

复方金铃四逆四物失笑散的毒理学实验

白春霞¹, 孙国娟², 谢萍^{2*}, 冯俭^{2*}, 蒋川¹, 李倩¹, 崔静宜¹

(1. 成都中医药大学, 成都 610072; 2. 成都中医药大学附属医院, 成都 610072)

[摘要] **目的:**探讨复方金铃四逆四物失笑散(简称复方失笑散)急性毒性及慢性毒性,以评价复方失笑散临床用药安全性。**方法:**KM小鼠40只,按体重随机分为复方失笑散组($192\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和正常组,模拟临床口服给药,测定小鼠最大耐受量(MTD)。在慢性毒性实验中,取SD大鼠80只,称重,按体重随机分成4组,分别为正常组,复方失笑散高、中、低剂量组($30.6, 15.3, 7.65\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),每组20只,每日ig给药1次,连续4周。分别观察给药4周及恢复2周后各组动物一般状态、体重、进食量、食物利用率及主要脏器指数的变化,并对各脏器进行组织病理学检查。**结果:**小鼠最大耐受量为 $192\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,相当于成人临床推荐日用量的217.4倍。慢性毒性实验,动物未出现毒性相关反应,无死亡情况,各剂量组动物体重、进食量、食物利用率及主要脏器脏/指数与同期正常组比较,均无显著性差异,组织病理学检查未发现与本药相关的病理变化。**结论:**复方失笑散对小鼠无明显毒性反应,长期服用对大鼠蓄积性毒性低,提示复方失笑散临床规定剂量安全性高。

[关键词] 复方金铃四逆四物失笑散; 急性毒性; 慢性毒性; 临床安全性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)16-0163-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016160163

Toxicologic Experiment of Fufang Jinling Sini Siwu Shixiao Powder

BAI Chun-xia¹, SUN Guo-juan², XIE Ping^{2*}, FENG Jian^{2*}, JIANG Chuan¹, LI Qian¹, CUI Jing-yi¹

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610072, China;

2. Teaching Hospital of Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the acute toxicity and chronic toxicity of Fufang Jinling Sini Siwu Shixiao powder (FSXP) and evaluate its safety in clinical applications. **Method:** The 40 KM mice were randomly divided into FSXP group ($192\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) and normal group according to their body weight. The maximum tolerated dose (MTD) was determined in mice by oral gavage. In chronic toxicological test, 80 SD rats were randomly divided into 4 groups according to their body weight: normal group, FSXP high-dose group, medium-dose group and low-dose group ($30.6, 15.3, 7.65\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), $n=20$ in each group. The medicine was given intragastrically once a day for consecutive 4 weeks. The changes of general state, body weight, food intake, food utilization rate and organ index were observed respectively, and the histopathological examination of the main organs were determined after 4 weeks of treatment and 2 weeks after drug withdrawal. **Result:** The maximum tolerated dose for mice was $192\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, which was equivalent to 217.4 times of the recommended adult clinical dose. In the chronic study, no death or clinical toxic signs were found. Compared with the normal group, no significant difference was found in body weight, food intake, food utilization rate and organ index of each drug group of FSXP. In addition, no pathological changes related to this drug were observed in the histopathological examination. **Conclusion:** FSXP has no significant toxicity to mice, and long-term taking has less accumulative toxicity to rats, indicating that the

[收稿日期] 20160630(002)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373680)

[第一作者] 白春霞, 硕士, 从事中药化学成分和质量标准研究, E-mail: baichunxia189@163.com

[通讯作者] * 谢萍, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 从事中医妇科肿瘤研究方向, E-mail: fxp2410@126.com;

* 冯俭, 硕士, 教授, 硕士生导师, 从事中药化学成分分析和中药制剂研究, E-mail: fengjian222@tom.com

clinical prescribed dose of FSXP is in high safety.

