

基于UHPLC-UV-Q-TOF-MS/MS的厚朴不同方法姜制前后化学成分定性研究

孙戡平^{1,2} 秦昆明³ 李伟东⁴ 彭思颖^{1,3} 金俊杰^{2,4} 杨冰^{1,2} 蔡宝昌^{1,2,3}

(1 南京中医药大学,南京,210023; 2 南京海昌中药集团有限公司,南京,210061; 3 南京海源中药饮片有限公司,南京,210061; 4 江苏海昇药业有限公司,南京,210061)

摘要 采用UHPLC-Q-TOF-MS/MS技术定性分析方法,探讨厚朴姜制前后以及不同姜制方法化学成分变化。定性采用正负离子扫描模式,利用Peakview1.2软件分析鉴定出35种成分,发现厚朴姜制前后质变成成分较少,并结合Marker-View1.2.1软件进行主成分分析和t检验,得出6种主要差异性成分发现厚朴经过姜炙之后厚朴酚、厚朴三酚、十四烷酸、十六烷酸含量增加,蓝桉醇含量减少,上述化学成分的差异可能是厚朴生品和制品临床功效不同的主要原因。

关键词 厚朴;姜制;UHPLC-Q-TOF-MS/MS;HPLC-UV;定性分析;化学成分

Qualitative Study on Chemical Composition of Ginger Magnolia with Different Methods Based on UHPLC-UV-Q-TOF-MS/MS

Sun Kanping^{1,2}, Qin Kunming³, Li Weidong⁴, Peng Siying^{1,3}, Jin Junjie^{2,4}, Yang Bing^{1,2}, Cai Baochang^{1,2,3}

(1 Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2 Nanjing Haichang Chinese Medicine Corporation, Nanjing 210061, China; 3 Nanjing Haiyuan Prepared Slices of Chinese Crude Drugs Co. Ltd, Nanjing 210061, China; 4 Nanjing Haisheng Pharmaceutical Co. Ltd, Nanjing 210061, China)

Abstract A qualitative analytical method based on quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry (UHPLC-Q-TOF-MS/MS) was developed for identification of multi-constituents of raw Magnolia (RM) and processed Magnolia (GM). UHPLC-Q-TOF-MS/MS qualitative analysis was performed under positive and negative ion modes and a total of 35 chemical compounds were identified. The analysis data were subjected to a principle component analysis with a t-test. Five peaks were found to be the main difference ($P < 0.05$) between RM and GM. The results indicated that there was higher magnatriol, magnolol, tetradecanoic acid, palmitic acid, chlorogenic acid in GM than in RM. However, there were fewer levels of globulol in the GM than RM, which may be the main reason for different clinical efficacy of RM and GM.

Key Words Magnolia officinalis; Ginger progressed; UHPLC-Q-TOF-MS/MS; Qualitative analysis; Chemical components

中图分类号:R286 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2019.02.007

厚朴为木兰科植物厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils.)或凹叶厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils.)的干燥干皮、根皮及枝皮,具有燥湿化痰、下气除满的功效^[1]。生厚朴对咽喉具有一定的刺激性,姜炙后不仅消除刺激性还增强宽中和胃的效果,故临床多用姜厚朴入药^[2]。现今姜制厚朴多以干姜汁或生姜汁炙,炮制前后临床疗效发生变化,这些变化物质基础是厚朴炮制前后化学成分发生变化,该变化在如今的研究中尚不明确^[3]。因此,有必要对厚朴炒制前后化学成分进行进一步研究,揭示厚朴中的主要成分以及

这些成分炮制前后的变化。

超高效液相色谱与质谱联用技术(UHPLC-Q-TOF-MS/MS)^[4]集高效分离能力的色谱,高分辨、高灵敏、强定性能力的质谱于一体,已成为中药成分研究的最有效的分析工具之一。厚朴中主要成分为厚朴酚类(厚朴酚)和挥发油类(桉油醇)物质^[5]。本研究以厚朴生品和不同姜制品为研究对象,采用UHPLC-QTOF-MS/MS技术定性的分析方法,探讨厚朴炒不同姜制法炮制后化学成分变化,试图从化学成分角度阐述炒制对厚朴药效物质基础的影响,为临床用药提供科学依据。

