

doi: 10.11751/ISSN.1002-1280.2020.10.10

新型非甾体抗炎药物阿司匹林丁香酚酯的研究进展

贾希希, 李剑勇*

(中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 农业农村部兽用药物创制重点实验室, 甘肃省工程重点实验室, 甘肃 兰州 730050)

[收稿日期] 2020-06-08 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 10-0069-07 [中图分类号] S859.79

[摘要] 作为一种新型非甾体抗炎药, 阿司匹林丁香酚酯已被证实具有抗炎、镇痛、抗血管内皮氧化、抗血栓、抗动脉粥样硬化、解热等药理活性。相比前药不仅具有低毒、作用时间长、安全范围广等特性, 而且克服了前药的不良药物性质。本文将就 AEE 目前已经研究的毒理学、药物代谢、药代动力学, 及其抗动脉粥样硬化、抗血栓、抗血管内皮细胞氧化等药理学研究进展进行综述。

[关键词] 阿司匹林丁香酚酯; 阿司匹林; 丁香酚; 抗炎; 抗血管内皮氧化

Advances in the Research of Aspirin Eugenol Ester, A New Non-steroidal Anti-inflammatory Drug

JIA Xi-xi, LI Jian-yong*

(Key Lab of Veterinary Pharmaceutical Development of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Lab of New Animal Drug Project of Gansu Province, Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences of CAAS, Lanzhou 730050, China)

Corresponding author: LI Jian-yong, E-mail: lijy1971@163.com

Abstract: As a new type of non-steroidal anti-inflammatory drug, aspirin eugenol ester has been proved to have anti-inflammatory, analgesic, anti-vascular endothelial oxidation, anti-thrombus, anti-atherosclerosis, antipyretic and other pharmacological activities. compared with the prodrug, it not only has the characteristics of low toxicity, long action time and wide safety range, but also overcomes the adverse drug properties of the prodrug. This article reviews the toxicology, drug metabolism, pharmacokinetics, anti-atherosclerosis, anti-thrombus, anti-oxidation of vascular endothelial cells and other pharmacological research progress of AEE.

Key words: aspirin eugenol ester; aspirin; eugenol; anti-inflammatory; anti-vascular

炎症是机体在生理或病理条件下应对内部或外部刺激所产生的综合性指征, 许多生理过程或疾病发生发展中都有炎症的参与。目前为止, 大量的

抗炎症药物被开发并被用于临床治疗。抗炎药在临床上根据其结构的不同可分为甾体类和非甾体类抗炎药 (Nonsteroidal anti-inflammatory drugs,

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31872518)

作者简介: 贾希希, 硕士研究生, 从事兽用药物的代谢转化与动力学研究。

通讯作者: 李剑勇。E-mail: lijy1971@163.com

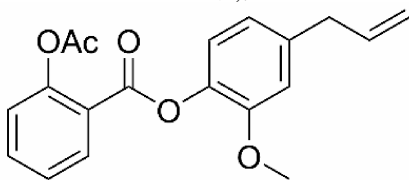
NSAID)。阿司匹林(Aspirin)是水杨酸盐之后第一个被使用的非甾体抗炎药^[1],其通过不可逆的阻断环氧酶(Cyclo-oxygenase, COX),即前列腺素 H 合酶的活性来干扰机体合成环状前列腺素-血栓素 A₂ (Thromboxane A₂, TXA₂),进而产生抗炎、抗血小板凝集、解热和镇痛的作用^[2-3]。与此同时,阿司匹林也会导致具有正常保护作用的前列腺素功能改变,产生一些副作用,包括胃溃疡、肾功能衰竭、血小板功能受损,导致出血并发症等副作用^[4]。

丁香酚(Eugenol)是一种萜烯类化合物,具有抗炎、解热、抗真菌、抗氧化、抗肿瘤、麻醉和镇痛活性等多种药理活性,但是 Eugenol 在外界环境中所表现出的不稳定性及不良气味限制了其临床应用^[5-13]。