[Key words] Fufang Jinling Sini Siwu Shixiao powder; acute toxicity; chronic toxicity; clinical safety

复方金铃四逆四物失笑散为成都中医药大学附属医院名老中医针对原发性痛经实证病机“不通则痛”,而在古方基础上加减而得,处方主要由柴胡、延胡索、白芍、枳壳、五灵脂等 11 味药材组成,具有理气活血、化瘀止痛之功效。该方在临床上应用已有数十年,疗效显著,且前期研究发现,复方失笑散对原发性痛经模型大鼠具有明显的镇痛效果。由于处方药味成分复杂,存在相互作用,目前,复方金铃四逆四物失笑散对小鼠急性毒性实验做了部分研究^[1]。本研究在此基础上,按照国家相关中药新药研发要求^[2],模拟临床经口给药途径,采用小鼠半数致死量(LD₅₀)和最大耐受量(MTD)实验研究试药的急性毒性,并通过大鼠长期给药方式考察药物的慢性毒性,明确该药对动物的毒性反应性质和程度,并根据主要脏器组织病理学检查确定其毒性靶器官,以客观评价该处方非临床用药的安全性,为其临床用药安全及毒副反应监测提供科学的参考依据。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,雌雄各半,SPF 级别,体重 18~22 g,由四川省中医药研究所实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(川)2013-0019;SD 大鼠,性成熟,SPF 级别,雌雄各半,体重 70~90 g,由四川成都达硕生物科技有限公司提供,动物合格证号 SCXK(川)2013-0024。均分笼饲养,明暗周期为 12 h/12 h,室内温度 23~27 ℃,相对湿度 45%~55%,试验期间自由饮用灭菌纯化水(灭菌方法:经 121 ℃灭菌 30 min,有效期 14 d),食用标准普通柱状饲料,实验前适应性饲养 4 d。

1.2 药物及试剂 复方金铃四逆四物失笑散(复方失笑散)浸膏粉,由成都中医药大学附属医院制剂科参照制定的工艺流程制备而得,深棕色干燥粉末,每克浸膏粉相当于生药量的 1.907 g;实验前,以 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配制成最大可灌胃质量浓度 1.6 g·mL⁻¹。改良巴氏染液(南京建成科技有限公司,批号 201306)。

1.3 仪器 HZT-A+200 型电子天平(福州华志科学仪器有限公司),LMQ-R-3260B 型高压蒸汽灭菌器(山东新华),MDF-382E(CN)型医用低温冰箱(大连三洋冷链有限公司),CH30 型光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 小鼠急性毒性实验 经预实验可知该药无法测定 LD₅₀,故选择测定 MTD^[3-4]。取 KM 小鼠 40 只,按体重随机分为给药组和正常组,给药前禁食 14 h,给药组以受试药物最大浓度,最大给药容积(40 mL·kg⁻¹),24 h 内 ig 给药 3 次,间隔 4 h,正常组给予等体积 0.5% CMC-Na,给药 2 h 后自由饮水和进食,观察期 14 d。详细观察小鼠毒性反应情况(给药当天观察时间:给药后即刻,2,4,6 h),观察动物一般状态(行为、外观、毛色、饮食、粪便等),给药前及给药后每天固定时间,测量小鼠体重,饲料加入量与剩余量。实验结束后,脱颈椎处死小鼠,剖检各组小鼠主要脏器心、肝、脾、肺、肾等的体积、颜色、质地有无异常。

