

水杨酸-g壳聚糖衍生物的合成及药效研究

武雪芬^{1*}, 李伟¹, 王磊¹, 胡建梅¹, 李桂兰²

(1. 河南中医学院, 河南 郑州 450008; 2. 郑州大学 化学系, 河南 郑州 450052)

摘要: 制备水杨酸-g壳聚糖载体衍生物, 观察两者在药效上的协同和互补作用。通过二甲苯致小鼠耳肿胀实验观察水杨酸与壳聚糖抗炎的协同作用; 通过小鼠扭体实验和热板痛实验观察衍生物的镇痛作用; 通过胃黏膜形态学变化评价壳聚糖与水杨酸的互补作用。实验结果表明, 水杨酸-g壳聚糖衍生物外用抗炎作用优于水杨酸、壳聚糖和皮炎平, 内服优于阿司匹林; 即时镇痛作用低于阿司匹林, 长效镇痛作用与阿司匹林相近; 对胃黏膜的刺激性远远低于阿司匹林; 水杨酸-g壳聚糖衍生物具有抗炎协同作用和药效互补作用。

关键词: 水杨酸; 壳聚糖; 接枝; 抗炎; 镇痛; 胃黏膜刺激性

中图分类号: R916 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2007)05 - 0481 - 07

Synthesis and bioactivities of salicylic acid-g-chitosan derivatives

WU Xue-fen^{1*}, LI Wei¹, WANG Lei¹, HU Jian-mei¹, LI Gui-lan²

(1. Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;

2. Department of Chemistry, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: To prepare the derivatives of salicylic acid-g-chitosan and study their synergistic and complementary actions, the synergism of anti-inflammatory action of the derivatives was investigated with the experiments of xylene-induced mice ear edema, the analgesic activities by the tartaric emetic-induced mice twist test and the hot-plate test, and the complementary effects between salicylic acid and chitosan through morphological changes of stomach mucous membrane of rat, separately. The anti-inflammatory activities of salicylic acid-g-chitosan derivatives for anti-inflammatory activities were more potent than that of salicylic acid and chitosan and dexamethasone cream in external use, and more potent than that of aspirin orally. However, immediate analgesic activity of the derivatives was lower than that of aspirin and persistent activity was similar as that of aspirin. And the stomach mucous membrane morphology change of the derivatives was much milder than that of aspirin. The salicylic acid grafted chitosan derivatives showed synergistic and complementary effect on the anti-inflammatory and analgesic activities and so on.

Key words: salicylic acid; chitosan; graft; anti-inflammatory; analgesic; stomach mucous membrane morphology

非甾体抗炎药 (NSAIDs) 是近年来品种多、数量大、疗效确切、发展迅速的一类药物。传统的 NSAIDs 为 COX-1 和 COX-2 双重抑制剂, 大多具有不同程度的胃肠道不良反应, 寻找 COX-2 选择性抑制剂成为目前该类药物治疗的一个热点。但临床用

药发现, 长时间大剂量服用高选择性的 COX-2 抑制剂如罗非昔布, 会引起心脑血管等方面的不良反应^[1], 因此对具有双重抑制作用的 NSAIDs 进行结构修饰、制备成前药以降低副作用具有重要意义。有关 NSAIDs 的酯类前药^[2,3]、糖苷化前药^[3,4] 研究报道颇多, 但是关于 NSAIDs 的载体前药或互补前药尚未见报道。

壳聚糖 (CTS) 是天然产物甲壳素脱乙酰基后得到的氨基葡萄糖缩聚物, 生物贮存量巨大, 具有细胞

收稿日期: 2006-09-05.

基金项目: 河南省自然科学基金资助项目 (0611045900).

* 通讯作者 Tel: 86 - 371 - 65963829,

E-mail: wx568@163.com

修复、组织再生和胃黏膜保护作用,有良好的生物相容性并能进行生物降解,降解后的产物氨基葡萄糖具有抗菌消炎作用,用于治疗风湿性关节炎和胃溃疡等^[5,6],在医药研究领域倍受关注。CTS与NSAIDs具有药效学上的互补和协同作用,且分子中含有较多的活性基团,适合NSAIDs的化学修饰或载体前药的制备。如果将刺激性较强的NSAIDs接枝在CTS骨架上制备成载体衍生物,被修饰的NSAIDs的药效有可能提高,不良反应也有可能降低。

