

苯磺酰基咪唑氮氧化物与双氯芬酸偶联化合物的合成及抗炎活性

李瑞文¹, 张奕华^{1*}, 季 晖², 于晓琳², 彭司勋¹

(中国药科大学 1. 新药研究中心, 2. 药理教研室, 江苏 南京 210009)

摘要: 目的 研究高效低毒的双氯芬酸(DC)偶联化合物。方法 以酯键或酰胺键将一氧化氮(NO)供体3,4-二苯磺酰基咪唑氮氧化物与DC偶联,观察偶联物对二甲苯致炎小鼠和角叉菜胶致炎大鼠的抗炎活性及对大鼠胃肠道反应,研究体内外偶联物的NO释放。结果 合成了11个新化合物(I₁₋₁₁),其结构经MS,IR,¹HNMR和元素分析确证。I₁₋₅, I₉显示抗炎活性,其中I₄和I₅活性与DC相当,胃肠道副作用显著小于DC,体内外均释放NO。结论 苯磺酰基咪唑氮氧化物与DC偶联的化合物可保留DC抗炎活性,降低DC胃肠道不良反应。

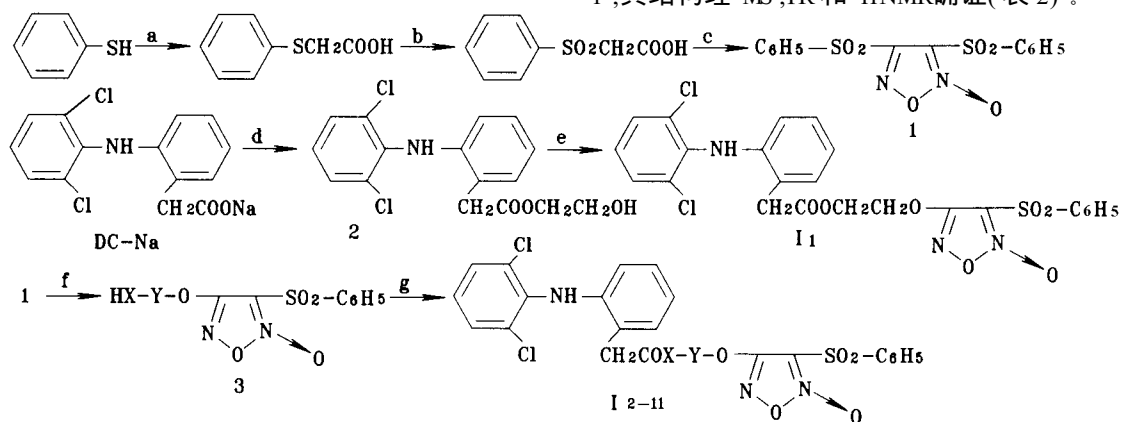
关键词: 一氧化氮; 一氧化氮供体型双氯芬酸; 抗炎活性; 胃肠道副作用

中图分类号: R916.63; R962.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2001)11-0821-06

降低胃肠道副作用是近年来开发新型非甾体抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)的基本出发点之一。一氧化氮供体型(NO-NSAIDs)的设计思想是基于NO与前列腺素(PGs)在胃肠道作用的类似性和互补性,将有NO释放作用的基团与传统的NSAIDs偶联,生成物在体内释放NO和原药,保留抗炎活性,减少原药引起的胃肠道副作用。有两个硝酸酯类NO-NSAIDs已在临床研究^[1,2]中。咪唑氮氧化物(furoxan)是近年来应用于新药研究的NO供体。据报道^[3],3,4-二苯磺酰基咪唑氮氧化物(1)与H₂-受体拮抗剂兰替丁(lamtidine)偶联而成的化合物的胃保护作用较原药强10倍。本文将1作

为NO供体,通过各种连接基团,以酯键或酰胺键与NSAID双氯芬酸(DC)偶联,设计并合成了11个新化合物(I₁₋₁₁),使DC既保留抗炎活性,又可减少胃肠道副作用。

