

5种发酵虫草制剂中核苷及碱基成分的分析

张萍¹, 肖新月¹, 李远科², 林瑞超¹

(1. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050; 2. 四川省资阳市药检所, 资阳 641300)

摘要 目的: 利用 RP-HPLC 法测定 5 种发酵虫草制剂百令胶囊、宁心宝胶囊、心肝宝胶囊、至灵胶囊及金水宝胶囊中 3 种核苷类成分尿苷、鸟苷及腺苷及 2 种碱基成分尿嘧啶、腺嘌呤的含量, 并分析不同制剂中这 5 种成分的差异。方法: 采用 HPLC 法测定了 28 批发酵虫草制剂中尿苷、鸟苷、腺苷及尿嘧啶、腺嘌呤 5 种成分的含量, 并应用 SPSS for Windows 统计分析软件中的系统聚类分析法对样品中 5 种成分的信息进行分析。色谱柱为 Lichrospher C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 检测波长 260 nm, 流动相为甲醇-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液 (8:92), 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果: 28 批发酵虫草制剂中 5 种成分含量, 尿嘧啶为 0.03~0.62 mg·g⁻¹, 尿苷为 1.33~8.59 mg·g⁻¹, 腺嘌呤为 0.02~0.53 mg·g⁻¹, 鸟苷为 0.89~6.04 mg·g⁻¹, 腺苷为 1.11~5.78 mg·g⁻¹。应用 SPSS for Windows 统计分析软件中的系统聚类分析法 (组平均法) 对发酵虫草制剂的质量进行了计算机快速鉴别分类, 结果表明 3 批百令胶囊样品与其他 4 种制剂 25 批样品的类距离最远, 提示百令胶囊与其他 4 种制剂的差异最大。3 批金水宝胶囊样品聚为一类, 9 批心肝宝胶囊样品聚为一类, 但金水宝胶囊与心肝宝胶囊二者的类距离较小, 说明二者的差异也较小。而 10 批宁心宝胶囊样品和 3 批至灵胶囊样品合聚为一类, 说明二者没有明显的差异。结论: 本法操作简便、灵敏, 能够较科学、客观、综合地评价发酵虫草制剂的质量。

关键词: 发酵虫草制剂; 核苷及碱基成分; 高效液相色谱法; 系统聚类分析

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)06-0889-05

Chemical analysis of nucleosides and alkalines components in five preparations of fermental Cordyceps

ZHANG Ping¹, XIAO Xin-yue¹, LI Yuan-ke², LIN Rui-chao¹

(1. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products of China Beijing 100050 China

2. Sichuan Ziyang Institute for Drugs Control Ziyang 641300 China)

Abstract Objective To develop the method for the determination of contents of three nucleosides (uridine, guanosine and adenosine) and two bases (uracil and adenine) and study the difference of chemical constituents in preparations of fermental Cordyceps (Bailing capsules, Ningxinbao capsules, Xinganbao capsules, Zhiling capsules and Jinshubao capsules). **Method** Twenty-eight preparations of fermental Cordyceps were collected and five constituents (uridine, guanosine, adenosine, uracil and adenine) in them were determined by RP-HPLC method. Meanwhile, the data of whole chemical constituents of 28 samples were obtained from the chromatograms and analyzed by Hierarchical Cluster method. The analytes were carried out on a Lichrospher C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) and mobile phase consisted of methanol-0.05 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate (8:92). The flow rate was 1.0 mL·min⁻¹ and the detection wavelength was set up at 260 nm. **Results** The contents of 5 constituents in 28 preparations of fermental Cordyceps were 0.03~0.62 mg·g⁻¹ for uracil, 1.33~8.59 mg·g⁻¹ for uridine, 0.02~0.53 mg·g⁻¹ for adenine, 0.89~6.04 mg·g⁻¹ for guanosine and 1.11~5.78 mg·g⁻¹ for adenosine. To classify the preparation of fermental Cordyceps with Hierarchical Cluster method by computer, Three samples of Bailing capsules were classified from the other samples. Three samples of Jinshubao capsules were clustered together. Nine samples of Xinganbao capsules were clustered together. They were similar. Ten samples of Ningxinbao capsules and 3 samples of Zhiling capsules were clustered together. They were not absolutely different. **Conclusion** The method is effective, sensitive and accurate as well as specific and can assess the quality of prepara-

tions of fermental Cordyceps comprehensively

Key words preparations of fermental Cordyceps nucleosides and bases; RP-HPLC; Hierarchical Cluster Method