为了更好利用 Aspirin 和 Eugenol 的抗炎等药理活性,并且降低二者产生的不良副作用,中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所研究人员利用药物的结构拼合原理,合成了一种新型药用化合物阿司匹林丁香酚酯(Aspirin eugenol ester, AEE)^[14],研究表明:AEE 在保持 Aspirin 和 Eugenol 药理活性的基础上,屏蔽 Aspirin 的羧基,能降低 Aspirin 进入体内时对胃肠道的刺激等副作用,克服 Eugenol 的刺激性气味和不稳定性。目前已经完成的 AEE 药效学、毒理学、药理学及药代动力学的评价,研究结果表明其具备良好的成药性。

1 AEE 化学结构与理化性质

作为一种嵌合的非甾体类抗炎药物,AEE 是由 Aspirin 的羧基结构和 Eugenol 的酚羟基结合而成的,这使得 AEE 抗炎活性增强,药物作用时间更加持久,本品为白色无味结晶状固体,其结构如图 1 所示。



AEE

图 1 AEE 的结构式

Fig 1 Structure of AEE

2 AEE 毒理学研究

2.1 急性毒性 赵晓乐等人^[15]的大鼠口服 AEE 急性毒性研究表明,AEE 的半数致死量(LD₅₀)为 5.95 g/kg,其置信范围是 5.30~6.68 g/kg,大鼠分别灌服 4.03、5.00、6.20、7.69、9.53 g/kg 的 AEE; 2 h 后,7.69 和 9.53 g/kg 剂量组的大鼠精神萎靡,4 h 后 5.00 和 6.20 g/kg 剂量组的一些大鼠出现了倦怠蜷缩、呼吸频率加快,并且伴有食欲减退和饮水减少,20 h 后 6.20、7.69 g/kg 和 9.53 g/kg 剂量组的大鼠出现了死亡的情况,48 h 后 4.03 和 5.00 g/kg 剂量组的大鼠也发生了死亡的情况。大鼠灌服剂量为 5.00 g/kg 以上的 AEE 时,病理学分析体内各脏器组织,其中肾脏、肝脏和胃肠道等器官表现出明显的病理损伤。可以推断,肾脏、肝脏和胃肠道是 AEE 毒性作用的主要靶器官。

2.2 连续口服 15 d 毒性 大鼠灌胃给予剂量为 50、1000 和 2000 mg/kg/d 的 AEE 15 d 后,结果显示 50 mg/kg/d 的 AEE 对受试大鼠无毒性,反复暴露于 1000 mg/kg/d 或 2000 mg/kg/d 的 AEE 后,在雄性和雌性大鼠中均观察到血糖、天冬氨酸转氨酶、碱性磷酸酶,丙氨酸转氨酶和总胆红素的水平发生了明显变化,且成剂量依赖性^[16]。李剑勇等人通过鼠伤寒沙门氏菌诱变试验(Ames)和小鼠骨髓微核试验的两种标准遗传毒性试验评估了 AEE 的遗传毒性。结果表明,AEE 在体内或体外均无遗传毒性^[17]。

2.3 慢性毒性 赵晓乐等人将大鼠分为低(4.5 mg/kg/d)、中(18.0 mg/kg/d)、高(683.0 mg/kg/d)三个剂量组灌服 AEE,与溶媒对照组各项指标进行比较。结果显示,低剂量组的大鼠与溶媒对照组比较无明显差异;中剂量组大鼠的极个别指标与溶媒对照组有明显差异;高剂量组中的大鼠体重、脏器系数和血液指标与溶媒对照组有明显的差异。AEE 长期给药的安全剂量大于 18 mg/kg/d,肝脏和肾脏是 AEE 毒性作用的主要靶器官^[18]。

2.4 生殖毒性^[19] AEE 的生殖毒性研究表明,亲代大鼠灌服剂量为 498 mg/kg/d 的 AEE 时,雄性大鼠的生殖指标如睾丸和附睾系数相比于正常对照

