

羟丙甲纤维素的标准质量修订

肖英^{1*}, 秦立², 乔敏³(1.山东省食品药品检验所, 济南 250101; 2.云南省食品药品检验所, 昆明 650011; 3.济南市中医医院, 济南 250012)

中图分类号 R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)21-1983-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.21.21

摘要 目的: 修订辅料羟丙甲纤维素的药典质量标准。方法: 根据生产厂家对该产品质量标准修订的有关诉求, 参照国外药典, 对《中国药典》2005年版、2010年版羟丙甲纤维素质量标准项目进行逐项验证和增删。结果: 建议增加絮凝温度鉴别项; 黏度指标根据商品标识黏度设置百分比范围; 含量测定增订气相色谱法检测, 并对含量限度范围中每种取代型两种取代基的含量均分别作出明确规定。结论: 修订后的标准较科学先进, 适应当前产品的质量控制在需求, 可使羟丙甲纤维素的药典质量标准更为完善。
关键词 羟丙甲纤维素; 质量标准; 修订

Revision of Quality Standard for Hypromellose

XIAO Ying¹, QIN Li², QIAO Min³(1. Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 2. Yunnan Institute for Food and Drug Control, Kunming 650011, China; 3. Jinan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250012, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To revise the quality standard of hypromellose. METHODS: According to the demands for quality standard revision by manufacturers, referring to foreign pharmacopeias, the quality standards of hypromellose in *Chinese Pharmacopias* (2005, 2010 edition) were validated item by item, added and deleted. RESULTS: It is suggested to add the item of flocculation temperature identification; set the viscosity percentage range depending on the marked viscosity of product; add gas chromatography; clearly define the contents of two substituents of each type within content range. CONCLUSIONS: Revised standard is proved to be more advanced and scientific, meet the current demand for product quality control and improve the quality standard of hypromellose in pharmacopias.

KEYWORDS Hypromellose; Quality standard; Revision

根据国家药典委员会综发[2008]59号文件“关于落实《中国药典》2010年版药用辅料增修订任务的通知”的要求^[1], 山东省食品药品检验所承担完成了《中国药典》2005年版二部药品辅料羟丙甲纤维素标准的修订工作, 在原有性状(外观和溶解度)、鉴别(萘酚反应和玻璃板成膜特性)、检查(干燥失重、炽灼残渣、酸碱度、重金属、水中不溶物、砷盐、黏度)、含量测定(化学法)的基础上, 增加了絮凝温度鉴别、气相色谱含量测定法, 修订了黏度指标等。因资料报送延误, 2010年版除含量测定项外未对上述内容进行全部修订, 故本文对2010年版《中国药典》的修订仍有实际意义。

羟丙甲纤维素为部分O-甲基化、部分O-(2-羟丙基化)纤维素, 有不同黏度、不同取代度的各种级别的产品, 具有乳化、增稠、助悬、增黏、黏合、胶凝和成膜等特性和作用, 在口服和局部用制剂中应用广泛, 主要用作片剂黏合剂及崩解剂、薄膜包衣材料和缓释片剂的骨架材料。高黏度(10万 mPa·s 左右或以上)的羟丙甲纤维素可作为片剂和胶囊剂的骨架阻滞剂, 延缓药物的释放; 在局部用制剂中可作为眼科制剂的助悬剂和增稠剂以及局用凝胶剂和软膏剂的乳化剂、助悬剂和稳定剂^[2]。《美国药典》(USP)31版/处方集(NF)26版^[3]、《日本药局方》(JP)

15版^[4]、《欧洲药典》(EP)6.0版^[5]、《英国药典》(BP)2008年版^[6]及《中国药典》(CP)2005年版^[7]、2010年版^[8]均有收载, EP与BP内容基本一致, 《中国药用辅料》^[9]与《药用辅料手册》^[10]对其也有介绍。

本品为半合成品, 可采用两种方法合成: (1)将棉绒或木浆粕纤维用氢氧化钠处理后, 再先后与氯甲烷和环氧丙烷反应, 经精制、粉碎得到; (2)用适宜级别的甲基纤维素经氢氧化钠处理, 与环氧丙烷在高温高压下反应至理想程度, 精制即得^[8]。