冬虫夏草为麦角菌科真菌冬虫夏草菌 (*Cordyceps sinensis* Sacc.) 寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座及幼虫尸体的复合体^[1], 以西藏、青海等地为主产地, 是一种珍贵的中药材。近年来随着市场的需求加大, 天然冬虫夏草资源极其紧缺, 市场价格不断攀升, 人工液体或固体发酵虫草菌粉制剂应运而生。依据其所用菌种不同, 有以下 5 种制剂: 百令胶囊 (中国药典收载品种) ——来源于麦角菌科真菌冬虫夏草的无性世代中华束丝孢 (*Synnematium sinense* Yin et Shen) 菌种经液体发酵培养所得的菌丝体的干燥粉末制成的胶囊; 宁心宝胶囊 (标准号: WS₃-B-2120-96) ——来源于麦角菌科真菌虫草头孢 (*Cephalosporium sinensis* Chen sp. nov) 经液体深层发酵所得菌丝体的干燥粉末制成的胶囊; 心肝宝胶囊 (标准号: WS₃-B-2299-97) ——来源于粉红胶霉 (*Gliocladium roseum* (Link) Bain) 经人工培育所得人工虫草菌丝粉的干燥粉末制成的胶囊; 至灵胶囊 (标准号: WS₃-B-2312-97) ——来源于麦角菌科孢霉属真菌 (*Mortierella* SP) 经人工培育发酵的菌丝体干燥粉末制成的胶囊; 金水宝胶囊 (中国药典 2005 年版一部收载品种) ——来源于麦角菌科真菌蝙蝠蛾拟青霉菌株 (*Paecilomyces hepiali* Chen et Dai) CS-4 菌株经液体深层发酵所得的菌丝体干燥粉末制成的胶囊。

文献报道^[2,3] 人工培育发酵的虫草菌粉与天然冬虫夏草的化学成分和药理作用极其相似, 在临床上有改善心肌功能的作用, 用于多种心律失常、房室传导阻滞、难治性缓慢型心律失常、传导阻滞。其中核苷类物质是其有效成分之一, 尤其是腺苷具有明显的药理作用, 如改善心脑血管血液循环、防止心律失常、抑制神经递质释放和调节腺苷酸环化酶活性等^[4]。为了综合考察上述 5 种发酵虫草制剂的质量, 探讨发酵虫草制剂的客观评价方法, 本文建立了用 RP-HPLC 法测定 5 种发酵虫草制剂中 3 种核苷类成分尿苷、鸟苷及腺苷和 2 种碱基成分尿嘧啶、腺嘌呤的含量测定方法, 同时应用 SPSS for Windows 统计分析软件中的系统聚类分析法对 5 种制剂共 28 批样品的 5 种成分的整体化学信息进行了分析, 以期发酵虫草制剂质量标准的修订提供依据, 亦可为其他中药的质量评价提供范例与参考。

1 仪器与试药

日本岛津 LC-10AT 高效液相色谱仪, LC-10AT 泵, SPD-10A UV 检测器, SHISEIDO-LC 工作站; Mettler AE240 电子天平。

对照品尿嘧啶 (批号: 100469-200401)、尿苷 (批号: 887-200202)、腺嘌呤 (批号: 886-200001) 和腺苷 (批号: 110879-200202) 由中国药品生物制品检定所提供, 均为含量测定用; 对照品鸟苷购自北京欣经科生物技术有限公司, 归一化法测定其纯度为 99.2%。

磷酸二氢钾为分析纯, 甲醇为色谱纯, MilliQ 超纯水。

收集了发酵虫草制剂样品 5 个品种 28 批次, 其中宁心宝胶囊为多厂家品种, 其余 4 个品种百令胶囊、心肝宝胶囊、至灵胶囊及金水宝胶囊均为独家生产。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱^[5]: Lichrospher C₁₈ 柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-0.05 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾溶液 (8:92), 流速: 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长: 260 nm, 柱温: 25 °C, 分析时间为 30 min; 进样量: 对照品溶液 10 μL, 供试品溶液 20 μL。

