

monocytes involves the Raf- I /MEK1-MEK1/ERK1-ERK2 pathway[J]. *Infect Immun*, 1999,67(8):3824-3829.

assignment[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999,96:4518-4523.

[7] Myokai F, Takashiba S, Lebo R, et al. A novel lipopolysacch-aride-induced transcription factor regulating tumor necrosis factor  $\alpha$  gene expression: molecular cloning, sequencing, character-ization and chromosomal

[8] 汪新民,方东海,彭代智,等. 烧伤后小鼠腹腔巨噬细胞肌醇脂质信号系统的变化的实验研究[J]. *中国烧伤创疡杂志*,2000,1(1):1-3.

# 牛磺熊去氧胆酸镇静与镇痛作用的动物实验

李继珩,刘士忠,姚文庄

(中国药科大学生物制药教研室,南京 210009)

[摘要] 目的:为开发新药牛磺熊去氧胆酸(TUDCA)提供实验依据。方法:以正位反射消失为指标,通过热板试验法观察 TUDCA 的镇痛作用,并以熊去氧胆酸(UDCA)为阳性对照品。结果:75 mg·kg<sup>-1</sup>实验组小鼠入睡时间较对照组及阳性对照组显著缩短,苏醒时间显著延长,实验组小鼠睡眠率亦远高于对照组和阳性对照组。镇痛实验表明,实验组给药 5 min 后痛阈值显著提高,阳性对照组给药 20 min 后才产生痛阈值显著提高。结论:TUDCA 具有显著的镇静与镇痛作用。

[关键词] 镇静作用;镇痛作用;牛磺熊去氧胆酸;熊去氧胆酸

[中图分类号] R971;R965.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2002)01-0011-02

## An Experimental Study of the Sedative and Analgesic Effects of Tauroursodeoxycholic Acid

LI Ji-heng, LIU Shi-zhong, YAO Wen-zhuang( *Department of Biopharmaceutics, Chinese Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China* )

**ABSTRACT Objective:** To lay experimental foundation for the development of tauroursodeoxycholic acid(TUDCA) as a new remedy. **Methods:** The disappearance of the righting reflex was used as the index of the sedative effect of TUDCA while its analgesic one was identified with the hot plate test. ursodeoxycholic acid(UDCA) was used as a positive control drug throughout the experiments. **Results:** The times of falling asleep and waking up in mice of the test group (5 mg·kg<sup>-1</sup> of TUDCA per mouse) were significantly shorter and longer respectively, than those in mice of the negative control group and the UDCA (positive control) groups. The rate of sleeping in mice of the test group was also much higher than those of the two control groups. It was shown by analgesic experiments that the pain threshold in mice of the test group was apparently elevated 5 minutes after the TUDCA administration, while a rise of the pain threshold in mice of the positive control group was seen not until 20 minutes alter UDCA was used. **Conclusion:** TUDCA is found to have dramatic sedative and analgesic effects.

**KEY WORDS** Sedative effect; Analgesic effect; Tauroursodeoxycholic acid; Ursodeoxycholic acid

牛磺熊去氧胆酸(tauroursodeoxycholic acid, TUDCA) 是人、鼠、熊及其他多种动物胆汁中的结合型胆汁酸<sup>[1]</sup>,熊科动物胆汁中含量最高,具有抑制胰蛋白酶活性<sup>[2]</sup>及抗炎<sup>[3]</sup>等多种生理药理作用。我们对 TUDCA 的镇静及镇痛作用进行了动物实验,为开发新药提供理论及实验依据。

### 1 材料与方法

1.1 试剂与材料 TUDCA(本室合成);熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA,阳性对照品,日本进口原料药);戊巴比妥钠(上海化学试剂公司分装厂);各种试验用药均用 0.9% 氯化钠溶液配制成相应浓度,并调节 pH 至 7.0 左右。昆明种健康小鼠(江苏省动物实验中心提供)。

### 1.2 实验方法

1.2.1 TUDCA 与戊巴比妥钠协同镇静作用的实验 取体重 18~22 g 健康小白鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,于 20℃(室温)下,对照组肌肉注射 0.9% 氯化钠溶液(NS)每 10 g 体重 0.1 mL,20 min 后腹腔内注