水杨酸(SA)是最早使用的非甾体抗炎药之一,由于刺激性强,现仅供外用(用于烧伤、皮肤真菌、烫伤、皮炎等)或以乙酰水杨酸等衍生物的形式使用。SA结构简单,易于修饰,本研究选择该药作为NSAIDs的代表物,将其通过酰胺键连接在CTS上,制备成载体衍生物SA-g-CTS,并对SA-g-CTS的抗炎、镇痛和胃黏膜刺激性进行了考察,旨在发现CTS与SA在药效上的互补和协同作用,为现有NSAIDs载体衍生物的制备提供依据和参考。

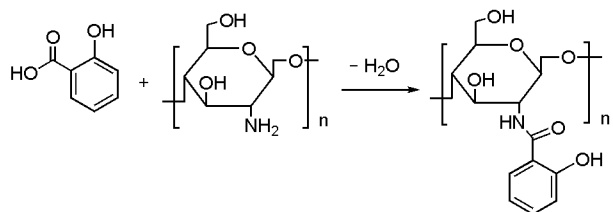
材料与方 法

仪器 AV-400核磁共振波谱仪;DT-40岛津热分析仪;GJ-8402型热板测痛仪;高倍光学显微镜。

药品与试剂 壳聚糖(烟台金湖甲壳制品有限公司,批号0401),脱乙酰度92.5%,黏度210;水杨酸(SA,分析纯);阿司匹林(湖南中南制药有限公司,批号20050128);复方地塞米松软膏(市售皮炎平,三九药业股份有限公司);二甲苯等其他试剂均为分析纯。

实验动物 昆明种小鼠,体重(20±2)g;SD大鼠,体重(250±20)g;河南医科大学动物中心提供。实验条件下适应性喂养3d后,随机分组。

衍生物合成 水杨酸-g壳聚糖(SA-g-CTS)衍生物合成路线如下:



Scheme 1 Synthesis of the SA-g-CTS

按文献^[7]方法合成、纯化和测定SA-g-CTS的接枝率。取CTS 2.0 g(12.5 mmol葡萄糖基),SA

3.0 g(18.8 mmol),加适量溶剂使充分溶胀,60℃下搅拌1.5 h,脱水处理,控制不同的脱水时间得到接枝率不同的合成物。将脱水后所得的固体产物定量转入索氏提取器中,用乙醇充分回流抽提;以非水滴定法测定抽提液中游离的水杨酸,计算反应接枝率。

SA-g-CTS的接枝率与释药量计算 按公式(1)计算SA-g-CTS的接枝率(每100个氨基葡萄糖单位上大约连接上的SA分子个数):

$$\text{接枝率 (g r\%)} = [(W_1 - W_2) \div 138 / W \div 161] \cdot 100\% \quad (1)$$

(W_1 为反应前SA的质量, W_2 为剩余的SA质量, W 为CTS的质量,138,161分别为SA和CTS分子中氨基葡萄糖单位的相对分子质量)。

按公式(2)和(3)计算SA-g-CTS的载药量(接枝水杨酰基约占SA-g-CTS质量百分数)和理论释药量(释放出的SA约占SA-g-CTS总量的百分数):

$$\text{载药量} = 121 \cdot \text{g r\%} \div (161 + 120 \cdot \text{g r\%}) \quad (2)$$

$$\text{释药量} = 138 \cdot \text{g r\%} \div (161 + 120 \cdot \text{g r\%}) \quad (3)$$

(121,138分别为水杨酰基和SA的相对分子质量,161为CTS分子中氨基葡萄糖单位的相对分子质量,120为连接水杨酰基后CTS单糖单位实际增加的量,g r%为接枝率)。

例如,70% SA-g-CTS的理论释药量 = 138 × 70% ÷ (161 + 120 × 70%) = 39.4%,即每100克70% SA-g-CTS可释放出35.5 g水杨酸。60% SA-g-CTS的理论释药量 = 138 × 60% ÷ (161 + 120 × 60%) = 35.5%,即每100克60% SA-g-CTS可释放出35.5 g水杨酸。

抗炎作用研究(二甲苯致小鼠耳肿胀实验)