2.2 对照品混合溶液制备 精密称取对照品尿嘧啶、尿苷、腺嘌呤、鸟苷及腺苷适量, 加水制成每 1 mL 分别含 0.004, 0.06, 0.004, 0.04, 0.04 mg 的混合溶液, 即得。

2.3 供试品溶液制备 取发酵虫草菌粉约 0.25 g 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加入 70% 甲醇 20 mL, 超声 (220 W, 50 kHz) 处理 20 min, 放冷, 再加入 70% 甲醇定容至刻度, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL 于蒸发皿中, 水浴蒸干, 残渣用水溶解后转移至 25 mL 量瓶中, 加水洗涤蒸发皿, 洗液并入量瓶中, 加水定容至刻度, 摇匀, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.4 方法学验证 方法学验证见文献 [5], 在此不再赘述。

2.5 样品含量测定 取对照品溶液及供试品溶液按“2.1”项下条件进样测定, 以外标一点法计算 5 种制剂共 28 批发酵虫草制剂中 3 种核苷尿苷、鸟苷及腺苷和 2 种碱基尿嘧啶、腺嘌呤成分的含量, 结果见表 1。由表 1 可以看出其含量, 尿嘧啶: 0.03 ~

0. 62 mg• g⁻¹; 尿苷: 1. 33~ 8. 59 mg• g⁻¹; 腺嘌呤: 腺苷: 1. 11~ 5. 78 mg• g⁻¹。
0. 02~ 0. 53 mg• g⁻¹; 鸟苷: 0. 89~ 6. 04 mg• g⁻¹;

表 1 28批发酵虫草制剂中 5成分含测定量结果
Tab 1 Results of content detem ination of 5 constituents in 28 preparations

编号 (Na)	样品 (sample)	来源 (source)	批号 (Lot Na)	含量 (contents) /mg• g ⁻¹				
				尿嘧啶 (uracil)	尿苷 (uridine)	腺嘌呤 (adenine)	鸟苷 (guanosine)	腺苷 (adenosine)
1	宁心宝胶囊 (N ngx inbao capsules)	A	060119	0. 24	5. 28	0. 28	3. 41	3. 66
2			060120	0. 24	5. 35	0. 28	3. 50	3. 70
3			060121	0. 24	5. 35	0. 28	3. 53	3. 69
4		B	20050701	0. 62	7. 05	0. 53	4. 87	4. 52
5			20051101	0. 20	7. 80	0. 36	5. 14	5. 08
6			20060201	0. 36	7. 10	0. 41	5. 16	4. 72
7		C	050501	0. 15	8. 56	0. 38	5. 93	5. 70
8			051001	0. 31	8. 50	0. 48	6. 04	5. 78
9			050502	0. 16	8. 59	0. 40	5. 94	5. 75
10		D	060101	0. 17	6. 90	0. 45	4. 46	4. 59
11			060101	0. 11	2. 46	0. 02	2. 86	2. 76
12			060102	0. 13	2. 76	0. 04	3. 44	3. 31
13	心肝宝胶囊 (X n' ganbao capsules)		060103	0. 12	2. 55	0. 02	3. 17	2. 93
14			040412	0. 09	1. 94	0. 04	2. 53	2. 47
15			040518	0. 09	2. 14	0. 03	2. 80	2. 68
16			040624	0. 14	2. 61	0. 06	3. 56	3. 27
17			051052	0. 09	2. 97	0. 03	3. 46	3. 26
18			051161	0. 12	2. 84	0. 03	3. 68	3. 48
19			051162	0. 13	2. 96	0. 02	3. 75	3. 54
20			20050305	0. 03	6. 46	0. 09	5. 44	4. 49
21			20050725	0. 06	6. 83	0. 15	5. 25	4. 17
22	至灵胶囊 (Zhiling capsules)		20051015	0. 06	7. 28	0. 12	5. 78	4. 57
23			060708	0. 04	2. 61	0. 08	2. 80	2. 44
24			060807	0. 04	2. 25	0. 06	2. 76	2. 62
25	金水宝胶囊 (J inshuibao capsules)	G	060815	0. 03	1. 95	0. 04	2. 32	2. 28
26			060840	0. 02	2. 07	0. 04	0. 92	1. 11
27			060903	0. 03	1. 96	0. 04	1. 08	1. 29
28	百令胶囊 (Bailing capsules)	H	061125	0. 02	1. 33	0. 03	0. 89	1. 22