以苯硫酚为原料,经醚化、氧化、环化反应得1。双氯芬酸钠(DC-Na)与氯乙醇缩合得2。按文献^[3]方法,2和1在室温、碱性介质中反应得I₁。在制备I₂₋₁₁时,将相应的醇和DC-Na缩合后与1在碱性条件下反应,即使在室温以下,也会发生酯水解。将二醇与1醚化得3,再与DC酯化,可避免水解。合成路线见Scheme 1。I₁₋₁₁的理化性质和元素分析见表1,其结构经MS,IR和¹HNMR确证(表2)。



Scheme 1 Route of synthesis of compounds I₁₋₁₁

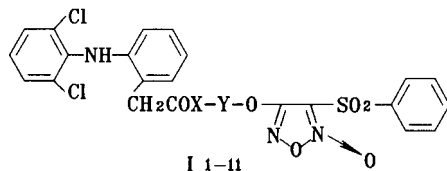
收稿日期: 2001-02-19.

作者简介: 李瑞文(1976-),女,硕士研究生;

张奕华(1947-),男,教授,博士生导师.

* 通讯作者 Tel: (025) 6635503, Fax: (025) 3302827, E-mail: njyhzha@pub.jlonline.com

Table 1 Structures, physical constants and elemental analysis of compounds I₁₋₁₁



No	X	Y	MP/ °C	Yield/ %	Elemental analysis/ %		
					Calcd(Found)		
					N	C	H
I ₁	O	CH ₂ CH ₂	124 - 125	76	3.37(3.46)	7.45(7.74)	51.06(51.06)
I ₂	O	(CH ₂) ₄	oil	82	3.89(4.21)	7.09(7.02)	52.70(52.64)
I ₃	O	(CH ₂) ₅	62 - 63	79	4.13(4.13)	6.93(7.06)	53.47(53.21)
I ₄	O	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂	oil	82	3.89(4.09)	7.09(7.19)	52.70(52.84)
I ₅	O	CH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₂	93 - 96	83	3.78(4.38)	6.91(7.27)	51.32(51.56)
I ₆	O	CH ₂ C≡CCH ₂	110 - 112	75	3.23(3.31)	7.14(7.33)	53.06(53.03)
I ₇	NH	CH ₂ CH ₂	152 - 155(dec)	78	3.35(3.87)	9.95(9.87)	51.15(51.10)
I ₈	NH	(CH ₂) ₃	165 - 168(dec)	71	3.81(3.97)	9.71(9.71)	51.99(51.82)
I ₉	O		134 - 135	74	3.35(3.46)	6.71(6.91)	55.59(55.80)
I ₁₀	O		138 - 139	80	3.35(3.20)	6.71(6.86)	55.59(55.29)
I ₁₁	O		129 - 131	83	3.35(3.44)	6.71(6.67)	55.59(55.33)

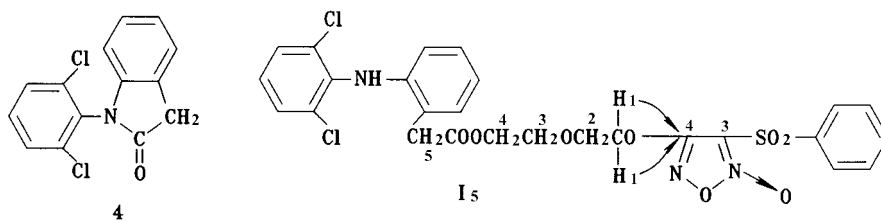
Table 2 MS, IR and ¹HNMR spectral data of compounds I₁₋₁₁

