

奚照寿,姚月琴,陈晓兰,等. 桑杜口服液急性毒性和长期毒性试验[J]. 江苏农业科学,2019,47(17):201-204.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.17.050

桑杜口服液急性毒性和长期毒性试验

奚照寿¹,姚月琴²,陈晓兰¹,王 婧¹

(1. 江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300; 2. 江苏泰康生物医药有限公司,江苏泰州 225300)

摘要:对桑杜口服液进行急性毒性和长期毒性试验。急性毒性试验:小鼠以最高浓度(4.0 g/mL)、最大给药容积(0.2 mL/10 g)于24 h内灌胃3次桑杜口服液,小鼠体质量正常,精神状态良好,毛色光亮,饮水摄食正常,给药后7 d内未出现中毒和死亡情况,表明桑杜口服液对小鼠无急性毒性。长期毒性试验:取4周龄Wistar大鼠(清洁级)80只,随机分为4组,3个药物剂量组分别灌胃4.0、1.0、0.25 g/mL桑杜口服液1.0 mL,空白对照组灌胃等体积的生理盐水,每天1次,连续给药30 d,每天观察大鼠的给药反应。每周称质量,计算周增质量,并于给药30 d结束时,每组取10只大鼠(雌、雄各半)采血,进行血液细胞学检查、血清生化检查,计算心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、卵巢子宫、睾丸的质量及脏器系数。结果显示,大鼠体质量、脏器系数、血液细胞学指标和血清生化指标无异常,表明桑杜口服液对大鼠无长期毒性。

关键词:桑杜口服液;急性毒性;长期毒性;脏器系数

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)17-0201-03

药品必须具备安全性、有效性及质量可控性^[1]。药品安全性问题一直是学术界、药物管理部门、制药企业极其重视的问题,药品的优劣不仅由有效性强弱来决定,也受到其毒性高低的影响。因此,开展药品的安全性试验成为临床用药安全的重要保障。一般情况下,药品安全性试验由急性毒性和长期毒性试验组成。对于第一类中药、第一类中药制剂还需进行特殊毒理学试验^[2]。桑杜口服液富含中药多糖,具有良好的免疫促进作用。本研究根据兽药临床前毒理学评价试验指导原则及相关技术文献的方法,采用桑杜口服液分别进行小鼠经口急性毒性试验、大鼠30 d灌胃长期毒性试验,旨在评价桑杜口服液制剂的安全性,为临床用药提供指导。

1 材料与方法

1.1 药物与仪器

桑杜口服液,浓度为4.0 g/mL(以生药含量计),由扬州牧乐药业有限公司提供,批号为20170418。

全自动血液生化分析仪(Selectra E型),购自荷兰威图科学公司;全自动血细胞分析仪(PE-6800型),购自深圳普康电子有限公司;离心机(BIOFUGE PRIMO R),购自Thermo公司;电子天平(FA1104N),购自上海精密科学仪器有限公司。

1.2 试验动物

60只ICR小鼠(清洁级),体质量18~22 g,雌、雄各半,购自扬州大学兽医学院比较医学中心,动物生产许可证号为SCXK(苏)2012-0004。小鼠饲养在温度(24±2)℃、湿度

60%±20%条件下,饲喂饲料经⁶⁰Co照射,饮水为灭菌自来水,自由采食与饮水。试验前在以上试验环境中适应3 d。试验前停食12 h,但不限制饮水。

4周龄清洁级Wistar大鼠80只,雌、雄各半,购自扬州大学兽医学院比较医学中心。大鼠饲料经⁶⁰Co照射,饮水为符合城市饮用水标准的灭菌自来水。大鼠实行自由采食和饮水。

1.3 急性毒性试验方法

1.3.1 动物分组与处理 预试验:取ICR小鼠(清洁级)40只,雌、雄各半,分为高、中、低浓度药物组和空白对照组,每组10只。给药组药物浓度分别为4.0、2.0、1.0 g/mL,空白对照组给以生理盐水。各组1次灌胃给药,给药量为0.4 mL。自灌药后每日观察小鼠饮食、行为及死亡情况。连续观察7 d发现,7 d内小鼠无任何异常。因此根据动物预试验结果不能测出半数致死量(LD₅₀),依据新兽药注册管理办法急性毒性试验技术规范,对桑杜口服液进行最大给药量试验^[3]。

