro R, Mehandru S, Allen P B, et al. Ulcerative colitis [J]. *Lancet*, 2017, 389(10080): 1756-1770.
- [6] 赵艺. 青黛散治疗溃疡性结肠炎疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2016, 25(29): 3238-3240.  
Zhao Y. Observation on curative effect of Qingdai Powder on ulcerative colitis [J]. *Mod J Integr Tradit West Med*, 2016, 25(29): 3238-3240.
- [7] 陆喜荣, 徐进康, 陶鸣浩, 等. 溃结灵口服、青蒲方保留灌肠联合美沙拉秦缓释颗粒治疗溃疡性结肠炎临床观察 [J]. 河北中医, 2020, 42(8): 1199-2203, 2207.  
Lu X R, Xu J K, Tao M H, et al. Clinical observation of Kuijieling Oral and Qingpu Formula retention enema combined with Mesalazine SR Granules in the treatment of ulcerative colitis [J]. *Hebei J Tradit Chin Med*, 2020, 42(8): 1199-2203, 2207.
- [8] 孙中美, 陈晓伟, 胡立明, 等. 清肠温中方对缓解期溃疡性结肠炎的远期作用研究 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2021, 29(9): 619-623.  
Sun Z M, Chen X W, Hu L M, et al. Study on Qingchang Wenzhong Decoction in the treatment of remission ulcerative colitis [J]. *Chin J Integr Tradit West Med Dig*, 2021, 29(9): 619-623.
- [9] 冷雪媛, 范恒, 陈倩云. 范恒教授复方苦参汤治疗溃疡性结肠炎临床经验 [J]. 光明中医, 2021, 36(18): 3073-3075.  
Leng X Y, Fan H, Chen Q Y. Clinical experience of Prof. Fan Heng's Compound Kushen Decoction in treating ulcerative colitis [J]. *Guangming J of Chin Med*, 2021, 36(18): 3073-3075.
- [10] 伍伟. 红藤合剂治疗溃疡性结肠炎湿热内蕴证的临床观察 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2009: 7-43.  
Wu W. Clinical observation of treatment of ulcerative colitis damp-heat intrinsic evidence with Hong-teng Mixture [D]. Changsha: Hunan University of Chinese Medicine, 2009: 7-43.
- [11] 温红珠, 戴小玲, 林江. 基于肠道菌群探讨清肠栓治疗UC的作用机制 [J]. 中医药学报, 2021, 49(11): 38-42.  
Weng H Z, Dai X L, Lin J. Action mechanism of Qingchang Suppository in treating UC based on intestinal flora [J]. *Acta Chin Med Pharmacol*, 2021, 49(11): 38-42.
- [12] Suzuki H, Kaneko T, Mizokami Y, et al. Therapeutic efficacy of the Qing Dai in patients with intractable ulcerative colitis [J]. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(17): 2718-2722.
- [13] Naganuma M, Sugimoto S, Fukuda T, et al. *Indigo Naturalis* is effective even in treatment-refractory patients with ulcerative colitis: A post hoc analysis from the INDIGO study [J]. *J Gastroenterol*, 2020, 55(2): 169-180.
- [14] Yang Q, Ma L, Zhang C, et al. Exploring the mechanism of *Indigo Naturalis* in the treatment of ulcerative colitis based on TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway and gut microbiota [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 674416.
- [15] Arkteg C B, Wergeland S S, Buhl R L, et al. Real-life evaluation of histologic scores for ulcerative colitis in remission [J]. *PLoS One*, 2021;16(3): e0248224.
- [16] Ozawa K, Mori D, Hatanaka A, et al. Comparison of the anti-colitis activities of Qing Dai/*Indigo Naturalis* constituents in mice [J]. *J Pharmacol Sci*, 2020, 142(4): 148-156.
- [17] Gu S, Xue Y, Gao Y, et al. Mechanisms of *Indigo Naturalis* on treating ulcerative colitis explored by GEO gene chips combined with network pharmacology and molecular docking [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 15204.
- [18] Huai W W, Zhao R, Song H, et al. Aryl hydrocarbon receptor negatively regulates NLRP3 inflammasome activity by inhibiting NLRP3 transcription [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4738.
- [19] Long X, Yu X, Gong P, et al. Identification of WT161 as a potent agent for the treatment of colitis by targeting the nucleotide-binding domain-like receptor family pyrin domain containing 3 inflammasome [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 780179.
- [20] 顾思臻, 薛艳, 高阳, 等. 青黛对溃疡性结肠炎肠上皮细胞炎症模型的抗炎机制研究 [J]. 中药药理与临床, 2021, 37(6): 67-71.  
Gu S Z, Xue Y, Gao Y, et al. Anti-inflammatory mechanism of Qingdai in model of intestinal epithelial cell inflammation after ulcerative colitis [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2021, 37(6): 67-71.
- [21] Dinallo V, Marafini I, Di Fusco D, et al. Neutrophil extracellular traps sustain inflammatory signals in

- ulcerative colitis [J]. *J Crohns Colitis*, 2019, 13(6): 772-784.
- [22] Pai R, Hartman D, Rivers C, et al. Complete resolution of mucosal neutrophils associates with improved long-term clinical outcomes of patients with ulcerative colitis [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2020, 18(11): 2510-2517.
- [23] Wang Y L, Liu L J, Guo Y, et al. Effects of indigo naturalis on colonic mucosal injuries and inflammation in rats with dextran sodium sulphate-induced ulcerative colitis [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(2): 1327-1336.