2.2 大鼠慢性毒性实验^[3,5-6] 取 SD 大鼠 80 只,称重,按体重随机分成 4 组,分别为正常组,复方失笑散高剂量组(30.6 g·kg⁻¹),中剂量组(15.3 g·kg⁻¹)及低剂量组(7.65 g·kg⁻¹),每组 20 只,给药前禁食不禁水 14 h。各组按实验剂量设计 ig 给予相应的药物,每日 1 次,连续给药 4 周,恢复 2 周,期间可根据动物体重的变化调整给药量。每日观测大鼠体重,饲料加入量与剩余量变化,大鼠的一般情况(行为活动、皮毛色泽、鼻眼和口耳有无异常分泌物及瞳孔扩大或缩小,腹部胀气或收缩,大便及死亡情况等)及中毒、死亡情况等。分别在给药 4 周与恢复 2 周后,脱颈椎处死大鼠,剖检各组动物主要脏器质地、颜色、体积等有无异常,并测定肝、心、脾、肺、肾、脑、雌鼠卵巢、子宫及雄鼠睾丸的湿重,计算各脏器指数,并对各主要脏器进行组织病理学检查,对比分析自身与组间差异,评价药物蓄积性毒性,明确毒性反应靶器官。

$$\text{脏器指数} = \text{脏器湿重(g)} / \text{体重(g)} \times 100$$

2.3 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计软件进行数据分析,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间单因素比较先分析数据正态性,后采用 LSD 法进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠急性毒性实验 小鼠给药后,与正常组比较,自主活动量减少,喜饮水,大便较稀,第 2 天,动物症状缓解,第 3 天均基本恢复正常,两组小鼠无显著性差异,实验期间,动物无明显毒性反应,无死亡

情况。实验结束后,剖检动物,主要脏器心、肝、脾、肺、肾等未见有异常变化。见表 1。

表 1 复方失笑散对小鼠急性毒性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of Fufang Jinling Sini Siwu Shixiao power (FSXP) on acute toxicity in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	性别	体重/g			总增重 /g	总摄食量 /g	总食物 利用率/g	出现毒性 反应动物数 /只	死亡数 /只
			初始值	第 7 天	第 14 天					
正常	-	雌	19.9 ± 1.3	28.1 ± 0.8	30.2 ± 1.4	10.3 ± 1.7	77.4 ± 2.6	13.3 ± 1.8	0	0
		雄	21.0 ± 1.4	30.9 ± 1.1	35.9 ± 1.1	14.9 ± 2.1	90.3 ± 0.9	16.5 ± 1.9	0	0
FSXP	192	雌	20.6 ± 1.3	27.2 ± 1.0	29.7 ± 1.5	9.1 ± 0.8	77.7 ± 1.3	11.8 ± 2.4	0	0
		雄	20.7 ± 1.3	31.7 ± 1.0	36.4 ± 1.4	15.7 ± 1.1	93.8 ± 2.0	16.8 ± 1.5	0	0

注:与正常组比较¹⁾P < 0.05, ²⁾P < 0.01(表 2~5 同)。

3.2 大鼠慢性毒性实验

3.2.1 对大鼠体重及食物利用率的影响 复方失笑散对大鼠每周的体重、总食物利用率的影响与正常组比较,复方失笑散中剂量雌性组给药第 4 周体重有显著性差异(P < 0.05),低剂量雄性给药组第 1

周体重有显著性差异(P < 0.05),其他均未见明显差异,分析可知差异无剂量相关性。各组大鼠总食物利用率变化均无显著性差异,表明受试药物长期服用对大鼠体重的增长及食物的利用率无明显影响。见表 2,3。

