

吸收，在2.5 h时，原料药的释放达到90%以上。**2.4.4 氟苯尼考微球体外释放度测定** 采用透析法进行微球体外释药试验。精密称取一定量的氟苯尼考微球(最优条件验证试验中制得)，装入透析袋中，加入一定量人工体液使微球混悬后将袋口扎紧，置于盛有100 mL人工体液的溶出瓶中，于(37.0±1.0)℃恒温，72 r·min⁻¹的频率下持续振动，定时取释放液1 mL，立即补加等量的人工体液。将取出的释放液经过0.45 μm的微孔滤膜，用人工体液稀释至刻度，于266 nm处测定吸收度，代入标准曲线方程计算释药量，计算微球中药物的累积释放百分率Q(%)。释放曲线见图8。

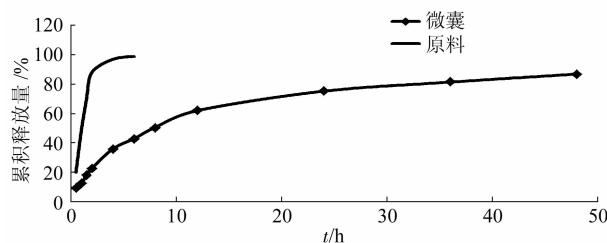


图8 氟苯尼考微球人工体液中释放曲线

Fig 8 Release curve of florfenicol microspheres in artificial body fluid

3 讨论

氟苯尼考在多种溶剂中的溶解度都较差，在N,N-二甲基甲酰胺中易溶。在体外释放实验中，储备液中加入1%的N,N-二甲基甲酰胺一方面有利于氟苯尼考原料药的溶解(氟苯尼考溶解性极差而密度又很小)，另一方面可以排除药物本身就释放缓慢的性质(原料药易溶于释放介质)，可以确定是制成微球使得氟苯尼考缓慢释放。

由于氟苯尼考水溶性极差，因此在微球制备过程中需加入一定量的润湿剂，利于囊材包覆难

溶性药物。单凝聚法采用生物相容的明胶作为囊材，在加入润湿剂后，氟苯尼考粉末在囊材中分散效果较好，利于在成囊过程中对药物的包裹。优化后的工艺制得的微球载药量可达17.52%，且缓释效果较好，可减少给药次数，从而减少应激性。

本实验优化了氟苯尼考微球的制备工艺，可制得粒径较小、载药量较大、有缓释性质的微球。为进一步研制高质量的兽用肌肉注射剂提供了可能。

REFERENCES

- [1] CHEN X H, LIU M C, JIAO Y. Advance in the research and application of florfenicol [J]. China Poultry(中国家禽), 2006, 28(14): 50-54.
- [2] YUAN L G, LI C M, et al. Research advance in sustained-and-controlled release preparations of veterinary drugs [J]. Veterinary Science in China(中国兽医科学), 2007, 37(8): 731-735.
- [3] XIAO H L, HE C Q, CHEN J, et al. Study on the optimal formulation and preparation conditions of propranolol-loaded transfersomes by central composite design and response surface method [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(12): 1107-1112.
- [4] DU C Y, WANG H G. Optimization preparation of propranolol hydrochloride microcapsules with fluidized bed by central composite design and response surface method [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(12): 1112-1116.
- [5] GUO J H, DU G. Optimization preparation of Zu'ning granules by central composite design and response surface method [J]. Her Med(医药导报), 2012, 31(2): 216-219.
- [6] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 版. 二部) [S]. 2010: 204.
- [7] HASSAN E E, PARISH R C, GALLO J M. Optimized formulation of magnetic chitosan microspheres containing the anticancer agent, oxantrazole [J]. Pharm Res, 1992, 9(3): 390-397.
- [8] MOU Z Q, LIANG C H. Effect of different artificial body fluids and their pH on corrosion of biomedical metallic materials [J]. J Chin Society for Corrosion and Protection(中国腐蚀与防护学报), 1998, 18(2): 126-130.