组较高,并且影响了胎鼠的生长和发育;在该条件下,AEE 的灌服剂量为 31.1 mg/kg/d 时,可作为大鼠生殖毒性的最小无损害作用剂量;灌服剂量为 124.5 mg/kg/d 时,可作为大鼠生殖毒性的最大无损害作用剂量。

3 AEE 代谢研究

3.1 体内外的代谢研究 沈友明等人^[20]在体外采用犬肝微粒体代谢的研究方法,鉴定出 AEE 的 5 种主要代谢产物,分别为水杨酸(Salicylic acid, SA)和 Eugenol 及 Eugenol 的 3 种代谢物。犬的体内代谢研究表明,SA 在尿液和血浆均以较高浓度存在。推测 SA 是 AEE 在犬体内的主要代谢产物,并可能是 AEE 的主要活性物质。水杨酸在体内分别发生 I 相代谢生成了龙胆酸,II 相代谢生成了水杨酰甘氨酸、水杨酸酚基葡醛酸苷和水杨酸酰基葡醛酸酯。Eugenol 在体内也分别发生了 I 相代谢,生成了二氢丁香酚、3-(4-羟基-3-甲氧苯基)-丙烷-1,2-二醇、3-(4-羟基-3-甲氧苯基)-丙醇、异丁香酚、3-(4-羟基-3-甲氧苯基)-丙烯基-1,2-环氧乙烷、3-(4-羟基-3-甲氧苯基)-丙酸等代谢物,II 相代谢生成了丁香酚磺酸钠和丁香酚-β-D-葡萄糖苷酸。

大鼠体内的代谢质量平衡研究表明,AEE 的各种代谢物主要通过尿液进行排泄,通过灌胃给予 20 mg/kg 的 AEE,大鼠尿液中以 Aspirin 为母核结构的代谢产物平均回收率 72.26%,以 Eugenol 为母核结构的代谢产物平均回收率为 87.27%^[21]。

3.2 药代动力学研究 健康大鼠空腹灌服 20 mg/kg 的 AEE,其药代动力学研究结果显示:AEE 及其代谢物 Aspirin 在血浆中均无法检出;另一代谢物 Eugenol 体内血药浓度较低未达到定量限。表明了大鼠灌服给药 AEE 后在体内代谢较为迅速,主要由 SA 和 Eugenol 在体内发挥其药理活性^[22],其在大鼠体内的药代动力学参数如表 1。

健康比格犬口服 20 mg/kg 的 AEE 后,因为 AEE 在体内代谢迅速,其在血浆中浓度较低;在血浆中几乎无法检出 Aspirin,能检出浓度较低的 Eugenol;SA 在血浆中的浓度较高,有着较长的半衰

期和较大的药时曲线下面积,其药代动力学参数^[23]如表 2。

表 1 AEE 口服给药 20 mg/kg 后大鼠体内 SA 主要药代动力学参数 (n=12)

参数	Mean ± SD
AUC/(h · ng · mL ⁻¹)	51046.37 ± 15570.51
K01_HL/h	2.01 ± 1.07
K10_HL/h	6.56 ± 3.52
CL_F/(mL · h ⁻¹)	432.01 ± 148.41
T _{max} /h	4.35 ± 1.09
C _{max} /(ng · mL ⁻¹)	3356.90 ± 1120.37

表 2 AEE 口服给药 20 mg/kg 后犬体内 SA 主要药代动力学参数 (n=6)

参数	Mean ± SD
AUC/(h · ng · mL ⁻¹)	62009.9 ± 10115.44
K01_HL/h	1.37 ± 0.11
K10_HL/h	21.77 ± 13.8
CL_F/(mL · h ⁻¹)	140.86 ± 24.65
T _{max} /h	2.06 ± 0.11
C _{max} /(ng · mL ⁻¹)	8661.55 ± 472.99

