

千里光提取物的镇痛作用及致突变性分析*

陈进军^a, 聂芳红^b, 林红英^a, 于增杰^a, 梁志烽^a, 徐晓彬^a, 李 华^a

(广东海洋大学 a 农业生物技术研究所, b 食品科技学院, 广东 湛江 524088)

[摘 要] 将千里光全草粉用体积分数 70% 乙醇浸泡, 经超声波-微波处理, 用乙醚萃取脱色, 冷冻真空干燥, 制备千里光提取物冻干粉(SCE)。以对乙酰氨基酚为对照, 采用醋酸扭体法和热板法研究不同剂量 SCE 的镇痛作用; 采用骨髓微核试验研究不同剂量 SCE 的致突变作用。结果发现, 122.72 mg/kg SCE 具有显著的镇痛作用, 而 130.90 mg/kg SCE 对雌雄小白鼠均不具有致突变作用。说明 122.72~130.90 mg/kg SCE 能同时满足无致突变作用和显著镇痛作用的双重条件。

[关键词] 千里光提取物; 镇痛作用; 微核试验; 致突变作用; 小鼠

[中图分类号] S853.75

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)03-0049-04

Analgesic effect of *Senecio scandens* extract and its mutation test in mice

CHEN Jin-jun^a, NIE Fang-hong^b, LIN Hong-ying^a,
YU Zeng-jie^a, LIANG Zhi-feng^a, XU Xiao-bin^a, LI Hua^a

(a Institute of Agricultural Biotechnology, b Food Science and Technology College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China)

Abstract By marinating ground whole *Senecio scandens* Buch-Ham with 70% (V/V) of ethanol solution, treating it with ultrasonic microwave, and decoloring it with ether, then drying it with frozen vacuum, thus the frozen-vacuum-dried powder of *S. scandens* extract (SCE) was prepared. The analgesic effects of SCE were conducted with the hot-plate test and acetic acid writhing method with a reference of acetaminophen, respectively. And the bone-marrow micronucleus test was conducted to assess the mutagenic effect of SCE. The results showed that SCE at 122.72 mg/kg significantly exerted analgesic effects, while 130.90 mg/kg of SCE did not cause mutagenic effect neither in male nor in female mice. The results above indicated that SCE at 122.72 mg/kg to 130.90 mg/kg can at the same time meet two requirements of performing significant analgesic effects and no mutagenic effect in mice.

Key words: *Senecio scandens* Buch-Ham. extract; analgesic effect; bone-marrow micronucleus test; mutation; mouse

千里光(*Senecio scandens* Buch-Ham.)为菊科千里光属多年生草本植物,是一种清热解毒的中草药^[1],但千里光镇痛作用的研究尚未见报道。另据英国药品与健康管理局(MHRA)报道,千里光属植物含有双稠吡咯啉生物碱(Pyrrolizidine Alkaloids, PA s),会造成肝脏损伤,PA s 对试验动物显现致癌

性、致突变和生殖毒性^[2]。《本草拾遗》称千里光“味苦,平,小毒”,而《本草图经》云“味苦甘,寒,无毒”^[1-2]。陈进军等^[3]检测发现,千里光全草含有生物碱和 PA s,但千里光体积分数 70% 乙醇提取物中未检出 PA s。可见对千里光的毒性认识还不统一。此外,对千里光体积分数 70% 乙醇提取物是否具有致

* [收稿日期] 2006-09-04

[基金项目] 广东省科技攻关计划重点引导项目(2004B20201007); 湛江科技攻关计划项目(湛科[2006]94号)