[收稿日期] 2001-06-01

[作者简介] 李继珩(1939-),男,江苏宿豫人,教授,博士生导师。

射戊巴比妥钠 35 mg·kg<sup>-1</sup>;阳性对照组分别肌肉注射 UDCA 100 及 200 mg·kg<sup>-1</sup>,5 min 后腹腔内注射戊巴比妥钠 35 mg·kg<sup>-1</sup>;实验组分别肌肉注射 TUDCA 75 及 150 mg·kg<sup>-1</sup>,5 min 后腹腔内注射戊巴比妥钠 35

mg · kg<sup>-1</sup>, 以正位反射消失为观察指标, 记录小鼠入睡及苏醒时间并进行 *t* 检验<sup>[4]</sup>。

1.2.2 TUDCA 对阈下剂量戊巴比妥钠协同镇静作用的实验 取体重 18 ~ 22 g 健康雄性小鼠 150 只, 随机分为 5 组, 每组 30 只, 于 22℃ (室温) 下, 对照组肌肉注射 0.9% 氯化钠溶液每 10 g 体重 0.1 mL, 5 min 后腹腔内注射戊巴比妥钠 30 mg · kg<sup>-1</sup>; 阳性对照组分别口服 UDCA 100 及 200 mg · kg<sup>-1</sup>, 20 min 后, 腹腔内注射戊巴比妥钠 30 mg · kg<sup>-1</sup>; 实验组分别肌肉注射 TUDCA 75 及 150 mg · kg<sup>-1</sup>, 5 min 后腹腔内注射戊巴比妥钠 30 mg · kg<sup>-1</sup>, 以正位反射消失为观察指标, 记录 15 min 内睡眠的小鼠数, 计算睡眠率并进行 *t* 检验<sup>[4]</sup>。

1.2.3 TUDCA 镇痛作用的实验 采用热板镇痛法, 取在 (55 ± 1)℃ 的热板上 30 s 内有痛觉的体重 18 ~ 22 g 健康昆明种雌性小鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 实验前测出每组正常痛觉感受时间, 以在 (55 ± 1)℃ 热板上以舔足掌为观察指标。对照组肌肉注射 0.9% 氯化钠溶液每 10 g 体重 0.1 mL; 阳性对照组分别口服 UDCA 100 及 200 mg · kg<sup>-1</sup> 后, 每间隔 5 min 测其痛觉感受时间; 实验组分别肌肉注射 TUDCA 75 及 150 mg · kg<sup>-1</sup> 后, 每间隔 5 min 测其痛觉感受时间, 按下式分别计算各组痛阈提高率<sup>[5]</sup>。

$$\text{痛阈提高率}(\%) = \frac{\text{给药后痛觉感应时间} - \text{给药前痛觉感应时间}}{\text{给药前痛觉感受时间}} \times 100\%$$

## 2 结果

### 2.1 TUDCA 的镇静作用

#### 2.1.1 TUDCA 与戊巴比妥钠对小鼠的协同镇静作用

实验组和阳性对照组 TUDCA 与戊巴比妥钠对小鼠的协同镇静作用结果见表 1。由表 1 可知, 低剂量实验组动物入睡时间 (5.1 ± 1.1) min, 远较对照组 (13.2

表 1 TUDCA 与戊巴比妥钠对小鼠的协同镇静作用  $\bar{x} \pm s$

组别	剂量 mg · kg <sup>-1</sup>	入睡时间		苏醒时间	
		min	min	min	min
NS	0.01 mL · g <sup>-1</sup>	13.2 ± 2.7		21.2 ± 7.5	
UDCA	100	10.4 ± 1.9 <sup>*1</sup>		23.1 ± 7.8	
UDCA	200	8.5 ± 1.8 <sup>*2, *3</sup>		22.3 ± 5.2	
TUDCA	75	5.1 ± 1.1 <sup>*2, *4, *5</sup>		31.1 ± 4.5 <sup>*1, *3, *6</sup>	
TUDCA	150	3.8 ± 0.6 <sup>*2, *4, *5, *7</sup>		30.4 ± 7.5 <sup>*1, *3, *6</sup>	

表 3 TUDCA 对小鼠的热板镇痛实验结果

组别	剂量 mg · kg <sup>-1</sup>	痛阈提高率/%					
		5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	35 min
NS	0.01 mL · g <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0
UDCA	100	-	3.35 ± 5.12	-	57.1 ± 22.6	-	0.06 ± 0.18