- [24] 寇富舜, 程媛, 李亚兰, 等. 青黛对急性溃疡性结肠炎小鼠模型结肠黏膜中性粒细胞迁移浸润的作用影响 [J]. *中国中医急症*, 2022, 31(1): 58-61.  
Kou F S, Cheng Y, Li Y L, et al. Effect of indigo naturalis on migration and infiltration of colonic mucosa neutrophils in the mouse model of acute ulcerative colitis [J]. *J Emerg Tradit Chin Med*, 2022, 31(1): 58-61.
- [25] Sugimoto S, Naganuma M, Kiyohara H, et al. Clinical efficacy and safety of oral Qing-Dai in patients with ulcerative colitis: a single-center open-label prospective study [J]. *Digestion*, 2016, 93(3): 193-201.
- [26] Naganuma M, Sugimoto S, Mitsuyama K, et al. Efficacy of *Indigo Naturalis* in a multicenter randomized controlled trial of patients with ulcerative colitis [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(4): 935-947.
- [27] Kawai S, Iijima H, Shinzaki S, et al. *Indigo Naturalis* ameliorates murine dextran sodium sulfate-induced colitis via aryl hydrocarbon receptor activation [J]. *J Gastroenterol*, 2017, 52(8): 904-919.
- [28] Johnston C, Smyth D, Dresser D, et al. Molecular mechanism of the TGF- $\beta$ /Smad7 signaling pathway in ulcerative colitis [J]. *Mol Med Rep*, 2022, 25(4):116.
- [29] 苑致维, 张尔馨, 郑沁薇, 等. 青黛对溃疡性结肠炎大鼠结肠组织 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路相关因子表达的影响 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2022, 29(2): 63-67.  
Yuan Z W, Zhang E X, Zheng Q W, et al. Effects of *Indigo Naturalis* on TGF-  $\beta$ /Smad signaling pathway related factors in colonic tissues of rats with ulcerative colitis [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*, 2022, 29(2): 63-67.
- [30] Matsuno H, Kayama H, Nishimura J, et al. CD103<sup>+</sup> dendritic cell function is altered in the colons of patients with ulcerative colitis [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2017, 23(9): 1524-1534.
- [31] 晁康, 钟碧慧, 张盛洪, 等. CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群失衡与溃疡性结肠炎发病的关系 [J]. *中华医学杂志*, 2011, 91(23): 1605-1608.  
Chao K, Zhong B H, Zhang S H, et al. Imbalance of CD4<sup>+</sup> T cell subgroups in ulcerative colitis [J]. *Natl Med J China*, 2011, 91(23): 1605-1608.
- [32] Xiao H T, Peng J, Wen B, et al. Indigo naturalis suppresses colonic oxidative stress and Th1/Th17 responses of DSS-induced colitis in mice [J]. *Oxid Med Cell Longevity*, 2019: 9480945.
- [33] 王丽丹, 吕冠华, 黄荣伟, 等. 青黛、苦参配伍对溃疡性结肠炎大鼠 Th17 细胞分化主要调控因子的影响 [J]. *时珍国医国药*, 2021, 32(7): 1636-1640.  
Wang L D, Lü G H, Huang R W, et al. Effects of *Indigo Naturalis* and *Sophora flavescens* on the main regulators of Th17 cell differentiation in rats with ulcerative colitis [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2021, 32(7): 1636-1640.
- [34] Cheng H M, Kuo Y Z, Chang C Y, et al. The anti-Th17 polarization effect of *Indigo Naturalis* and tryptanthrin by differentially inhibiting cytokine expression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 255:112760.
- [35] Kim D, Jung J Y, Oh H S, et al. Comparison of sampling methods in assessing the microbiome from patients with ulcerative colitis [J]. *BMC Gastroenterol*, 2021, 21(1):396.
- [36] Xu X, Fukui H, Ran Y, et al. The link between type III Reg and STAT3-associated cytokines in inflamed colonic tissues [J]. *Mediators Inflamm*, 2019: 0, doi: 10.1155/2019/7859460.
- [37] Sun Z M, Li J X, Dai Y, et al. *Indigo Naturalis* alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis in rats via altering gut microbiota [J]. *Front Microbiol*, 2020, 11: 731.
- [38] Liang Y N, Yu J G, Zhang D B, et al. *Indigo Naturalis* ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by modulating the intestinal microbiota community [J]. *Molecules*, 2019, 24(22): 4086.
- [39] Faber S C, Soshilov A A, Tagliabue S G, et al. Comparative *in vitro* and *in silico* analysis of the selectivity of indirubin as a human Ah receptor agonist [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2692.
- [40] Sun M G, Ma N, He T, et al. Tryptophan (Trp) modulates gut homeostasis via aryl hydrocarbon receptor (AhR) [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2020, 60(10): 1760-1768.
- [41] Chen J X, Haller C A, Jernigan F E, et al. Modulation of lymphocyte-mediated tissue repair by rational design of heterocyclic aryl hydrocarbon receptor agonists [J]. *Adv Sci*, 2020, 6(3): eaay8230.
- [42] Stockinger B, Di Meglio P, Gialitakis M, et al. The aryl hydrocarbon receptor: Multitasking in the immune system [J]. *Annu Rev Immunol*, 2014, 32: 403-432.
- [43] Lee C L, Wang C M, Hu H C, et al. Indole alkaloids indigoldes A-C from aerial parts of *Strobilanthes cusia* in the traditional Chinese medicine Qing Dai have anti-IL-17 properties [J]. *Phytochemistry*, 2019, 162: 39-46.