No.	MS(m/z)	IR/cm ⁻¹	¹ HNMR (500 MHz, CDCl ₃)
I ₁	^a 564.3(M+ H) ⁺	3333, 1724	3.87(s, 2H, Ar-CH ₂), 4.40 - 4.85(m, 4H, CH ₂ CH ₂), 6.4 - 8.1(m, 13H, ArH, NH) [*]
I ₂	^a 614.0(M+ Na) ⁺	3320, 1722	1.82 - 1.88(m, 2H, COOCH ₂ CH ₂), 1.90 - 1.95(m, 2H, CH ₂ CH ₂ O-furoxan), 3.83(s, 2H, Ar-CH ₂), 4.24(t, 2H, J=6.2 Hz, COOCH ₂), 4.43(t, 2H, J=6.3 Hz, CH ₂ O-furoxan), 6.54 - 8.05(m, 13H, ArH, NH)
I ₃	^b 606(M ⁺)	3367, 1732	1.42 - 1.48(m, 2H, COOCH ₂ CH ₂ CH ₂), 1.67 - 1.73(m, 2H, COOCH ₂ CH ₂), 1.78 - 1.82(m, 2H, CH ₂ CH ₂ O-furoxan), 3.78(s, 2H, Ar-CH ₂), 4.14(t, 2H, J=6.5 Hz, COOCH ₂), 4.32(t, 2H, J=6.2 Hz, CH ₂ O-furoxan), 6.49 - 7.99(m, 13H, ArH, NH)
I ₄	^a 614.0(M+ Na) ⁺	3327, 1722	1.36(d, 3H, J=6.3 Hz, CH ₃), 2.12 - 2.18(m, 2H, CH ₂ CH), 3.80(s, 2H, Ar-CH ₂), 4.36 - 4.44(m, 2H, CH ₂ O-furoxan), 5.15 - 5.21(m, 1H, CH), 6.53 - 7.85(m, 13H, ArH, NH) ^{**}
I ₅	^a 630.0(M+ Na) ⁺	3367, 1740	3.81(t, 2H, J=7.8 Hz, COOCH ₂ CH ₂), 3.85 - 3.86(m, 4H, Ar-CH ₂ , CH ₂ CH ₂ O-furoxan), 4.35(t, 2H, J=7.8 Hz, COOCH ₂), 4.51(t, 2H, J=7.5 Hz, CH ₂ O-furoxan), 6.53 - 8.07(m, 13H, ArH, NH)
I ₆	^a 588.3(M+ H) ⁺	3325, 1727	3.77(s, 2H, Ar-CH ₂), 4.70(s, 2H, COOCH ₂), 5.17(s, 2H, CH ₂ O-furoxan), 6.45 - 7.96(m, 13H, ArH, NH)
I ₇	^a 585.0(M+ Na) ⁺	3414, 3322, 1655	3.77(t, 4H, J=5.2 Hz, Ar-CH ₂ , CONHCH ₂), 4.51(t, 2H, J=5.9 Hz, CH ₂ O-furoxan), 6.41 - 8.03(m, 13H, ArH, NH)
I ₈	^a 599.0(M+ Na) ⁺	3417, 3296, 1648	2.10 - 2.27(m, 2H, CH ₂ CH ₂ CH ₂), 3.45(brs, 1H, CONH), 3.58(t, 2H, J=5.9 Hz, NHCH ₂), 3.78(s, 2H, Ar-CH ₂), 4.53(t, 2H, J=5.7 Hz, CH ₂ O), 6.50 - 8.09(m, 13H, ArH, NH)
I ₉	^c 626.9(M+1) ⁺	3363, 1750	3.90(s, 2H, ArCH ₂), 5.23(s, 2H, ArCH ₂), 6.54 - 8.12(m, 17H, ArH, NH) ^{**}
I ₁₀	^a 648.0(M+ Na) ⁺	3364, 1751	4.08(s, 2H, ArCH ₂), 5.42(s, 2H, ArCH ₂), 6.59 - 8.00(m, 17H, ArH, NH)
I ₁₁	^a 626.3(M+ H) ⁺	3334, 1716	3.87(s, 2H, ArCH ₂), 5.19(s, 2H, ArCH ₂), 6.52 - 8.10(m, 17H, ArH, NH)

^aESI-MS; ^bSCI-MS; ^cFAB-MS; * 90 MHz; ** 300 MHz

DC 或其酰氯与 **3** 反应, 还得 25% - 30% 的副产物, 波谱及元素分析确证副产物为 DC 分子内脱水产生的酰胺(**4**) (图 1)。为抑制 **4** 的生成, 将原来 DC 一次性投料改为分批加入到溶有 **3** 和二环己基碳酰亚胺(DCC)的溶液中反应, 改进后 **4** 降至 10% 以下。据报道^[4], **1** 与有些醇类化合物在碱性介质中

