

注射用盐酸头孢甲肟中头孢甲肟和水分定量分析模型, 方法结果准确可靠、专属性强、重复性、线性良好。该技术适于药品的快速检查及不具备实验条件的基层和现场的药品质量控制, 方便企业考察其产品质量, 具有广阔的应用前景。

REFERENCES

- [1] NI Z, HU C Q, FEN F. Development of a near IR method for rapid determination of cefuroxime sodium for injection [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2008, 43(2): 138-141.
- [2] BAI Y, LI S, ZHANG W, et al. Rapid determination of moisture in honeysuckle by near-infrared spectroscopy [J].

Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(11): 1024-1027.

- [3] FENG H H, FEN Y C, HU C Q. Construction of universal quantitative models for determination of cefoperazone sodium for injection from different manufacturers using near infrared reflectance spectroscopy [J]. Spectrosc Spectral Anal(光谱学与光谱分析), 2006, 26(12): 2214-2218.
- [4] LI Y F, JING L Q, LIU Z Q, et al. The research progress on pyrazinamide [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2010, 27(4): 307-312.
- [5] CHEN G B, YANG W F, TAO Q F, et al. Establishment of universal NIR model to determine the content of pyrazinamide tablets [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(10): 934-938.

收稿日期: 2012-04-05

HPLC 测定脱氧核苷酸钠的含量和有关物质

吕雯, 纪宏, 丁锐, 周长明* (北京市药品检验所, 北京 100035)

摘要: 目的 HPLC 测定脱氧核苷酸钠的含量和有关物质方法的建立。方法 色谱柱为 Agilent Zorbax SAX(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相为 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钾 6.80 g 加水 800 mL, 用磷酸调节 pH 值至 3.3, 加水稀释至 1 000 mL), 流速 0.5 mL·min⁻¹, 检测波长 258 nm。结果 脱氧核苷酸钠中脱氧胞嘧啶核苷酸(d-CMP)、脱氧腺嘌呤核苷酸(d-AMP)、脱氧胸腺嘧啶核苷酸(d-TMP)、脱氧鸟嘌呤核苷酸(d-GMP) 4 种单核苷酸的进样量分别在 0.017 6~3.382 7 μg、0.019 6~3.758 0 μg、0.014 8~2.847 7 μg 和 0.018 0~3.452 8 μg 内与峰面积线性关系良好(r 均为 1.000); d-CMP、d-AMP、d-TMP、d-GMP 的平均回收率分别为 96.73%, 97.51%, 97.98%, 98.39%; RSD 分别为 0.17%, 0.39%, 1.32%, 0.32%($n=9$); 精密度、重复性良好。结论 采用本方法主峰与杂质峰的分离度好, 结果准确可靠, 灵敏度高, 为本品质量标准的修订和提高提供了基础。

关键词: 脱氧核苷酸钠; 脱氧胞嘧啶核苷酸; 脱氧腺嘌呤核苷酸; 脱氧胸腺嘧啶核苷酸; 脱氧鸟嘌呤核苷酸; 高效液相色谱法; 含量测定; 有关物质

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2013)01-0065-05

Determination of the Content and Related Substances of Sodium Deoxyribonucleotide by HPLC

LÜ Wen, JI Hong, DING Rui, ZHOU Changming* (Beijing Institute for Drug Control, Beijing 100035, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for determining the content and related substances of sodium deoxyribonucleotide by HPLC. **METHODS** The Agilent Zorbax SAX(4.6 mm×250 mm, 5 μm) was used, the mobile phase was 0.05 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate solution (adjust pH to 3.3 by phosphoric acid) at the flow rate of 0.5 mL·min⁻¹, the detectable wavelength was 258 nm. **RESULTS** The calibration curves showed good linearity of 2'-deoxycytidine 5'-monophosphate (d-CMP), 2'-deoxyadenosine 5'-monophosphate (d-AMP), 2'-deoxythymidine 5'-monophosphate (d-TMP), 2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate (d-GMP) over the range of 0.017 6~3.382 7 μg, 0.019 6~3.758 0 μg, 0.014 8~2.847 7 μg and 0.018 0~3.452 8 μg, $r=1.000$. The average recovery rates of d-CMP, d-AMP, d-TMP and d-GMP were 96.73%, 97.51%, 97.98% and 98.39%, RSD were 0.17%, 0.39%, 1.32% and 0.32% ($n=9$). **CONCLUSION** The established method has excellent resolution for the related substances, and it is accurate and sensitive for testing the content and related substances of sodium deoxyribonucleotide which can be used for control of the production.

