

狗舌草提取物的长期和蓄积毒性及特殊毒性研究

聂芳红^{1a}, 陈进军^{1b}, 王建华², 史志诚³

(1 广东海洋大学 a. 食品科技学院; b. 农业生物技术研究所, 广东 湛江 524088; 2 西北农林科技大学 动物医学院, 陕西 杨凌 712100;
3 西北大学 生态毒理研究所, 陕西 西安 710069)

[摘要] **【目的】**对狗舌草体积分数 60% 乙醇提取物的毒理学安全性进行评价。**【方法】**利用 C57L-L 小鼠, 以生理盐水为阴性对照, 环磷酰胺为阳性对照, 进行狗舌草体积分数 60% 乙醇提取物的 90 d 长期毒性试验、30 d 蓄积试验。并采用小鼠骨髓微核试验、小鼠生殖机能试验和小鼠胎儿外观畸形检查, 对狗舌草体积分数 60% 乙醇提取物的长期毒性、蓄积毒性和特殊毒性进行评价。**【结果】**90 d 长期毒性试验未见供试小鼠临床表现、体重和病理变化异常, 30 d 蓄积试验未见供试小鼠死亡, 给药组与阴性对照组小鼠骨髓微核率无显著差异 ($P > 0.05$); 与阴性对照组相比, 用药后受孕鼠的受孕率、每窝活胎数、平均胎儿重、吸收胎儿数和死胎数均无明显变化 ($P > 0.05$), 供试小鼠胎儿未见明显的外观畸形 ($P > 0.05$)。**【结论】**狗舌草体积分数 60% 乙醇提取物无长期毒性, 无蓄积毒性, 无致突变性和致畸胎性。

[关键词] 狗舌草; 乙醇提取物; 长期毒性; 蓄积毒性; 特殊毒性; 小鼠

[中图分类号] R931.71; S859.8

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2008)02-0045-05

Studies on chronic toxicity, accumulation and special toxicities of extract from *Tephrosia kirilowii* (Turcz.) Holub

NIE Fang-hong^{1a}, CHEN Jin-jun^{1b}, WANG Jian-hua², SHI Zhi-cheng³

(1 a. Food Sci-Tech College; b. Institute of Agricultural Biotechnology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong 524088, China;

2 College of Veterinary Medicine, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 Institute of Eco-toxicology, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069, China)

Abstract: **【Objective】** The study is to assess the toxicological safety of 60% (V/V) alcoholic extract from *Tephrosia kirilowii* Turcz Holub. **【Method】** With a negative control of normal saline and a positive control of cyclophosphamide, the chronic toxicity, accumulation and special toxicities were assessed by employing a range of C57L-L mice to conduct the tests of 90 day chronic toxicity, 30-day accumulation, bone-marrow micronucleus and reproduction ability as well as fetal malformation of the *T. kirilowii* extract. **【Result】** There were no abnormalities in clinical exhibition, body weight and visible pathology in 90-day chronic toxicity test and no death in 30-day accumulation test. Being compared to the negative control group, the mouse bone-marrow micronucleus rate was not changed ($P > 0.05$) and there were no significant changes ($P > 0.05$) in numbers of live, absorbed and dead fetuses of the pregnant mice and no visible fetal malformation in the teratogenic test ($P > 0.05$). **【Conclusion】** The *T. kirilowii* extract with 60% (V/V) ethanol did not cause chronic toxicity, accumulation, mutagenicity and teratogenicity.

Key words: *Tephrosia kirilowii* (Turcz.) Holub; ethanol extract; chronic toxicity; accumulation;

* [收稿日期] 2007-02-02

[基金项目] 广东省自然科学基金项目(05011789); 广东省科技计划项目(2004B20201007)

[作者简介] 聂芳红(1969—), 女, 陕西杨凌人, 实验师, 主要从事食品质量与安全研究。

[通讯作者] 陈进军(1967—), 男, 宁夏中宁人, 教授, 博士, 主要从事动物药理和毒理学研究。E-mail: jjchen777@yahoo.com.cn

special toxicity; mouse

白血病是一种危害人类和动物健康的恶性肿瘤疾病。白血病细胞不仅能在造血组织中异常增生,而且与一般肿瘤细胞相似,还能广泛浸润全身各组织器官。许多白血病细胞往往和局部肿瘤细胞(如淋巴肉瘤、骨髓瘤)同时存在。抗癌手段如化学疗法、免疫疗法和放射疗法同样能抑制白血病细胞的增殖^[1-4]。目前,白血病的发病率有逐渐增高的趋势^[1,4]。