反应, 环上 3-位、4-位取代较难确定。作者在类似的合成中, 仅获得 1 个产物。为确证目标化合物结构, 选择 I₅ (图 1) 为代表, 测定其二维核磁共振谱。在突出偶合常数为 8 Hz 的 C-H 远程相关谱中, H1 (δ 4.50 - 4.52) 与 C4 (δ 158.8) 相关, 说明反应物 ROH 在化合物 **1** 的 4-位取代。

Figure 1 Structures of compounds 4 and I₅

抗炎活性 化合物 I₁₋₅, I₉ 和 nitrofenac(为参比药物,是已知硝酸酯类 NO-DC,抗炎活性与 DC-Na 相当,胃肠道副作用小于 DC-Na^[6,7])对二甲苯致小鼠耳肿胀度的抑制率分别为 22.7%, 12.4%, 20.4%, 11.8%, 35.3%, 16.5% 和 23.3%, DC 的抑制率为 35.4%, 上述化合物与 DC 相比无显著性差异 ($P > 0.05$); 化合物 I₄, I₅ 和 nitrofenac 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀有明显的抑制作用,与阳性对照组 (CMC-Na) 相比抑制率分别为 26.3% ($P < 0.05$), 39.3% ($P < 0.01$) 和 37.4% ($P < 0.05$), DC 的抑制率为 33.3%, 上述化合物与 DC 相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。

对大鼠胃肠道反应的影响 连续 ig 给药 7 d 结果显示,给药期间 DC 组大鼠死亡率为 45.4% (5/11), Nitrofenac 组大鼠死亡率为 12.5% (1/8), 其他各组未见死亡现象;按胃肠道溃疡程度评分结果显示, I₄, I₅, nitrofenac, DC 和 CMC-Na 组的分值分别为 1, 1, 2, 3 和 0 级(注:0 级:无溃疡;1 级:粘膜表面糜烂;2 级:深部溃疡或腔面弥漫性坏死;3 级:溃疡穿孔);粪便隐血试验结果提示, I₄ 和 I₅ 组大鼠胃肠道出血情况较 nitrofenac 组轻 ($P < 0.05$);血液学指标结果表明, I₄ 和 I₅ 组的血红蛋白含量较 nitrofenac 组高 ($P < 0.01$), 分别为 129.38, 130.62 和 113.71 g·L⁻¹。对上述结果的综合评价表明, I₄ 和 I₅ 组大鼠给药后的胃肠道毒副作用小于 DC 组和 nitrofenac 组。

NO 体内、外释放研究 在体外环境中, I₄ 和 I₅ 的 NO 释放量随时间延长呈逐渐增多的趋势, nitrofenac 无明显的 NO 释放。在体内,与 CMC-Na 相比, nitrofenac 在 1 h 和 3 h 时有非常明显的 NO 释放 ($P < 0.001$), 释放量分别为 54.09 和 49.77 μmol·L⁻¹。化合物 I₄ 和 I₅ 在 3 h 时有较明显的 NO 释放, 释放量分别为 28.72 ($P < 0.05$) 和 28.89 μmol·L⁻¹ ($P < 0.01$)。

构效关系 抗炎初筛表明, DC 酯类衍生物 I₁₋₅ 和 I₉ 抗炎活性与 DC 相当, 而 DC 酰胺类化合物 I₇

和 I₈ 无抗炎活性。连接基团与抗炎活性有关。酯类活性化合物中, 连接基团的极性较大者 I₅ 抗炎活性最强, 连接基团碳链较短者活性较强 (I₁ vs I₂), 含不饱和三键的 I₆ 无活性, 含芳环的连接基团中苯基取代基不同, 活性显示较大的差异 (I₉ vs I₁₀)。

I₅ 在体内外释放 NO 的能力较 I₄ 稍强, 其抗炎活性略高于 I₄, 提示 NO 释放与抗炎活性有一定关联, 值得进一步探讨。

实验部分

熔点用 MeF-TEMP 熔点仪测定, 温度未校正; IR 谱用 Perkin Elmer 983 红外光谱仪测定; ¹H NMR 谱用 Bruker AM 500 等核磁共振仪测定, TMS 为内标; MS 谱用 Finnigan FTMS-2000 等质谱仪测定, FAB-MS 以硫代甘油为基质; 元素分析用 Carlo Erba 1106 型分析仪测定。化合物 1 参考文献 [11 - 13] 合成, nitrofenac 按文献 [14] 合成。