[作者简介] 陈进军(1967-),男,宁夏中卫人,教授,博士,硕士生导师,主要从事中草药药理学和毒理学研究。

E-mail: jjchen777@yahoo.com.cn

突变性, 尚未见报道。

本试验通过醋酸扭体法和热板法研究了千里光体积分数 70% 乙醇提取物(SCE)对小鼠的镇痛作用, 并利用小鼠骨髓微核试验, 研究了 SCE 的致突变作用, 以期研究千里光中药镇痛剂的制备提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 千里光 千里光于 2006-05 采自广东省湛江市麻章区, 由广东海洋大学农业生物技术研究所鉴定。阴干, 粉碎, 贮存于干燥阴凉处备用。

1.1.2 试剂 无水乙醇、甲醇、乙醚、醋酸、甘油均为国产分析纯; 注射用对乙酰氨基酚(Acetaminophen, A T M P), 苏州长征-欣凯制药有限公司产品; 小牛血清, 长春宝泰克生物制剂公司产品; 注射用环磷酰胺(Cyclophosphamide, CP), 江苏恒瑞医药股份有限公司产品; 吉姆萨储备液(临用时用 pH 6.4 的 1/15 mol/L 磷酸盐缓冲液配成体积分数 10% 应用液)。

1.1.3 主要仪器 洁净工作台(型号: SW-CJ-2F), 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 微波炉(型号: WD700W), 天津 LG 公司; 超声波振荡仪(型号: SB-5200), 宁波新芝仪器研究所; 冷冻干燥机(型号: BENCHTOP), 德国 Virtis 公司; 旋转蒸发器(型号: RE-52), 上海沪西仪器厂; 数字酸度计(型号: PHS-3C), 杭州梵隆仪器有限公司; 高压蒸汽灭菌器(型号: YXQ-SG46-280S), 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 带油镜头生物显微镜, 细胞计数器。

1.1.4 供试动物 昆明种小白鼠, 雌雄兼有, 质量(25±2)g, 购自广东医学院实验动物中心, 动物合格证号: 粤监 2005A 024。雌雄分笼饲养, 室温 22~25℃, 相对湿度 60%~80%, 每日光照 12 h, 无对风流。饲料为广东医学院实验动物中心提供的小鼠全价颗粒料, 自由采食、饮水, 每日更换 1 次饮水, 隔天更换 1 次垫料。饲养观察 1 周后用于试验。

1.2 方法

1.2.1 千里光体积分数 70% 乙醇提取物的制备 将 200 g 千里光全草粉(过孔径 1.00 mm 筛), 用 2 000 mL 体积分数 70% 乙醇浸泡 1 h, 超声(频率: 26 kHz, 每次超声 2 min, 工作间歇: 0.2 s)处理 1 h, 720 W 微波处理 3 min, 取出后再浸泡 24 h, 负压过滤, 加 50 mL 无水乙醇再过滤 1 次, 合并 2 次滤液, 调 pH 至 8.0, 过滤, 滤液调 pH 至 6.0, 旋转蒸发回

收乙醇, 加入 1/3 体积的乙醚萃取 3 次, 置于 4℃ 冷藏 6 h, 取出过滤, 滤液在 -30℃ 预冻 12 h, 再冰冻干燥得千里光体积分数 70% 乙醇提取物冻干粉(SCE), 用生理盐水配成适当浓度的溶液备用。测得 SCE 的 LD_{50} 为 3 927 mg/kg。

1.2.2 醋酸致小白鼠腹痛扭体试验 取健康昆明种雌性小白鼠 15 只, 随机等分为 5 组: 1 组, 每只小白鼠腹腔注射 490.88 mg/kg SCE; 2 组, 每只小白鼠腹腔注射 245.44 mg/kg SCE; 3 组, 每只小白鼠腹腔注射 122.72 mg/kg SCE; 4 组, 每只小白鼠腹腔注射 0.5 mL 生理盐水(Physiological Saline Water, PSW); 5 组, 每只小白鼠腹腔注射 250 mg/kg 对乙酰氨基酚(A T M P)。前 3 组均为试验组, 后 2 组分别为阴性对照组和阳性对照组。完成上述注射步骤 1 h 后, 每只供试小白鼠腹腔注射 0.5 mL 体积分数 0.6% 的醋酸致痛。不同组小白鼠的注射由多人同时进行, 同时记录各组小白鼠 15 min 内的扭体次数^[4], 并用 t 检验进行差异显著性分析。