4 AEE 高效解热研究

叶得河等人^[24]采用大鼠皮下注射 10 mL/kg 生理盐水作为对照组;注射 15% 酵母混悬液 10 mL/kg 建立发热模型,将其分为 AEE(0.32、0.48、0.65 g/kg)、Aspirin(0.27 g/kg)和 Eugenol(0.24 g/kg)三个口服给药组及口服 0.5% CMC-Na 的发热组。记录口服给药后 2、4、6 h 后的大鼠体温,并于 6 h 后采集大鼠血液及脑组织,利用酶联免疫法(ELISA)测定发热大鼠腹中隔区和血浆中的精氨酸加压素(AVP),以及下丘脑中和血浆中的环磷酸腺苷(cAMP)的含量。结果显示 AEE 给药组的大鼠发热状况得到了明显的缓解,并且体温显著降低,且降温效果随着剂量增加明显增强。并且相较于等

摩尔的 Aspirin 和 Eugenol,其解热速度更快,作用时间更持久。发热组中下丘脑及血浆中 cAMP 的含量与腹中隔区、血浆中 AVP 含量较对照组高,与发热组相比,给药组腹中隔区中 AVP 含量明显下降,而血浆中的 AVP 明显升高,下丘脑中的 cAMP 的含量明显降低,血浆中的 cAMP 含量变化不明显。AEE 的解热作用机制可能是通过改变下丘脑中 cAMP 及腹中隔区、血浆中 AVP 含量而发挥作用。

5 AEE 抗炎、抗血栓研究

马宁等人^[25]将健康大鼠分为 AEE、Aspirin、Eugenol 及 Aspirin 和 Eugenol 联合给药等 4 个给药组,以羧甲基纤维素钠(CMC - Na)作为空白对照组,研究 AEE 对炎症和血栓形成相关的 5 种蛋白的影响,包括环氧化酶 1(COX - 1)、环氧化酶 2(COX - 2)、C 反应蛋白(C reactive protein, CRP)、凝血酶原(FII)和花生四烯酸 5 - 脂氧合酶(Arachidonic acid 5 - lipoxygenase, ALOX5)。健康大鼠灌胃给药 7 d 后,采集血样,利用 ELISA 测定蛋白质浓度。结果显示,与 CMC - Na 组和 Aspirin 组相比,AEE 组的关键内源性生物活性酶浓度明显降低($P < 0.01$)。对 5 种蛋白质的药效强度比较中,AEE 组均强于 Aspirin 组和 Eugenol 组。从化学 - 蛋白质相互作用的角度看,AEE 具有良好的抗炎、抗血栓作用,并且较 Eugenol 和 Aspirin 作用更强。申栋帅等人^[26-28]对 AEE 的抗血栓药理活性研究表明,AEE 通过抑制 TXA_2 的产生来抑制血小板的聚集,同时降低胞内钙离子浓度,最终对细胞外信号调节激酶(ERK2)的活性产生抑制,继而又抑制蛋白激酶/细胞沉默调节蛋白 1(AMPK/Sirt 1)通路,导致 CD40 配体(CD40L)表达降低,从而抑制 ATP 释放及磷脂酰肌醇 3 - 激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)通路和 c - Jun 氨基末端激酶(JNK1)磷酸化。

6 AEE 抗动脉粥样硬化研究

动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)是一个涉及多种细胞类型和细胞因子的一种主动脉慢性炎症性疾病^[29],其主要的病理性变化是动脉部分脂质沉积并伴有平滑肌细胞和纤维基质增生,而后逐

渐发展形成动脉粥样硬化斑块^[30-33],它是导致冠状动脉疾病、外周动脉疾病和中风和疾病的重要原因^[34]。鉴于大量动物实验模型中的数据表明炎症细胞在动脉粥样硬化及其并发症中所起的重要作用,使用抗炎药物治疗动脉粥样硬化等心血管疾病可能是一个有吸引力的策略^[35]。