收稿日期：2012-09-11

星点设计-效应面法优选鬼针草总黄酮滴丸成型工艺

洪清¹，何丹鸿¹，袁曦^{1*}，陆旭亮²，陈宜娜³(¹福建医科大学附属第一医院，福州 350005；²福建医科大学，福州 350004；³河南中医学院，郑州 450001)

摘要：目的 探讨鬼针草总黄酮滴丸的最佳成型工艺。方法 以药物与基质比、滴距、Tween-80质量分数为考察因素，九重差异、圆整度、溶散时限及总评归一值为考察指标，运用星点设计—效应面法优选鬼针草总黄酮滴丸的成型工艺，结果经多元线性回归和二项式拟合，建立指标与因素之间的数学模型，经效应面法预测最佳成型工艺条件，并进行模型

作者简介：洪清，男，硕士，副主任药师 Tel: (0591)87982115
(0591)87982078 E-mail: xiyuan767@sina.com

*通信作者：袁曦，男，主任药师 Tel:

预测及验证实验。结果 优化滴丸最佳成型工艺为药物与基质比为 1.8 mL : 1 g, 滴距为 2.20 cm, Tween-80 质量分数为 3.18%, 各项考察指标的预测值与实测值偏差均较小。结论 星点设计-效应面优化法适用于鬼针草总黄酮滴丸成型工艺的研究, 所建立的数学模型预测性良好。

关键词: 鬼针草总黄酮; 滴丸; 星点设计; 效应面法; 总评归一值

中图分类号: R943; R944.2

文献标识码: B

文章编号: 1007-7693(2013)09-0996-06

Optimized Preparation of Molding Process of Total Flavones of *Bidens Bipinnata* Dropping Pills by Central Composite Design-Response Surface Method

HONG Qing¹, HE Danhong¹, YUAN Xi^{1*}, LU Xuliang², CHEN Yina³(¹.First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, China; ²Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China; ³Henan University of Tradition Chinese Medicine, Zhengzhou 450001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the optimum moulding process of total flavones of *Bidens bipinnata* dropping pills. **METHODS** Independent variables were the proportion of substrate to drug, dropping distance, and Tween 80 content, while dependent variables were pills weight variation, roundness, limited disintegration time and overall desirability. The central composite design-response surface method was used to optimize the optimum moulding process. Multivariate linear regression and second-order quadratic models were fitted to establish the relationship between independent and dependent variables. The optimum moulding process was predicted by response surface method. And model prediction and confirmatory tests were carried out in the end. **RESULTS** The optimum moulding process of the optimization were proportion between drug and substrate 1.8 mL : 1 g, dropping distance 2.20 cm, and Tween-80 content 3.18%. Bias between observed and predicted values of all inspection indexes were small. **CONCLUSION** The central composite design-response surface method are useful for the optimization of moulding process of flavones of *Bidens bipinnata* dropping pills. The estimation of the established model is good.

KEY WORDS: total flavones of *Bidens bipinnata*; dropping pills; central composite design; response surface method; overall desirability

鬼针草(*Bidens bipinnata* L.)为菊科一年生草本植物。鬼针草总黄酮具有活血化瘀、通脉降压功效, 可用于原发性高血压、心脑血管疾病, 具有抗血栓形成的作用, 对动脉硬化、血管栓塞有预防和治疗的作用。有研究表明^[1-2], 鬼针草总黄酮提取物具有较强的体外抗肿瘤活性, 具有开发利用价值, 目前国内未见其制剂方面的研究。中药滴丸剂在生产方面, 工艺设备简单、生产方便、成本低廉, 易于质量控制及环境和劳动保护; 在剂型方面, 能将液体药物固体化, 可提高难溶性药物的生物利用度。星点设计(central composite design, CCD)是在二水平析因设计的基础上加上极值点和中心点构成的多因素五水平的实验设计, 与常用的正交设计法及均匀设计法相比, 具有可进行非线性拟合的特点, 其结果可采用集数学和统计学方法于一体的效应面法(response surface method, RSM)进行优化^[3-5]。本实验采用 CCD-RSM 优选鬼针草总黄酮滴丸成型工艺, 为鬼针草总黄酮新剂型研究提供理论依据。