外用抗炎作用 60只雄性昆明种小鼠随机分为6组:生理盐水组,复方醋酸地塞米松乳膏(皮炎平)组,8% SA组(用极少量的DMF溶解SA,再用蒸馏水稀释至所需浓度),10% CTS组(用极少量的2%醋酸研磨成糊,再加蒸馏水调制所需浓度),70%连接率SA-g-CTS低浓度组(10%浓度,按公式(3)计算,释放SA = 39.4 × 10% = 3.94% ≈ 4%),70%连接率SA-g-CTS高浓度组(20%浓度,按公式(3)计算,释放SA = 39.4 × 20% = 7.88% ≈ 8%)。1 h内各组小鼠右耳前后均匀涂药2次(涂药量2 g · kg⁻¹),末次给药1 h后,用蒸馏水洗去药液,干棉球擦净。待干燥后,在小鼠右耳前后均匀涂抹二甲苯0.02 mL,左耳作自身对照。致炎15 min后将小鼠脱颈处死,用内径6 mm的打孔器分别在两

耳相应部位打下圆形耳片,立即称重,以同一小鼠左右耳耳片重量之差为肿胀度,计算肿胀抑制率,比较各组药物的抗炎作用。

$$\text{抑制率} = (\text{生理盐水组肿胀度} - \text{用药组肿胀度}) \div \text{生理盐水组肿胀度} \times 100\%$$

内服抗炎作用 50只雄性昆明种小鼠随机分为5组:阴性对照组、阳性对照组(阿斯匹林组)、70%连接率合成物低剂量组、中剂量组和高剂量组。阴性对照组小鼠灌胃生理盐水 20 mL·kg⁻¹;阳性对照组小鼠灌胃阿司匹林 100 mg·kg⁻¹;合成物低剂量组小鼠灌胃合成物 100 mg·kg⁻¹(相当于 SA 40 mg·kg⁻¹或阿司匹林 50 mg·kg⁻¹),中剂量组小鼠灌胃合成物 200 mg·kg⁻¹(相当于 SA 80 mg·kg⁻¹或阿司匹林 100 mg·kg⁻¹),高剂量组小鼠灌胃合成物 400 mg·kg⁻¹(相当于 SA 160 mg·kg⁻¹或阿司匹林 200 mg·kg⁻¹)。给药 1 h后,按上述方法致炎,测定肿胀度。

合成物低剂量组释放 SA = 100 × 39.4% ≈ 40 mg,折合阿司匹林约 50 mg;合成物中剂量组释放 SA = 200 × 39.4% ≈ 80 mg,折合阿司匹林约 100 mg;合成物大剂量组释放 SA = 400 × 39.4% ≈ 160 mg,折合阿司匹林约 200 mg。

镇痛作用研究

小鼠扭体实验 50只昆明种小鼠,雌雄各半,随机分为5组,与内服抗炎分组一致。实验前禁食 12 h,饮水不限。与内服抗炎组相同给药,灌胃给药 1 h后,向小鼠腹腔注射 0.2%酒石酸锑钾 0.015 mL·g⁻¹,观察扭体反应潜伏期(以腹部收缩、伸展后肢或臀部抬高为扭体反应阳性),记录 15 min内每只小鼠扭体的次数,求出每组小鼠扭体的平均次数,计算各给药组镇痛抑制率。

$$\text{镇痛抑制率} = (\text{对照组扭体数} - \text{给药组扭体数}) \div \text{空白对照组扭体数} \times 100\%$$

小鼠热板法 昆明种雌性小鼠 10只,热板测痛仪(55 ± 5)℃筛选“热板痛反应时间”(自小鼠置于热板到舔后足、抬后足并回头或跳离热板所需的时间),淘汰痛域小于 5 s、大于 30 s及反应迟钝、喜跳者。将 50只合格小鼠随机分为 5组,与扭体实验分组一致。每只小鼠给药前,测定各自的热板痛域,间隔 30 min后再测第二次,以两次测量的热板痛均值作为该小鼠的基础痛阈。