狗舌草(*Tephrosia kirilowii* (Turcz.) Holub)在世界范围内广泛分布,其含有黄酮类化合物和双稠吡咯啉生物碱(pyrrolizidine alkaloids, PAs)等^[5-10]。狗舌草除了具有抗溃疡作用之外,对白血病细胞、恶性网状细胞肉瘤及皮肤癌有较强的抑制作用^[5,11],但较大剂量的狗舌草长期作用于机体,对肝、肾等器官具有毒性作用^[7-9]。最近研究发现,狗舌草体积分数 60%乙醇提取物(以下略为“狗舌草提取物”)具有抗淋巴性白血病的效果^[12-14],对雌性小鼠腹腔注射的半数致死量(LD₅₀)为(791.22±170.17) mg/kg^[15],但关于狗舌草提取物的长期和蓄积毒性及特殊毒性研究尚未见报道。本研究利用 C57L-L 小鼠,采用长期毒性试验、蓄积试验、小鼠骨髓微核试验、小鼠生殖机能试验及小鼠胎儿外观畸形检查,对狗舌草提取物的长期毒性、蓄积毒性和特殊毒性进行评价,旨在为系统地对狗舌草提取物的毒理学安全性评价积累资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试动物 普通级 C57L-L 小鼠 400 只,质量 18~22 g,由第四军医大学实验动物中心提供。

1.1.2 试剂 环磷酰胺(Cyclophosphamide),江苏恒瑞医药股份有限公司产品,批号:0101082。

1.2 狗舌草提取物的制备

狗舌草于 2005-08 采自陕西省陇县关山牧场,经中国科学院西北植物研究所鉴定后,阴干粉碎,过孔径 0.45 mm 筛,贮存于干燥阴凉处备用。称取 100 g 狗舌草粉,用 1 000 mL 体积分数 60%乙醇 56℃温浸 12 h,过滤。滤液先减压回收乙醇,再浓缩,加适量蒸馏水,静置于 4℃过夜,滤去叶绿素等沉淀物,再浓缩,冰冻干燥成粉末,即成狗舌草提取物,已测得其对雌性小鼠腹腔注射的半数致死量(LD₅₀)为(791.22±170.17) mg/kg^[15]。

1.3 狗舌草提取物的长期毒性试验

1.3.1 动物分组与药物处理 将 80 只雌性 C57L-L 小鼠随机等分为狗舌草提取物高剂量组、中剂量组、低剂量组和对照组 4 组。其中高剂量组、中剂量和低剂量组分别用 1/4 LD₅₀(200 mg/kg)、1/6 LD₅₀(133 mg/kg)、1/8 LD₅₀(100 mg/kg)狗舌草提取物进行腹腔注射,对照组用生理盐水进行腹腔注射,每日 1 次,连续注射 90 d。上述狗舌草提取物粉末均用适量生理盐水配成所需浓度的溶液,用直径 0.22 μm 的微孔滤膜过滤除菌。

1.3.2 检查内容 给药后定时观察并记录各组小鼠饮食、活动等表现,每周称量体重 1 次。至第 90 天试验结束,剖杀全部小鼠,进行眼观病理学检查,并采集肝脏、肺脏、心脏、肾脏和脾脏等进行病理组织学检查^[16]。

1.4 狗舌草提取物的蓄积试验

将 1/10 LD₅₀(80 mg/kg)狗舌草提取物每日给 20 只雌性 C57L-L 小鼠腹腔注射给药 1 次,连续注射 30 d,观察小鼠有无死亡。如果在试验期内小鼠无死亡,则表示狗舌草提取物无蓄积作用,否则记录小鼠半数死亡的累积给药总量(LD₅₀'),用 LD₅₀'除以狗舌草提取物的 LD₅₀,求出蓄积系数(K),根据 K 值判断狗舌草提取物有无蓄积性。

1.5 狗舌草提取物的致突变试验

采用小鼠骨髓嗜多染红细胞微核检验法测定^[17-19]。

1.5.1 动物分组与药物处理 将 100 只雌性 C57L-L 小鼠随机等分为狗舌草提取物高剂量组、中剂量组、低剂量组、阴性对照组和阳性对照组 5 组。狗舌草提取物高剂量组、中剂量和低剂量组分别用 1/4 LD₅₀(200 mg/kg)、1/5 LD₅₀(160 mg/kg)、1/10 LD₅₀(80 mg/kg)狗舌草提取物进行注射;阴性对照组用生理盐水进行注射;阳性对照组用 75 mg/kg 环磷酰胺进行注射。各组均采用一次尾静脉注射法给药,每只小鼠给药液 0.2 mL。