1 仪器与试药

DW-1 型滴丸机(江苏泰州市制药机械二厂); ZB-1C 智能崩解仪(天津大学精密仪器厂); 鬼针草(亳州市亳广中药饮片有限公司, 产地: 福建, 批号: 20071204, 经福建省药检所中药室游勇基主任药师鉴定为菊科植物鬼针草属 *Bidens bipinnata* L.的干燥全草); 无水乙醇、聚乙二醇 6000、Tween-80、二甲基硅油 100、液状石蜡、95%乙醇均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 鬼针草总黄酮的提取

参考文献[6]及多次预实验, 确定提取条件, 提取用乙醇浓度为 80%、鬼针草与乙醇比为 1 : 14、提取时间 0.5 h、提取温度 90 ℃。称取鬼针草粉末 100 g, 置于圆底烧瓶中, 加入 80%乙醇及沸石数粒, 混匀, 加热, 保持温度 90 ℃, 0.5 h 后停止加热, 趁热抽滤, 滤液回收乙醇, 浓缩至浸膏状, 备用。

2.2 鬼针草总黄酮滴丸的制备

精密称取 PEG-6000 适量, 置水浴上加热熔

融，按比例称取浸膏，用少量乙醇稀释后，混匀，搅拌加热1 h，将熔融物滴入冷凝液中，制成滴丸，取出用滤纸吸去滴丸表面上的冷凝液，真空干燥24 h，即得样品。

2.3 单因素考察

影响滴丸成型因素较多，进行单因素分析，初步筛选出影响较显著的因素作为优化试验考察指标。

2.3.1 冷凝液的选择 冷凝液密度和黏度直接影响到滴丸的沉降速度和滴丸的圆整度。在固定药物与基质比($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)为2:1，Tween-80质量分数为3%，滴距为2 cm，滴速15滴·min⁻¹，冷凝液温度条件为冷凝液上部(15±2)℃、下部收集瓶0℃的条件下，比较滴丸分别在液体石蜡、二甲基硅油100和二者混合液(1:1)中冷却的成型情况，结果表明，二甲基硅油100的成型情况较好，故选用二甲基硅油100为冷凝剂。

2.3.2 滴速选择 滴速会影响滴丸的质量，滴速越快，生产效率高，但滴速过大，滴丸易黏结，成型效果不好；滴速慢虽成型效果好，但效率低。在固定药物与基质比($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)为2:1，Tween-80质量分数为3%，滴距为2 cm，冷凝剂为二甲基硅油100，冷凝液温度条件为冷凝液上部(15±2)℃、下部收集瓶0℃的条件下，最终确定滴丸滴速为15~20滴·min⁻¹，此时滴丸在冷凝液中不会黏结。

2.3.3 药物与基质比 药物与基质比直接影响滴丸的含药量。在固定Tween-80质量分数为3%，滴距为2 cm，滴速15滴·min⁻¹，冷凝液温度条件为冷凝液上部(15±2)℃、下部收集瓶0℃的条件下，选择药物与基质比分别为0.4:1，0.8:1，1.2:1，1.6:1，2.0:1和2.4:1进行试验。结果表明，滴制难易程度和成丸情况在一定范围内随药物与基质的比例的增大而有所改善，但当药物和基质的比例增大到一定程度时，滴制难易程度和成丸情况反而下降；所以，根据滴制的难易程度和成丸情况，1.2:1和1.6:1可接受，2.0:1为适宜，因此将药物与基质比的水平极值确定为：0.8:1~2.4:1。

2.3.4 Tween-80质量分数 黄酮类化合物难溶于水，在胃肠道中较难吸收，药物中加入一定量的表面活性剂能增加药物的亲水性，对肠壁黏膜有胶溶、洗涤作用，并产生孔隙，从而增加药物穿透性提高生物利用度。在固定药物与基质比

($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)为2:1，滴距为2 cm，滴速15滴·min⁻¹，冷凝液温度条件为冷凝液上部(15±2)℃、下部收集瓶0℃的条件下，选择Tween-80质量分数为1%，2%，3%和4%进行试验，结果表明，随着Tween-80质量分数增加，滴丸重量不一，圆整度都较好，但Tween-80质量分数为4%时，圆整度下降。本着滴丸质量和圆整度尽可能较好的原则，Tween-80质量分数的水平极值确定为：1%~3%。