基金项目:“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09301075);江苏省重点研发计划-社会发展项目(BE2016626);江苏省六大人才高峰项目(SWYY-108);江苏省333高层次人才工程项目(2016-3-0277);苏南国家自创区重点研发计划项目(201812021)

作者简介:孙戡平(1995.10—),女,硕士研究生在读,研究方向:中药炮制机制及质量标准研究,E-mail:15152614710@163.com

通信作者:蔡宝昌(1952.09—),男,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:中药炮制机制及质量标准研究,Tel:(025)68193567,E-mail:bc-cai@126.com

1 仪器与试剂

1.1 仪器 日本 Shimadzu 超高效液相色谱仪(配有 LC-30AD 二元液相泵、SIL-30SD 自动进样器、DGU-20A5R 在线脱气机、CTO-30A 柱温箱);美国 AB SCIEX TripleTOF 5600 + 系统(配有电喷雾离子源 ESI);数据采集软件:Analyst TF1.6 software (ABSCEIX, USA);数据处理软件系统:Peakview 1.2 software (ABSCEIX, USA) 和 Markerview 1.2.1 software (ABSCEIX, USA);30A 超高效液相色谱分析系统(日本岛津公司);SPE 固相萃取小柱;Shimadzu LC-20AB 高效液相色谱系统(日本岛津公司,包括在线脱气机、ProminenceSIL-20A 自动进样器、SPD-M20A 二极管阵列检测器、CTO-20A 柱温箱);KQ5200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);BP121S 电子分析天平(梅特勒-托雷多公司)。

1.2 试剂 厚朴购自南京海源中药饮片有限公司(批号:170601;产地:湖北),干姜购自南京海源中药饮片有限公司(批号:170802;产地:山东),经南京海源中药饮片有限公司丁斐执业药师鉴定。色谱纯甲酸、质谱纯甲醇、质谱纯乙腈(德国 E. Merck);水为 Milliporeill-Q 超纯水。

1.3 分析样品 生姜炙厚朴:取厚朴丝,加生姜汁拌匀,闷润至姜汁被吸尽,用文火 80 ~ 120 °C 炒干既可;生姜洗净,捣烂,加适量水,榨取姜汁,姜汁和生姜比为 1:1,厚朴每 100 kg 用生姜 10 kg。干姜炙厚朴:取干姜煎煮 3 次,合并滤液浓缩,取厚朴丝,加干姜汁拌匀,闷润至姜汁被吸尽,用文火 80 ~ 120 °C 炒干既可,厚朴每 100 kg 用干姜 0.3 kg^[6-7]。

2 方法与结果

2.1 质谱条件 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 色谱条件采用 YMC C₁₈ 反向色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm),前置 Agilent C₁₈ 预柱;流动相 A(0.1% 甲酸水溶液)-B(乙腈),梯度洗脱,程序为 0 ~ 3 min, 15% ~ 13% B; 6 ~ 13 min, 21% ~ 30% B; 18 ~ 23 min, 45% ~ 55% B; 24 ~ 32 min, 100% ~ 100% B; 32 ~ 34 min, 5% ~ 5% B; 流速 0.3 mL/min; 柱温 35 °C, 进样体积 3 μL。质谱条件 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 系统使用 ESI 离子源,分别在正、负离子模式下采集数据。ISVF 为 4 500/-4 500 V, TEM 为 550 °C, DP 为 60/-60 V, CE 为 35/-35 eV, 雾化气体为氮气, Gas1 为 55 psi(1 psi ≈ 6.9 kPa), Gas2 为 55 psi, Curtain Gas 为 35 psi。一级质谱母离子扫描范围为 m/z 100 ~ 2 000, 二级质谱子离子扫描范围为 m/z 50 ~ 1 000, 开

启动态背景扣除(DBS)。

2.2 供试品溶液的制备 取厚朴及姜制厚朴粉(60 目)各 1.5 g,精密称定,置 100 mL 锥形瓶中,精密加入甲醇溶液 30 mL,超声提取 30 min,取出称定重量,用甲醇补足减失重量,静置后滤过,取续滤液过 SP 小柱进行稀释即可。

