

5-氨基水杨酸甲酯盐酸盐和柳氮磺吡啶致畸研究

R965.3

熊建民、梁斌、莫云强、陈植和¹ (昆明制药厂研究所, 昆明 650100, 中国)

Teratologic studies of methyl 5-aminosalicylate and salicylazopyridine

XIONG Jian-Min, LIANG Bin, MO Yun-Qiang, CHEN Zhi-He¹

(Institute of Materia Medica, Kunming Pharmaceutical Factory, Kunming 650100, China)

ABSTRACT Methyl 5-aminosalicylate hydrochloride (M-5-AS) at the dosages of 21, 42, 209, and 417 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ ig to mice during d 6-15 of pregnancy, no obvious effects on the placenta, fetus weight, sex differentiation, external appearance, visceral, and skeletal development were observed. In rats ig M-5-AS 56 and 556 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ produced no noticeable effects on the organogenesis or teratogenesis either. In mice and rats ig salicylazopyridine 410 and 1089 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ respectively no obvious teratogenicity was detected. However, aspirin 250 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ ig did bring about significant teratogenicity in rats.

KEY WORDS aminosalicylic acids; pyridines; aspirin; embryo resorption; drug-induced abnormalities

摘要 小鼠在受孕后 d 6-15, ig 5-氨基水杨酸甲酯盐酸盐 (methyl 5-amino salicylate hydrochloride, M-5-AS) 21, 42, 209, 417 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 对身长、尾长、性别、胎盘、胎仔鼠体重、外观、内脏及骨骼发育无明显影响。大鼠于受孕后 d 6-15 ig 56, 556 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 与对照组比较胎仔未见受到明显影响和畸形。

关键词 氨基水杨酸类; 吡啶; 阿司匹林; 胚胎吸收; 药物引致畸形

柳氮磺吡啶系溃疡性结肠炎治疗药物, 口服柳氮磺吡啶在肠道细菌作用下分解为活性

部分 5-氨基水杨酸 (5-aminosalicylic acid, 5-ASA) 和磺胺吡啶, 后者在相当多的病人身上产生胃肠不适, 过敏反应及可逆性男性不育⁽¹⁾。5-ASA 不稳定, 为此国外已经合成并正在试用一系列 5-ASA 衍生物。我们合成的 5-氨基水杨酸甲酯盐酸盐 (methyl 5-aminosalicylate hydrochloride, M-5-AS) 较稳定且能溶于水。M-5-AS 能明显抑制大鼠结肠自发性收缩和基础张力, 并在实验性溃疡性结肠炎模型上显示明显的疗效⁽²⁾。本文报道妊娠大鼠与小鼠不同剂量 M-5-AS 及柳氮磺吡啶 ig 后的胚胎毒和畸胎作用, 并以致畸阳性药乙酰水杨酸为对照, 为临床安全用药提供实验依据。

MATERIALS AND METHODS

M-5-AS 盐酸盐由本所杨兆祥合成。柳氮磺吡啶用 2% 阿拉伯树胶配成 3.15% 和 8.4% 混悬液。Wistar albino 大鼠由昆明医学院提供, 昆明杂交种小鼠由中国科学院昆明动物研究所及本厂动物室供给。

合笼交配试验 大鼠, 体重 240 ± s 5 g, 小鼠, 体重 26.6 ± 0.4 g, 均按 1♂2♀合笼, 每天 8:00 对大鼠作阴道涂片, 检查精子, 小鼠检查阴栓, 将查到受精阳性的♀鼠分入各实验组, 以查到精子为妊娠的 d 0。妊娠 d 6-15 给药, 实验分溶媒对照组, 乙酰水杨酸阳性致畸及柳氮磺吡啶对照组和 M-5-AS 两个剂量组, 每组动物 20 只。小鼠 ig M-5-AS, 21, 42, 209, 417 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 柳氮磺吡啶临床有效剂量的 0.6, 1.4, 6.8, 13.6 倍, 大鼠 ig M-5-AS 56, 556 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 为临床有效剂量的 1.8 及 18.2 倍。

小鼠和大鼠分别于 d 18 和 d 20 剖腹, 记

Received 1990 Feb 29

Accepted 1992 Jan 7

¹ Department of Pharmacology, Kunming Medical College, Kunming 650031, China.