2. 6 色谱峰的归属与处理 对照品及各发酵虫草制剂的色谱见图 1。由图可见, 发酵虫草样品中均可检出 10个色谱峰, 经与对照品对照, 确定 1号峰为尿嘧啶, 3号峰为尿苷, 5号峰为腺嘌呤, 7号峰为鸟苷, 10号峰为腺苷。对相互间未能完全分开的峰, 我们将其合并, 峰面积也合算, 便于样品整体化学成分的数据采集与分析且不影响样品的图谱检测。具体合并方法如下: 4号、5号峰基线不能达到完全分离, 故合并, 峰面积合算。以保留时间居中的

7号色谱峰的峰面积作为标准, 其他峰与之相比较, 计算各峰的相对峰面积。
3 样品整体化学成分分析
3. 1 数据采集 将所有样品的 HPLC 测定峰面积, 分别按“ 2. 6”项下方法进行色谱峰的归并处理, 计算归并后的色谱峰(峰组)的峰面积与第 7号峰面积的比值, 得到 28批发酵的色谱峰的相对峰面积数据。结果见表 2。

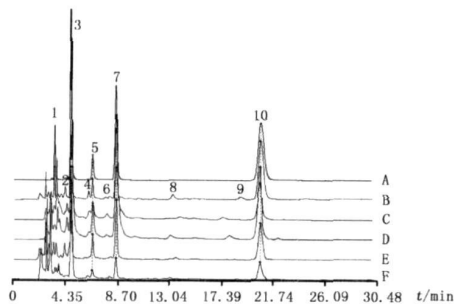


图 1 对照品及各样品色谱峰叠加图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substances and samples of preparation of five elemental Cordyceps

A. 对照品 (reference substances) B 1 号样品宁心宝胶囊 (Ningxinbao capsules sample No 1) C. 11 号样品心肝宝胶囊 (Xingganbao capsules sample No 11) D. 20 号样品至灵胶囊 (Zhiling capsules sample No 20) E. 23 号样品金水宝胶囊 (Jinshuibao capsules sample No 23) F. 25 号样品百令胶囊 (Bailing capsules sample No 25)

1. 尿嘧啶 (uracil) 3. 尿苷 (uridine) 5. 腺嘌呤 (adenine)

7. 鸟苷 (guanosine) 10. 腺苷 (adenosine)

表 2 28 批虫草发酵制剂样品 HPLC 相对峰面积

Tab 2 HPLC relative peak areas of 28 samples

样品号 (sample No.)	色谱峰或峰组 (HPLC peak or peaks)									
	1	2	3	4~5	6	7	8	9	10	
1	0.14	0.09	1.69	0.26	0.00	1.00	0.08	0.07	1.55	
2	0.13	0.09	1.65	0.25	0.00	1.00	0.08	0.07	1.52	
3	0.13	0.09	1.57	0.24	0.00	1.00	0.08	0.06	1.45	
4	0.24	0.10	1.53	0.28	0.05	1.00	0.04	0.04	1.31	
5	0.07	0.12	1.55	0.17	0.00	1.00	0.00	0.05	1.39	
6	0.13	0.09	1.42	0.19	0.00	1.00	0.00	0.04	1.30	
7	0.05	0.07	1.51	0.14	0.00	1.00	0.00	0.04	1.37	
8	0.10	0.09	1.48	0.18	0.00	1.00	0.00	0.04	1.36	
9	0.05	0.07	1.50	0.14	0.00	1.00	0.00	0.04	1.37	
10	0.08	0.14	1.67	0.23	0.00	1.00	0.04	0.05	1.47	
11	0.46	0.00	0.91	0.10	0.08	1.00	0.07	0.11	1.34	
12	0.42	0.06	0.88	0.11	0.06	1.00	0.00	0.08	1.37	
13	0.43	0.00	0.87	0.07	0.09	1.00	0.07	0.10	1.30	
14	0.42	0.12	0.88	0.27	0.00	1.00	0.00	0.07	1.39	
15	0.37	0.00	0.87	0.13	0.09	1.00	0.00	0.08	1.37	
16	0.44	0.11	0.83	0.25	0.07	1.00	0.00	0.07	1.34	
17	0.33	0.05	0.94	0.11	0.00	1.00	0.00	0.07	1.35	
18	0.45	0.05	0.84	0.10	0.05	1.00	0.06	0.07	1.36	
19	0.46	0.00	0.83	0.10	0.00	1.00	0.06	0.07	1.35	
20	0.07	0.07	1.29	0.19	0.00	1.00	0.04	0.05	1.19	
21	0.15	0.12	1.43	0.31	0.00	1.00	0.04	0.04	1.17	
22	0.15	0.08	1.37	0.23	0.00	1.00	0.03	0.04	1.15	
23	0.10	0.16	1.02	0.31	0.00	1.00	0.00	0.00	1.24	
24	0.18	0.15	0.87	0.24	0.06	1.00	0.00	0.00	1.32	
25	0.14	0.10	0.94	0.21	0.00	1.00	0.00	0.00	1.41	
26	0.16	0.00	3.65	0.43	0.00	1.00	0.00	0.00	1.77	
27	0.14	0.00	3.11	0.44	0.00	1.00	0.00	0.00	1.75	
28	0.19	0.00	3.55	0.38	0.00	1.00	0.00	0.00	1.92	