在接到标准修订任务之后, 笔者向生产厂家调研了解了2005年版《中国药典》羟丙甲纤维素存在的问题, 山东赫达股份有限公司、泰安瑞泰纤维素有限公司、安徽山河药用辅料股份有限公司、浙江中维药业有限公司、湖州展望药业有限公司、聊城阿华制药有限公司均给予了积极的反馈。厂家的热情响应, 从一个侧面反映了对羟丙甲纤维素标准修订的迫切需求。根据建议, 原标准问题主要集中在黏度和含量测定项。黏度项仪器转子转速以及黏度具体范围的限制, 使得超出此范围的新产品无法检测, 比如有些样品用规定的仪器的转子转速无法检测, 或者检测的黏度结果超过了规定的0.005~0.075 Pa·s的范围, 使得很多有应用价值的新产品用此标准检测出来是不合格的, 限制了其在国内的推广应用。而原化学法含量测定法操作非常烦琐, 精确度、重复性也很不理想, 亟需快速准确的方法更新换代。鉴于此, 笔者对有关产品

* 副主任药师, 硕士研究生。研究方向: 药物分析。电话: 0531-81216519。E-mail: wdx0918@163.com

和检验方法进行了研究,对标准进行了修订。

1 材料

1.1 仪器

GC-2010 气相色谱仪,配置 AOC-20i 自动进样器、氢火焰离子化检测器(日本 Shimadzu 公司);DURAN 红盖反应瓶,配置 PBT 螺纹口瓶盖,PTFE 衬垫(德国 Neo Lab 公司);DGG-9070B 型电热恒温鼓风干燥箱(中国森信实验仪器有限公司);AE 163 电子天平(瑞士 Mettler toledo 公司);NDJ-1 型旋转式黏度计(上海天平仪器厂);DB-624 毛细管色谱柱(美国 Agilent 公司,30 m×0.53 mm×3.0 μm)。

1.2 药品与试剂

碘甲烷对照品(中国海川化学品有限公司,批号:051120,标示含量:≥98.0%,经气相面积归一化法验证纯度为:98.70%);2-碘丙烷对照品(批号:A0247624,标示含量:≥98.0%,经气相面积归一化法验证纯度为:99.72%)、氢碘酸(批号:A0249573,油浴蒸馏纯化后使用)均来源于美国 Acros organic 公司;己二酸、正辛烷均为分析纯。

羟丙甲纤维素样品共计 19 批,其来源及相关信息见表 1(表中部分数据为两次试验结果)。

表 1 样品来源及信息

Tab 1 Source and information of samples

厂家	批号	黏度, mPa·s	甲氧基含量, %	羟丙氧基含量, %	
A	06121941	17 350, 13 835	21.5	7.0	
	0706-72	51.9	29.0	8.5	
	0801-10	4 540, 4 520	28.1	8.6	
	0902018	185 000, 189 300	未测	未测	
B	050803021	未测	29.1	7.6	
	070817144	45.6	29.1	7.6	
	080210047	49.4	28.7	7.5	
C	20071238	46.2	28.6	6.8	
	20071239	46.8	28.4	6.8	
	20071240	48.0	28.5	6.8	
D	060601	19.8	30.9	7.5	
	080102	20.1	29.0	4.8	
	080203	52.4	28.8	5.3	
	200710051	6.90, 7.00	27.7	8.3	
E	200712017	15.56	28.9	7.9	
	200801061	7.05, 6.92	28.2	8.3	
	F	080501	6.28, 6.45	28.2	7.7
		080502	6.80, 6.73	28.0	7.8
080503		6.00, 6.25	27.6	7.8	

2 标准修订验证

2.1 鉴别

依据 USP31/NF26、JP15 版、EP6.0、BP2008 的鉴别(四国药典方法一致)增加絮凝温度鉴别。该鉴别项目有益于将羟丙甲纤维素与其他外观类似的纤维素,比如高取代羟丙纤维素(絮凝温度约 40 ℃),以及没有絮凝特性的其他物质区分开来,同时可大致反映出羟丙甲纤维素的亚型,且试验结果有助于用户应用时确定实际使用温度或者根据使用温度的要求来选择合适的产品。部分批次样品测定结果见表 2。