6.1 AEE 抗动脉粥样硬化的代谢组学研究 马宁等人^[36-38]应用基于 UPLC - Q - TOF/MS 的研究方法,对高脂饮食(High - fat diet, HFD)诱导的金黄地鼠动脉粥样硬化模型的血浆和尿液进行代谢组学评价,研究 AEE 抗动脉粥样硬化的作用机制。同时观察大鼠体重增长、血生化指标、动脉粥样硬化指数(Atherosclerosis index, AI)及主动脉、胃、肝组织病理学变化。结果表明,AEE 能显著降低 HFD 诱导的金黄地鼠体重增加,减少肝细胞过多的脂肪堆积,使紊乱的血生化正常,改善主动脉病变以及显著影响血浆和尿液的代谢状况。HFD 诱导的金黄地鼠模型给予 AEE 干预后,代谢组学研究表明,与甘油磷脂代谢、核黄素代谢、氨基酸代谢、能量代谢、泛酸和辅酶 A 生物合成等相关的整体代谢紊乱得到改善。

6.2 AEE 预防血栓的研究 生物信息学分析及差异蛋白的生物学功能的探讨,揭示了 AEE 对角叉菜胶诱导的大鼠尾部血栓的蛋白表达影响,表明 AEE 主要通过改善三羧酸循环(Tricarboxylic acid cycle, TCA)、柠檬酸代谢(Citrate metabolic process)等能量代谢过程来抑制血栓的形成和发展。AEE 预防血栓的蛋白质组学结果显示,其主要通过调节缺氧诱导因子(Hypoxia inducible factors, HIF - 1)、促分裂原活化蛋白激酶(Mitogen activated protein kinase, MAPK)、以及 Hippo 等信号通路和抑制血小板激活、改善凝血级联反应和补体等发挥了预防血栓形成的作用^[39]。

6.3 AEE 抗高脂血症研究 Karam 等人研究表明,大鼠连续 6 周灌服日剂量为 54 mg/kg BW 的 AEE 可显著降低高脂饮食大鼠的总胆固醇(Total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)和低密度脂蛋白(Low density lipoprotein, LDL)的水平,减

缓体重增加速度^[40,41]

7 AEE 抗血管内皮氧化研究

7.1 AEE 抗血管内皮氧化损伤的药效学研究 通过 H₂O₂ 诱导人脐静脉内皮细胞 (Human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 建立了体外的 HUVECs 氧化损伤模型, 及 HFD 饲喂大鼠诱导的动脉粥样硬化模型。结果表明模型组与正常组相比, AEE 对 HUVECs 氧化损伤模型和大鼠动脉粥样硬化模型起到了干预作用, 显示出良好的抗血管内皮氧化损伤的药理活性。

7.2 AEE 对氧化损伤血管内皮细胞线粒体-溶酶体轴的调节研究 黄美州等人^[42]将 HUVECs 分为 AEE 预孵育处理组和未处理组后分别给予 H₂O₂。在 AEE 预先孵育的 HUVECs 中, 显示了 H₂O₂ 诱导的丙二醛 (MDA) 水平降低, AEE 预处理 HUVECs 可提高谷胱甘肽/氧化性谷胱甘肽 (GSH/GSSG) 比值及超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性, 降低了 H₂O₂ 对抗氧化系统的损伤。AEE 能够有效地降低 H₂O₂ 诱导的溶酶体和线粒体功能损伤, 从而使下降的线粒体膜电位得到提升, 线粒体中的细胞色素 C (Cytochrome C) 释放减少, 细胞及线粒体内的活性氧 (ROS) 积累降低。AEE 干预后, 失衡的细胞抗凋亡和促凋亡机制得到了显著改善。AEE 预孵育组细胞内 Bcl2 表达量显著高于 H₂O₂ 处理组。过表达或抑制 Bcl2 的实验结果表明: 在 AEE 抗细胞氧化损伤中的调节机制中, Bcl2 发挥着关键作用。

7.3 AEE 对氧化损伤血管内皮细胞 NO 黏附分子表达的影响 黄美州等人^[43]将 HUVECs 用 H₂O₂ 处理后, 显著扰乱细胞内的一氧化氮 (NO) 调节系统, 其主要包括较正常组细胞 NO 的产生量显著提高, 诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 的表达及活性显著升高, 内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 的活性显著下降。HUVECs 在经过 H₂O₂ 处理后核因子 E-2-相关因 2 (Nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2) 的表达显著下调。H₂O₂ 诱导的 HUVECs 在经 AEE 处理后, 其 NO 调节系统失调的现象得到显著改善。HUVECs 的 Nrf2 通过基因干预手段过表达或