2.3.5 滴距选择 滴距太大，滴丸在进入冷凝液时受到的冲击力较大，容易将滴丸震碎；滴距太小，滴丸从滴头滴出后在空气中收缩时间短，易出现拖尾现象，滴丸处方不同，药液黏度也不同，所需适合的滴距也略有不同。在固定药物与基质比($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)为2:1，Tween-80质量分数为3%，滴速15滴·min⁻¹，冷凝液温度条件为冷凝液上部(15±2)℃、下部收集瓶0℃的条件下，选择滴距分别为1，2，3和4 cm进行试验，结果表明，滴距太大，滴丸进入冷凝液会被震裂成较多碎丸。根据成丸情况，滴距的水平极值确定为1~4 cm。

2.3.6 冷凝液温度对滴丸成型的影响 在固定药物与基质比($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)为2:1，Tween-80质量分数为3%，滴距为2 cm，滴速15滴·min⁻¹的条件下，考察整体冷凝和分段冷凝的效果。结果表明，冷凝液分段冷凝，成丸的效果优于整体冷凝。所以，确定冷凝液温度条件为冷凝液上部(15±2)℃，下部收集瓶0℃。

2.4 优化试验

2.4.1 试验设计 根据单因素试验结果及参考相关文献^[7-8]，选择对成型工艺有较显著影响的药物与基质比(X_1)、滴距(X_2)和Tween-80质量分数(X_3)3个因素为考察因素。CCD设计为3因素5水平，因素的极值点分别为， $X_1(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})=0.8:1\sim2.4:1$ 、 $X_2(\text{cm})=1\sim4\text{ cm}$ 及 $X_3(\%)=1\%~3\%$ 。以中国药典2010年版(一部)附录IK滴丸剂项下规定的丸重差异(Y_1)、圆整度(Y_2)和溶散时限(Y_3)为评价指标。因素水平表、试验安排表及结果见表1和表2。

表1 因素水平表

Tab 1 Independent variables and levels

因 素	水 平				
	-1.732	-1	0	1	1.732
$X_1/\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$	0.8	1.14	1.6	2.06	2.4
X_2/cm	1	1.42	2	2.58	4
$X_3/\%$	1	1.6	2.5	3.4	3

表2 试验安排表及结果

Tab 2 Experiment design and results

实验号	X_1	X_2	X_3	丸重 差异/%	圆整度	溶散时限/ min	OD
1	1.14	1.42	1.6	0.59	0.96	9.52	0.884 5
2	2.06	1.42	1.6	2.54	0.95	9.92	0.554 2
3	1.14	2.58	1.6	3.50	0.95	8.40	0.383 9
4	2.06	2.58	1.6	3.83	0.96	7.80	0.000 0
5	1.14	1.42	3.4	1.72	0.95	11.67	0.567 3
6	2.06	1.42	3.4	1.38	0.96	7.40	0.898 6
7	1.14	2.58	3.4	2.45	0.95	13.73	0.357 1
8	2.06	2.58	3.4	2.46	0.95	9.58	0.577 8
9	0.8	2	2.5	1.20	0.94	15.00	0.000 0
10	2.4	2	2.5	2.79	0.96	7.08	0.684 7
11	1.6	1	2.5	0.88	0.95	7.25	0.840 6
12	1.6	3	2.5	0.95	0.94	10.00	0.571 9
13	1.6	2	1.0	1.80	0.94	8.07	0.567 5
14	1.6	2	4.0	1.36	0.95	11.35	0.616 4
15	1.6	2	2.5	1.11	0.93	10.75	0.000 0
16	1.6	2	2.5	1.76	0.93	9.12	0.000 0
17	1.6	2	2.5	1.61	0.94	10.17	0.518 4
18	1.6	2	2.5	1.74	0.93	9.47	0.000 0
19	1.6	2	2.5	2.05	0.94	10.10	0.483 9
20	1.6	2	2.5	1.85	0.93	8.87	0.000 0