1.2.3 小白鼠热板法致痛试验 调恒温水浴器温度至 55~56℃, 将一块铁板置于恒温水浴上, 预热 10 min。然后对昆明种小白鼠(雌雄兼有)进行痛阈值筛选(以 5~30 s 内舔足者为及格, 跳跃者弃之不用), 挑选表现及格的 30 只小白鼠随机分成 5 组: 1 组, 每只小白鼠腹腔注射 490.88 mg/kg SCE; 2 组, 每只小白鼠腹腔注射 245.44 mg/kg SCE; 3 组, 每只小白鼠腹腔注射 122.72 mg/kg SCE; 4 组, 每只小白鼠腹腔注射 0.5 mL 生理盐水(PSW); 5 组, 每只小白鼠腹腔注射 250 mg/kg 对乙酰氨基酚(A T M P)。前 3 组均为试验组, 后 2 组分别为阴性对照组和阳性对照组。分别在给药前及给药后 30 和 60 min 测定各组小白鼠的痛阈值。痛阈值为小白鼠从被放到铁板上到其第 1 次舔其后足的时间^[5]。

1.2.4 小白鼠骨髓微核试验 将昆明种小白鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 雌雄各半。1 组, 每只小白鼠腹腔注射 130.90 mg/kg SCE; 2 组, 每只小白鼠腹腔注射 392.70 mg/kg SCE; 3 组, 每只小白鼠腹腔注射 1 309.00 mg/kg SCE; 4 组, 每只小白鼠腹腔注射 0.5 mL 生理盐水(PSW); 5 组, 每只小白鼠腹腔注射 40 mg/kg 环磷酰胺(CP)。前 3 组均为试验组, 后 2 组分别为阴性对照组和阳性对照组。每组小白鼠连续腹腔注射 2 次, 每次间隔 24 h, 在第 2 次给药后 6 h, 将各组小白鼠脱颈处死, 分别取其两侧股骨制骨髓涂片, 将干燥的涂片置于甲醇液中固定 5~10 min, 取出晾干, 固定好的涂片用 1~10

吉姆萨-磷酸盐缓冲液(pH 6.4)染色 20 min, 染色后的涂片放入二甲苯中透明 6 min, 取出后立即滴加中性树胶, 覆以盖玻片后平置, 采用双盲法阅片。每张盖玻片计数 1 000 个嗜多染红细胞(Polychromatic Erythrocyte, PCE), 并计数含微核的嗜多染红细胞数。嗜多染红细胞微核率的计算公式为: 嗜多染红细胞微核率/% = (含微核的嗜多染红细胞数/嗜多染红细胞总数) × 100%^[6-7]。用 *t* 检验比较各组供试小鼠微核率的差异。

2 结果与分析

2.1 SCE 对醋酸致小白鼠腹痛扭体次数的影响

由表 1 可见, 当 SCE 剂量为 490, 88, 245, 44, 122, 72 mg/kg 时, 供试小白鼠的扭体次数分别为 23.67 ± 5.59, 28.00 ± 5.16 和 32.67 ± 9.75, 与阴性对照组(85.67 ± 20.81)相比, 差异均达极显著水平($P < 0.01$); 与阳性对照组(22.67 ± 19.33)相比无显著差异($P > 0.05$)。说明 SCE 的镇痛效果与对乙酰氨基酚相当, SCE 对醋酸致痛有明显的抑制作用, 且 SCE 剂量越高, 其镇痛作用越明显。在试验中还观察到, SCE 较高剂量组小白鼠扭体出现的时间明显比其处理组小白鼠迟, 说明 SCE 不但能减少小鼠的扭体次数, 还能推迟疼痛感出现的时间。