与内服抗炎相同给药。给药后分别在 30, 60, 90和 120 min时,测定小鼠用药后的痛阈值(舔后足反应潜伏期 30 s以上者视为有效镇痛,潜伏期不

足 30 s者视无镇痛效应)及其增量,并以给药后镇痛反应时间延长一倍以上作为有镇痛作用,计算镇痛阳性率。

$$\text{痛阈提高率} = \Delta t / t_1 \times 100\% = (t_2 - t_1) / t_1 \times 100\%$$

(Δt 痛阈增量, t_1, t_2 用药前、后的平均痛阈值)。

胃黏膜刺激作用研究

SD大鼠 70只,雌雄各半,随机分成 7组并做如下处理:空白组每日灌胃生理盐水;阿司匹林大剂量组(每日灌胃 300 mg·kg⁻¹阿司匹林),中剂量组(每日灌胃 200 mg·kg⁻¹阿司匹林),小剂量组(每日灌胃 100 mg·kg⁻¹阿司匹林);SA-g-CTS大剂量组(每日灌胃 60% SA-g-CTS 750 mg·kg⁻¹,相当于水杨酸 270 mg·kg⁻¹或阿司匹林 350 mg·kg⁻¹),中剂量组(每日灌胃 60% SA-g-CTS 500 mg·kg⁻¹,相当于水杨酸 180 mg·kg⁻¹或阿司匹林 230 mg·kg⁻¹),小剂量组(每日灌胃 60% SA-g-CTS 250 mg·kg⁻¹,相当于水杨酸 90 mg·kg⁻¹或阿司匹林 120 mg·kg⁻¹)。

大剂量组释放 SA 270 mg,折合阿司匹林约 350 mg;中剂量组释放 SA 180 mg,折合阿司匹林约 230 mg;小剂量组释放 SA 90 mg,折合阿司匹林约 120 mg。

分别在灌胃 15, 30, 60, 75和 90 d取各组大鼠 2只,禁食 24 h后解剖,观察比较胃部变化。最后一次(90 d)解剖,做病理切片。

统计学处理 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据分析用 SPSS 10.0 for Windows统计软件,组间比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 分别为统计学上差异有显著性和极显著性, $P > 0.05$ 为统计学上差异无显著性。

结果

1 SA-g-CTS的表征

三氯化铁实验: SA-g-CTS呈阳性;¹H NMR(400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.71 ~ 7.68 (d, 1H, ArH), 7.28 ~ 7.26 (t, 1H, ArH), 6.93 ~ 6.91 (d, 1H, ArH), 7.07 ~ 6.82 (d, 1H, ArH), 芳氢¹H NMR的出现是 SA连接在 CTS分子骨架上的一个旁证;UV: SA-g-CTS在 λ_{max} 295 nm处有一最大吸收(与水杨酸的 λ_{max} 相同);IR (ν/cm^{-1} KBr): 1 633, 1 550, 1 458.1, 1 488.9, 759.9和 665.4。差热分析:177.1℃处一个失重峰(SA熔点为 159℃)。薄层:SA, SA-g-CTS的 R_f 分别为 0.67和 0.52(三氯甲烷-甲醇-乙酸乙

酯-冰醋酸 15:10:8:2)。

参照文献[7]方法(非水滴定法返滴过量水杨酸)测定 SA-g-CTA 的接枝率,本研究中合成物的接枝率为 70%和 60%两种。

2 SA-g-CTS 的抗炎作用

2.1 SA-g-CTS 外用抗炎作用 在抑制二甲苯引起的炎症反应中, SA-g-CTS 具有明显的外敷抗炎作用(表 1),且抗炎效果高于 SA ($P < 0.01$), CTS ($P < 0.01$)和复方地塞米松软膏 ($P < 0.05$)。10% SA-g-CTS 的外敷抗炎作用高于 20% SA-g-CTS,其原因可能是后者所配制的溶液浓度太大,呈糊状,涂抹不均所致。表 1 数据显示,浓度 10%、接枝率 70%的 SA-g-CTS 的载药量小于 8% SA,但抗炎作用却高于 8% SA,该结果说明,SA 与 CTS 具有协同抗炎作用。

Table 1 Inhibition of SA-g-CTS on xylene-induced mouse ear edema. $n = 10, \bar{x} \pm s$

Group	Oedema/mg	Inhibitory /%	Activity ratio
NS	9.20 ± 0.14	-	-
Dexamethasone cream	3.43 ± 0.83 ^{***}	62.7	1.00
8% SA	4.71 ± 0.83 ^{***}	48.8	0.78
10% CTS	5.01 ± 0.82 ^{***}	45.5	0.73
SA-g-CTS (20%)	2.30 ± 0.39 ^{***△△}	75.0	1.20
SA-g-CTS (10%)	1.05 ± 0.27 ^{***△△☆}	88.6	1.41

^{***} $P < 0.001$ vs NS; ^{△△} $P < 0.01$ vs 8% SA and 10% CTS;
[☆] $P < 0.05$ vs dexamethasone cream