1 2-(2,6-二氯苯胺基)苯乙酸-2-羟基乙酯(2)

将 DC-Na (0.63 g, 2 mmol), 碳酸氢钠 (0.34 g, 4 mmol), 2-氯乙醇 (0.68 mL, 0.8 g, 10 mmol) 和少量碘化钾溶于 DMF 10 mL 中, 加热至 100 °C, 搅拌反应 24 h。冷却后, 将反应液倾入水中, 用乙酸乙酯萃取; 有机层用饱和食盐水洗涤, 干燥。过滤后滤液浓缩, 用乙酸乙酯/石油醚重结晶得 0.65 g, 收率 91%, mp 60 - 62 °C。IR (KBr) cm⁻¹: 3276 (OH), 1720 (C=O)。¹H NMR (90 MHz, CDCl₃) δ: 3.85 - 3.88 (m, 4H, HOCH₂CH₂, ArCH₂), 4.30 (t, 2H, J = 4.6 Hz, HOCH₂CH₂), 6.49 - 6.59 (m, 2H, ArH), 6.94 - 7.39 (m, 5H, ArH)。ESI-MS: 340.1 (M + H)⁺。各元素的质量分数为 C₁₆H₁₅Cl₂NO₃, 实验值 (%) : N 4.40, C 56.46, H 4.63; 理论值 (%) : N 4.12, C 56.47, H 4.41。

2 2-(2,6-二氯苯胺基)苯乙酸-2-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)乙酯(I₁)

将 1 (0.37 g, 1 mmol) 和 2 (0.34 g, 1.2 mmol) 溶于

THF 10 mL 中,滴加 25% 氢氧化钠水溶液(0.08 mL, 1.2 mmol)。反应 15 min 后将反应液倒入水中,稀盐酸中和。乙酸乙酯萃取,有机层用饱和食盐水洗涤,干燥。过滤后浓缩滤液,柱色谱[乙酸乙酯-石油醚(60 - 90 °C) = 1:6]得 0.51 g。收率、mp 和元素分析及波谱数据见表 1 和表 2。

3 化合物 3(I₂ - I₁₁ 中间体)合成通法

将二醇(10 mmol)和 1(0.73 g, 2 mmol)溶于 THF 15 mL 中,滴入 25% 氢氧化钠水溶液(0.36 mL, 3 mmol),反应 1 h 后将固体过滤。滤液用稀盐酸中和,乙酸乙酯(3 × 20 mL)萃取,有机层合并后加饱和食盐水洗一次,无水硫酸镁干燥。过滤,滤液浓缩,柱色谱[乙酸乙酯-石油醚(60 - 90 °C)]制得。

3.1 4-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)丁醇(I₂ 中间体)

收率 76%, mp 70 - 72 °C。IR(KBr) cm⁻¹: 3353(OH); ¹HNMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 1.74 - 1.79(m, 2H, HOCH₂CH₂), 1.98 - 2.03(m, 2H, CH₂CH₂O furoxan), 2.06(br s, 1H, OH), 3.77(t, 2H, J = 6.1 Hz, HOCH₂), 4.48(t, 2H, J = 6.4 Hz, CH₂O furoxan), 7.61 - 8.07(m, 5H, ArH); 各元素的质量分数为 C₁₂H₁₄N₂O₆S, 实验值(%): N 8.90, C 45.84, H 4.46; 理论值(%): N 8.92, C 45.86, H 4.46; ESF-MS: 315.2(M + H)⁺。

3.2 5-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)戊醇(I₃ 中间体)