KEY WORDS: sodium deoxyribonucleotide; 2'-deoxycytidine 5'-monophosphate; 2'-deoxyadenosine 5'-monophosphate; 2'-deoxythymidine 5'-monophosphate; 2'-deoxyguanosine 5'-monophosphate; HPLC; assay; related substances

作者简介: 吕雯, 女, 博士, 主管药师 Tel: (010)83222411

E-mail: lvwen-bidc@163.com

*通信作者: 周长明, 男, 副主任药师 Tel:

(010)83222411 E-mail: ZCM.602@163.com

《化学药品地方标准上升国家标准》收载的脱氧核苷酸钠系鱼精蛋白或小牛胸腺中提取的脱氧核糖核酸经酶解制成,为4种脱氧单核苷酸,即脱氧胞嘧啶核苷酸(d-CMP),脱氧腺嘌呤核苷酸(d-AMP),脱氧胸腺嘧啶核苷酸(d-TMP)和脱氧鸟嘌呤核苷酸(d-GMP)的混合物。它是一种具有遗传特性的化学物质,其中4种脱氧核苷酸是组成生命体基本遗传物质DNA的基本单元,也是合成DNA的基本原料,在个体的生长、繁殖、遗传、变异等生理生化功能方面起着重要作用,通过核糖核酸(RNA)控制蛋白质的合成,尤其对某些关键性酶蛋白的合成,起协调体内的一系列代谢作用。临床上主要用于急、慢性肝炎、白细胞减少症、血小板减少症及再生障碍性贫血等的辅助治疗。本品质量标准收载于《化学药品地方标准上升国家标准》第九册^[1],在USP34、BP2011和日本药局方JP16中均未收载。笔者承担此品种的2010年国家药品标准提高工作,经考察国家标准和文献^[2]报导的方法,对该产品的含量测定方法进行了改进,并增订了有关物质的检测方法。建立的方法能将脱氧核苷酸钠主成分与杂质良好的分离,精密度高,重复性良好,可用于该药的质量控制。

1 仪器与试药

岛津 LC-20A 高效液相色谱仪, Sartorius CP225d 电子天平,脱氧核苷酸钠对照品: d-CMP(批号: 031M5155V,纯度: 99.0%)、d-AMP(批号: 106K7063,纯度: 99.0%)、d-TMP(批号: 100M1426V,纯度: 99.4%)、d-GMP(批号: 028K1060,纯度: 98.0%)均为 Sigma 公司产品;水为超纯水,其他试剂均为分析纯;脱氧核苷酸钠(上海丽珠制药有限公司提供,批号: 101201, 110201, 110301)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent Zorbax SAX(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相为 0.05 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(取磷酸二氢钾 6.80 g 加水 800 mL,用磷酸调节 pH 值至 3.3,加水稀释至 1 000 mL)。检测波长: 258 nm,流速: 0.5 mL·min⁻¹,进样量: 20 μL。

2.2 分离度考察

分别精密称取4种主成分对照品适量,加水溶解并稀释制成每1 mL分别含0.1 mg的混合溶液,作为对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件测定,计算分离度,4种主成分的分离度均>4.0。结

果见表1,色谱图见图1。

表1 3种色谱柱分离脱氧核苷酸钠的比对结果

Tab 1 The comparable results from three columns for separation of Sodium Deoxyribonucleotide

色谱柱品牌	对照品溶液中4组分分离度	粗品溶液中有关物质百分含量/%
Whatman	4.518; 1.185; 8.959	8.55
Venusil	7.286; 7.387; 1.898	13.71
Agilent	8.650; 5.530; 4.228	20.34