正式试验:取ICR小鼠(清洁级)20只,雌、雄各半,以药物的最高浓度(4.0 g/mL)、最大给药容积(0.2 mL/10 g)于24 h内灌胃3次,每次间隔6 h,给药总量为240.0 g/kg。连续观察7 d,同时记录动物中毒时症状和死亡情况。

1.3.2 正式试验观察指标 给药后,观察小鼠的一般状况(包括体质量、精神状态、毛色、自主活动、呼吸、食欲、粪便、口鼻分泌物)、中毒症状和死亡情况,连续观察7 d。

1.4 长期毒性试验方法

1.4.1 动物分组与处理 将Wistar大鼠随机分为4个组,每组20只,雌、雄各半。受试动物分高、中、低剂量组,另设正常对照组。桑杜口服液的高、中、低剂量组,分别以最大给药量的1倍、1/4倍和1/16倍(分别为1.0 mL 4.0、1.0、0.25 g/mL桑杜口服液)灌胃,空白对照组(BC)采用1.0 mL生理盐水灌胃,每天1次,连续灌胃给药30 d。

1.4.2 试验观察 整个试验期间,每天观察并记录大鼠一般行为表现、大鼠中毒及死亡情况。每周称量大鼠体质量及饲

收稿日期:2018-06-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:31702286)。

作者简介:奚照寿(1966—),男,江苏泰兴人,副教授,主要从事兽医临床研究。E-mail:1301655129@qq.com。

通信作者:陈晓兰,博士,副教授,研究方向为兽医药理及毒理学、中兽医药理。E-mail:cxl7972563@163.com。

料消耗 1 次。

1.4.3 指标检测及病理学检查

1.4.3.1 血液细胞学指标检测 于给药 30 d 结束时,取 10 只大鼠(雌、雄各半),大鼠经全麻后从腹主动脉采血,血液经抗凝处理后,采用全血自动分析仪测定血液中白细胞、中性白细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、红细胞、血红蛋白、红细胞压积和血小板的含量,取各指标平均值。

1.4.3.2 血清生化指标检测 于给药 30 d 结束时,取 10 只大鼠(雌、雄各半),大鼠经全麻后从腹主动脉采血,制备血清,采用血液生化自动分析仪检测血清中谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶、乳酸脱氢酶活性及尿素氮、肌酐、葡萄糖、白蛋白、总蛋白、总胆固醇、甘油三酯含量,取各指标平均值。

1.4.3.3 病理检查 于给药 30 d 结束时,各组取 10 只大鼠(雌、雄各半),在以上采血结束时进行剖检。称量心、肝、脾、肺、肾、卵巢子宫、睾丸质量,并计算各脏器系数,取各指标平均值;必要时对肝、肾、脾、胃、睾丸、卵巢、十二指肠、结肠等主要脏器进行组织病理学检查。

1.5 数据处理与分析

数据以“平均值±标准误”表示,采用 SPSS 11.5 软件对血液学指标、血液生化指标、体质量、脏器系数等进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 急性毒性试验

最大给药量试验结果显示,小鼠以最高浓度(4.0 g/mL)、最大给药容积(0.2 mL/10 g)于 24 h 内灌胃 3 次桑杜口服液后,小鼠体质量正常,精神状态良好,毛色光亮,饮水摄食正常,且给药后 7 d 内未出现中毒和死亡情况。表明桑杜口服液对小鼠无急性毒性。

2.2 长期毒性试验

2.2.1 大鼠体质量变化 因性别差异对体质量影响较大,雄性和雌性大鼠体质量分开计算。由表 1 可知,雄性大鼠在给药后第 1 周和第 3 周,低剂量组和空白对照组显著高于高、中剂量组($P<0.05$);第 2 周低剂量组增质量最大,显著高于高、中剂量组($P<0.05$),与空白对照组之间无显著性差异;第 4 周低剂量组增质量最大,显著高于中剂量组和空白对照组($P<0.05$)。由表 2 可知,雌性大鼠在给药后第 1 周,中、低剂量组和空白对照组增质量显著高于高剂量组($P<0.05$);第 2 周高、低剂量组和空白对照组增质量显著高于中剂量组($P<0.05$);第 3 周高、中、低剂量组增质量显著高于空白对照组($P<0.05$);第 4 周各组增质量均无显著差异。表明桑杜口服液低剂量时普遍具有显著的促生长作用,在雄性大鼠上表现更为显著。