3.2 数据分析与结果 应用 SPSS 10 (Statistical Package for the Social Science) 统计分析软件中的系统聚类法 (Hierarchical Cluster)^[6], 分别以 28 批样品的整体化学成分数据为特征变量, 以皮尔逊相关系数 (Pearson Correlation) 为区间数据 (Interval), 以组间均联法 (Between-groups Linkage) 进行聚类分析。结果见图 2。由图 2 可见, 28 批样品被划分为 4 类, I 类样品全部为百令胶囊; II 类样品为宁心宝胶囊和至灵胶囊; III 类样品为心肝宝胶囊, IV 类样品为金水宝胶囊。在类距离上, II 类与 IV 类距离较近, I 类与 II 类距离较远, 与 III 类、IV 类距离最远, 结果见表 3。

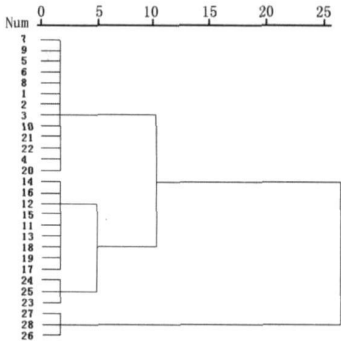


图 2 28 批发酵虫草制剂样品系统聚类分析结果

Fig 2 The Hierarchical Clustering Results of the 28 samples

表 3 28 批发酵虫草制剂样品聚类表

Tab 3 The Hierarchical Clustering Results of the 28 Samples

分类 (classes)	样品号 (sample No.)
I	26 27, 28 [百令胶囊 (Bailing capsules)]
II	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 21, 22 [宁心宝胶囊和至灵胶囊 (Ningxinbao capsules and Zhiling capsules)]
III	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 [心肝宝胶囊 (Xingganbao capsules)]
IV	23, 24, 25 [金水宝胶囊 (Jinshuibao capsules)]

4 讨论

4.1 5 种制剂 28 批发酵虫草制剂样品中 5 种成分含量测定分析结果表明, 所有样品中 2 种碱基成分尿嘧啶和腺嘌呤含量均较低, 没有明显差异。另外 3 种核苷类成分尿苷、鸟苷和腺苷含量跨度较大, 似乎无规律可言, 但是我们在宁心宝胶囊和至灵胶囊中, 3 种成分含量相当, 均高于另 3 种制剂中的含量; 金水宝胶囊中 3 种成分的含量较心肝宝胶囊要低, 但差别不明显; 百令胶囊中 3 种成分含量最低, 提示由不同菌种发酵菌丝体为原料的 5 种发酵

虫草制剂间核苷类成分有区别。

4.2 由于宁心宝胶囊为多企业生产,各企业的生产工艺不相同,从而导致各企业的样品中每种成分含量的差异较大,尤以3种核苷类成分尿苷、鸟苷和腺苷含量明显,有的企业之间含量相差近2倍。对于独家生产的制剂,样品批间的含量差异较小,样品相对稳定。