2.2 黏度检查

《中国药典》2005 年版二部只对黏度范围为 0.005~0.075 Pa·s 的羟丙甲纤维素规定了测定方法,但该黏度范围的产品仅能在片剂、丸剂中作增稠剂、黏合剂和作为生产新型薄膜包衣材料的原料使用,如果要用作缓控释制剂、片剂和胶囊剂骨

表 2 各样品絮凝温度测定数据

Tab 2 Results of flocculation temperature test each samples

样品来源(批号)	样品型号	絮凝温度, ℃	
		测定值	平均值±标准差
D(080102)	2906	63	61±3 (n=7)
D(080203)		63	
D(060601)		59	
C(20071238)		63	
C(20071239)		63	
C(20071240)		54	
E(200710051)		60	
B(070817144)		61	
B(080210047)		61	
B(050803021)		54	
A(0706-72)	58		
A(0801-10)	57		
E(200712017)	52		
E(200801061)	59		
A(06121941)	2208	67	67(n=1)

架的阻滞剂,需要更高黏度的产品。目前,企业为了满足制剂行业的需求,研究生产出了高黏度的产品,其质量符合四国药典要求且出口国外,但由于这类高黏度的产品超出了《中国药典》2005 年版二部的检验要求,用现行的标准检测判定为不合格或者无法检测,因此这类产品在国内无法推广。由此可见,现行黏度测定方法和限度范围已不能满足国内生产厂家的检验需要,为此借鉴 USP31/NF26、JP15 版、EP6.0、BP2008 各药典标准的规定,黏度的指标不再设具体范围,只规定与标示黏度相比的百分数范围,并且根据仪器说明书选择适当的转子和转速进行测定。

根据仪器说明书介绍,NDJ-1 型旋转式黏度计只能测定 0.1~100 mPa·s(低黏度,0 号转子)和 10~100 000 mPa·s(中黏度,1、2、3、4 号转子)的溶液,更高黏度的样品则不能测定。国内 A 企业提供的一批高黏度样品(批号:0902018),其黏度为 185 000 mPa·s,则超出了该仪器的测定范围。厂家用美国 Brookfield 公司的 RV-III 型黏度计检测,黏度为 185 000 mPa·s,经用 NDJ-8S 型(量程:10~2 000 000 mPa·s)旋转式黏度计测定,为 189 300 mPa·s。数据非常接近,表明两种仪器均可用于检测。由此可见,对于羟丙甲纤维素黏度的测定,若指定旋转式黏度计的型号和相应的转子及转速,检测会受到限制。EP、BP 均仅指明为单圆筒旋转式黏度计,USP 也仅指明适宜的单圆筒旋转式黏度计(如 Brookfield type LV Model,或相当的黏度计),只有 JP 指定用特定的单圆筒旋转式黏度计 LV 型布氏黏度计,USP、JP、EP、BP 的黏度计与国产 NDJ-1 型旋转式黏度计原理基本一致。所以,拟定标准对黏度计品牌型号不再限制,但因为原 NDJ-1 型应用较广,建议作为首选使用。所有仪器在使用之前应确保在相应的黏度范围内检定合格才能使用。

用旋转式黏度计和用乌氏黏度计测定黏度小于 600 mPa·s 的不同样品,采用旋转式黏度计测定其他样品,黏度测定结果比较见表 3、表 4(括号内数据为几次测定值的 RSD)。

由表 3 可见,两种方法得到的结果差别不大。由于国内企业均采用旋转式黏度计测定黏度,且随仪器制造工艺的进步,测定较低黏度的能力必将更加提高,较之需要测定溶液密度的乌氏黏度计法,旋转式黏度计法更加简便易行。故拟定标准暂仍沿用旋转式黏度计测定黏度。

表3 两种黏率计测定黏度小于600 mPa·s的不同样品的黏度结果比较

Tab 3 Comparison of the viscosity of different samples that less than 600 mPa·s by 2 kinds of viscometer