2.3 数据库的建立 借助于 CNKI、PubMed 和 SciFinder 等数据库检索厚朴相关文献,尽可能全面地建立包含中药厚朴中所含化合物的分子式、分子质量和化学名称等信息数据库,并借助于 ChemicalBook、ChemSpider 等下载各个化合物的 mol 文件,计算其在正离子模式下常见离子 $[M + H]^+$ 、 $[M + NH_4]^+$ 和负离子模式下常见离子 $[M - H]^-$ 、 $[M + COOH]^-$ 等多种离子形态的精确质荷比数值^[8]。

2.4 软件应用 将所得各组原始质谱数据导入 PeakView 软件中,通过分析比较各个化合物由总离子流图提取到的二级碎片与其 mol 文件所对应的碎片之间的匹配以及相关文献数据对比进行化学成分确认,最终误差 < 5 ppm 的成分被鉴定出来;并借助于 Markerview 软件对多批厚朴生品和姜制品原始质谱数据进行主成分分析和组间 t 检验分析,得出其 PM 得分图和载荷图。

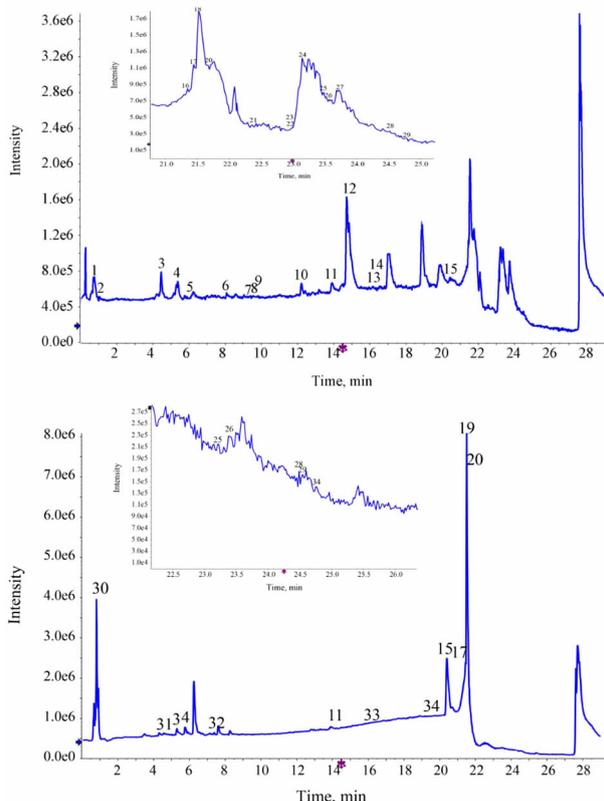


图1 厚朴正离子模式及负离子模式总离子流图

表 1 姜制及未姜制厚朴成分鉴定

No	Compound	Element composition	Mr	tR/min	Negative ion					Positive ion				
					ppm	Detected	Ion type	RM	GM	ppm	Detected	Ion type	RM	GM
1	Magnosprengerine	C ₁₁ H ₁₇ NO ₂	195.1259	0.84				-	-	-0.7	8290	[M-H] ⁺	+	+
2	Isosalsoline	C ₁₈ H ₃₂ O	264.2453	0.86				-	-	-0.3	3811	[M-H] ⁺	+	+
3	(E)-3-(4-Hydroxy-3,5-Dimethoxyphenyl)acrylaldehyde	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208.0736	5.49	-0.1	1459	[M+H] ⁻	+	+	0.2	4258	[M-H] ⁺	+	+
4	Reticuline	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	329.1627	3.81	-4	188	[M+H] ⁻	-	+	1.5	6073	[M-H] ⁺	+	+
5	Cinnamyl Acetate	C ₁₁ H ₁₂ O ₂	176.0837	6.59				-	-	-1.2	1093	[M-H] ⁺	+	+
6	Syringaresinol	C ₂₂ H ₂₆ O ₈	418.1628	8.05				-	-	-2.9	605	[M-H] ⁺	-	+
7	Lirinidine	C ₁₈ H ₁₉ NO ₂	281.1415	9.31	0.1	4432	[M+H] ⁻	+	+				-	-
8	Annonaine	C ₁₇ H ₁₅ NO ₂	265.1102	9.48				-	-	0.3	17585	[M-H] ⁺	+	+
9	(7aS)-7-Methyl-6,7,7a,8-tetrahydro-5H-[1,3]benzodioxolo[6,5,4-de]benzo[g]quinoline	C ₁₈ H ₁₇ NO ₂	279.1259	9.66	1.2	2841	[M+H] ⁻	+	+				-	-
10	Lysicamine	C ₁₈ H ₁₃ NO ₃	291.0895	12.06				-	-	0.7	566	[M-H] ⁺	-	+
11	Magnatriol * *	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242.0942	13.85	-0.2	10454	[M+H] ⁻	+	+	-2.9	636	[M-H] ⁺	-	+
12	1,4-cineol	C ₁₂ H ₂₂ O	182.1671	14.87				-	-	-3.2	568	[M-H] ⁺	-	+
13	-Agarofuran	C ₁₅ H ₂₄ O	220.1827	16.24				-	-	-0.1	5863	[M-H] ⁺	+	+
14	9,12-Octadecadienal	C ₁₈ H ₃₂ O	264.2453	15.2				-	-	-0.2	3196	[M-H] ⁺	+	+
15	Honokiol	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	266.1307	20.41	1.2	1018654	[M+H] ⁻	+	+	-0.4	28338	[M-H] ⁺	+	+