录胎仔数、体重、身长、尾长、性别、吸收胎数、胎盘重、死胎数、皮下出血和外观畸形等。1/3仔鼠以 Bouin 氏液固定,作徒手切片检查内脏。2/3胎鼠骨骼用茜素红(alizarin red)染色后用解剖显微镜检查骨骼发育。胎仔骨骼检查重点:枕骨、脊椎骨、肋骨、胸骨和四肢骨的形状、大小及骨化程度,采用组间 *t* 检验统计实验结果⁽³⁾。

RESULTS

M-5-AS 对孕鼠及胎鼠发育的影响

1 小鼠受孕后 d 6-15 ig M-5-AS 21,

42, 209 和 417 mg · kg⁻¹ · d⁻¹, 对胎鼠数、胎鼠体重、胚胎吸收数、皮下出血、死胎的%与正常对照组比较,均无明显差别(Tab 1)。

2 大鼠受孕后 d 6-15 ig M-5-AS 56, 556 mg · kg⁻¹ · d⁻¹, 检查胎鼠数量、身长、尾长、性别、胎盘重、胎仔重、母鼠体重、吸收胎、皮下出血、死胎%,与正常对照组比较,无明显差异。不同剂量在器官形成期给药观察各指标与对照组相近似,差异均不显著(*P*>0.05)(Tab 2)。以致畸阳性药乙酰水杨酸比较,受孕后 d 6-15, ig 乙酰水杨酸 250 mg · kg⁻¹ 连续 10 d, 胚胎吸收数占 49%, 活存

Tab 1. Effects of ig methyl 5-aminosalicylate hydrochloride and sulfasalazine on d 6-12 of pregnancy on pregnant mice and their fetuses. *n*=20, $\bar{x} \pm s$. **P*>0.05, ***P*<0.05 vs saline group.

mg · kg ⁻¹ · d ⁻¹	Saline	Methyl 5-aminosalicylate hydrochloride				Sulfasalazine 410
		21	42	209	417	
Weight of dam / g						
d 0	28.2 ± 0.7	28.2 ± 0.4	21.8 ± 0.4	28.9 ± 0.5	26.6 ± 0.4	26.9 ± 0.5
d 18	45.8 ± 1.4	47.2 ± 1.2*	50.2 ± 1.0*	47.9 ± 1.1*	42.9 ± 0.7*	45.1 ± 1.1*
Fetus number / dam	8.4 ± 0.6	9.2 ± 0.4*	9.6 ± 0.3*	9.1 ± 0.5*	8.3 ± 0.6*	8.8 ± 0.5*
Embryo resorption	0.5 ± 0.6	0.3 ± 0.5*	0.5 ± 0.6*	0.8 ± 0.9*	0.5 ± 0.7*	0.2 ± 0.4*
Dead fetus	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3*	0.2 ± 0.4*	0.1 ± 0.2*	0.1 ± 0.3*	0.1 ± 0.2*
Weight of placenta / mg	200 ± 19	200 ± 10	200 ± 10	200 ± 10	200 ± 10	200 ± 3
Weight of fetus / g	1.40 ± 0.05	1.30 ± 0.04*	1.40 ± 0.04*	1.40 ± 0.06*	1.30 ± 0.04*	1.50 ± 0.04*
Length of body / mm	25.0 ± 0.4	24.0 ± 0.4*	25.0 ± 0.2*	24.0 ± 0.3*	23.0 ± 0.6*	25.0 ± 0.4*
Length of tail / mm	12.00 ± 0.2*	12.00 ± 0.2*	12.00 ± 0.1*	13.00 ± 0.2*	12.00 ± 0.2*	12.00 ± 0.1*

Tab 2. Effects of ig methyl 5-aminosalicylate hydrochloride, sulfasalazine, and aspirin on d 6-12 of pregnancy on pregnant rats and their fetuses. *n*=20, $\bar{x} \pm s$. **P*>0.05, ***P*<0.05, ****P*<0.01 vs saline group.

mg · kg ⁻¹ · d ⁻¹	Saline	Methyl 5-aminosalicylate		Sulfasalazine 1089	Aspirin 250
		56	556		
Weight of dam / g					
d 0	266 ± 5	277 ± 7	240 ± 5	257 ± 5	252 ± 3
d 20	306 ± 7	328 ± 7*	287 ± 7*	282 ± 4***	271 ± 4**
Fetus number / dam	7.8 ± 0.5	8.3 ± 0.5*	7.3 ± 0.6*	5.2 ± 0.4*	3.3 ± 2.2***
Embryo resorption	0.6 ± 0.7	0.3 ± 0.4*	0.2 ± 0.5*	3.3 ± 1.2***	6.3 ± 2.6***
Dead fetus	0.1 ± 0.3	0*	0*	0*	0.2 ± 0.4*
Weight of placenta / mg	700 ± 20	700 ± 20	700 ± 30	900 ± 70	200 ± 20***
Weight of fetus / g	3.70 ± 0.2	3.70 ± 0.1*	3.80 ± 0.1*	3.20 ± 0.2*	1.30 ± 0.05***
Length of body / mm	37.0 ± 0.7	37.0 ± 0.4*	38.0 ± 0.4*	31.0 ± 0.5***	19.00 ± 0.1***
Length of tail / mm	13.0 ± 0.3	13.00 ± 0.2*	14.00 ± 0.2*	13.0 ± 0.3*	8.0 ± 0.3***