表 1 雄性大鼠 30 d 试验期内周增质量

组别	周增质量(g/只)			
	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
高剂量组	28.51±2.18b	24.55±2.02c	22.82±1.68b	21.43±1.20ab
中剂量组	27.73±0.66b	26.41±0.98bc	20.42±1.49b	15.36±3.11b
低剂量组	39.35±1.23a	32.67±1.31a	28.99±1.62a	25.50±1.76a
空白对照	41.83±1.34a	29.20±1.14ab	23.69±1.09a	18.15±1.84b

注:同列数据后标有不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下表同。

表 2 雌性大鼠 30 d 试验期内周增质量

组别	周增质量(g/只)			
	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
高剂量组	20.94±0.66b	18.93±1.06a	8.08±1.17a	7.08±1.15a
中剂量组	26.98±1.26a	15.30±1.04b	7.63±1.22a	5.81±1.03a
低剂量组	27.41±1.17a	20.43±1.39a	6.53±0.72a	7.68±1.10a
空白对照	29.55±1.73a	20.80±1.36a	3.47±0.54b	6.14±0.74a

2.2.2 剖检及脏器系数 由表 3 可知,给药后 30 d,大鼠解剖未发现有明显的脏器病变。各组脏器系数与空白组相比无明显差异。

2.2.3 血液学及血清生化指标

2.2.3.1 血液学指标 由表 4 可知,大鼠给药后 30 d,高剂量组白细胞数量显著高于低剂量组,但各给药组白细胞数量

与对照差异不显著;低剂量组淋巴细胞百分数最高,显著高于高、中剂量组($P<0.05$),与空白对照组无显著性差异。其他各组血液细胞学指标无显著性差异。

2.2.3.2 血清生化指标 由表 5 可知,大鼠给药 30 d 后,低剂量组总蛋白含量最高,显著高于中剂量组($P<0.05$);其他血液生化指标各组间无显著性差异。

表 3 大鼠给药 30 d 后的脏器系数

组别	脏器系数(%)						
	心	肝	脾	肺	肾	睾丸	卵巢子宫
高剂量组	0.362±0.014a	3.475±0.007a	0.196±0.010a	0.453±0.016a	0.613±0.016a	1.289±0.033a	0.370±0.007a
中剂量组	0.349±0.012a	3.584±0.023a	0.195±0.005a	0.453±0.019a	0.639±0.017a	1.230±0.077a	0.380±0.010a
低剂量组	0.365±0.016a	3.309±0.135a	0.192±0.006a	0.432±0.016a	0.597±0.009a	1.208±0.024a	0.377±0.006a
空白对照	0.367±0.012a	3.239±0.077a	0.203±0.010a	0.461±0.020a	0.617±0.015a	1.183±0.045a	0.370±0.009a

表 4 大鼠给药 30 d 后血液细胞数量的变化

组别	WBC ($\times 10^9/L$)	NEU (%)	LYMPH (%)	MONO (%)	EO (%)
高剂量组	5.55 \pm 0.91a	34.62 \pm 1.66a	62.40 \pm 1.85b	1.18 \pm 0.10a	1.90 \pm 0.66a
中剂量组	3.67 \pm 0.41ab	32.44 \pm 1.32a	63.34 \pm 1.68b	1.44 \pm 0.23a	2.76 \pm 0.73a
低剂量组	3.33 \pm 1.11b	32.14 \pm 1.06a	70.84 \pm 2.09a	0.98 \pm 0.14a	3.16 \pm 1.45a
空白对照	3.89 \pm 0.45ab	30.76 \pm 2.41a	65.9 \pm 2.44ab	1.51 \pm 0.14a	1.95 \pm 0.43a