16	Bornyl Acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196.1463	21.31				-	-	-0.4	2284	[M-H] ⁺	+	+
17	Obovatal	C ₁₈ H ₁₈ O ₃	282.1255	21.45	0.1	596466	[M+H] ⁻			0.7	61876	[M-H] ⁺	+	+
18	Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164.0837	21.62				-	-	-1.9	1209	[M-H] ⁺	-	+
19	Magnolol * *	C ₁₈ H ₁₈ O ₂	266.13068	21.53	1	3566240	[M+H] ⁻	+	+	0.9	183180	[M-H] ⁺	+	+
20	Magnaldehyde	C ₁₈ H ₁₆ O ₃	280.1463	21.57	-0.2	20778	[M+H] ⁻	+	+	0.8	11966	[M-H] ⁺	+	+
21	α-Curcumene	C ₁₅ H ₂₂	202.1722	22.35				-	-	0.4	6394	[M-H] ⁺	+	+
22	Globulol *	C ₁₅ H ₂₆ O	222.1984	22.95				-	-	-0.8	1068	[M-H] ⁺	+	+
23	Ethanol-(1r,4e,9s)-4,11,11-Trimethyl-8-Methylenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene(1:1)	C ₁₅ H ₂₆ O	222.1984	22.93				-	-	0.4	1066	[M-H] ⁺	-	+
24	Guaiol	C ₁₅ H ₂₆ O	222.1984	22.95	0.8	1016	[M+H] ⁻	+	+				-	-
25	Tetradecanoic Acid *	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228.2089	23.2	0.1	4627	[M+H] ⁻	+	+				-	-
26	Piperitylhonokiol	C ₂₈ H ₃₄ O ₂	402.2558	23.52	-0.9	10507	[M+H] ⁻	+	+	-1.7	8787	[M-H] ⁺	+	+
27	(1E,4E,8E)-α-Humul-ene	C ₁₅ H ₂₄	204.1878	23.71				-	-	-0.2	28574	[M-H] ⁺	+	+
28	Dipiperitylmagnolol	C ₃₈ H ₅₀ O ₂	538.3810	24.8	-2.3	474	[M+H] ⁻	-	+	-0.4	233	[M-H] ⁺	-	+
29	Oleic Acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.2558	24.51	-0.4	3730	[M+H] ⁻	+	+	4.3	2375	[M-H] ⁺	+	+
30	Cadinol	C ₂₀ H ₃₀ O ₆	356.1263	0.8	3.2	870	[M+H] ⁻	+	+					
31	Chlorogenic Acid * *	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	354.0950	4.58	-1.5	10325	[M+H] ⁻	+	+	2.4	4865	[M-H] ⁺	+	+
32	Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610.1533	7.28	2.8	230	[M+H] ⁻	-	+				-	-
33	Methyl eugenol	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178.0993	16.17	0.3	503	[M+H] ⁻	+	+				-	-
34	Magolignan	C ₃₆ H ₃₆ O ₈	596.2414	19.63	0.6	1209	[M+H] ⁻	+	+				-	-
35	Palmitic Acid * *	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.2402	24.59	0.5	11674	[M+H] ⁻	+	+				-	-