表 1 SCE 对醋酸致小白鼠腹痛扭体次数的影响

Table 1 Influence of SCE on writhing number of used mice induced by acetic acid

| 组别 Group | 扭体次数 Writhing number |
|-------------|-------------------------|
| 1 | 23.67 ± 5.59* |
| 2 | 28.00 ± 5.16* |
| 3 | 32.67 ± 9.75* |
| 4 | 85.67 ± 14.81 |
| 5 | 22.67 ± 4.33* |

注: 数据后标 * 者表示与阴性对照组相比差异达极显著水平($P < 0.01$)。

Note: * means significant difference ($P < 0.01$) from the negative control

2.2 SCE 对热板法致痛小白鼠痛阈值的影响

由表 2 可见, 与给药前相比, 给药 30 min 后试验组小白鼠的痛阈值均有所增加, 但差异均不显著($P > 0.05$), 对乙酰氨基酚组小白鼠的痛阈值显著增加($P < 0.05$)。说明给予 SCE 30 min 后, 其镇痛作用尚不明显, 而此时对乙酰氨基酚已表现出较明显的镇痛作用。给药 60 min 后, 对乙酰氨基酚组小白鼠的痛阈值较给药前显著增加($P < 0.05$), 试验组小白鼠的痛阈值与给药前相比均极显著增加

($P < 0.01$), 且显著高于对乙酰氨基酚组($P < 0.05$), 说明 SCE 需要较长代谢时间才能对小白鼠热板刺激发挥明显的镇痛作用, 且此时 SCE 的镇痛作用强于对乙酰氨基酚。

表 2 SCE 对热板法致痛小白鼠痛阈值的影响

Table 2 Influence of SCE on pain threshold of used mice caused by hot plate

| 组别 Group | 给药前 Before treatment | 给药后 After treatment | |
|-------------|-------------------------|------------------------|---------------|
| | | 30 min | 60 min |
| 1 | 5.76 ± 3.91 | 6.27 ± 1.92 | 12.38 ± 5.5* |
| 2 | 4.68 ± 1.67 | 8.03 ± 2.90 | 13.78 ± 5.84* |
| 3 | 5.12 ± 1.75 | 7.78 ± 2.26 | 12.33 ± 4.87* |
| 4 | 4.87 ± 1.18 | 4.63 ± 1.08 | 12.51 ± 3.08* |
| 5 | 4.79 ± 1.31 | 7.50 ± 2.48** | 9.46 ± 2.50** |

注: 数据后标 ** 者表示与给药前相比差异达显著水平($P < 0.05$), 标 * 者表示与给药前相比差异达极显著水平($P < 0.01$); 标 者表示与对乙酰氨基酚组相比差异达显著水平($P < 0.05$)。

Note: ** means significant difference ($P < 0.05$) and * means significant difference ($P < 0.01$) of the pain thresholds from those before treatment, respectively. 者 means significant difference ($P < 0.05$) of the pain thresholds from those treated with A.T.M.P.

2.3 SCE 对小白鼠嗜多染红细胞微核率的影响

由表 3 可见, 阳性对照组(5 组)雌性小白鼠的骨髓嗜多染红细胞微核率最高, 阴性对照组(4 组)雄性小白鼠的骨髓嗜多染红细胞微核率最低。在雌性小白鼠中, 阴性对照组和 SCE 低剂量组(1 组)小白鼠骨髓细胞微核率与阳性对照组相比, 差异均达极显著水平($P < 0.01$); 2 组和 3 组的小白鼠骨髓细胞微核率与阴性对照组相比, 差异分别达显著($P < 0.05$)和极显著水平($P < 0.01$); 1 组小白鼠骨髓细胞微核率与阴性对照组相比差异不显著($P > 0.05$)。可见在雌性小白鼠中, 中、高剂量的 SCE 能引起小白鼠骨髓细胞微核率升高, 而低剂量(130, 90 mg/kg) SCE 不能引起小白鼠骨髓细胞微核率显著升高。