表 2 复方失笑散对大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of FSXP on weight in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	性别	给药 0 周	给药 1 周	给药 2 周	给药 3 周	给药 4 周	恢复 1 周	恢复 2 周
正常	-	雌	80.7 ± 14.6	116.3 ± 25.7	139.0 ± 16.5	163.1 ± 20.6	184.9 ± 21.6	203.8 ± 17.6	209.6 ± 13.3
		雄	85.2 ± 17.1	130.4 ± 11.2	158.4 ± 8.9	194.7 ± 13.0	220.1 ± 34.7	254.3 ± 9.4	282.7 ± 26.5
FSXP	7.65	雌	82.3 ± 9.4	112.8 ± 17.6	137.2 ± 28.6	160.7 ± 13.1	179.6 ± 7.7	199.1 ± 15.3	220.7 ± 15.6
		雄	86.7 ± 15.9	112.6 ± 30.1 ¹⁾	156.3 ± 18.2	187.5 ± 29.1	221.4 ± 20.1	252.8 ± 31.4	280.1 ± 18.6
	15.3	雌	81.9 ± 20.1	107.4 ± 11.4	141.5 ± 23.7	154.5 ± 20.4	162.5 ± 26.1 ¹⁾	200.1 ± 14.2	215.2 ± 11.3
		雄	85.1 ± 13.3	130.9 ± 8.1	149.1 ± 21.6	190.6 ± 9.7	208.6 ± 12.5	246.7 ± 16.9	284.3 ± 21.5
	30.6	雌	81.4 ± 17.3	107.1 ± 26.5	138.4 ± 29.1	158.1 ± 34.7	182.4 ± 15.2	195.8 ± 30.9	211.7 ± 9.4
		雄	86.0 ± 21.5	129.7 ± 16.4	155.9 ± 10.1	184.7 ± 8.6	217.2 ± 18.0	250.4 ± 12.6	266.9 ± 31.1

表 3 复方失笑散对大鼠总食物利用率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of FSXP on food utilization rate in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	性别	总增重 /g	总摄食量 /g	总食物 利用率/%
正常	-	雌	129.0 ± 27.1	404.7 ± 19.9	31.8 ± 3.4
		雄	187.5 ± 16.4	481.6 ± 37.4	39.0 ± 2.7
FSXP	7.65	雌	138.3 ± 19.9	390.1 ± 45.7	35.5 ± 2.6
		雄	193.5 ± 12.9	522.7 ± 46.3	37.0 ± 2.3
	15.3	雌	133.4 ± 21.7	436.9 ± 32.1	30.4 ± 3.7
		雄	202.3 ± 41.6	501.1 ± 29.0	40.3 ± 3.6
	30.6	雌	130.4 ± 35.2	375.2 ± 55.7	34.8 ± 4.1
		雄	181.0 ± 27.3	477.3 ± 40.8	37.9 ± 2.2

3.2.2 对大鼠主要脏器指数的影响 大鼠 ig 给药 4 周后,各组分别取 10 只进行系统解剖,雌雄各半,其余动物恢复 2 周后做同样检查,复方失笑散各剂量组大鼠组织脏器与同期正常组比较,脏器质地、色泽、大小及其位置关系比例均无明显差异,脏器指数均在正常值范围内,与正常组比较,均无显著性差异,说明复方失笑散长期服用对大鼠主要脏器指数无明显不良影响。见表 4,5。

3.2.3 对大鼠主要脏器组织病理学的影响 复方失笑散给药组与正常组比较,各组动物脏器间无粘连,脏器表面与内部各组织均未见充血、出血点、瘀血、水肿、溃疡、积液等组织病理学变化,对各主要脏器用 35% 福尔马林固定,切片,改良巴氏染液染色,借助显微镜作病理组织学检查。结果发现,给药 4