2.4.2 数据处理 应用 SPSS 17.0 统计软件对实验结果进行数据处理, 当因变量较多时, 应用可反映总体效应结果的总评归一值(overall desirability, OD), 根据指标优选的条件, 将每个因变量均标准化为 0~1 之间的归一值, 计算各指标的归一值, 以几何平均数得出总评归一值。对取值越小越好的因素和取值越大越好的因素采用 Hassan 方法分别进行数学转换求归一值 d_{\min} 和 d_{\max} , 再以 OD 值进行多元线性回归和二项式拟合。以丸重差异、圆整度及溶散时限 3 个评价指标对 OD 进行多元线性回归和二项式拟合, 得拟合方程如下:

$$\text{多元线性回归: } OD=0.542+0.159X_1-0.253X_2+0.054X_3(r=0.213, P=0.267)$$

$$\text{二项式方程拟合: } OD=6.036-1.431X_1-2.529X_2-1.710X_3+0.246X_1^2+0.512X_2^2+0.180X_3^2-0.077X_1X_2+0.382X_1X_3+0.125X_2X_3(r=0.841, P=0.070)$$

结果表明, 多元线性回归以 F 检验判断模型优劣, 复相关系数低; 二项式拟合结果, 对各系数分别进行方差分析, 通过 t 检验, 复相关系数有较大的提高, 方程的可信度增大。故选用二项式拟合方程进行分析和模型的预测。

2.4.3 优化与预测 根据二项式方程, 应用 Origin 7.5 软件分别绘制三维效应面和等高线图。由于三维图只能描绘含 2 个自变量的空间曲面, 所以本实验以 OD 值为因变量, 固定 1 个自变量, 设其值为中心点值, 通过另 2 个自变量描绘出三维效应面和等高线图, 见图 1。

根据 OD 值三维图的趋势及二维等高线图的叠加, 优选出 3 个因素较佳的工艺范围, $X_1(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$: 1.4~2.2; $X_2(\text{cm})$: 1.8~2.6 cm; $X_3(\%)$: 2.18%~3.18%。将优选的 3 个因素较佳范围, 代入 OD 二项式拟合方程处理, 并从药物制剂范畴考虑, 从图 1 可见, 3 个因素对 OD 的响应显著, 药物与基质比愈大, 载药量愈多, 但达到一定的比例时, 对制剂成品的丸重差异、溶散时限不利; 滴距在较佳范围内对制备工艺影响较小, 故取中值; 吐温-80 质量分数对成品的溶散时限影响较大, 但用量过多时, 滴丸不易成型。综合几方面因素, 最佳成型工艺条件定为: $X_1=1.8 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$, $X_2=2.2 \text{ cm}$, $X_3=3.18\%$ 。

2.4.4 验证试验 根据最佳成型工艺条件制备 6 批滴丸, 并测定 3 个考察因素, 计算其 OD 值及偏差, 结果见表 3。

表3 实测值和预测值的偏差($n=6$)Tab 3 Bias between predicted and observed values($n=6$)

因 素	预测值	实测值	偏 差/%
丸重差异	1.73	1.57±0.262	9.24
圆整度	0.95	0.94±0.003	1.06
溶解时限/min	10.35	9.58±0.632	7.44
OD	0.353 7	0.333 3±0.091	5.77