收率 73%, mp 65 - 67 °C。IR(KBr) cm⁻¹: 3380(OH); ¹HNMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 1.53 - 1.72(m, 4H, HOCH₂CH₂CH₂), 1.87 - 1.96(m, 2H, CH₂CH₂O furoxan), 2.13(br s, 1H, OH), 3.70(t, 2H, J = 6.2 Hz, HOCH₂), 4.44(t, 2H, J = 6.4 Hz, CH₂O furoxan), 7.60 - 8.08(m, 5H, ArH); 各元素的质量分数为 C₁₃H₁₆N₂O₆S · 4/3H₂O, 实验值(%): N 7.78, C 43.90, H 4.75; 理论值(%): N 7.95, C 44.43, H 5.30; ESF-MS: 351.0(M + Na)⁺。

3.3 (3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)-3-丁醇(I₄ 中间体)

收率 77%, mp 101 - 103 °C。IR(KBr) cm⁻¹: 3437(OH); ¹HNMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 1.31(d, 3H, J = 6.2 Hz, CH₃), 1.67(br s, 1H, OH), 1.92 - 2.08(m, 2H, CH₂CH), 4.07 - 4.13(m, 1H, CH₂CH), 4.51 - 4.69(m, 2H, CH₂O furoxan), 7.59 - 7.79(m, 3H, ArH), 8.04 - 8.07(m, 2H, ArH); 各元素的质量分数

为 C₁₂H₁₄N₂O₆S, 实验值(%): N 8.98, C 45.79, H 4.51; 理论值(%): N 8.92, C 45.86, H 4.46; ESF-MS: 315.1(M + H)⁺。

3.4 2-[2-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)乙基氧]乙醇(I₅ 中间体)

油状物, 收率 80%。IR(film) cm⁻¹: 3419(OH); ¹HNMR(90 MHz, CDCl₃) δ: 2.19(br s, 1H, OH), 3.50 - 3.80(m, 4H, HOCH₂CH₂), 3.80 - 4.00(m, 2H, CH₂CH₂O furoxan), 4.50 - 4.70(m, 2H, CH₂O furoxan), 7.61 - 8.13(m, 5H, ArH); ESF-MS: 353.0(M + Na)⁺。

3.5 4-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)-2-丁炔-1-醇(I₆ 中间体)

收率 83%, mp 113 - 115 °C。IR(KBr) cm⁻¹: 3369(OH); ¹HNMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 1.67(br s, 1H, OH), 4.35(s, 2H, HOCH₂), 5.11(s, 2H, CH₂O furoxan), 7.61 - 8.08(m, 5H, ArH); 各元素的质量分数为 C₁₂H₁₀N₂O₆S, 实验值(%): N 9.09, C 46.65, H 3.45; 理论值(%): N 9.03, C 46.45, H 3.23; ESF-MS: 311.2(M + H)⁺。

3.6 2-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)乙胺(I₇ 中间体)

收率 53%, mp 84 - 87 °C(文献[4]报道该化合物的草酸盐)。

3.7 3-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)丙胺(I₈ 中间体)

油状物, 收率 43%。IR(film) cm⁻¹: 3410(NH₂); ¹HNMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 2.03 - 2.12(m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 2.86(br s, 2H, NH₂), 3.01(t, 2H, J = 5.8 Hz, CH₂NH₂), 4.53(t, 2H, J = 5.7 Hz, OCH₂); 7.58 - 8.06(m, 5H, ArH); ESF-MS: 300.0(M + H)⁺。

3.8 3-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)甲基苯酚(I₉ 中间体)

油状物, 收率 21%。IR(film) cm⁻¹: 3500(OH); ¹HNMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 3.45 - 5.20(br s, 1H, ArOH), 5.39(s, 2H, ArCH₂), 6.86 - 7.29(m, 4H, ArH), 7.57 - 8.04(m, 5H, ArH); ESF-MS: 371.0(M + Na)⁺。

3.9 3-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4-氧)苯甲醇(I₁₀ 中间体)

收率 56%, mp 76 - 78 °C。IR(KBr) cm⁻¹: 3490(OH); ¹HNMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 4.75(s, 2H,

ArCH₂), 7.22 - 7.46 (m, 4H, ArH), 7.62 - 8.61 (m, 5H, ArH); 各元素的质量分数为 C₁₅H₁₂N₂O₆S, 实验值(%) : N 8.40, C 51.87, H 3.65; 理论值(%) : N 8.05, C 51.72, H 3.45; ESF MS : 371.0 (M + Na)⁺。