1.5.2 骨髓推片的制备、镜检和计数 参考文献[17-19]方法进行。比较各给药组与阴性对照组微核率的差异性。

1.6 狗舌草提取物的致畸胎性试验

1.6.1 动物分组与处理 取性成熟的 C57L-L 小鼠 200 只,按雌雄比为 1:1 随机等分为 5 组,每组 20 对。每天将已确定受孕雌性 C57L-L 小鼠随机分

入狗舌草提取物高剂量组、中剂量组、低剂量组和阴性对照组和阳性对照组。其中高剂量组、中剂量和低剂量组分别以 1/4 LD₅₀ (200 mg/kg)、1/20 LD₅₀ (40 mg/kg)、1/100 LD₅₀ (8 mg/kg) 狗舌草提取物进行腹腔注射, 阴性对照组用生理盐水进行注射; 阳性对照组用 30 mg/kg 环磷酰胺进行注射。确认各雌性 C57L-L 小鼠怀孕后, 第 6 天开始按剂量腹腔注射给药, 每天 1 次, 持续到第 15 天^[20]。

1.6.2 怀孕检查和胎仔检查 怀孕检查采用阴道栓检查法, 凡发现如白色蜡块状阴道栓, 即确定为怀孕第“0”日。将雌性 C57L-L 小鼠受孕后第 19 天, 即自然分娩前 1 d 处死, 取出子宫, 从左侧子宫角开始至右侧子宫角顶端, 依此取出活产胎仔、死胎以及吸收胎, 并进行记录。活产胎仔取出以后, 先检查性别, 逐只称重, 并按窝计算平均胎仔体重, 然后进行各部位的外观畸形肉眼检查。

1.6.3 结果评定方法 每个活产幼仔出现 1 种或 1 种以上畸形均作为 1 个畸胎。用下述 2 个公式计算畸胎出现率和母体畸胎出现率。同时计算各组雌鼠的受孕率及每窝平均胎仔体重等^[20]。

$$\text{畸胎出现率} / \% = \text{畸胎总数} /$$
$$\text{检查的活胎总数} \times 100 \%, \tag{1}$$
$$\text{母体畸胎出现率} / \% = \text{出现畸胎的孕鼠数} /$$
$$\text{妊娠母鼠总数} \times 100 \%。 \tag{2}$$

2 结果与分析

2.1 狗舌草提取物的长期毒性试验结果

2.1.1 临床观察 90 d 药物处理期间各组小鼠均无死亡。狗舌草提取物高剂量组小鼠在给药初 1 h, 有轻微的精神不振, 以后一直无异常表现。狗舌草提取物中剂量组和低剂量组小鼠均一直表现正常。

2.1.2 体重变化 至试验期末, 狗舌草提取物高剂量组小鼠的平均体重为 (27.18±1.73)g, 与中剂量组 ((27.55±2.01)g)、低剂量组 ((28.05±1.97)g) 和对照组小鼠 ((27.96±1.65)g) 相比, 均无统计学差异 ($P>0.05$)。

2.1.3 病理变化 各组小鼠剖杀检查未见眼观变化。病理组织学检查发现, 狗舌草提取物高剂量组小鼠的肝脏中央静脉有轻微充血, 肝索和静脉窦正常, 肝细胞无肿大, 胞浆内无空泡; 肺脏肺泡大小匀称无充血无肿大, 无炎性渗出物, 肺泡壁细胞无坏死, 肺泡隔无增厚或变薄, 无萎缩, 终末细支气管平滑肌正常无充血水肿; 心脏无出血充血, 无水肿, 心肌纤维排列整齐无增粗或萎缩现象, 心肌细胞核形

态正常, 细胞内和肌纤维间隙无明显渗出物; 肾脏肾小球结构和肾小管上皮细胞未见胞浆内陷; 脾脏的脾小结大小与数量无明显变化。可见, 狗舌草提取物长期毒性检查结果为阴性。