胎鼠中 31% 外观畸形, 表现为头顶部正中央矢状缝及鼻三角区凹陷, 54% 骨骼发育不全, 如前后囟过大、枕骨小、第 3 和第 5 对胸骨部分缺少, 胎鼠体重、身长、尾长、性别、胎盘重、母鼠体重与正常对照组比较有显著差异 ($P < 0.01$), 4 只死胎中有 2 只露脑畸形 (Tab 2).

柳氮磺吡啶对胎鼠发育的影响

1 小鼠受孕后 d 6-15 ig 410 mg $\text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 对胎鼠数量、身长、尾长、性别、胎盘重、胎仔重、母鼠体重、死胎、皮下出血、胚胎吸收数和其吸收的%与正常对照组比较, 差异均不显著 (Tab 1).

2 大鼠受孕后 d 6-15 ig 1089 mg $\cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 对胎鼠数量、尾长、性别、胎盘重、胎仔重、皮下出血、死胎%与正常对照组相似, 但有 39% 胚胎被吸收, 子宫腔内可见着床处有 2 mm 大小残存物或有部分残存胎盘及 3-7 mm 直径大的软性灰黄色坏死物. 对身长、母鼠体重、吸收胎%与正常对照组比较差异显著 ($P < 0.01$), 但存活胎鼠都发育正常 (Tab 2).

DISCUSSION

大鼠及小鼠在受孕后的 d 6-15 为组织器官形成期, 对致畸原最为敏感, M-5-AS 以不同剂量给药, 在胚胎毒和畸胎的各项检测指标中, 未出现明显毒性作用, 亦无致畸胎作用. 乙酰水杨酸阳性对照组可引起吸收胎和外观畸形、骨骼发育迟缓和死胎, 是明显的致畸. 由此可见, M-5-AS 在本实验剂量范围内未见对胎仔有不良影响和致畸性.

柳氮磺吡啶 ig 410 mg $\cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 在动物的组织器官形成期给药, 对小鼠胎仔无不良影响, 而大鼠 ig 1089 mg $\cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 胚胎吸收数明显增加, 身长和母鼠体重与正常对照组相比差异显著.

药物能使胚胎死亡吸收和致畸性之间有无

联系? 目前尚缺乏直接证明. 一般说由于胚胎发育快及其代谢上的特征, 尤其在器官形成期, 胚胎对于一些有害于机体的因素对母体较为敏感, 这时给予母体有一定毒性的药物, 就可使胚胎较先中毒, 导致一些胚胎的发育中止, 死亡而被吸收. 这样与通常的中毒死亡的各种可能机制类似, 无何特殊. 若是由于药物对于胚胎的某种器官, 组织有选择性影响, 致使发育后的胎仔的局部器官, 组织发育不足, 缺失或过度, 如影响的是致命性器官且严重时, 也使胚胎发育为致死性异常, 后被吸收. 这时与上所说中毒性胚胎的死亡, 被吸收的表现难以区别. 作者认为有鉴别价值的是: 中毒性胚胎的死亡后被吸收, 通常幸存的胎仔没有解剖学上特殊, 虽然有身长短, 母鼠体重轻, 但不发生畸形. 若是药物对胚胎器官有选择性特异影响, 就会导致存活胎仔的解剖学上异常, 出现畸态. 本实验结果表明柳氮磺吡啶对胚胎的影响属于前者, 柳氮磺吡啶在 ig 1089 mg $\cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 对大鼠引起 39% 的胚胎死亡被吸收的情况下, 其余的活产仔鼠生长, 发育良好, 未见有解剖学上的异常. 表明柳氮磺吡啶和 M-5-AS 对大鼠和小鼠没有明显的致畸作用.

REFERENCES

- 1 Jewell DP, Ulcerative colitis. *Advances in medical treatment*. In: Jewell DP, Gidson PR, editors. *Topics in gastroenterology*; vol 12. Oxford: Blackwell Scientific Publ. 1985: 153-62.
- 2 Liao YZ, Chen ZH, Chen SY, Huang YF, Zhu KQ, Zhuo GZ. Therapeutic effect of methyl 5-aminosalicylate on experimental ulcerative colitis in rabbits. *Acta Pharmacol Sin* 1990; 11: 54-6.
- 3 Xiong JM, Mo YQ, Liang B, Chen ZH, Deng SX. Influences of acetagastrodin on fetuses of mice and rats. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8: 57-9.