表 4 复方失笑散对雌性大鼠主要脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	时间	心	肝	脾	肺	肾	脑	卵巢	子宫
正常	-	给药 4 周	0.297 ± 0.046	3.094 ± 0.057	0.214 ± 0.061	0.562 ± 0.073	0.529 ± 0.064	0.463 ± 0.029	0.107 ± 0.044	0.371 ± 0.072
		恢复 2 周	0.316 ± 0.085	3.228 ± 0.114	0.194 ± 0.061	0.551 ± 0.104	0.537 ± 0.065	0.449 ± 0.011	0.096 ± 0.035	0.364 ± 0.074
FSXP	7.65	给药 4 周	0.302 ± 0.094	3.211 ± 0.041	0.190 ± 0.110	0.547 ± 0.035	0.538 ± 0.039	0.449 ± 0.106	0.110 ± 0.052	0.357 ± 0.113
		恢复 2 周	0.287 ± 0.104	3.090 ± 0.079	0.217 ± 0.047	0.549 ± 0.084	0.553 ± 0.133	0.464 ± 0.093	0.084 ± 0.090	0.349 ± 0.021
	15.3	给药 4 周	0.311 ± 0.041	3.206 ± 0.069	0.187 ± 0.063	0.542 ± 0.089	0.536 ± 0.121	0.454 ± 0.038	0.096 ± 0.091	0.364 ± 0.076
		恢复 2 周	0.329 ± 0.081	3.206 ± 0.038	0.184 ± 0.063	0.560 ± 0.049	0.567 ± 0.108	0.438 ± 0.125	0.103 ± 0.045	0.351 ± 0.012
	30.6	给药 4 周	0.286 ± 0.067	2.979 ± 0.115	0.225 ± 0.047	0.559 ± 0.081	0.541 ± 0.031	0.465 ± 0.027	0.112 ± 0.027	0.367 ± 0.053
		恢复 2 周	0.301 ± 0.114	3.176 ± 0.102	0.203 ± 0.089	0.542 ± 0.112	0.539 ± 0.094	0.441 ± 0.120	0.092 ± 0.054	0.358 ± 0.073

表 5 复方失笑散对雄性大鼠主要脏器脏指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

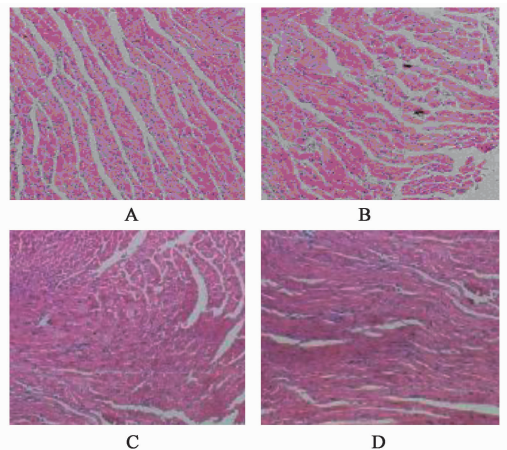
组别	剂量 /g·kg ⁻¹	时间	心	肝	脾	肺	肾	脑	辜丸
正常	-	给药 4 周	0.302 ± 0.057	3.257 ± 0.102	0.214 ± 0.049	0.573 ± 0.112	0.564 ± 0.071	0.457 ± 0.011	1.033 ± 0.096
		恢复 2 周	0.289 ± 0.041	3.172 ± 0.059	0.205 ± 0.033	0.569 ± 0.031	0.554 ± 0.116	0.446 ± 0.052	0.974 ± 0.102
FSXP	7.65	给药 4 周	0.319 ± 0.041	3.092 ± 0.067	0.207 ± 0.204	0.558 ± 0.069	0.570 ± 0.045	0.448 ± 0.065	1.101 ± 0.103
		恢复 2 周	0.306 ± 0.101	3.045 ± 0.214	0.216 ± 0.085	0.572 ± 0.025	0.562 ± 0.044	0.439 ± 0.120	0.106 ± 0.036
	15.3	给药 4 周	0.297 ± 0.890	3.295 ± 0.036	0.198 ± 0.023	0.581 ± 0.076	0.559 ± 0.031	0.046 ± 0.106	0.990 ± 0.034
		恢复 2 周	0.301 ± 0.097	3.116 ± 0.030	0.225 ± 0.101	0.561 ± 0.045	0.539 ± 0.089	0.428 ± 0.071	0.875 ± 0.062
	30.6	给药 4 周	0.307 ± 0.117	3.201 ± 0.033	0.210 ± 0.091	0.576 ± 0.044	0.561 ± 0.018	0.473 ± 0.114	1.076 ± 0.045
		恢复 2 周	0.294 ± 0.039	3.235 ± 0.091	0.187 ± 0.012	0.574 ± 0.127	0.544 ± 0.011	0.457 ± 0.083	1.006 ± 0.059