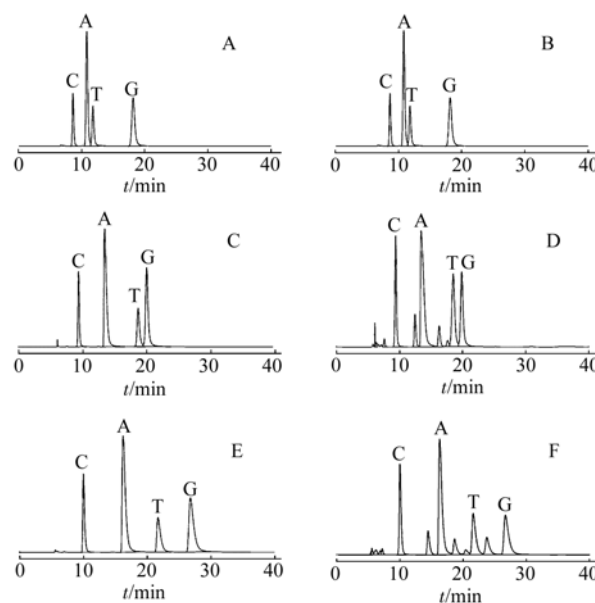


图1 3种色谱柱分离脱氧核苷酸钠的比对图谱

A-对照品, Whatman 色谱柱; B-粗品, Whatman 色谱柱; C-对照品, Venusil 色谱柱; D-粗品, Venusil 色谱柱; E-对照品, Agilent 色谱柱; F-粗品, Agilent 色谱柱

Fig 1 The comparable HPLC chromatograms from three columns for separation of Sodium Deoxyribonucleotide

A-reference substance, column of Whatman; B-crude, column of Whatman; C-reference substance, column of Venusil; D-crude, column of Venusil; E-reference substance, column of Agilent; F-crude, column of Agilent

2.3 方法专属性试验

精密称定脱氧核苷酸钠原料药约40 mg,置10 mL量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀。作为强制降解储备液。精密量取强制降解储备液1 mL,置10 mL量瓶中,加入0.1 mol·L⁻¹的氢氧化钠溶液1 mL,室温放置30 min,调节pH值至中性,加水稀释至刻度,摇匀,作为碱破坏样品;精密量取强制降解储备液1 mL,置10 mL量瓶中,加入0.1 mol·L⁻¹的盐酸溶液1 mL,室温放置30 min,调节pH至中性,加水稀释至刻度,摇匀,作为酸破坏样品;精密量取强制降解储备液1 mL,置10 mL量瓶中,加入30%过氧化氢溶液1 mL,

室温放置 30 min, 加水稀释至刻度, 摇匀, 作为氧化破坏样品; 精密称定经 100 °C 高温加热 4 h 的脱氧核苷酸钠 40 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为高温破坏样品。分别取以上溶液注入液相色谱仪, 按“2.1”项下色谱条件进行检测, 结果见图 2。结果表明本品经高温、氧化、酸及碱破坏后, 产生的杂质能有效的与主成分峰分离。

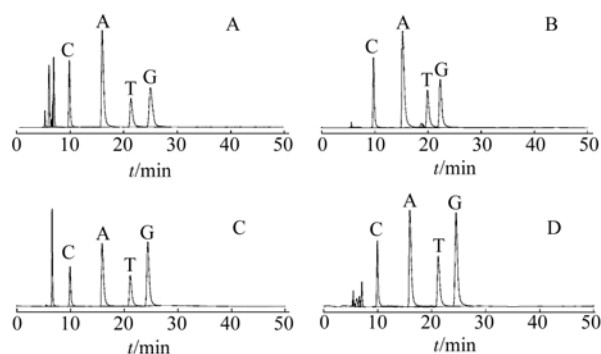


图 2 方法专属性试验图谱

A-酸破坏试验; B-碱破坏试验; C-氧化破坏试验; D-高温破坏试验

Fig 2 Chromatograms of specificity validation

A-destroyed by acid; B-destroyed by alkali; C-destroyed by oxidation; D-destroyed by high temperature

2.4 检测限和定量限

分别精密称取 4 种主成分对照品适量, 加水溶解并逐步稀释制成不同的浓度, 按“2.1”项下色谱条件, 分别进样 20 μ L。按信噪比 $S/N=3$ 测定其检出限, 按信噪比 $S/N=10$ 测定其定量限。计算得到 d-CMP、d-AMP、d-TMP、d-GMP 的定量限分别为 1.76, 1.96, 1.48, 1.80 ng; 检测限分别为 0.35, 0.39, 0.30, 0.36 ng。