2.2 SA-g-CTS 口服抗炎作用 在抑制二甲苯引起的炎症反应中, SA-g-CTS 合成物具有明显的内服抗炎作用(表 2)。与空白对照相比,各组均具有极显著性差异 ($P < 0.01$);与阿司匹林的抗炎作用相比, SA-g-CTS 中剂量和大剂量具有显著性差异和极显著性差异 ($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。本实验条件下,合成物大剂量组、中剂量组和小剂量组的载药量分别是 aspirin 组的 2 倍、1 倍和 0.5 倍,其抗炎活性分别是 aspirin 的 1.39, 1.18 和 0.69 倍,中剂量组与 aspirin 组用药量相当,但抗炎作用是后者的 1.18 倍,该结果说明,SA 与 CTS 具有协同抗炎作用。

3 SA-g-CTS 的镇痛效果

3.1 扭体实验结果 对于酒石酸锑钾引起的小鼠扭体反应,各实验组药品均具有明显的镇痛作用,但合成物的镇痛效果不如阿司匹林。合成物大剂量组的镇痛活性比率 (0.94) 与阿司匹林活性比率 (1.00) 比较接近,两者的镇痛作用无显著性差异

($P > 0.05$);中剂量组和小剂量组的镇痛活性比率分别为 0.84 和 0.56,与阿司匹林相差较大 ($P < 0.01$)。

Table 2 Inhibition of SA-g-CTS on xylene-induced mice ear edema. $n = 10, \bar{x} \pm s$

Group	Dose	Oedema/mg	Inhibitory /%	Activity ratio
NS	0.02 mL·g ⁻¹	4.76 ± 1.18	-	-
Aspirin	0.1 mg·g ⁻¹	2.54 ± 0.47 ^{**}	46.64	1.00
SA-g-CTS	0.4 mg·g ⁻¹	1.50 ± 0.41 ^{**△△}	64.29	1.39
SA-g-CTS	0.2 mg·g ⁻¹	2.14 ± 0.32 ^{**△}	55.04	1.18
SA-g-CTS	0.1 mg·g ⁻¹	3.22 ± 0.55 ^{**△}	32.35	0.69

^{**} $P < 0.01$ vs NS; [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ vs Aspirin

Table 3 Mice twist times against tartaric emetic. $n = 10, \bar{x} \pm s$

Group	Dose	Writhing number 15 min	Inhibitory /%	Activity ratio
NS	0.02 mL·g ⁻¹	38.2 ± 10.81	-	-
Aspirin	0.1 mg·g ⁻¹	6.1 ± 2.33 ^{**}	84.2	1.00
SA-g-CTS	0.4 mg·g ⁻¹	7.8 ± 1.66 ^{**△}	78.9	0.94
SA-g-CTS	0.2 mg·g ⁻¹	10.6 ± 3.04 ^{**}	71.1	0.84
SA-g-CTS	0.1 mg·g ⁻¹	19.6 ± 3.06 ^{**}	47.4	0.56

^{**} $P < 0.01$ vs NS; [△] $P > 0.05$

3.2 热板法测试结果 用药后 30, 60, 90 和 120 min 各组的痛阈值均明显提高(表 4),与生理盐水组比较有极显著性差异 ($P < 0.01$)。合成物的中、小剂量组在 30, 60, 90 和 120 min 以及大剂量组在前 3 个时间段的痛阈增幅较小,与阿司匹林组相比有极显著性差异 ($P < 0.01$);合成物的大剂量组在 120 min 时的痛阈增幅较大,与阿司匹林组相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 4 数据显示, SA-g-CTS 均具有延长热刺激疼痛潜伏期(痛阈)的作用,但 SA-g-CTS 自身的潜伏期比较长,用药后小剂量组和中剂量组在 60 min 大剂量组在 90 min 后的镇痛作用增加显著,120 min 时大剂量组镇痛作用接近阿司匹林组。

4 SA-g-CTS 与阿司匹林对胃黏膜刺激性的比较

4.1 组织形态学观察 解剖结果显示, SA-g-CTS 对大鼠胃黏膜的刺激性远远小于阿司匹林组(表 5)。阿司匹林组 30 d 黏膜有脱落,并伴有少量出血点,60 d 有大量出血点,75 d 溃疡形成,90 d 胃体破裂,组织坏死。但 SA-g-CTS 组 75 d 内无明显变化,90 d 仅大剂量组出现黏膜脱落现象。