4.3 由28批样品整体化学成分数据分析得出,百令胶囊独自聚为一类,与其他4种制剂的类距离最远,说明百令胶囊与其他4种制剂的差异最大。金水宝胶囊独自聚为一类,心肝宝胶囊独自聚为一类,但二者的类距离较近,说明二者的差异也较小。而宁心宝胶囊和至灵胶囊聚合为一类,说明二者没有明显的差异。这一结论与各样品中核苷类成分含量测定结果分析得出的结论一致。

4.4 5种制剂都是特定的菌种经液体深层发酵得到的菌丝体制成的胶囊。宁心宝胶囊原料在显微镜下观察,其菌丝形态多聚集成团,散在的菌丝多细长少核少隔,且少有球状分枝,多为营养期菌丝。心肝宝胶囊原料在显微镜下观察,其菌丝形态多聚集成团,散在的菌丝较短粗,有球状分枝,多核多隔,多为生殖期菌丝。与前者的菌丝形态差别很大,说明二者在发酵工艺上的差别很大,这与二者在核苷类成分的含量上差别较大是一致的。另外,在显微镜下,除可见大量的菌丝团外,还可见到诸如种皮组织、油滴及淀粉粒等培养基的植物组织,并且不同的样品间植物组织的类型和量差别很大,应建立相应的检测指标,完善标准。

4.5 文献报道^[7]冬虫夏草的无性型菌种在科学命名方面有诸多混乱现象,上述5种制剂,在标准及说明书中均标明其成分为“发酵虫草菌粉”,从真菌系统分类学及DNA分子多态性几方面的研究,指出该5种制剂的原料仅中华束丝孢(*Synnematum sinense*

Yin et Shen)被确定为冬虫夏草菌的无性型,这一结论已得到国内多位知名专家学者的认可,百令胶囊的原料药菌种为中华束丝孢,因此百令胶囊才是真正意义上的发酵虫草制剂,从聚类分析表3也可以说明,百令胶囊与其他4种胶囊的类距离最远,说明其与它们的差别最大。而其他4种制剂的原料则与冬虫夏草的无性型无关,虽然宁心宝胶囊、心肝宝胶囊、至灵胶囊及金水宝胶囊现在仍被称为发酵虫草制剂,但它们与冬虫夏草的亲缘关系较远,应该引起相关部门的重视和关注。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol II (一部): 75
- 2 LEI Ning(雷宁), DU Shu-shan(杜树山), NI Xue-mei(倪雪梅), *et al* Determination of nucleosides in natural *Cordyceps sinensis* and cultured *Cordyceps* by RP-HPLC (RP-HPLC测定天然虫草与人工虫草中核苷类成分的含量). *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2006, 41(12): 948
- 3 SONG Jin-di(宋金娣), XU He-fen(徐荷芬), SHAO Xiang-ming(邵向明), *et al* Study on the immuno-protection ability and anti-tumor ability of *Cordyceps sinensis* mycelium (冬虫夏草菌丝体免疫特性测试). *Acta Edulis Fungi* (食用菌学报), 1999, 6(4): 52
- 4 Pelleg A, Porter RS. The pharmacology of adenosine. *Pharmacotherapy*, 1990 10(1): 157
- 5 XIAO Xin-yue(肖新月), LI Yuan-ke(李远科), ZHANG Ping(张萍), *et al* RP-HPLC determination of nucleosides in Ningxinbao capsules (宁心宝胶囊中5种核苷类成分的RP-HPLC定量分析). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2007, 27(10): 1592
- 6 HONG Nan(洪楠). SPSS for Windows System Reference Guide (SPSS for Windows 统计分析教程). Beijing(北京): Publishing House of Electronics Industry(电子工业出版社), 2002. 288
- 7 WEI Xin-li(魏鑫丽), YIN Xiang-du(印象初), GUO Ying-lan(郭英兰), *et al* Analyses of molecular systematics on *Cordyceps sinensis* and its related taxa (冬虫夏草及其相关类群的分子系统分析). *Mycosystema* (菌物学报), 2006 25(2): 192

(本文于2009年2月19日修改回)