2.5 有关物质

取本品适量, 加水制成每 1 mL 中约含 0.4 mg 的溶液, 作为供试品溶液; 精密量取 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 作为对照溶液。按“2.1”项下色谱条件, 取对照溶液 20 μ L, 注入液相色谱仪, 记录色谱图, 调节检测灵敏度, 使主成分色谱峰的峰高约为满量程的 25%。再精密量取供试品溶液与对照溶液各 20 μ L 分别注入液相色谱仪, 记录色谱图至 d-GMP 峰保留时间的 2 倍。供试品溶液的色谱图中如显杂质峰, 单个杂质峰面积不得大于对照溶液 4 个主峰面积之和的 0.8 倍(0.8%), 各杂质峰面积的和不得大于对照溶液 4 个主峰面积之和的 2 倍(2.0%)。经检验 3 批样

品, 最大单个杂质的含量分别 0.25%、0.21%、0.11%, 杂质总量分别为 0.65%、0.41%、0.43%。

2.6 线性关系考察

分别精密称取 4 种主成分对照品适量, 加水溶解并稀释制成每 1 mL 分别含 1 mg 的混合溶液, 作为线性关系储备液。精密量取储备液 0.125, 0.5, 1.0, 1.5 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 作为线性关系溶液 L3~L6; 精密量取线性关系溶液 L3 2.5 mL, 分别置 40 mL 和 10 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 作为线性关系溶液 L1 和 L2。精密量取上述线性关系溶液各 20 μ L, 注入高效液相色谱仪, 按“2.1”项下色谱条件测定, 以进样量 $U(\mu\text{g})$ 为横坐标, 峰面积 A 为纵坐标, 绘制标准工作曲线, 得到 d-CMP、d-AMP、d-TMP、d-GMP 的线性回归方程分别为:

$$A=1.932 \times 10^6 U + 4611 \quad r=1.000 \ 0$$

$$A=4.591 \times 10^6 U + 5951 \quad r=1.000 \ 0$$

$$A=2.320 \times 10^6 U + 734.0 \quad r=1.000 \ 0$$

$$A=3.308 \times 10^6 U - 16744 \quad r=1.000 \ 0$$

结果表明, d-CMP、d-AMP、d-TMP、d-GMP 的进样量分别在 0.017 6~3.382 7 μg 、0.019 6~3.758 0 μg 、0.014 8~2.847 7 μg 和 0.018 0~3.452 8 μg 内与峰面积线性关系良好。

2.7 仪器适应性试验

取线性关系考察项下溶液 L5 20 μ L, 重复进样 6 次, 测得 d-CMP、d-AMP、d-TMP、d-GMP 峰面积的 RSD 值分别为 0.29%、0.21%、0.53%、0.30%($n=6$), 表明仪器精密性良好。

2.8 溶液的稳定性试验

取线性关系考察项下溶液 L5, 置室温下 (25 °C), 分别于 0, 2, 4, 6, 12h 的时间进样, 测得 d-CMP、d-AMP、d-TMP、d-GMP 峰面积的 RSD 值分别为 0.48%、0.47%、0.71%、0.49%($n=5$), 结果表明脱氧核苷酸钠各组份在 12h 内基本稳定。

2.9 加样回收率试验

分别精密称取已知含量的脱氧核苷酸钠原料 9 份(批号: 101201, 含量: 111.37%)各 40 mg, 分别置 10 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度; 分别精密量取 0.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 另分别精密量取“2.6”项下储备液 0.4, 0.5, 0.6 mL(高、中、低 3 种量, 各 3 份), 置上述量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀, 测得回收率结果见表 2。

表 2 加样回收率试验结果

Tab 2 Results of recovery

成分	平均回收率/%			平均值/ %	RSD/ %
	高	中	低		
d-CMP	96.68	96.59	96.91	96.73	0.17
d-AMP	97.10	97.59	97.85	97.51	0.39
d-TMP	96.49	98.69	98.77	97.98	1.32
d-GMP	98.23	98.18	98.75	98.39	0.32

2.10 含量测定

取本品适量，精密称定，加水溶解并定量稀释成每 1 mL 中约含 0.4 mg 的溶液，作为供试品溶液。分别精密称取 4 种主成分对照品适量，加水溶解并稀释制成每 1 mL 分别含 0.1 mg 的混合溶液，作为对照品溶液，按“2.1”项下色谱条件，分别进样 20 μ L，按外标法以峰面积计算，3 批样品的含量测定结果以干燥品计分别为 111.4%，111.4%，108.2%。