Table 4 Threshold value against hot-plate test. $n=10, \bar{x} \pm s$

Group	Dose	Basic threshold /s	Threshold value after taking drug			
			30 min	60 min	90 min	120 min
NS	0.02 mL·g ⁻¹	13.1 ± 5.5	12.4 ± 4.7	13.7 ± 5.2	15.5 ± 4.2	14.7 ± 4.3
Aspirin	0.1 mg·g ⁻¹	14.4 ± 3.7	42.3 ± 5.3	51.4 ± 12.7	56.1 ± 5.5	59.6 ± 12.6
SA-g-CTS	0.4 mg·g ⁻¹	14.2 ± 3.2	36.1 ± 6.1	41.5 ± 16.3	43.1 ± 20.2	55.0 ± 10.8
SA-g-CTS	0.2 mg·g ⁻¹	16.2 ± 3.8	29.8 ± 5.2	35.5 ± 18.1	45.5 ± 19.9	52.1 ± 15.2
SA-g-CTS	0.1 mg·g ⁻¹	13.9 ± 3.1	25.3 ± 5.4	27.9 ± 9.8	42.9 ± 16.3	47.3 ± 11.8

Table 5 Morphological changes of stomach mucous membrane of rat after taking drug. $n=10, \bar{x} \pm s$

Time/d	NS	SA-g-CTS			Aspirin		
		Low dose	Middle dose	High dose	Low dose	Middle dose	High dose
15		The body of stomach of all groups showed fresh, damask, with mucous membrane and plica integritie					
30	idem	The same as the blank	The same as the blank	The same as the blank	The same as the blank	Some exfoliated cells of the stomach mucous membrane	Some exfoliated cells of the stomach mucous membrane, with a small amount of bleeding
60	idem	The same as the blank	The same as the blank	Some exfoliated cells of the stomach mucous membrane, none of obvious bleeding	Some exfoliated cells of the stomach mucous membrane, none of obvious bleeding	A small amount of bleeding	Some places of 2 - 3 mm wirelike bleeding and a large amount of bleeding
75	idem	The same as the blank	The same as the blank	Some exfoliated cells of the stomach, none of obvious bleeding	Cells of the stomach exfoliated, a small amount of bleeding	One place of 2 - 3 mm wirelike bleeding	Some places of 2 - 3 mm wirelike bleeding and a few of white ulcer
90	idem	The same as the blank	The same as the blank	A small amount of bleeding	Superficial erosion, mild ulcer	Gastric blanched, erosion, dispersed ulcer and bleeding	Conglutination partly surrounding stomach, gastric blanched, edema, erosion, ulcer badly, tissue putrefied

4.2 组织形态学显微观察 为进一步验证实验结果,对最后一次组织解剖进行切片染色。结果显示,空白组(图 1A)胃黏膜层结构完整,未见溃疡、糜烂形成,黏膜表层细胞无变性、坏死及脱落,未见血管充血和炎症细胞浸润。

阿司匹林大剂量组组织坏死;中剂量组(图 1B)胃黏膜可见溃疡形成,溃疡较深,约占黏膜层 1/2-2/3,溃疡周围组织可见明显血管充血、组织水肿,局部伴有红细胞漏出和轻度炎症细胞浸润;小剂量组(图 1C)胃黏膜可见浅表糜烂及轻度溃疡形成,溃疡较浅,仅局限于黏膜表层 1/3,溃疡周围组织可见轻度的血管充血和组织水肿,局部伴有少量红细胞漏出和轻度炎症细胞浸润。

合成物大剂量组(图 1D)胃黏膜可见浅表糜烂形成,黏膜表层细胞有变性、坏死及脱落,并可见纤维素样渗出物覆盖于黏膜糜烂处,周围组织可见轻度的血管充血和组织水肿,伴有少量红细胞漏出和炎症细胞浸润;中剂量组(图 1E)胃黏膜层结构完整,未见溃疡、糜烂形成,黏膜表层有轻度的细胞水肿,并可见少许纤维素样渗出物,周围组织可见少量

红细胞漏出,无明显炎症细胞浸润;小剂量组(图 1F)胃黏膜层结构完整,未见溃疡、糜烂形成,黏膜表层有轻度的细胞水肿,伴有少许纤维素渗出,未见明显的血管充血和炎症细胞浸润。