抑制后, 进一步验证了 Nrf2 在 AEE 预防 H₂O₂ 诱导的 NO 调节系统失调中的重要作用。氧化损伤血管内皮细胞上的相关黏附分子发生了显著地变化, 其中血管细胞黏附因子 1 (VCAM-1) 和 E-选择素 (E-selectin) 在损伤的血管内皮细胞上的表达显著地升高, 而且体内和体外血管内皮氧化损伤模型由 AEE 干预后, 损伤的血管内皮细胞上 E-selectin 的表达显著下调。体外的细胞粘附试验结果表明: AEE 能够有效地降低氧化损伤的 HUVECs 对巨噬细胞 (THP-1) 的黏附。

7.4 AEE 对氧化损伤血管内皮细胞代谢组学的影响 黄美州等人^[44]通过比较未处理的 HUVECs 与加入 H₂O₂ 或 AEE 的 HUVECs 代谢产物水平的差异, 通过相关生物学数据库对三个处理组的 HUVECs 代谢物进行多元统计分析, 发现了 8 种差异细胞代谢物。在细胞上清液中发现 3 种差异代谢物, 分别涉及到细胞的氨基酸代谢、能量代谢、辅因子和维生素的代谢, 它们在细胞的损伤修复调控、抗氧化和能量供应中发挥着重要作用。由此证明了 AEE 保护血管内皮细胞的作用, 主要是通过增强抗氧化和血管修复能力来抑制巨噬细胞与内皮细胞的粘附来实现的。AEE 对粘附分子的抑制作用与血管内皮细胞代谢的改善和血管内皮细胞氧化应激的降低有关。

8 展 望

AEE 作为一种新型非甾体抗炎药, 已经证实具有良好的抗炎、抗血栓、抗动脉粥样硬化、抗氧化、解热和镇痛等药理活性。除了目前已经揭示的 AEE 具有抗动脉粥样硬化、抗血栓, 抗血管内皮氧化等药物作用机制外, 其更多的药理活性及相关作用机制如 iNOS 和 Nrf2 在 AEE 对血管内皮细胞氧化损伤保护作用中的相互关系, AEE 对血管内皮氧化损伤的代谢组学研究中, 其如何调控可能干预的代谢通路及抗氧化应激中线粒体和溶酶体的相互调控作用仍需进一步的研究和揭示。AEE 已被初步证实具有抗高脂血症的作用, 但其如何起到抗高脂血症的机制还有待进一步研究。AEE 口服后在胃肠道的吸收和转运机制也有待揭示。了解 AEE

在胃肠道内的吸收与转运机制,有助于对 AEE 口服给药的全面的认识,为 AEE 的临床应用提供理论依据。

参考文献:

- [1] Vane J. The evolution of non-steroidal anti-inflammatory drugs and their mechanisms of action[J]. *Drugs* 1987,33 Suppl 1:18-27.
- [2] Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs[J]. *Nature: New biology* 1971, 231(25):232-235.
- [3] Patrono C, Garcia Rodriguez L A, Landolfi R, et al. Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis[J]. *The New England journal of medicine*,2005,353(22):2373-2383.
- [4] Awtry E H, Loscalzo J. Aspirin. *Circulation* 2000,101(10):1206-1218.
- [5] Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, et al. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review[J]. *Phytotherapy research; PTR*,2007,21(6):501-506.
- [6] Kim S S, Oh O J, Min H Y, et al. Eugenol suppresses cyclooxygenase-2 expression in lipopolysaccharide-stimulated mouse macrophage RAW264.7 cells[J]. *Life sciences* 2003; 73(3):337-348.
- [7] Nagababu E, Lakshmaiah N. Inhibition of microsomal lipid peroxidation and monooxygenase activities by eugenol. *Free radical research*,1994,20(4):253-266.
- [8] Dervis E, Yurt Kilcar A, Medine EI, et al. In Vitro Incorporation of Radioiodinated Eugenol on Adenocarcinoma Cell Lines (Caco2, MCF7, and PC3)[J]. *Cancer biotherapy & radiopharmaceuticals*,2017,32(3):75-81.
- [9] Darvishi E, Omid M, Bushehri A A, et al. The antifungal eugenol perturbs dual aromatic and branched-chain amino acid permeases in the cytoplasmic membrane of yeast[J]. *PLoS one*, 2013,8(10):e76028.
- [10] Dai J P, Zhao X F, Zeng J, et al. Drug screening for autophagy inhibitors based on the dissociation of Beclin1-Bcl2 complex using BiFC technique and mechanism of eugenol on anti-influenza A virus activity[J]. *PLoS one*,2013,8(4):e61026.
- [11] Taher Y A, Samud A M, El-Taher F E, et al. Experimental evaluation of anti-inflammatory, antinociceptive and antipyretic activities of clove oil in mice[J]. *The Libyan journal of medicine*, 2015,10:28685.
- [12] Tsuchiya H. Anesthetic Agents of Plant Origin: A Review of Phytochemicals with Anesthetic Activity[J]. *Molecules (Basel, Switzerland)*,2017,22(8).
- [13] Baldissierotto B, Parodi T V, Stevens E D. Lack of postexposure analgesic efficacy of low concentrations of eugenol in zebrafish[J]. *Veterinary anaesthesia and analgesia*,2018,45(1):48-56.
- [14] Li J, Yu Y, Wang Q, et al. Synthesis of aspirin eugenol ester and its biological activity[J]. *Medicinal Chemistry Research*, 2012,21(7):995-999.
- [15] 赵晓乐,孔晓军,马宁,等.阿司匹林丁香酚酯对大鼠的急性毒性研究[J]. *中国畜牧兽医*,2017,44(07):2178-2184.
- [16] Li J, Yu Y, Yang Y, et al. A 15-day oral dose toxicity study of aspirin eugenol ester in Wistar rats[J]. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*,2012,50(6):1980-1985.
- [17] Li J, Kong X, Li X, et al. Genotoxic evaluation of aspirin eugenol ester using the Ames test and the mouse bone marrow micronucleus assay[J]. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*,2013,62:805-809.
- [18] 赵晓乐.阿司匹林丁香酚酯对大鼠的急性毒性、慢性毒性和一代繁殖毒性研究[D]. *中国农业科学院*,2017.
- [19] 赵晓乐,孔晓军,李剑勇,等.阿司匹林丁香酚酯的一代繁殖毒性研究[J]. *中国兽药杂志*,2017,51(02):54-58.
- [20] Shen Y, Liu X, Li J, et al. In vivo and in vitro metabolism of aspirin eugenol ester in dog by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Biomedical chromatography: BMC*,2015, 29(1):129-137.
- [21] 周豪. AEE 大鼠体内的动力学特征及代谢质量平衡研究[D]. *甘肃农业大学*,2018.
- [22] 周豪,杨亚军,孔晓军,等.阿司匹林丁香酚酯在大鼠体内的代谢动力学研究[J]. *中国兽药杂志*,2018,52(08):31-37.
- [23] 沈友明. AEE 在犬体内外的代谢转化与动力学研究[D]. *中国农业科学院*,2014.
- [24] 叶得河,于远光,李剑勇,等.阿司匹林丁香酚酯的高效解热作用及作用机制[J]. *中国药理学与毒理学杂志*,2011,25(02):151-155.
- [25] Ma N, Yang G Z, Yang Y J, et al. Impact of Aspirin Eugenol Ester on Cyclooxygenase-1, Cyclooxygenase-2, C- Reactive Protein, Prothrombin and Arachidonate 5-Lipoxygenase in Healthy Rats[J]. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*,2017,16(4):1443-1451.
- [26] Shen D S, Yang Y J, Kong X J, et al. Aspirin eugenol ester inhibits agonist-induced platelet aggregation in vitro by regulating