3 讨论

3.1 色谱柱的选择

国家标准中指定 WhatmanTM Partisil-5 SAX (4.6 mm $\times$ 250 mm)为适用的色谱柱，笔者比较了另外两个品牌的色谱柱，分别是 Venusil SAX (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m)和 Agilent Zorbax SAX (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m)。实验结果表明在相同的色谱条件下，不同品牌的色谱柱对脱氧核苷酸钠中 4 组分的分离能力有较大差别。使用 Whatman 色谱柱分离时，d-AMP 峰与 d-TMP 峰分离效果不佳；使用 Venusil 色谱柱分离时，d-TMP 峰与 d-GMP 峰分离效果略差；使用 Agilent 色谱柱则可以将 4 种组分良好的分离，分离度均达到 4.0 以上。分别使用如上 3 种色谱柱分析同一脱氧核苷酸钠粗品

溶液(北京赛生药业制药有限公司提供)，测定得到有关物质的百分含量按峰面积归一化法计算由 8.55%上升至 20.34%，主峰之间检出的杂质个数从 1 个上升至 4 个。由结果可知，有关物质夹杂在各主峰之间，随着各主峰分离度的增加，检出有关物质的个数及比例均上升，这意味着本方法可使更多的杂质得以与主成分分离，使产品质量得到更有效的控制。因为本品成分较为复杂，应规定各主成分的分离度>3.0。

3.2 流动相的选择

国家标准中规定的流动相为 0.05 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲液(pH 3.3)，本文考察了不同 pH 值的流动相对分离情况的影响。当流动相 pH 值>4.0 时，各主峰分离度下降，当流动相 pH 值<3.0 时，各主峰分离度较好，但是保留时间较长，且较低的 pH 值对色谱柱的寿命有影响。此外，本文还考察了 0.1 mol·L⁻¹磷酸氢二铵溶液，其对 4 组分的分离度较差。因此建议沿用国家标准使用的流动相。

3.3 检测波长的考察

对 4 种脱氧核苷酸钠对照品进行紫外扫描，测得 d-CMP、d-AMP、d-TMP、d-GMP 的最大吸收波长分别为 279, 259, 267, 253 nm，与经验值 280, 258, 269, 255 nm 基本一致。选择 280, 258, 269, 255 nm 4 个波长分别计算 3 批脱氧核苷酸钠原料的有关物质测定结果。由结果可知，在 280 nm 检出的有关物质含量较其它 3 个波长的测定值低，因此选用有关物质测定值较高的 258 nm 较为适宜。比较了 3 批样品在 280 nm 和 258 nm 波长处的含量测定结果，差异无统计学意义，因有关物质项与含量测定项使用同一色谱条件，为简化操作，将含量测定检测波长也定为 258 nm。

表 3 4 种波长测定脱氧核苷酸钠有关物质的比对结果

Tab 3 The comparable results from four wavelength for determination of related substance of Sodium Deoxyribonucleotide

检测波长		有关物质 / 保留时间		
		批号 101201	批号 110201	批号 110301
280 nm	单个最大杂质	0.09% / 6.584 min	0.20% / 5.493 min	0.06% / 15.168 min
	杂质总量	0.33%	0.39%	0.25%
258 nm	单个最大杂质	0.25% / 5.495 min	0.15% / 19.565 min	0.11% / 19.493 min
	杂质总量	0.65%	0.41%	0.43%
269 nm	单个最大杂质	0.21% / 5.495 min	0.12% / 19.559 min	0.09% / 19.494 min
	杂质总量	0.57%	0.37%	0.37%
255 nm	单个最大杂质	0.25% / 6.495 min	0.15% / 19.569 min	0.11% / 19.494 min
	杂质总量	0.66%	0.42%	0.44%

3.4 含量的标准规定

脱氧核苷酸钠原料为 4 种脱氧核苷酸钠的混合物, 其中各成分中的钠含量各不相同, 平均一个分子中约含有 1~2 个钠原子。因此在拟定标准中应明确最终计算“均以二钠盐计”, 以便统一计算公式。这与文献[3]报导的思路是一致的。原标准含量测定的限度为“含脱氧核苷酸钠的总量不得少于 70.0%”, 此限度适用于供口服用原料, 而对于供注射用原料应制定更严格的含量限度。经考察上海丽珠制药有限公司产品的多批次含量测定数据, 将限度制定为“含脱氧核苷酸钠的总量不得少于 98.0%”。