讨论

目前临床应用的 NSAIDs 主要有两类,一类是传统的 NSAIDs,另一类是环氧合酶(COX-2)选择性抑制剂。传统的 NSAIDs 包括水杨酸、乙酰水杨酸在内都是通过抑制 COX-1 和 COX-2 发挥作用,大多具有不同程度的胃肠道和肾脏不良反应,COX-2 选择性抑制剂对 COX-1 不具有抑制作用,基本不存在胃肠道副作用,该类药物是目前 NSAIDs 的主要研究方向之一^[8]。

研究和发现 COX-2 选择性抑制剂主要有两条途径^[8],一条是新结构类型先导物的发现和优化,如罗非昔布、塞来昔布等;另一条是对传统非甾体抗炎药进行结构改造,如通过对吲哚美辛、阿司匹林和双氯芬酸等药物的结构改造提高其对 COX-2 的选择性。无论哪一种途径耗资都是巨大的,且对

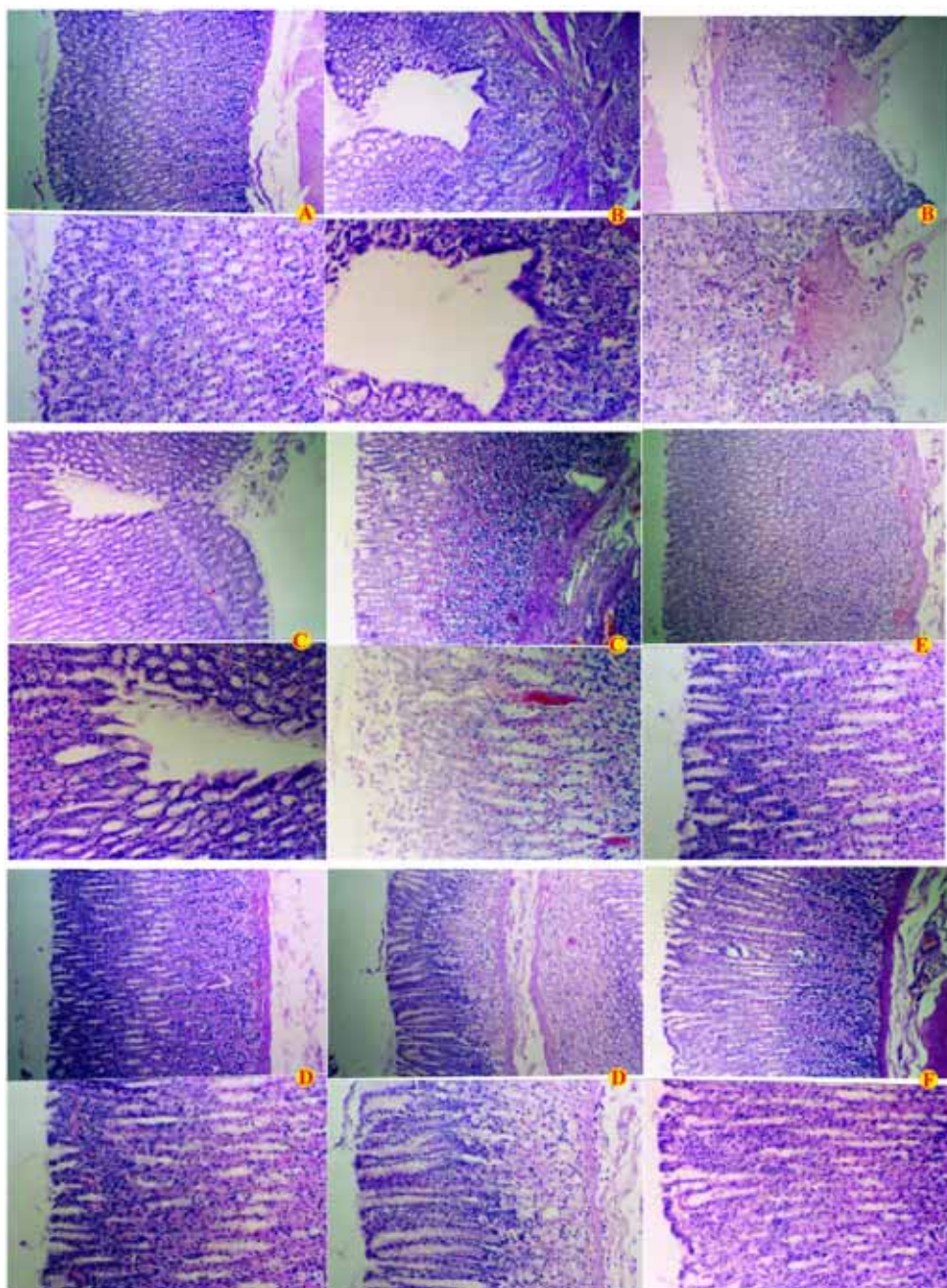


Figure 1 Morphological changes (under $\times 200 / \times 400$ optical microscope) of stomach mucous membrane of rat after 90 d taking SA-g-CTS. A: NS; B: 0.2 g aspirin/d; C: 0.1 g aspirin/d; D - F: 0.75 g, 0.50 g and 0.25 g SA-g-CTS/d