样品来源(批号)	NDJ-1型旋转式黏度计, mPa·s	乌式黏度计(同BP), mPa·s
F(080502)	6.80, 6.73(0.7%)	6.25 毛细管内径0.58 mm
F(080503)	6.00, 6.25(2.9%)	5.89
F(080501)	6.28, 6.45(1.9%)	5.82
E(200710051)	6.90, 7.00(1.0%)	6.90
E(200712017)	15.56	17.05 毛细管内径0.73 mm
D(080102)	20.1	19.8
D(060601)	19.8	19.7
D(080203)	52.4	52.1 毛细管内径1.03 mm

表4 采用旋转式黏度计测定其他样品黏度结果

Tab 4 The viscosity of other samples used by rotational viscometer

样品来源(批号)	NDJ-1型旋转式黏度计					厂家数据, mPa·s	厂标规定, mPa·s
	1号转子 (r/min)	3号转子 (r/min)	4号转子 (r/min)				
	60	6 12	12 30	1	2		
C(20071238)	46.2					48.5 (3.4%)	5~75
C(20071239)	46.8					47.5 (1.0%)	
C(20071240)	48.0					49.5 (2.2%)	
B(070817144)	45.6					45 (0.9%)	
B(080210047)	49.4					44 (8.2%)	
A(0706-72)	51.9					49.7 50.8 (2.2%)	40~60
A(0801-10)		4 540 4 520				4 653 4 132 (1.57%)	3 500~5 600
A(06121941)			17 350 13 835	29 760		30 960 25 000 (41.18%)	35 000~35 000

由表3、表4可见,待测样品黏度越高,测定结果的精密程度就越低,数据的离散越大。其中测定不少于2次且 <600 mPa·s者(含厂家数据在内)平均黏度的RSD为2%, ≥ 600 mPa·s者两批样品测定值的RSD分别约为2%和41%。限度范围大小的规定参考四国药典,即标示黏度 <600 mPa·s者,黏度应为80%~120%标示黏度;标示黏度 ≥ 600 mPa·s者,黏度应为75%~140%标示黏度。产品标签应写明标示黏度。

A(06121941)样品各测定数据差异性较大,分析原因可能由样品溶解、仪器型号、操作技术的差异造成。因此,试验中除严格按照溶液配制步骤对样品进行充分的溶解外,还应严格按照仪器的操作说明书,配置适宜的套筒等配件。

2.3 含量测定

《中国药典》2005年版二部采用化学方法测定甲氧基及羟丙氧基^[7]的含量,而USP31/NF26、EP6.0、BP2008及JP15版均采用气相色谱法测定,用填充柱气相色谱法测定本品与氢碘酸共同加热反应产生的挥发性2-碘丙烷、碘甲烷,以内标法计算。《中国药典》2010年版二部附录新增气相色谱法(毛细管色谱柱和填充色谱柱)测定羟丙甲纤维素与氢碘酸共同加热反应产生的挥发性2-碘丙烷和碘甲烷,计算羟丙氧基和甲氧基

含量,并将此法作为仲裁法。甲氧基及羟丙氧基含量测定的方法详见《中国药典》2010年版有关附录内容^[8]。

笔者采用浙江省药品检验所提供的该方法草案,对羟丙甲纤维素样品的两种取代基做了含量检测,并验证了方法的加样回收率、试验结果的重复性和供试液的稳定性,结果令人满意。

2.3.1 试验方法。(1)色谱参数。温度:柱温采用程序升温:100℃保持10 min,然后以50℃/min升温至230℃,保持2 min;进样口温度:200℃;检测器温度:250℃;柱流量:3.0 ml/min,恒流;进样量:1.0 μl;分流比:10:1。(2)内标溶液的制备。称取正辛烷0.5 g,置于100 ml量瓶中,加邻二甲苯溶解并稀释至刻度,摇匀,即得。(3)对照品溶液的制备。反应瓶中加入己二酸60~100 mg,分别精密加入内标溶液和570 g/L的氢碘酸溶液各2.0 ml,密封,精密称定;加入2-碘丙烷约6.8 μl,精密称定;再次加入碘甲烷36.6 μl,精密称定,相邻两次称量差即为所加入的2-碘丙烷和碘甲烷的质量;振荡约30 s,静置,取上层液体即得。(4)校正因子测定。取对照品溶液1 μl注入气相色谱仪,计算校正因子。(5)含量测定。取本品约65 mg,精密称定,置于已称量的反应瓶中,加己二酸60~100 mg,分别精密加入内标溶液和570 g/L的氢碘酸溶液各2.0 ml,密封,称量,150℃加热30 min,手工剧烈振荡5 min,继续在150℃加热30 min,冷却至室温,称量。若失重少于反应瓶中内容物的0.50%,且无证据表明有渗漏,取混合液的上层液体作为供试品溶液,取1 μl注入气相色谱仪,测定,计算即得;若失重大于反应瓶中内容物的0.50%,则应重新制备供试品溶液。