3.5 小结

本文建立了 HPLC 测定脱氧核苷酸钠的含量

及有关物质方法, 此方法快速准确, 灵敏度高, 结果可靠。其含量测定方法与原有国家标准相比, 对脱氧核苷酸钠 4 个组分的分离度更好; 通过建立有关物质分析方法, 可以进一步提高产品质量标准, 对考察其产品的安全性、生产工艺的稳定性及控制其产品质量有重大意义。

REFERENCES

- [1] The Quality Standards of China. National Drug Standard of Chemical Drugs Up to National Standard. Vol 9(国家药品标准 化学药品地方标准上升国家标准. Vol 9) [S]. 2002: 30.
- [2] CHEN M F, HUANG H, KUANG P Y. HPLC determination of content of sodium deoxyribonucleotide and its preparation [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2003, 23(1): 31-33.
- [3] CHENG S Y, HAO S L, YANG H X. Discussion on the content determination of sodium deoxyribonucleotide [J]. Drug Stand China(中国药品标准), 2008, 9(5): 368-369.

收稿日期: 2012-04-23

HPLC 测定龙血竭脂质纳米粒中龙血素 A 的含量

叶菲¹, 楼雪芳², 杜永忠^{3*} (1.浙江大学医学院, 杭州 310058; 2.浙江大学城市学院, 杭州 310015; 3.浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 目的 采用 HPLC 测定龙血竭脂质纳米粒中龙血素 A 的含量并计算其包封率。方法 采用 DiamonsilTM C₁₈(200 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱, 以乙腈-1%冰醋酸水溶液(38:62)为流动相, 流速为 1.3 mL·min⁻¹, 检测波长为 260 nm, 柱温为 40 °C, 测定样品中龙血素 A 的含量并计算其包封率。结果 龙血素 A 于 0.135~5.4 μg·mL⁻¹ 内有良好线性关系, Y=33.694X+1.589 8(r=0.999 9)。低、中、高 3 个浓度的日内 RSD 分别为 2.70%, 2.36%, 1.48%; 日间 RSD 分别为 2.70%, 2.61%, 1.97%, 该方法的平均回收率为 99.2%, RSD 为 3.9%, 平均包封率为 89.59%。结论 本方法准确、简便、重复性好, 可用于龙血竭脂质纳米粒中龙血素 A 含量的测定。

关键词: 高效液相色谱法; 龙血竭; 龙血素 A; 脂质纳米粒

中图分类号: R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)01-0069-04

Determination of Loureirin A in Solid Lipid Nanoparticles Encapsulating Resina Draconis by HPLC

YE Fei¹, LOU Xuefang², DU Yongzhong^{3*} (1.Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2.Zhejiang University City College, Hangzhou 310015, China; 3.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish an HPLC method for determination of loureirin A content in solid lipid nanoparticles(SLN) of Resina Draconis. **METHODS** A DiamonsilTM C₁₈(200 mm×4.6 mm, 5 μm) column was used for the determination of loureirin A with mobile phase of acetonitrile-1% acetic acid solution (38:62). The flow rate was 1.3 mL·min⁻¹, the detection wavelength was set at 260 nm, and the column temperature was 40 °C. **RESULTS** The linear range of loureirin A was 0.135–5.4 μg·mL⁻¹, Y=33.694X+1.589 8(r=0.999 9). The RSDs of within-day were 2.70%, 2.36%, 1.48%, and the RSDs of between-day were 2.70%, 2.61%, 1.97% in the high-, middle-, and low-dose Resina Draconis loaded SLN. The average recovery was 99.2%(RSD 3.9%), and the average drug encapsulation efficiency was 89.59%. **CONCLUSION** The method is simple and reliable for the determination of loureirin A in Resina Draconis loaded SLN.

KEY WORDS: HPLC; Resina Draconis; loureirin A; solid lipid nanoparticle

作者简介: 叶菲, 女, 硕士生, 药师

Tel: (0571)88206049-818

E-mail: sophie8587@126.com