由表 3 还可见, 在雄性小白鼠中, 阴性对照组和 1 组小鼠骨髓细胞微核率与阳性对照组相比差异均显著($P < 0.05$); 3 组小鼠骨髓细胞微核率与阴性对照组相比差异极显著($P < 0.01$), 但 1 组和 2 组小鼠骨髓细胞微核率与阴性对照组相比差异均不显著($P > 0.05$)。由此可见, 在雄性小白鼠中, 高剂量(1 309, 00 mg/kg) SCE 能使小鼠骨髓细胞微核发生率升高, 而低、中剂量的 SCE 不能引起小鼠骨髓细胞微核率升高。

表 3 SCE 对小鼠骨髓嗜多染红细胞微核率的影响

Table 3 Influence of SCE on mouse bone marrow micronucleus rate

| 组别 Group | PCE 数 Number of PCE | | 微核数 Number of micronucleus | | 微核率/% Micronucleus rate | |
|-------------|------------------------|------------|-------------------------------|------------|----------------------------|---------------|
| | 雌性 Female | 雄性 Male | 雌性 Female | 雄性 Male | 雌性 Female | 雄性 Male |
| 1 | 5 000 | 5 000 | 32 | 34 | 0.64 ± 0.08* | 0.68 ± 0.13** |
| 2 | 5 000 | 5 000 | 84 | 38 | 1.68 ± 0.32 ∇ | 0.76 ± 0.19 |
| 3 | 5 000 | 5 000 | 95 | 82 | 1.90 ± 0.46 | 1.64 ± 0.31 |
| 4 | 5 000 | 5 000 | 28 | 23 | 0.57 ± 0.08* | 0.47 ± 0.15** |
| 5 | 5 000 | 5 000 | 109 | 68 | 2.18 ± 0.58 | 1.36 ± 0.27 |

注: 数据后标**者表示与阳性对照组相比差异显著($P < 0.05$), 标*者表示与阳性对照组相比差异极显著($P < 0.01$); 数据后标 ∇ 者表示与阴性对照组相比差异显著($P < 0.05$), 标 ∇ 者表示与阴性对照组相比差异极显著($P < 0.01$).

Note: ** means significant difference ($P < 0.05$) and * means significant difference ($P < 0.01$) from the positive control, respectively; ∇ means significant difference ($P < 0.05$) and ∇ means significant difference ($P < 0.01$) from the negative control, respectively.

3 讨论与结论

3.1 正确认识中药来源的镇痛药物

疼痛是许多疾病的共有症状, 需用镇痛药物治疗。在 24 大类化学药品中, 年产量过万吨的有 5 个产品, 其中解热镇痛药占 3 个, 分别为对乙酰氨基酚(扑热息痛)、阿司匹林和安乃近^[6]。化学镇痛药物的毒副作用大, 易产生抗药性, 而天然药物在这方面有无可比拟的优势; 纯化合物新药开发周期长、费用高、难度大, 使植物提取物镇痛药的开发成为新的选择。因此, 应当发挥我国在中医药和天然植物资源上的优势, 大力开发天然植物提取物作为镇痛药物, 丰富镇痛药物的种类, 或作为某些毒副作用大的化学镇痛药物替代品。目前, 已进行了乳香没药提取物、冷水七活性部位和资木瓜乙醇提取物等中药提取物的镇痛作用研究, 均取得了可喜的成果^[4-5, 8-9], 但有关千里草提取物的镇痛作用及致突变作用还未见报道。此外, 对中药镇痛有效部位的标准化、药理学及其毒性评价方面尚需进行深入研究。