2.3.2 典型色谱图。取2-碘丙烷对照品试剂原液、碘甲烷对照品试剂原液、羟丙甲纤维素对照品溶液、羟丙甲纤维素供试品溶液(E公司,批号:200712017)进样,色谱见图1。

2.3.3 样品检测。依“2.3.1”项方法,对18批样品(未测高黏度样品)进行测定。

2.3.4 加样回收试验。取B(批号:080210047)样品约32.5 mg(即样品65 mg减半取样)9份,精密称定,置于已称量的反应瓶中,分别加入己二酸80 mg,分别精密加入内标溶液和570 g/L的氢碘酸溶液各2.0 ml,密封,称量,依次加入2-碘丙烷2、4、6 μl(每个浓度3份, $n=3$),精密称定,再加入2-碘丙烷2、4、6 μl的反应瓶中分别加入碘甲烷9、18、27 μl(每个浓度3份, $n=3$),精密称定,150℃加热30 min,手工剧烈振荡5 min,继续在150℃加热30 min,冷却至室温,精密称定,若减失量符合规定,取混合液的上层液体作为供试品溶液,结果回收率好,详见表5。

2.3.5 重复性试验。(1)相同实验人员不同时间测定结果重现性试验:取A(批号:06121941)样品测定两次。结果甲氧基和羟丙氧基含量的RSD分别为2.8%、4.2%($n=2$)。(2)不同实验室测定结果重现性:取E公司样品3批(批号:200710051、200712017、200801061),分别由3个不同实验室依气相色谱法测定两种基团,计算结果的平均值和RSD。结果甲氧基和羟丙氧基含量的RSD分别为1.91%、0.95%($n=3$),2种基团的含量经不同实验室测定的结果平均RSD均 $<2%$,表明方法结果的重现性非常好。

2.3.6 供试品溶液的稳定性试验。取A公司(批号:06121941)的供试品溶液分别在0、14、37、66、90 h进样测定,考察溶液稳定性,结果见表6。

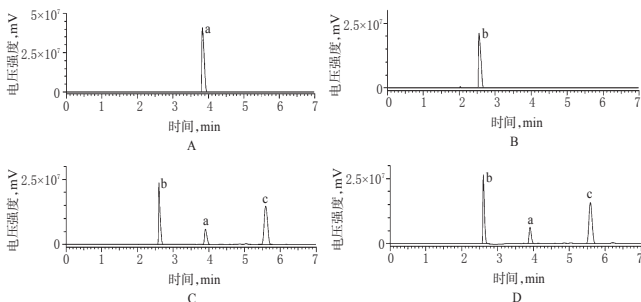


图1 气相色谱图

A. 2-碘丙烷对照品; B. 碘甲烷对照品; C. 羟丙甲纤维素对照品; D. 羟丙甲纤维素供试品; a. 2-碘丙烷; b. 碘甲烷; c. 正辛烷

Fig 1 GC chromatograms

A. 2-iodopropane control; B. iodopropane control; C. hypromellose control; D. hypromellose test sample; a. 2-iodopropane; b. iodomethane; c. *n*-octane

表5 含量测定回收率试验结果(毛细管柱)

Tab 5 Results of recovery test of content determination (capillary column)

基团	质量浓度	平均回收率, %	RSD, %
羟丙氧基	低(80%)	95.3	2.0
	中(100%)	98.8	2.9
	高(120%)	101.0	1.7
甲氧基	低(80%)	104.2	2.0
	中(100%)	105.6	0.9
	高(120%)	105.2	0.3