2.2 狗舌草提取物的蓄积试验结果

用 1/10 LD₅₀ 狗舌草提取物连续给药 30 d, 未观察到供试小鼠死亡。故可判定狗舌草提取物无蓄积毒性。

2.3 狗舌草提取物的致突变试验结果

动物 (如小鼠) 骨髓细胞微核率的变化可作为检测受试物致突变性的有效方法^[17-19]。由表 1 可见, 给药组与生理盐水阴性对照组微核率差异不显著 ($P>0.05$), 而阳性对照组 (75 mg/kg 环磷酰胺) 微核率与给药组和阴性对照组差异极显著 ($P<0.01$)。

表 1 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核检验结果 ($\bar{X} \pm SD, n=20$)
Table 1 Bone-marrow micronucleus rate of the mice ($\bar{X} \pm SD, n=20$)

供试药物 Substance used	剂量/(mg·kg ⁻¹) Dose	微核率/% Micronucleus rate
狗舌草提取物 <i>T. kirilowii</i> extract	200	3.25±0.023
	160	0.250±0.018
	80	0.225±0.010
环磷酰胺 Cyclophosphamide	75	2.250±0.207*
生理盐水 Physiological saline water	—	2.000±0.011

注: * 表示分别与给药组和阴性对照组相比, 差异极显著 ($P<0.01$)。

Note: * means significant difference ($P<0.01$) from the test groups administered with doses of *T. kirilowii* extract, and the negative group, respectively.

2.4 狗舌草提取物的致畸胎性试验结果

2.4.1 狗舌草提取物对小鼠生殖机能的影响 与生理盐水阴性对照组相比, 通过腹腔注射连续给予 1/4 LD₅₀、1/20 LD₅₀ 和 1/100 LD₅₀ 狗舌草提取物, 受孕鼠的受孕率、每窝活胎数、平均胎儿重、吸收胎儿数和死胎数无显著差异。30 mg/kg 环磷酰胺使供试小鼠的受孕率和平均胎儿重显著降低 ($P<0.05$), 但对受孕鼠的每窝活胎数、吸收胎儿数和死胎数等无明显影响 (表 2)。

2.4.2 狗舌草提取物对小鼠胎儿外观畸形的影响

用药后供试小鼠胎儿外观畸形检查结果见表 3。在狗舌草提取物各剂量组中, 仅中剂量组 (1/20 LD₅₀) 小鼠中发现 1 例腹部有出血斑, 其他组小鼠均未出现可辨的外观畸形。相反, 环磷酰胺 (30 mg/kg) 阳性对照组有 6 窝 15 例活产胎仔出现了一定数量的脑突出, 无耳, 融合趾和或短尾, 其畸胎出

现率和母体畸胎出现率分别达 11.72%和 42.86%，显著高于其他组(χ^2 检验, $P<0.05$)。

表 2 狗舌草提取物对供试小鼠生殖机能的影响

Table 2 Influence of the *T. kirilowii* extract on reproductivity of the mice

处理 Treatment	剂量/ (mg·kg ⁻¹) Dose	交配母鼠数 Mated female mice	受孕母鼠数 Pregnant mice	受孕率/% Pregnant rate	每窝活胎数 Live fetuses per litter	平均胎儿重/g Average weight of fetus	吸收胎儿数 Fetuses absorbed	死胎数 Dead fetus
狗舌草提取物 <i>T. kirilowii</i> extract	200	20	18	90	9.1±0.4	1.343±0.10	0	0
	40	20	20	100	8.3±0.5	1.401±0.08	0	0
	8	20	20	100	9.4±0.3	1.311±0.12	0	0
环磷酰胺 Cyclophosphamide	30	20	14	70*	9.1±0.7	1.093±0.22*	0	0
生理盐水 Physiological saline water	—	20	20	100	8.9±0.2	1.435±0.07	0	0

注：* 表示与其他组相比,差异显著($P<0.05$)。下表同。
Note: * means difference ($P<0.05$) from other groups. The following table is same .

另外,至试验末期,狗舌草提取物高剂量组母鼠出现进食减少,皮毛干燥等轻度中毒表现;中剂量组和低剂量组母鼠中均未观察到中毒症状。生理盐水阴性对照组和环磷酰胺阳性对照组母鼠中均未出现异常表现。除了环磷酰胺阳性对照组小鼠有致畸阳性变化外,其他给药组及阴性对照组小鼠均无眼观畸形变化,说明狗舌草提取物无致畸作用。