3.2 SCE 对小白鼠的镇痛作用

本试验采用扭体法和热板法, 研究了 SCE 的镇痛作用。扭体法是将一定容积和浓度的化学刺激药物(如体积分数 0.6% 醋酸)注入小鼠腹腔内, 刺激脏层和壁层腹膜, 引起深部较大面积较长时间的炎性疼痛, 致使小鼠出现腹部内凹, 躯干与后肢伸张、臀部高起等反应^[4, 10]。热板法是将一块铁板在 55~56 预热 10 min, 将表现及格的小鼠放在上面, 记录其痛阈值^[5, 11]。热板法为物理性刺激法, 小鼠的足部受热板刺激而产生疼痛时, 就产生添足的特殊反应。可见其是研究药物镇痛作用性质完全不同的两种方法。

本研究结果表明, SCE 对于化学性刺激(体积

分数 0.6% 醋酸)引起的疼痛具有明显的镇痛作用, 能够延缓疼痛的发生。对于物理性刺激(热板法)引起的疼痛, SCE 需要较长代谢时间才发挥明显的镇痛作用, 此时 SCE 的镇痛作用较对乙酰氨基酚强。SCE 镇痛作用的机制尚不清楚, 可进一步对其痛阈及疼痛级别进行研究。

3.3 SCE 对小白鼠的致突变作用

小鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验主要是对染色体结构完整性的改变进行评估, 能检测化学物是否破坏细胞染色体的完整性和正常分离, 能否引起致突变作用^[6-7]。本研究利用小白鼠骨髓嗜多染红细胞微核试验对 SCE 的致突变作用进行了评价。结果表明, 在雌雄兼有小白鼠中, 1.309.00 mg/kg 的 SCE 能引起小白鼠骨髓细胞微核率显著升高, 130.90 mg/kg SCE 不能引起小白鼠骨髓细胞微核率显著升高。而 392.70 mg/kg SCE 能引起雌性小白鼠骨髓细胞微核率显著升高, 但不能使雄性小白鼠骨髓细胞微核率升高。可见, 392.70 mg/kg SCE 对雌性小白鼠具有致突变作用, 但对雄性小白鼠无致突变作用, 而 130.90 mg/kg 及其以下剂量的 SCE 对雌雄小白鼠均不具致突变作用。

本研究中, 扭体法和热板法研究表明, 低剂量(1/32 LD₅₀, 122.72 mg/kg)的 SCE 即具有显著的镇痛作用; 小鼠骨髓微核试验表明, 130.90 mg/kg 的 SCE 对雌雄小鼠均不具致突变作用。可见, 122.72~130.90 mg/kg 的 SCE 既有无致突变作用又有显著的镇痛作用。

[参考文献]

- [1] 吴斌, 吴立军. 千里光属植物的化学成分研究进展[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(2): 97-98

(下转第 56 页)

性病变,判断预后有重要的临床应用及推广价值,所以目前 ER α 在乳腺方面的研究多侧重于对乳腺癌的监测,而对正常乳腺发育过程中 ER α 的含量变化研究较少^[8]。Saji 等^[9]用免疫组化法对大鼠乳腺中 ER α 和 ER β 的表达水平进行了研究,结果发现初情期前乳腺中表达 ER α 的细胞约占 40%,共同表达 2 种受体的细胞约占 25%;妊娠期,多数细胞表达 ER β ,少数细胞表达 ER α ,共同表达 2 种受体的细胞极少;泌乳期,主要是共同表达 2 种受体的细胞;断奶后,表达 ER α 的细胞较少,共同表达 2 种受体的细胞极少。本研究结果发现,妊娠期和泌乳期大鼠乳腺中 ER α 表达水平均低于处女期,且差异显著 ($P < 0.05$);整个妊娠过程中,以妊娠 12 d 最高;泌乳期随着时间的延长,ER α 的表达水平增加,但差异不显著 ($P > 0.05$),与 Saji 报道基本一致。提示 ER α 可能参与了乳腺细胞的发育和凋亡。