3.10 4-(3-苯磺酰基-1,2,5-噁二唑-2-氧化物-4)氧苯甲醇(I₁₁中间体)

收率 76%, mp 107 - 110 °C。IR (KBr) cm⁻¹ : 3236 (OH); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ : 4.73 (s, 2H, ArCH₂), 6.80 - 7.46 (m, 4H, ArH), 7.62 - 8.12 (m, 5H, ArH); 各元素的质量分数为 C₁₅H₁₂N₂O₆S, 实验值(%) : N 8.33, C 51.83, H 3.68; 理论值(%) : N 8.05, C 51.72, H 3.45; ESF MS : 371.0 (M + Na)⁺。

4 I₂ - I₁₁合成通法

将 3 (1.52 mmol), DCC (0.37 g, 1.8 mmol), 4-N, N-二甲氨基吡啶 (DMAP) 数粒溶于无水二氯甲烷 15 mL 中, 分批加入 DC (0.53 g, 1.8 mmol), 室温搅拌 2 h。过滤沉淀, 浓缩滤液, 柱色谱分离制得。收率。物理常数。元素分析及波谱数据见表 1 和表 2。

5 抗炎活性和对大鼠胃肠道反应的影响

小鼠耳二甲苯致炎实验方法参照文献[5]: DC-Na 给药量设定为 20 mg·kg⁻¹, 所有药物均用 0.5% CMC-Na 配成 1.57 × 10⁻³ mol·L⁻¹ 的混悬液。每组 10 只小鼠, 禁食 12 h 后 ig 给药, 给药容量为 0.4 mL/10 g。角叉菜胶致大鼠足跖肿胀实验方法参照文献[8]: DC-Na 给药量设定为 10 mg·kg⁻¹, 所有药物均用 0.5% CMC-Na 配成 3.14 × 10⁻³ mol·L⁻¹ 的混悬液。每组 10 只大鼠, 禁食 12 h 后 ig 给药, 给药容量为 1 mL/100 g。

对大鼠胃肠道反应的影响实验方法参照文献[5]: 给药剂量及药物配制同角叉菜胶致大鼠足跖肿胀实验。每组 8 只大鼠 (DC 组 11 只), 连续 ig 给药 7 d, d 8 摘眼球取血测定血红蛋白含量, 然后处死大鼠, 立即打开腹腔, 从直肠收集粪便按试剂盒法进行隐血试验, 试剂盒 Fecal OB-II 购自 Baso Diagnostic Inc., 用 Pyramidon 滤纸法改良法, 最后取出胃肠道, 纵向剖开进行肉眼观察, 按胃肠道溃疡程度进行评分。根据上述结果综合评价药物对胃肠道的毒副反应。

NO 体内、外释放研究: 体内释放实验给药剂量、给药方式及药液配制同角叉菜胶致大鼠足跖肿胀实验。所用 NO 试剂盒购自南京聚力生物医学工程研

究所, 实验按试剂盒方法—硝酸还原酶法进行。体外释放实验方法参照文献[9,10]。

致谢: 化合物 IR, NMR, MS 和元素分析由本校分析计算中心等单位完成。

REFERENCES:

- [1] Burgaud JL, Benedini F, Robinson EM, *et al.* HCTF1026 [J]. *Drugs Future*, 1999, **24**(8): 858 - 861.
- [2] Cirino G, Calignano A, Sannicolo F, *et al.* Anti-inflammatory, analgesic, anti-thrombotic drugs [J]: NCX 4016. *Drugs Future*, 1997, **22**(11): 1231 - 1233.
- [3] Sorba G, Gasco A, Coruzzi G, *et al.* Mixed antisecretory and gastroprotective activities of a new H₂-antagonist containing a nitric oxide donor furoxan moiety [J]. *Drug Res*, 1997, **47**(7): 849 - 854.
- [4] Fruttero R, Sorba G, Ermondi G, *et al.* Unsymmetrically substituted furoxans. XVII. Structural investigations in benzenesulfonylfuroxan derivatives and related compounds [J]. *IL Farmaco*, 1997, **52**(6-7): 405 - 410.
- [5] Xu SY, Bian RL, Chen X. *Methodology of Pharmacology Experiment* [M]. 2nd Edition. Beijing: People Sanitation Press, 1991. 719, 1158 - 1159.
- [6] Wallace JL, Reuter B, Cicala C, *et al.* A diclofenac derivative without ulcerogenic properties [J]. *Eur J Pharmacol*, 1994, **257**(3): 249 - 255.
- [7] Elliott SN, Mcknight W, Cirino G, *et al.* A nitric oxide-releasing nonsteroidal anti-inflammatory drug accelerates gastric ulcer healing in rats [J]. *Gastroenterology*, 1995, **109**(2): 524 - 530.
- [8] Cirino G, Peers SH, Flower RJ, *et al.* Human recombinant lipocortin 1 has acute local anti-inflammatory properties in the rat paw edema test [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86**(9): 3428 - 3432.
- [9] Sorba G, Medana C, Fruttero R, *et al.* Water soluble furoxan derivatives as NO prodrugs [J]. *J Med Chem*, 1997, **40**(4): 463 - 469.
- [10] Gasco AM, Boschi D, Stilo AD, *et al.* Characterization of furoxan carbonitriles as a new class of vasodilators [J]. *Arzneim Forsch/ Drug Res*, 1998, **48**(1): 212 - 218.
- [11] Kenney WJ, Walsh JA, Davenport DA. An acid-catalyzed cleavage of sulfoxides [J]. *J Am Chem Soc*, 1961, **83**(19): 4019 - 4022.
- [12] Farrar WV. The 3,4-bisarenesulphonylfuroxans [J]. *J Chem Soc*, 1964, **(3)**: 904 - 906.
- [13] Kelley JL, Mclean EW, Williard KF. Synthesis of bis(arylsulfonyl)furoxans from aryl nitromethyl sulfones [J]. *J Heterocycl Chem*, 1977, **14**(8): 1415 - 1416.
- [14] Serra MX, Pi SJ. Nitric ester of 2-(2,6-dichlorophenylamino) phenyl-actoxyacetic acid derivatives and their preparation process [P]. EP 738706, 1996-10-23.

SYNTHESIS AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF BENZENESULFONYLFUROXAN COUPLED DICLOFENAC

LI Rui-wen¹, ZHANG Yi-hua¹, JI Hui², YU Xiao-lin², PENG Si-xun¹

(1. Center of Drug Discovery, 2. Department of Pharmacology,
China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT: **AIM** To search for new derivatives of diclofenac (DC) having activity of the parent drug and lacking its undesirable effects. **METHODS** Coupling DC with NO donor 3,4-dibenzesulfonylfuroxan through esterification and amidation, evaluating anti-inflammatory activity against xylene-induced mice ear swelling and carrageenan-induced rat paw edema, observing side effects in the rat gastrointestinal (GI) tract and assessing NO releasing ability both *in vitro* and *in vivo*. **RESULTS** Eleven new compounds (**I**₁₋₁₁) were synthesized, and the structures of **I**₁₋₁₁ were determined by IR, ¹HNMR, MS and elemental analysis. Compared with DC, **I**₁₋₅ and **I**₉ showed no significant difference in anti-inflammatory activity against xylene-induced mice ear swelling. **I**₄ and **I**₅ showed potency comparable to DC in treatment of carrageenan-induced rat paw edema. In GI tract, only slight mucosa surface erosion was found in both **I**₄ and **I**₅ treated rats, while deep ulcer was found in nitrofenac dosed rats and ulcer perforation was found in DC treated rats. Five of eleven rats treated with DC died, one of eight rats treated with nitrofenac died. However, no death was found in eight rats dosed with **I**₄ or **I**₅. The detection of occult blood in feces and hematology index also showed that the extent of GI tract bleeding in **I**₄ and **I**₅ treated rats was much less than that in both DC and nitrofenac treated rats. In addition, **I**₄ and **I**₅ released NO both *in vitro* and *in vivo*. **CONCLUSION** Benzenesulfonylfuroxan coupled DC may possess potency comparable to DC and less GI side effect than DC.

KEY WORDS: NO; NO releasing-diclofenac; anti-inflammatory activity; gastrointestinal side effects