2.5 成分鉴别和分析 厚朴生品和炮制品在正、负离子模式下的总离子流图(图1),正负离子2种模式下共鉴别出35种化合物。见表1。以厚朴酚为例来说明鉴别过程,峰19的[M-H]⁺为267.530,对应分子式为C₁₈H₁₈O₂,质量数为266.3341,主要二级碎片为m/z115.0542,发现质量数正好与厚朴酚和和厚朴酚相当,推测该化合物为厚朴酚和和厚朴酚,将厚朴酚的mol文件所预测的碎片与二级碎片进行匹配,比较厚朴酚与和厚朴酚的极性,厚朴酚的极性小于和厚朴酚应后出峰,最终确认该化合物为厚朴酚。其他化合物采用类似鉴定方法,鉴定出

来的35种成分主要是生物碱类和酚类成分,可以看出厚朴姜制前后质变成分较少。

运用Markerview软件进行PCA分析和t检验,在正、负离子模式下厚朴样品的得分图、载荷图。见图2、3。根据主成分分析得分图可以看出,6批厚朴生品和生姜炮制品、干姜炮制品分别聚成3类,表明厚朴生品和干姜炮制品、生姜炮制品在第一主成分得分上有明显的差异,即分别聚向横轴的反方向,说明厚朴不同组别三者的UHPLC-Q-TOF-MS/MS数据存在明显的差异;载荷图中对类别差异产生影响的离子的贡献大在载荷图中以其原点距离表示,图

中每个点代表对分类贡献的成分,即对其分类影响越大的离子在载荷图中距离原点的距离越远。在差异性成分分析中, $P < 0.05$ 的成分被鉴定出来,其中 $t\text{-value} > 0$ 表示成分峰强度减小; $t\text{-value} < 0$,表明成分峰强度增大。在鉴定出的 35 种成分中共得出 6 种差异性成分,发现厚朴姜炙后,厚朴酚、厚朴三酚、十四烷酸、十六烷酸含量增加,蓝桉醇含量减少。

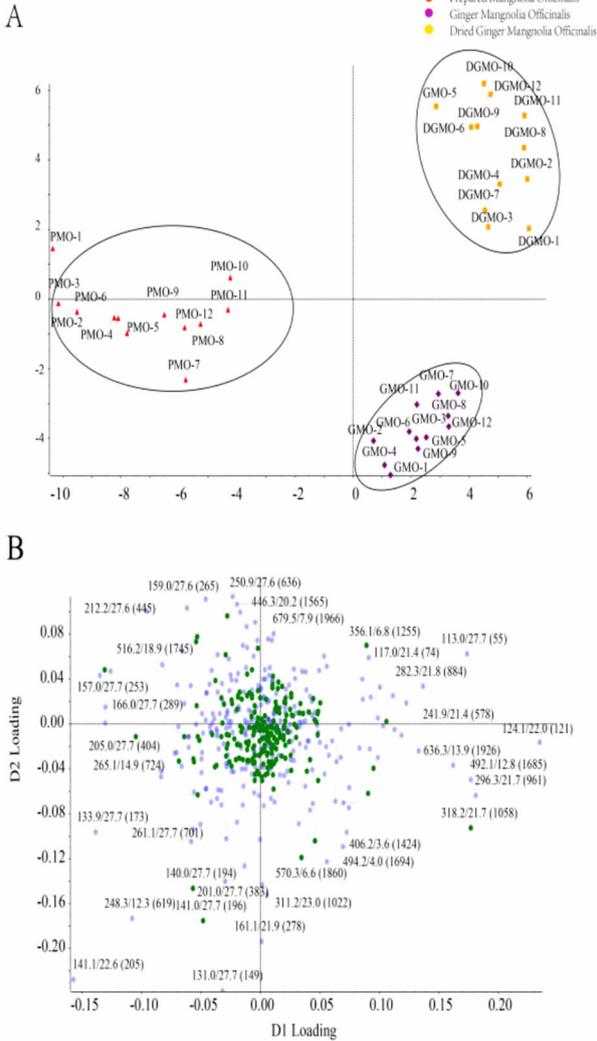


图 2 厚朴正离子模式下散点图及 PCA 图

3 讨论

厚朴姜炙后,厚朴酚、厚朴三酚、十四烷酸、十六烷酸含量增加,蓝桉醇含量减少,推测姜炙有利于厚朴中厚朴酚的溶出,使其含量增加,这同临床用药一致,厚朴姜炙后可增强化湿作用^[9]。姜汁中姜醇、姜烯、水芹烯、柠檬醛、芳樟醇的主要成分构成了一定碱性环境,厚朴酚在碱性条件下经过加热乙烯基双键断裂通过酸碱反应形成羧基,羟基替换基团,从而形成厚朴三酚^[10],这与 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 定性分析中厚朴酚的部分裂解规律吻合,这可能是厚