周后复方失笑散中剂量组 1 只雄性大鼠肝脏中央静脉区有轻度脂肪变性;恢复 2 周后,正常组 1 只雌性大鼠肝脏肝窦区有轻度脂肪变性,1 只雄性大鼠肺脏肺间质可见少量炎症细胞浸润,其余脏器组织均未见病变。对比分析可知,实验组与正常组病变的症状与程度相似,上述组织病变均为动物自身病变引起。结果表明该受试药物长期服用对大鼠主要脏器组织无明显病理形态学影响。见图 1~5。

4 讨论

复方金铃四逆四物失笑散在临床上用于原发性痛经的治疗,已取得良好效果,故该药的进一步开发对痛经相关疾病的治疗和预防具有较大的临床意义,但目前尚未对该复方进行非临床毒理分析与评价。药物非临床安全性评价可为临床安全用药提供参考信息,能提示药物风险,权衡药物风险和收益,是临床安全性研究的必要前提^[7]。本研究按照国家中药新药研发要求,以动物实验为基础,采用急性毒性和慢性毒性实验方法评估该药非临床安全性,为临床安全性研究与用药提供依据。

复方失笑散小鼠急性毒性实验中,部分动物给药后表现为多聚少动,且个别小鼠出现大便稀的现象,但于第 2~3 天逐渐恢复正常,原因是与大剂量



A. 正常组;B. 复方失笑散 7.65 g·kg⁻¹组;C. 复方失笑散 15.3 g·kg⁻¹组;D. 复方失笑散 30.6 g·kg⁻¹组(图 2~5 同)

图 1 复方失笑散对大鼠心脏组织病理学的影响(改良巴氏,×200)
Fig.1 Effects of FSXP on heart tissue pathology in rats (improved papanicolaou, ×200)

ig 给药有关,并非药物的毒性反应,测得小鼠的最大耐受量为 192 g·kg⁻¹,相当于成人临床推荐日用量的 217.4 倍,表明复方失笑散经口给药无明显急性毒性反应。大鼠慢性毒性实验中,以该药高、中、低剂量组,ig 给药大鼠 4 周并恢复 2 周后,动物未见明显毒性相关反应及死亡情况,与同期正常组相比,

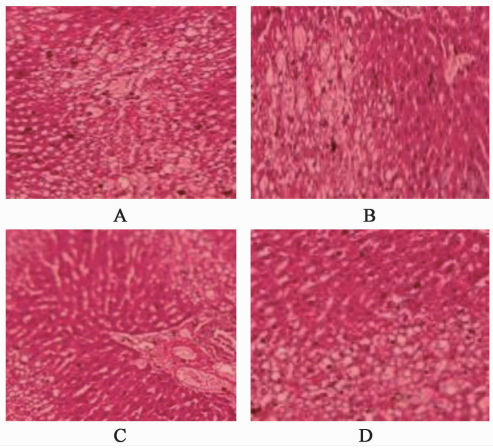


图 2 复方失笑散对大鼠肝脏组织病理学的影响 (改良巴氏, ×200)
Fig. 2 Effects of FSXP on liver tissue pathology in rats (improved papanicolaou, ×200)

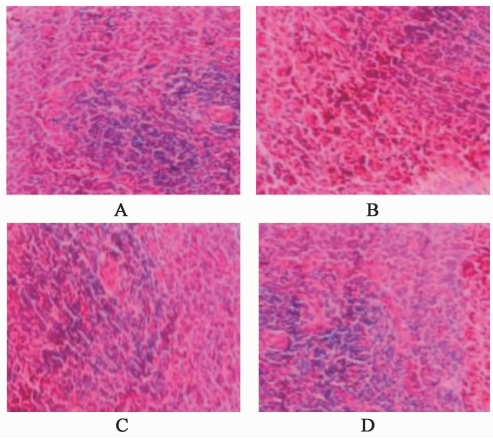


图 3 复方失笑散对大鼠脾脏组织病理学的影响 (改良巴氏, ×200)
Fig. 3 Effects of FSXP on spleen tissue pathology in rats (improved papanicolaou, ×200)