β actin 是一种细胞质肌动蛋白,与一些管家基因一样在物种内持续恒量表达,常用作相对定量 PCR 的内参照。相对定量 PCR 是通过终点检测法进行的,即 PCR 达到平台期后,用目的基因与内参照的灰度比值作为目的基因的相对量。为了更精确的检测乳腺发育过程中 ER α 的变化,下一步的研究工作将应用实时荧光定量 PCR 方法检测 ER α 在乳腺组织的表达。

[参考文献]

- [1] Stumpf W E, Sar M, Aumuller G. The heart a target organ for estradiol[J]. Science, 1977, 196(4287): 319-321.
- [2] Kuiper J, Enmark E, Pelto H M, et al. Cloning of a novel estrogen receptor expressed in rat prostate and ovary[J]. Proc Natl Acad Sci, 1996, 93: 5925-5930.
- [3] Enmark E, Pelto H M, Grandien K, et al. Human estrogen receptor β gene structure, chromosomal localization, and expression pattern[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82: 4258-4265.
- [4] 曹廷兵,叶治家,巩燕,等.一种快速鉴定 RNA 质量的方法[J].第三军医大学学报,2002,24(8):992-993.
- [5] Schedin P, Mitrenga T, Kaeck M. Estrous cycle regulation of mammary epithelial cell proliferation, differentiation, and death in the Sprague-Dawley rat: a model for investigating the role of estrous cycling in mammary carcinogenesis[J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2000, 5: 211-225.
- [6] Chen C L, Weiss N S, Newcomb P, et al. Hormone replacement therapy in relation to breast cancer[J]. JAMA, 2002, 287: 734-741.
- [7] Russo J, Daniel M, Hu Y F, et al. Breast differentiation and its implication in cancer prevention[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11: 931-936.
- [8] 李宣海,巫向前,倪语星.肿瘤标志物的检测与临床[M].第1版.北京:人民卫生出版社,1997:135-137.
- [9] Saji S H, Jensen E V, Stefan N, et al. Estrogen receptors α and β in the rodent mammary gland[J]. PNAS, 2000, 97(1): 337-342.

(上接第 52 页)

- [2] 梁爱华,叶祖光.千里光属植物的毒性研究进展[J].中国中药杂志,2006,31(2):93-97.
- [3] 陈进军,赵生才,林红英,等.九里明抗菌镇痛有效部位中 PAs 的研究[J].中国农学通报,2006,12(6):117-121.
- [4] 郑杭生,冯年平,陈佳,等.乳香没药的提取工艺及其提取物的镇痛作用[J].中成药,2004,26(11):956-958.
- [5] 赵晓亚,向明,张勇慧,等.冷水七活性部位镇痛抗炎作用的研究[J].医药导报,2005,24(1):10-12.
- [6] 曹佳,林真,余争平.微核试验原理方法及其在人群监测和毒性评价中的应用[M].北京:医学科学出版社,2000:56-64.
- [7] Li Y, Dunipace A J, Stookey G K. Lack of genotoxic effects of fluoride in the mouse bone marrow micronucleus test[J]. Journal of Dental Research, 1987, 66(11): 1687-1690.
- [8] 柳蔚,杨兴海,钱金萍.资木瓜乙醇提取物对小鼠的镇痛作用[J].实用医学进修杂志,2004,32(4):252-254.
- [9] 祁乃喜,卢金福,冯有龙,等.荆芥酯类提取物对小鼠的镇痛作用[J].南京中医药大学学报,2004,20(4):229-230.
- [10] Shelcunova E V, Bepalov A Y. Effects of meprobamate on estrogen-dependent acute tolerance to the morphine analgesia in female rats[J]. European Journal of Pharmacology, 2006, 535(3): 78-85.
- [11] Nishiyama T. Analgesic effects of intracerebrally administered celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in the tail pick test and the formalin test in rats[J]. Acta Anaesthesiologica Scandinavica, 2006, 50(2): 28-33.