组别	BASO (%)	RBC ($\times 10^{12}/L$)	HGB (g/L)	HCT (%)	PLT ($\times 10^9/L$)
高剂量组	0.020 \pm 0.020a	8.48 \pm 0.13a	155.00 \pm 2.00a	60.66 \pm 0.80a	830.00 \pm 19.44a
中剂量组	0.160 \pm 0.100a	8.32 \pm 0.33a	152.13 \pm 6.22a	59.61 \pm 2.30a	755.50 \pm 68.37a
低剂量组	0.004 \pm 0.004a	8.60 \pm 0.26a	158.80 \pm 5.36a	60.86 \pm 2.31a	816.40 \pm 106.78a
空白对照	0.00 \pm 0.00a	8.68 \pm 0.13a	160.10 \pm 2.53a	60.22 \pm 1.10a	812.30 \pm 33.11a

注:WBC 表示白细胞;NEU 表示中性粒细胞;LYMPH 表示淋巴细胞;MONO 表示单核细胞;EO 表示嗜酸性粒细胞;BASO 表示嗜碱性粒细胞;RBC 表示红细胞;HGB 表示血红蛋白;HCT 表示红细胞压积;PLT 表示血小板。

表 5 大鼠 30 d 喂养试验后血清生化指标

组别	ALT 活性 (U/L)	AST 活性 (U/L)	ALP 活性 (U/L)	LDH 活性 (U/L)	UREA 含量 (mmol/L)	CREA 含量 (μ mol/L)
高剂量组	50.90 \pm 3.86a	144.40 \pm 9.75a	82.30 \pm 8.67a	1 656.80 \pm 143.24a	7.29 \pm 0.24a	36.58 \pm 2.73a
中剂量组	49.80 \pm 5.39a	128.80 \pm 14.57a	90.40 \pm 14.42a	1 341.00 \pm 130.71a	6.81 \pm 0.27a	32.95 \pm 1.38a
低剂量组	52.50 \pm 4.20a	132.40 \pm 8.85a	77.20 \pm 6.46a	1 560.60 \pm 111.98a	7.01 \pm 0.34a	35.07 \pm 2.07a
空白对照	49.80 \pm 3.75a	126.00 \pm 6.30a	77.20 \pm 9.59a	1 363.50 \pm 108.24a	7.48 \pm 0.25a	35.53 \pm 2.28a

组别	GLU 含量 (mmol/L)	ALB 含量 (g/L)	TP 含量 (g/L)	CHOL 含量 (mmol/L)	TG 含量 (mmol/L)
高剂量组	9.97 \pm 0.87a	33.01 \pm 0.59a	49.84 \pm 0.68ab	1.83 \pm 0.05a	0.44 \pm 0.02a
中剂量组	9.70 \pm 1.03a	33.92 \pm 0.75a	48.52 \pm 1.01b	1.69 \pm 0.11a	0.35 \pm 0.02a
低剂量组	8.96 \pm 0.74a	34.74 \pm 0.61a	51.32 \pm 0.85a	1.74 \pm 0.05a	0.39 \pm 0.04a
空白对照	9.56 \pm 0.60a	34.20 \pm 0.48a	50.59 \pm 0.62ab	1.69 \pm 0.08a	0.36 \pm 0.03a

注:ALT 表示谷丙转氨酶;AST 表示谷草转氨酶;ALP 表示碱性磷酸酶;LDH 表示乳酸脱氢酶;UREA 表示尿素;CREA 表示肌酐;Glu 表示葡萄糖;ALB 表示白蛋白;TP 表示总蛋白;CHOL 表示总胆固醇;TG 表示甘油三酯。