朴三酚含量增加的原因。厚朴酚和厚朴三酚是互为同分异构体的新木脂素,二者生物合成途径相似,常常共存于植物体内^[11],两者均有特殊的、持久的肌肉松弛作用及强的抗菌作用^[12],推测厚朴在姜炙过程中,2 种同分异构体之间可能相互转化,但这些变化是如何产生的,这些成分在炮制过程中的变化及规律都有待进一步研究。生姜、干姜的主要成分为挥发油^[13-14],而挥发油受热易挥发,故推测姜制厚朴中十四烷酸的增加是由于生姜汁或干姜汁内含大量十四烷酸和十六烷酸。

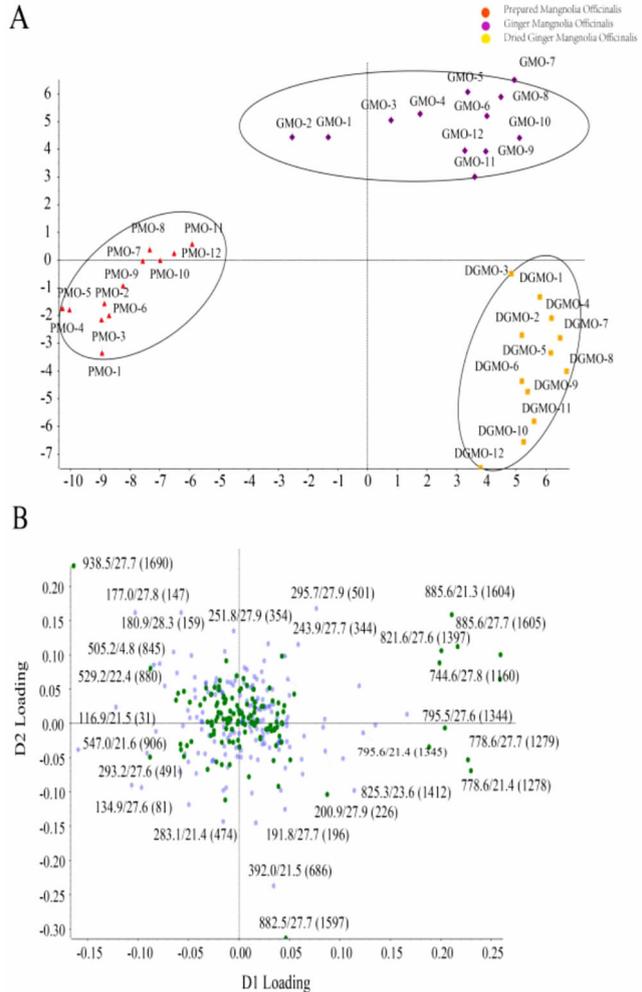


图 3 厚朴负离子模式下散点图及 PCA 图

本文利用 HPLC-UV 液相色谱与 UHPLC-Q-TOFMS/MS 质谱联用技术,明确了厚朴姜炙前后的 6 种主要差异成分及其变化趋势,对 6 个不同产地姜炙前后的厚朴分别进行验证,各成分的变化趋势同定性结果一致,进一步验证了 6 种差异性成分选取的代表性和可靠性。本研究从炒制前后成分的变化入手,探究了炮制对厚朴物质基础的影响,为厚朴的质量控制研究提供了新的思路,为其药效物质基础研究提供了科学依据。

厚朴酚具有抗菌、肌肉松弛作用和抗凝作用,抗肿瘤范围广可医治包括前列腺癌细胞、卵巢癌细胞、组织细胞淋巴瘤、膀胱癌细胞等多种恶性癌细胞^[15],作为活性成分的厚朴酚含量姜炙后增加,提示可能是姜制厚朴增效的原因之一。厚朴三酚与厚朴酚具有相似的结构,笔者推测其有相似的药理功效,姜制厚朴的药效增加与其含量增加有关。至于蓝桉醇、十四烷酸、十六烷酸含量变化与厚朴炮制后药效变化有何影响尚不明确,有待更加深入的研究。