注: 与对照组比较 <sup>\*1</sup>*P* < 0.05, <sup>\*2</sup>*P* < 0.01, 与小剂量阳性对照组比较 <sup>\*3</sup>*P* < 0.05, <sup>\*4</sup>*P* < 0.01, 与大剂量阳性对照组比较 <sup>\*5</sup>*P* < 0.01, <sup>\*6</sup>*P* < 0.05, 与小剂量实验组比较 <sup>\*7</sup>*P* < 0.01

± 2.7) min 和高剂量阳性对照组 (8.5 ± 1.8) min 为短, 且苏醒时间 (31.1 ± 4.5) min 较对照组 (21.2 ± 7.5) min 和高剂量阳性对照组 (22.3 ± 5.3) min 显著延长。

2.1.2 TUDCA 与阈下剂量戊巴比妥钠的协同镇静作用 TUDCA 和 UDCA 与阈下剂量戊巴比妥钠的协同镇静作用的结果见表 2。由表 2 可知, 低剂量实验组动物睡眠率 70.0%, 比对照组和高剂量阳性组分别高 66.7% 和 26.7%, 差异有极显著性 (*P* < 0.01)。

表 2 TUDCA 与阈下剂量戊巴比妥钠对小鼠的协同镇静作用

组别	剂量 mg · kg <sup>-1</sup>	睡眠动		睡眠率	
		物数/只	物数/只	%	%
NS	0.01 mL · g <sup>-1</sup>	1		3.3	
UDCA	100	10		33.3 <sup>*1</sup>	
UDCA	200	13		43.3 <sup>*1, *2</sup>	
TUDCA	75	21		70.0 <sup>*1, *2, *3</sup>	
TUDCA	150	22		73.0 <sup>*1, *2, *3</sup>	

注: 与对照组比较, <sup>\*1</sup>*P* < 0.01, 与小剂量阳性对照组比较, <sup>\*2</sup>*P* < 0.01, 与大剂量阳性对照组比较, <sup>\*3</sup>*P* < 0.01

2.2 TUDCA 的镇痛作用 热板法镇痛实验结果, 实验组与阳性对照组的痛阈提高率如表 3 所示。高剂量和低剂量实验组动物给药 5 min 后就产生显著镇痛作用, 25 min 后仍保持一定镇痛作用, 而阳性对照组给药后 20 min 才产生镇痛作用, 35 min 时作用消失。

UDCA	200	-	0.89 ± 2.53	-	57.5 ± 31.2	-	1.85 ± 2.94
TUDCA	75	48.1 ± 19.2	-	17.0 ± 13.1	-	5.08 ± 11.7	
TUDCA	150	47.8 ± 27.6	-	19.3 ± 15.6	-	4.07 ± 12.2	

### 3 讨论

实验表明, TUDCA 能显著缩短由戊巴比妥钠诱导的小鼠入睡时间, 并能显著延长其睡眠时间。同时, 低剂量 TUDCA 与阈下剂量戊巴比妥钠诱导的小鼠睡眠率远高于对照组和高剂量阳性组, 表明低剂量 TUDCA 就具有显著的镇静作用, 因此可明显提高临床用药的安全度。此外, 热板试验法实验表明 TUDCA 与 UDCA 均有镇痛作用。由表 3 可知, TUDCA 在动物体内发挥镇痛作用时间远比 UDCA 快, 且 TUDCA 高低剂量之间镇痛作用强度差异无显著性。同时经 *t* 检验结果, TUDCA 与 UDCA 两者最高药效之间亦差异无显著性, 但两者作用时程基本一致。不过 TUDCA 发挥镇痛与镇静的作用时间均较 UDCA 快, 可能是 TUDCA 在体内

吸收和转运速度快于 UDCA, 但其镇静与镇痛作用机制有待深入研究。

#### [参考文献]

- [1] 肖崇厚, 主编. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987. 374 - 380.
- [2] 李继珩, 许东, 牟晓虹. 牛磺熊去氧胆酸对胰蛋白酶活性的影响[J]. 中国药科大学学报, 1993, 24(5): 302 - 303.
- [3] 李继珩, 刘士中, 姚文庄, 等. 牛磺熊去氧胆酸急性毒性及抗炎作用[J]. 医药导报, 1998, 17(增刊): 46 - 47.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 主编. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 651 - 659.
- [5] 钱之玉, 主编. 药理学实验与指导[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996. 64 - 67.