注: 偏差(%)=(预测值-实测值)/预测值×100%

Note: Bias(%)=(Predicted values-Observed values)/Predicted values×100%

结果表明, 各指标及 OD 的实测值与预测值的偏差较小, 本实验所建立的数学模型可用来预测鬼针草总黄酮滴丸的指标与因素的关系。

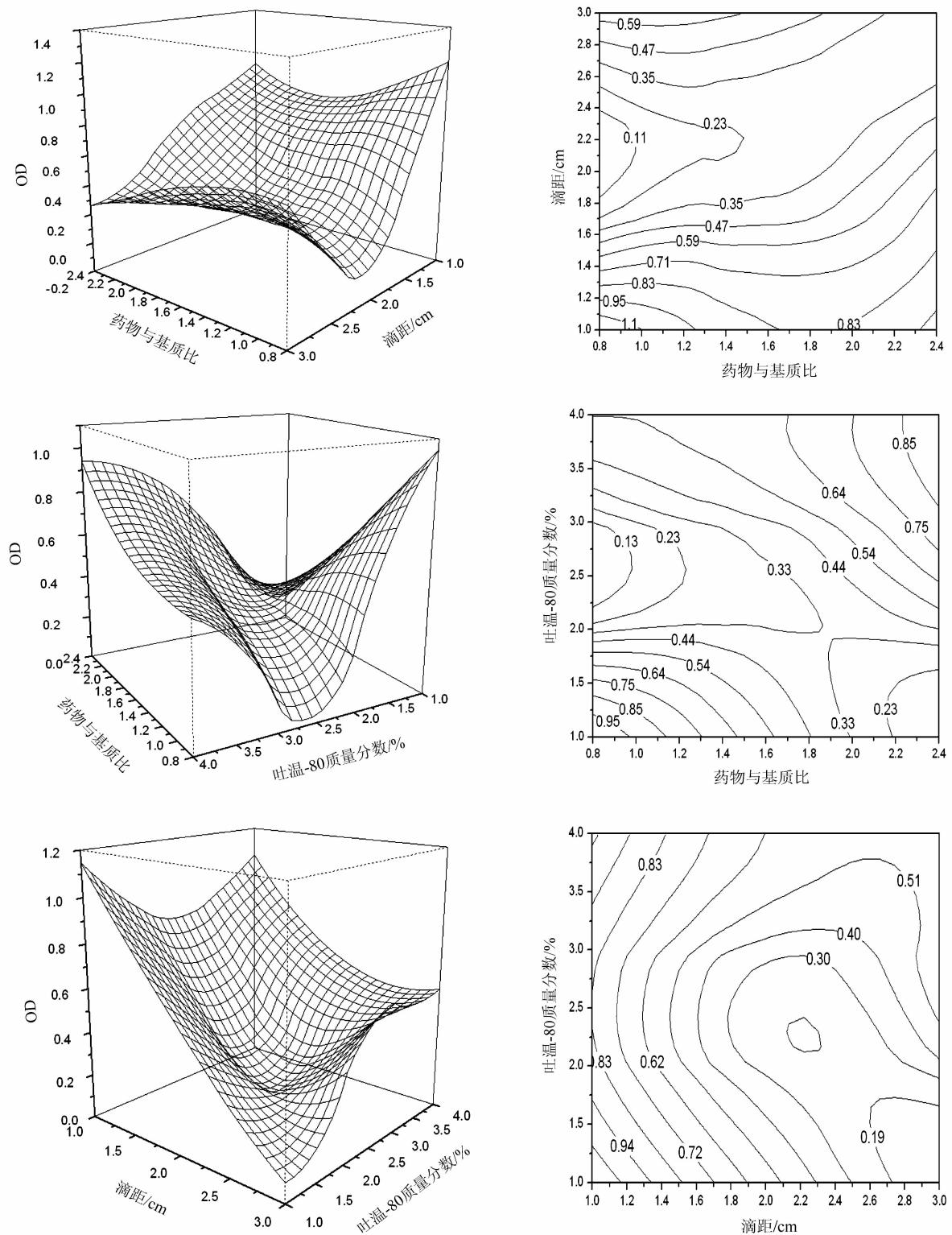


图1 效应面和等高线图

Fig 1 Response surface and predicted contour plots

3 讨论

在鬼针草总黄酮类化合物的醇提浓缩实验中，有黑色物质黏附于蒸发皿壁，经分析该物质中含有总黄酮类化合物，其难以重新溶于流浸膏

中，从而影响了鬼针草总黄酮的含量。所以，实验过程中必须不停的搅拌，至浸膏状即可，可克服上述黏附物质对总黄酮含量的影响。

考察因素中，药物与基质比对鬼针草总黄酮

滴丸的制备有较大的影响，滴丸中药物与基质比愈大，滴丸收集时愈软，易聚集，同时也会使圆整度降低，而丸重差异和溶散时限则会增大。吐温-80 能增加药物的溶解性和溶出速度，其量过高，使药液黏稠度增大，易产生拖尾，不易滴制。实验过程还显示，当溶散时限愈小时，圆整度愈大，丸重差异可能升高也可能降低；当丸重差异愈大时，圆整度降低，而溶散时限可能增大也可能降低。由此可以得出，根据每个指标优选的条件可能是相互矛盾的，对某一效应有利的条件可能对其他效应不利，各效应必须达成妥协，使所有指标综合为一个值^[3]，因此本实验引进了总评归一值。同时选取最佳成型工艺过程中并非归一值越高越好，其前提条件是所选的最佳工艺的总评归一值在等高线重叠区域。通过总评归一值的优化与预测，可以得到综合效应较佳的制备工艺，验证实验制备的 6 批滴丸均符合中国药典 2010 版(一部)附录 I K 滴丸剂项下规定。