表 3 狗舌草提取物对供试小鼠致畸胎性的试验结果

Table 3 Tteratogenicity of the *T. kirilowii* extract on the mice

处理 Treatment	剂量/(mg·kg ⁻¹) Dose	被检窝数 Litters checked	被检活胎数 Live fetuses checked	畸胎出现率/% Abnormal fetus rate	母体畸胎出现率/% Maternal abnormal fetus rate
狗舌草提取物 <i>T. kirilowii</i> extract	200	18	164	0	0
	40	20	168	0.59	5.00
	8	20	188	0	0
环磷酰胺 Cyclophosphamide	30	14	128	11.72*	42.86*
生理盐水 Physiological saline water	—	20	178	0	0

3 讨 论

狗舌草 PAs 不仅可引起小鼠的巨肝细胞和肾小管上皮细胞胞浆内陷等病变,而且还可导致大鼠的肝细胞癌^[11,15]。本研究中狗舌草提取物的长期毒性试验结果显示,狗舌草提取物未能引起供试小鼠临床表现和体重的异常变化;病理组织学检查也未见巨肝细胞和肾小管上皮细胞胞浆内陷等病变。说明狗舌草提取物在试验剂量下,无明显的长期毒性。

特殊毒性试验包括致癌试验、生殖毒性试验和致突变试验。动物致癌试验周期长,大约需要约 3 年时间,而且耗资巨大,因此是否进行动物致癌试验,必须十分慎重。需要做动物致癌试验的前提。一是新药结构与已知致癌物质有关、代谢产物与已知致癌物质相似;二是在长期毒性试验中发现有细胞毒性作用或能导致某些脏器、组织和细胞异常显著活跃的新药;三是致突变试验结果为阳性的新药。换言之,凡不符合以上 3 条者,皆可以免做致癌试

验^[17,20]。本研究对狗舌草提取物的蓄积性、致突变性和致畸胎性等研究的结果显示,狗舌草提取物无蓄积毒性、致突变性和致畸胎性,对供试小鼠的生殖机能也无不良影响,因此无需进行致癌试验。

[参考文献]

[1] 李连弟,鲁凤珠,张思维,等. 1990~1992 年中国恶性肿瘤死亡流行分布情况分析[J]. 中华肿瘤杂志,1996,18(6):403-407.
Li L D,Lu F Z,Zhang S W,et al. Investigation on epidemic situation of malignancy in China between 1990 and 1992 [J]. Chinese Journal of Oncology,1996,18(6):403-407. (in Chinese)
[2] 天津市人民医院. 肿瘤病理诊断[M]. 天津:天津人民出版社,1974:69-84.
Tianjin People’s Hospital. Pathological diagnosis of tumours [M]. Tianjin:Tianjin People’s Press,1974:69-84. (in Chinese)
[3] Bargmann C,Hung M C,Weinberg R A. The new oncogene encodes an epidermal growth factor receptor related protein [J]. Nature, 1986,319:226-230.
[4] 陈进军,王建华,史志诚. 狗舌草提取物对 L1210 细胞的体外作用研究[J]. 中国农学通报,2003,19(6):29-32.
Chen J J,Wang J H,Shi Z C. Studies on actions of extract from *Tephrosia kirilowii* (Turcz.) Holub to L1210 cell line in