3 讨论与结论

本试验中,受试药物为桑叶和杜仲提取物组成的复方,因 LD_{50} 无法测出,从而进行了最大给药量试验。在试验期间,所有试验小鼠均没有出现明显的毒性反应,也无死亡情况,因此确定最大给药量为 240 g/kg(折合生药量计)。有关桑叶和杜仲的急性毒性试验亦有部分文献报道。吴友萍等研究桑叶水提液的急性毒性和遗传毒性发现,桑叶水提液的小鼠灌胃给药最大给药剂量为 40 g/kg,无急性毒性^[4]。刘月凤等通过研究杜仲提取物的急性毒性发现,小鼠灌胃杜仲提取物的最大耐受量为 18.52 g/kg,有较大的安全性^[5]。曾吉祥等通过研究秦巴地区产杜仲皮急性毒性得出,杜仲水提组分的最大耐受量为 24 g/kg,醇提组分的急性毒性较大,水提组分较为安全^[6]。本试验小鼠的最大给药量远远超过现有试验报道,且未见动物有中毒反应或死亡。根据毒理学的毒性分级标准评价,属无毒级^[7-8]。

剂量设计的科学性和合理性是试验得以成功的关键^[2]。本试验采用不等浓度等容量给药,以最大给药量的 1 倍、1/4 倍、1/16 倍进行剂量设计,符合《新药审评办法》要求^[9]。长期毒性试验中,在给药后的第 1 周,雄性大鼠的各给药组增质量低于空白对照,高、中剂量给药组显著低于低剂量组和空白

对照组,而雌性大鼠的高剂量组增质量显著低于其余各组,表明在给药初期,药物剂量的增大会影响大鼠的采食量。随着时间的推移,各给药组大鼠体质量逐渐高于空白对照组,而药物低剂量组的雄性大鼠体质量增加最多。可初步判断该桑杜口服液对大鼠毒性较低。

血液的生理生化指标是反映机体健康状况的重要指标,常作为疾病诊断的依据之一^[10]。本试验结果显示,在停药后,各给药组血液细胞学指标与空白对照组间无显著性差异。同时,血清 ALT、AST、UREA 及 ALP 是评价肝、肾功能的重要指标^[11],本试验结果显示,在停药后,桑杜口服液各剂量给药组大鼠血清所有生化指标与对照组比较均差异不显著,表明桑杜口服液长期使用对肝脏、肾脏组织均不产生明显的毒性作用。

病理学检查在动物长期毒性试验中占据特别重要的地位,作为评价药物制剂毒性的的重要依据,同时在大多数情况下,器官质量的异常与病理变化存在一致性。在停药后,对各组小鼠进行剖检,所有脏器外观和组织切片均未见明显的病理变化,说明桑杜口服液对组织没有明显的毒性作用^[12-13]。由脏器系数结果可以知,在停药后,所有给药组的脏器质量与空白对照组相比均无显著性差异,说明桑杜口服液长期口服给药对大鼠没有明显的长期毒性。

曹培杰,马艳弘,崔 晋,等. 桑葚浓缩汁的制备工艺优化及其抗氧化活性[J]. 江苏农业科学,2019,47(17):204-209.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.17.051

桑葚浓缩汁的制备工艺优化及其抗氧化活性

曹培杰^{1,2}, 马艳弘¹, 崔 晋¹, 黄开红¹

(1. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏南京 210014; 2. 山西农业大学食品科学与工程学院, 山西太谷 030801)

摘要:以桑葚为原料,通过单因素和响应面试验考察纤维素酶用量、果胶酶用量、酶解温度和酶解时间对桑葚出汁率的影响,对桑葚浓缩汁的加工工艺进行优化,探究酶添加量对桑葚汁中活性成分的影响并分析其抗氧化性能。结果表明,添加 1.0% 果胶酶、2.6% 纤维素酶,50 ℃ 条件下酶解 40 min,得到桑葚的出汁率最高,为 81.1%。当果胶酶添加量为 1.0% 时,浓缩汁中花青素和维生素 C 含量最高,分别为 95.184 g/L 和 1 099.412 mg/L;当纤维素酶添加量为 2.5% 时,浓缩汁中花青素和维生素 C 含量分别为 85.999 g/L 和 957.416 mg/L。真空旋转蒸发浓缩温度为 65 ℃,其抗氧化能力较强,抗超氧阴离子自由基能力和 DPPH 自由基清除能力分别为 31 194.21 U/L 和 98.99%。