- PI3K/Akt, MAPK and Sirt 1/CD40L pathways [J]. European journal of pharmacology, 2019, 852: 1 - 13.
- [27] Ma N, Liu X W, Li J Y, *et al.* Preventive Effect of Aspirin Eugenol Ester on Thrombosis in kappa - Carrageenan - Induced Rat Tail Thrombosis Model [J]. PloS one, 2015, 10(7): e0133125.
- [28] Ma N, Liu X W, Yang Y J, *et al.* Evaluation on antithrombotic effect of aspirin eugenol ester from the view of platelet aggregation, hemorheology, TXB2/6 - keto - PGF1alpha and blood biochemistry in rat model [J]. BMC veterinary research, 2016, 12(1): 108.
- [29] Geovanini G R, Libby P. Atherosclerosis and inflammation: overview and updates [J]. Clinical science (London, England; 1979), 2018, 132(12): 1243 - 1252.
- [30] Glass C K, Witztum J L. Atherosclerosis. The road ahead [J]. Cell, 2001, 104(4): 503 - 516.
- [31] Garcia de Tena J. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease [J]. The New England journal of medicine, 2005, 353(4): 429 - 430; author reply 429 - 430.
- [32] Libby P. Inflammation in atherosclerosis [J]. Nature, 2002, 420(6917): 868 - 874.
- [33] Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease [J]. The New England journal of medicine, 1999, 340(2): 115 - 126.
- [34] Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis; pathogenic and regulatory pathways [J]. Physiological reviews, 2006, 86(2): 515 - 581.
- [35] Zhu Y, Xian X, Wang Z, *et al.* Research Progress on the Relationship between Atherosclerosis and Inflammation [J]. Biomolecules, 2018, 8(3): 80.
- [36] Ma N, Yang Y, Liu X, *et al.* UPLC - Q - TOF/MS - based metabonomic studies on the intervention effects of aspirin eugenol ester in atherosclerosis hamsters [J]. Scientific reports, 2017, 7(1): 10544.
- [37] Ma N, Liu X, Kong X, *et al.* Feces and liver tissue metabonomics studies on the regulatory effect of aspirin eugenol ester in hyperlipidemic rats [J]. Lipids in health and disease, 2017, 16(1): 240.
- [38] Ma N, Karam I, Liu X - W, *et al.* UPLC - Q - TOF/MS - based urine and plasma metabonomics study on the ameliorative effects of aspirin eugenol ester in hyperlipidemia rats [J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2017, 332: 40 - 51.
- [39] 马宁. 阿司匹林丁香酚酯干预动脉粥样硬化和预防血栓的作用及其基于组学的机制 [D]. 中国农业科学院, 2018.
- [40] Karam I, Ma N, Li J - Y, *et al.* Regulation effect of Aspirin Eugenol Ester on blood lipids in Wistar rats with hyperlipidemia. BMC veterinary research, 2015, 11: 217 - 217.
- [41] Karam I, Ma N, Liu X W, *et al.* Lowering effects of aspirin eugenol ester on blood lipids in rats with high fat diet [J]. Lipids in health and disease, 2016, 15(1): 196.
- [42] Huang M Z, Yang Y J, Li J Y, *et al.* Aspirin Eugenol Ester Reduces H2O2 - Induced Oxidative Stress of HUVECs via Mitochondria - Lysosome Axis [J]. Oxidative medicine and cellular longevity, 2019, 2019: 8098135.
- [43] Huang M Z, Yang Y J, Li J Y, *et al.* Aspirin eugenol ester attenuates oxidative injury of vascular endothelial cells by regulating NOS and Nrf2 signalling pathways [J]. British journal of pharmacology, 2019, 176(7): 906 - 918.
- [44] Huang M Z, Lu X R, Li J Y, *et al.* Cellular Metabolomics Reveal the Mechanism Underlying the Anti - Atherosclerotic Effects of Aspirin Eugenol Ester on Vascular Endothelial Dysfunction [J]. International journal of molecular sciences, 2019, 20(13).

(编辑:陈希)