COX-2的选择性过高,还会引起心脑血管副作用^[1],因为 COX-2负责血液循环中 PGI_2 的生成,过分抑制 COX-2会降低血循环中 PGI_2 的水平。 PGI_2 具有舒张血管、降低血压和抑制血小板聚集作用。因此研究开发 COX-2适度抑制剂^[1]的难度也是极高的。

相对于 COX-2选择性抑制剂而言,对传统的

NSAIDs进行修饰要容易得多。传统的 NSAIDs如布洛芬、双氯芬酸钠等临床应用前景看好,共存的缺陷是胃肠道刺激性较大,如果选择具有黏膜保护功能或细胞修复作用的药物或生物材料进行修饰,上述药物的缺陷会一定程度地受到抑制。

CTS是一种多糖类天然高分子化合物,具有与传统 NSAIDs互补和一致的生物活性,与人体的生

物相容性好,可生物降解,将SA接枝在CTS上制备成的载体型药物SA-g-CTS,达到34.6%的载药量和39.4%理论释药量。从小鼠耳肿胀实验数据可见,SA-g-CTS外用其抗炎作用高于复方地塞米松软膏组,内服优于阿司匹林组。组织形态学结果表明,阿司匹林对大鼠胃黏膜的损伤作用远远大于SA-g-CTS组。本研究中60%SA-g-CTS大、中和小剂量组每日千克体重的服药量相当于0.27g,0.18g和0.09g水杨酸或0.35g,0.23g和0.12g阿司匹林,均高于阿司匹林组的大(0.3g)、中(0.2g)和小剂量(0.1g),但在不同的用药时间段内对大鼠胃黏膜的损伤作用都小于后者,阿司匹林小剂量(0.1g)组对大鼠胃黏膜造成的损伤要比SA-g-CTS大剂量(0.75g)组严重得多。

上述实验结果显示:SA-g-CTS不仅具有协同的抗炎作用,而且CTS与SA具有药效学互补作用(胃黏膜保护功能);SA-g-CTS的潜伏期较长,即时镇痛作用弱于aspirin,但SA-g-CTS的持续期比较长,较长的持续期说明SA-g-CTS具有较好的缓释功能。

References

- [1] Guo ZR. Innovation of anti-inflammatory drugs — strategy of moderate inhibition of cyclooxygenases [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2005, 40: 967 - 969.
- [2] Zhao YM, Xia D, Ai CP, et al. Synthesis and anti-inflammatory activities of ibuprofen derivatives [J]. Chin J Med Chem (中国药物化学杂志), 2006, 15: 360 - 362.
- [3] Song N, Li YX, Sun X, et al. Synthesis of (±) ibuprofen sugar derivatives [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2004, 39: 105 - 109.
- [4] Jonna B, Andrzej S. Glycosyl. Derivatives of 2-bromosugar of selected non steroidal anti-inflammatory drugs. Synthesis and QSAR data [J]. Famaco, 2001, 56: 257 - 262.
- [5] Ren SM, Jiang T, Liu FL. Synthesis of N-nitrogen mustard benzoic-glucosamine conjugate [J]. Chem Reagents (化学试剂), 2005, 27: 239 - 240.
- [6] Liu XH, Wang LB, Li ZM. Progress in chemical synthesis and modification of glucosamine [J]. HuaXueTB. Org (化学通报), 2006, 7: 484 - 492.
- [7] Wu XF, Liu W, Lu M, et al. Synthesis of chitosan-g-(salicylic acid) [J]. Chin J Synth Chem (合成化学), 2005, 13: 461 - 463.
- [8] Guo CB, Chen XH, Yi X, et al. Study on the synthesis and anti-inflammatory and analgesic activities of the derivatives of Ibuprofen [J]. Acta Chim Sin (化学学报), 2005, 63: 841 - 848.