参考文献

[1]李玲玲.厚朴挥发油化学成分研究[J].中草药,2001,32(8):17-18.
 [2]钟凌云,兰智慧,祝婧,等.姜制前后厚朴毒性及刺激性作用研究[J].中成药,2013,35(8):1782-1785.
 [3]郭健,李化,杨滨,等.厚朴的炮制研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):258-262.
 [4]超高效液相色谱-质谱联用技术在药物分析中的应用研究[D].杭州:浙江工业大学,2010.
 [5]自平,张明发.厚朴的镇痛抗炎药理作用[J].中草药,1997,28(10):613-615.

[6]欧阳荣,周新蓓,胡铁骊,等.正交试验法优选姜厚朴炮制工艺[J].湖南中医药大学学报,2007,27(6):37-39.
 [7]邓治国.生姜与干姜炮制厚朴的比较研究[J].中国药业,2013,22(18):29-30.
 [8]王超,王宇光,梁干德,等.UPLC/Q-TOFMS分析十八反乌头半夏配伍化学成分的变化[J].药学报,2010,45(10):1301-1306.
 [9]张成元,徐勤凤.厚朴姜制目的考辨[J].中药材,2000,23(5):293-294.
 [10]梁斌,沈凯,王杉,等.厚朴排气合剂对开腹胃肠道手术后胃肠功能恢复影响的随机对照研究[J].中国医药,2012,7(5):582-585.
 [11]张忠义,王桂芳,雷正杰.超临界CO₂萃取厚朴的主要成分[J].中国医院药学杂志,2001,21(7):401-402.
 [12]刘可云,董志,朱毅.厚朴酚与厚朴酮的药理学研究现状[J].中成药,2006,28(5):716-718.
 [13]陈耕夫,郭晓玲,孟青.干姜化学成分分析[J].氨基酸和生物资源,2002,24(2):5-7.
 [14]李计萍,王跃生,马华,等.干姜与生姜主要化学成分的比较研究[J].中国中药杂志,2001,26(11):748-751.
 [15]张勇,唐方.厚朴酚药理作用的最新研究进展[J].中国中药杂志,2012,37(23):3526-3530.

(2019-01-10 收稿 责任编辑:徐颖)

(上接第286页)

[6]曾世荣.活幼心书[M].北京:中国书店,1985:46.
 [7]成都中医学院.中药炮制学[M].上海:上海科学技术出版社,1980:142.
 [8]刘养清,刘二保.动物胆汁理化特性及药用[M].北京:化学工业出版社,2002:74-92.
 [9]石岩,耿颖,郑天骄,等.猪胆粉 HPLC-ELSD 全轮廓谱图主要胆汁酸测定及化学计量学分析[J].药物分析杂志,2017,37(2):283.
 [10]杨伟鹏,王怡薇,王彦礼,等.不同胆汁炮制方法对天南星解毒存效作用的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,2009,15(12):33-35.
 [11]赫炎,王孝涛.胆南星不同炮制品的药效和毒性实验研究[J].中药材,1997,20(9):459-461.
 [12]游元元,万德光.动物胆汁药用研究进展[J].贵阳中医学院学

报,2007,29(4):58-61.

[13]石岩,耿颖,郑天骄,等.猪胆粉 HPLC-ELSD 全轮廓谱图主要胆汁酸测定及化学计量学分析[J].药物分析杂志,2017,37(2):283.
 [14]鄢海燕,邹纯才.四种动物胆粉中胆酸类成分分析及药理作用比较[J].皖南医学院学报,2012,31(4):274-277.
 [15]赵启苗,单国顺,陈江宁,等.胆南星质量评价方法初探[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(6):28-31.
 [16]黎量,李欣逸,艾莉.胆南星炮制及质量标准研究进展与思考[J].中药与临床,2015,6(3):7-9.
 [17]姚志昂,郭力,周娟,等.三十一批胆南星的对比研究[J].成都中医药大学学报,2011,34(3):57-59.
 [18]贲永光,李康,李坤平,等.胆南星的薄层色谱鉴别[J].广东药学院学报,2009,25(2):160-161.

(2019-01-10 收稿 责任编辑:杨阳)