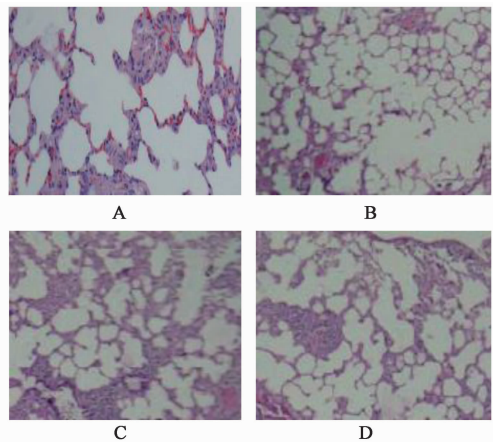


图 4 复方失笑散对大鼠肺脏组织病理学的影响 (改良巴氏, ×200)
Fig. 4 Effects of FSXP on lung tissue pathology in rats (improved papanicolaou, ×200)

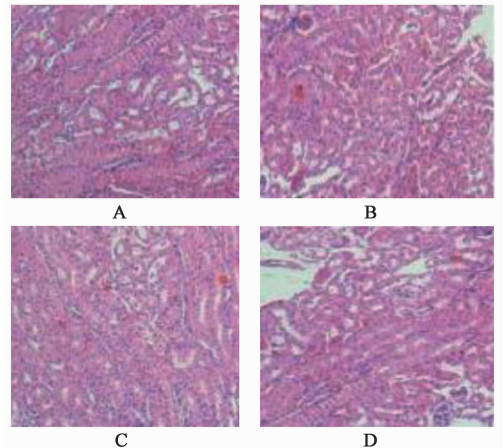


图 5 复方失笑散对大鼠肾脏组织病理学的影响 (改良巴氏, ×200)
Fig. 5 Effects of FSXP on kidney tissue pathology in rats (improved papanicolaou, ×200)

各剂量组大鼠体重增长、食物利用率、主要脏器指数均无显著性差异。大鼠组织病理学检查,未见与该药相关的病理变化及后遗毒性,个别动物有出现脏器组织病变,经对比分析,均是由动物自身的病变引起,与该药无关。在本实验条件下未发现该药的毒性靶器官,表明复方失笑散长期服用对大鼠体重、食物利用率、主要脏器指数及其组织病理形态学无不良影响。提示复方失笑散对小鼠无明显急性毒性反应,长期服用该药对大鼠蓄积性毒性低,非临床用药安全性高,临床规定使用的剂量安全、可靠。

[参考文献]

- [1] 白春霞,孙国娟,谢萍,等. 复方金铃四逆四物失笑散对小鼠急性毒性实验研究[J]. 亚太传统医药, 2015, 11(5):5-7.
- [2] 国家药品监督管理局《中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则》课题研究组. 中药、天然药物长期毒性研究技术指导原则[S]. 2005; [Z] GPT3-1.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2011:107.
- [4] 蒋平,杨阳,孙阳,等. 养胃颗粒灌胃给药对小鼠的急性毒性实验[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(4):841-843.
- [5] 兰艳丽,涂晓敏,谭正怀,等. 甘桔冰梅片的急性毒性与长期毒性实验研究[J]. 中国药房, 2014, 25(27):2507-2509.
- [6] 杜正彩,郝二伟,黄庆,等. 复方绞股蓝益智颗粒急性毒性与慢性毒性实验研究[J]. 当代医学, 2012, 18(19):1-3.
- [7] 宋军,赵军宁,吴承云,等. 中药非临床安全性评价对上市后安全性再评价作用之思考[J]. 中国药物警戒, 2010, 7(12):730-732.

[责任编辑 周冰冰]