- vitro[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2003, 19(6): 29-32. (in Chinese)
- [5] 王建华,王跃虎,司红丽. 狗舌草生物碱成分分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2004, 32(1): 93-95.
Wang J H, Wang Y H, Si H L. Analysis on alkaloids from *Tephroseris kirilowii* (Turcz.) Holub [J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition, 2004, 32(1): 93-95. (in Chinese)
- [6] 司红丽,王建华,王跃虎. 狗舌草总黄酮的提取及其毒性试验[J]. 畜牧与兽医, 2003, 35(7): 9-10.
Si H L, Wang J H, Wang Y H. Extraction and toxicity of flavonoids from *Tephroseris kirilowii* (Turcz.) Holub [J]. Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2003, 35(7): 9-10. (in Chinese)
- [7] 陈进军,王建华. 狗舌草中毒猪血液中吡咯代谢物的测定[J]. 畜牧兽医学报, 2002, 33(1): 45-47.
Chen J J, Wang J H. Determination of sulphur-conjugated pyrrolic metabolite in swine exposed to *Tephroseris kirilowii* (Turcz.) Holub [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2002, 33(1): 45-47. (in Chinese)
- [8] 陈进军,王建华. 早花期和盛花期狗舌草中双稠吡咯啉生物碱对大白鼠的毒性试验[J]. 中国兽医科技, 1998, 28(10): 8-9.
Chen J J, Wang J H. Toxicity tests of pyrrolizidine alkaloids from early and flourishing *Tephroseris kirilowii* (Turcz.) Holub in rat [J]. Chinese Journal of Veterinary Science and Technology, 1998, 28(10): 8-9. (in Chinese)
- [9] 陈进军,王建华,薛登民. 猪狗舌草中毒的病理学研究[J]. 西北农业大学学报, 1999, 27(2): 53-57.
Chen J J, Wang J H, Xue D M. Histopathology in swines exposed to *Tephroseris kirilowii* (Turcz.) Holub [J]. Journal of Northwest Agricultural University, 1999, 27(2): 53-57. (in Chinese)
- [10] Buckmaster G W. Pyrrolizidine alkaloid poisoning in rats: protective effects of dietary cysteine [J]. Journal of Animal Science, 1976, 3(2): 464-473.
- [11] 司红丽,王建娜,王跃虎,等. 狗舌草黄酮类化合物对3种肿瘤细胞的药物敏感试验[J]. 药物生物技术, 2003, 10(4): 229-231.
Si H L, Wang J N, Wang Y H, et al. Study of flavonoids compound from *Tephroseris kirilowii* (Turcz.) Holub on three tumor cells by the drug sensitive test [J]. Pharmaceutical Biotechnology, 2003, 10(4): 229-231. (in Chinese)
- [12] 陈进军,王建华. 狗舌草提取物诱导 L1210 细胞的凋亡[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(3): 295-298.
Chen J J, Wang J H. Apoptosis of L1210 cell line induced by extract from *Tephroseris kirilowii* (Turcz.) Holub *in vitro* [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2006, 37(3): 295-298. (in Chinese)
- [13] 陈进军,王建华. 狗舌草提取物诱导淋巴细胞性白血病 L1210 细胞分化的研究[J]. 中国兽医科学, 2005, 35(11): 892-894.
Chen J J, Wang J H. Study on *in vitro* differentiation of L1210 cells induced by extract from *Tephroseris kirilowii* [J]. Chinese Journal of Veterinary Science and Technology, 2005, 35(11): 892-894. (in Chinese)
- [14] 陈进军,王建华. 狗舌草提取物体内抗 L1210 白血病效果的研究[J]. 中国农学通报, 2005, 21(8): 15-18.
Chen J J, Wang J H. Anti-leukemic effects of extract from *Tephroseris kirilowii* (Turcz.) Holub *in vitro* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21(8): 15-18. (in Chinese)
- [15] 陈进军,孔庆波,王建华,等. 狗舌草抗淋巴性白血病有效部位的急性毒性[J]. 动物医学进展, 2004, 25(2): 88-89.
Chen J J, Kong Q B, Wang J H, et al. Acute toxicity of anti-lympholeukemic extract from *Tephroseris kirilowii* (Turcz.) Holub [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2004, 25(2): 88-89. (in Chinese)
- [16] 邓源,于弘,李秀敏,等. 滋阴补肾丸的毒理学研究[J]. 华北国防医药, 2006, 18(6): 390-393.
Deng Y, Yu H, Li X M, et al. A toxicological study of Ziyinbushen pills [J]. Medical Journal of National Defending Forces in North China, 2006, 18(6): 390-393. (in Chinese)
- [17] 陈进军,聂芳红,林红英,等. 千里光提取物的镇痛作用及致突变性分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2007, 35(3): 49-52, 56.
Chen J J, Nie F H, Lin H Y, et al. Analgesic effect of *Senecio scandens* extract and its mutation test in mice [J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition, 2007, 35(3): 49-52, 56. (in Chinese)
- [18] 陈进军,于增杰,林红英,等. 千里光提取物的小鼠骨髓微核试验[J]. 中兽医医药杂志, 2007(1): 20-22.
Chen J J, Yu Z J, Lin H Y, et al. Bone-marrow micronucleus test of extract from *Senecio scandens* Buch-Ham in mice [J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 2007(1): 20-22. (in Chinese)
- [19] Ehling U H. Induction of specific-lotus and dominant-lethal mutations by cyclophosphamide and combined cyclophosphamide-radiation treatment in male mice [J]. Mutation Research, 1988, 199(1): 21-33.
- [20] 肖希龙,沈建忠,赵少翰,等. 爱多收对大鼠的生殖毒性研究[J]. 畜牧兽医学报, 1995, 26(4): 334-339.
Xiao X L, Shen J Z, Zhao S H, et al. Study on the toxicity of Atonik to the reproduction of rats [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 1995, 26(4): 334-339. (in Chinese)