关键词:桑葚浓缩汁;出汁率;工艺优化;抗氧化;响应面设计

中图分类号: TS275.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)17-0204-06

桑葚,多年生木本植物桑树的果实,是一种营养成分十分丰富的水果,含有人体所需的多种营养成分,如矿物元素、维生素及氨基酸等,并且含有黄酮类物质、花色苷类化合物、白藜芦醇、花青素等多种活性成分^[1-2],因而和沙棘、悬钩子等一起被誉为“第三代水果”。现代医学研究显示,桑葚可以提升人体免疫力、降低血糖血脂、延缓肌体衰老、改善皮肤血液供应等^[3-5]。目前,桑葚除了鲜食以外,还可以加工成桑葚果

酱、果汁饮料、桑葚果酒、桑葚果醋等。由于桑葚水分含量高,因此不易贮存和运输,将其加工成果汁可以更加有效地利用桑葚资源,提高其商业价值。

桑葚浓缩汁^[6-7]是由原果汁脱除部分水分而得到的,将果汁浓缩可以减少体积、降低水分活度从而延长产品贮存期和货架期,而且浓缩更加有利于富集营养物质,方便其他以浓缩汁为原料的食品加工工艺的开展^[8-9]。目前桑葚浓缩的方法主要有真空浓缩、冷冻浓缩、膜分离浓缩等^[10]。本研究以桑葚为原料,出汁率为指标,优化桑葚汁的提取工艺,并测定其中的活性成分,探究真空旋转蒸发浓缩温度对其抗氧化性能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

桑葚;纤维素酶、果胶酶、氯化钾、乙酸钠、抗坏血酸(维

研究[J]. 川北医学院学报,2016,31(3):342-344.

[7] 吕秋军. 新药药理学研究方法[M]. 北京:化学工业出版社,2007:382-387.

[8] 赵秀文. 谈新药毒理实验的技术要求[J]. 中药通报,1988,13(7):53-57.

[9] 周庆萍,何发良,陈 红,等. 白腹锦鸡血液生化指标研究[J]. 湖北农业科学,2011,50(16):3353-3354,3364.

[10] 林 曦. 家畜病理学[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2005:74-98.

[11] 许 迪,孔利佳,杜佐华,等. 大鼠长期毒性试验质量控制探讨[J]. 中国比较医学杂志,2010,20(1):61-63,69.

[12] Guo L W, Wang D Y, Hu Y L, et al. Adjuvant activity of compound polysaccharides on chickens against Newcastle disease and avian influenza vaccine [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 50(3):512-517.

[13] Guo L W, Liu J G, Hu Y L, et al. Astragalus polysaccharide and sulfated epimedium polysaccharide synergistically resist the immunosuppression [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(2):1055-1060.

收稿日期:2018-05-21

基金项目:江苏省苏北专项(编号:BN2016044);苏州市农业园区集成创新工程项目(编号:SNG201653);江苏省农业科学院基本科研业务专项(编号:6111682)。

作者简介:曹培杰(1992—),女,河南漯河人,硕士研究生,研究方向为食品生物技术。E-mail:614098093@qq.com。

通信作者:马艳弘,博士,副研究员,主要从事食品功能因子、农产品贮藏与加工研究。;E-mail:ma_yhhy@126.com。

综合上述试验结果,小鼠以最高浓度(4.0 g/mL)、最大给药容积(0.2 mL/10 g)于 24 h 内灌胃 3 次桑杜口服液,不产生急性毒性。以最大给药量的 1 倍、1/4 倍和 1/16 倍灌胃桑杜口服液 1.0 mL,连续给药 30 d,大鼠体质量、脏器系数、血液细胞学指标和血清生化指标无异常,表明桑杜口服液对大鼠无长期毒性。

参考文献:

[1] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2006.

[2] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2006.

[3] 沈建忠. 动物毒理学[M]. 北京:中国农业出版社,2002:83-112.

[4] 吴友苹,张 升. 桑叶水提液的急性毒性和遗传毒性研究[J]. 中成药,2015,37(4):876-879.

[5] 刘月凤,龚朋飞,袁 慧,等. 杜仲提取物的急性毒性试验研究[J]. 陕西农业科学,2009,55(3):52,60.

[6] 曾吉祥,王 健,张晓林,等. 秦巴地区产杜仲皮急性毒性实验的