REFERENCES

- [1] LIN L Q, LIN X H, HUAN G L Y, et al. Anti-tumor activity of extracts of *Bidens bipinnata* L. *in vitro* [J]. *J Fujian Med Univ*(福建医科大学学报), 2010, 44(2): 83-85.
- [2] WAN Z X, WU J G, CAI Q Y, et al. Inhibition of proliferation and induction of apoptosis in human colon cancer cell lines RKO by *Bidens pilosa* var radiata Schult Bip of Fujian province [J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharm Fujian*(福建中医药大学学报), 2011, 21(1): 40-42.
- [3] WU W, CUI G H, L U B. Optimization of multiple variables: application of central composite design and overall desirability [J]. *Chin Pharm J*(中国药学杂志), 2000, 35(8): 530-533.
- [4] TENG K, RUAN H S, WU Z J, et al. Optimal extraction of total flavone from Tengligen by central composite design and response surface methodology [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2012, 29(7): 610-614.
- [5] CAO J, WANG F G, LIU K, et al. Study on the extraction of dictamni cortex with ultrasonic wave technology optimized by central composite design and response surface method [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药学), 2012, 29(10): 895-899.
- [6] XIA Q, YAO ZH Q, GAO Y J. Study on selecting of the best extraction technique of total flavonoids in *Bidens bipinnata* L. by orthogonal test [J]. *Chin Hosp Pharm J*(中国医院药学杂志), 2007, 27(6): 755-757.
- [7] CHEN W, XIA H, WU W. Optimized preparation of silymarin dropping pill by a central composite design-response surface method [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2005, 36(5): 679-683.
- [8] GUI S Y, ZHOU Y Q. Study on moulding technics of Huangyangning dropping pills [J]. *Chin Hosp Pharm J*(中国医院药学杂志), 2005, 25(12): 1120-1121.

收稿日期：2013-01-19

HPLC-超滤离心法测定连翘酯苷复方脂质体包封率

祝文琪，徐卫康，侯晓林，陆彦，吴国娟^{*}(北京农学院动物科学技术学院，北京 102206)

摘要：目的 建立一种快速、准确测定连翘酯苷复方脂质体包封率的方法。方法 采用逆向蒸发法制备连翘酯苷复方脂质体，建立检测连翘酯苷复方含量的高效液相色谱条件，用超滤离心法处理复方脂质体，测定连翘酯苷复方脂质体的包封率。结果 用连翘酯苷和绿原酸对照品建立标准曲线，在 $0.781\text{--}50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好，采用超滤离心法处理样品后连续 3 次测定包封率，平均包封率为 92.38% 和 44.72%，其 RSD 分别为 2.76% 和 2.35%。结论 HPLC-超滤离心法可准确、方便的测定连翘酯苷复方脂质体的包封率。

关键词：超滤离心法；高效液相色谱法；连翘酯苷；脂质体；包封率

中图分类号：R917.101

文献标志码：B

文章编号：1007-7693(2013)09-1001-04

Determination of Entrapment Efficiency of Forsythiaside Compound Liposome by HPLC-Ultrafiltration

ZHU Wenqi, XU Weikang, HOU Xiaolin, LU Yan, WU Guojuan^{*}(Department of Animal Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

基金项目：国家自然科学基金项目(31172362)；北京市自然科学基金项目(5102014)

作者简介：祝文琪，女，硕士 Tel: (010)80797300 E-mail: zhuwenqi45@126.com *通信作者：吴国娟，女，博士，教授 Tel: (010)80796702 E-mail: wuj9288@sina.com