表6 供试品溶液稳定性考察结果(%)

Tab 6 Results of stability tests of test samples(%)

基团	时间, h					平均值	RSD
	0	14	37	66	90		
羟丙氧基含量	6.98	6.96	6.94	6.89	6.91	6.9	0.53
甲氧基含量	22.70	22.05	21.24	19.83	18.60	20.9	7.97

表6结果表明,放置时间延长对羟丙氧基的含量测定结果影响不大,但对甲氧基的测定影响比较大,因为碘甲烷比2-碘丙烷的挥发性强。所以,供试品溶液制备后,应尽快进样测定。

2.3.7 含量限度范围及取代型。USP31/NF26、JP15版、EP6.0及BP2008根据甲氧基与羟丙氧基含量的不同将羟丙甲纤维素划分为4个型号,即1828、2208、2906、2910型(其中前两位数字代表甲氧基的大约百分比,后两位数字代表羟丙氧基的大约百分比),每种取代型中2种取代基的含量都各自有明确范围规定,如表7所示。

表7 4种取代型羟丙甲纤维素中2种取代基含量范围

Tab 7 The contents of 2 substituents in 4 substitution types of hypromellose

取代型	甲氧基含量, %	羟丙氧基含量, %
1828	16.5~20.0	23.0~32.0
2208	19.0~24.0	4.0~12.0
2906	27.0~30.0	4.0~7.5
2910	28.0~30.0	7.0~12.0

《中国药典》2005年版只规定甲氧基含量应为19.0%~30.0%,羟丙氧基含量应为4.0%~12.0%,对羟丙甲纤维素的规格限制过于粗略笼统。为适应市场需要,应建立标准与国外药典接轨,2种取代基含量限度将按取代型的不同分别制订其限度。

3 讨论

含量测定方法即原化学法测定2种基团的含量需要不同的复杂的仪器设备,操作非常烦琐,反应时间长,导致检验效率很低,受人为影响因素较大,准确度和重复性都不够理想。增订气相色谱法检验,不仅能同时测定2种基团,操作简便,仪器自动化程度高,而且大量的试验数据充分表明该方法回收率高,结果重现性很好,是非常理想的替代检验法。

在不同实验室试验结果的重现性研究中,因为3个实验室采用的是不同色谱柱,其中之一还用的是填充柱。众所周知,毛细管色谱柱的分辨率和精密度都要高一些,而从结果的RSD来看,其值非常小,差异很小,甚至竟然比本人在不同时间做的同一样品的结果的重现性还好,这也从另一个侧面反映出不同色谱柱对试验结果的影响不大(当然需要采用标准里面规定类型或类似的色谱柱)。

含量测定中试验样品预处理时使用的反应瓶的密封性能非常重要,对耐压、耐热以及防腐蚀性要求较高。为此,笔者进口了德国公司的红盖厚壁耐热耐压反应瓶(PBT螺纹口瓶盖,PTFE衬垫),取得了较为满意的结果。由于试验所用到的厚壁耐热耐压反应瓶的品牌不同,盖子的结构和性能可能有所差别。因此,使用时,有的用注射器穿刺加入可能对结果的回收率和反应瓶的使用寿命影响不大;但有的品牌比如笔者所用的德国产反应瓶,盖子是浑然一体的硬质塑料,不可穿刺加入,只能迅速加入对照品后立即将盖子旋紧密封。试验结果表明,加样回收率结果也很理想,对结果的准确率影响不大,而密封衬垫的使用寿命却可以大大延长。

本试验所用对照品均为市售试剂,为配合新药典方法的推广应用,建议药典委员会应组织有关部门尽早建立统一规范的标准品供货来源。

根据各厂家提供的生产工艺,羟丙甲纤维素产品中可能有异丙醇、环氧丙烷、氯甲烷、甲苯、丙二醇、甲醇、冰醋酸等有机溶剂残留,应在大量样品检测的基础上,对各溶剂测定的必要性和方法进行进一步研究,以确定在药典标准中是否增订以及增订的具体内容。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.关于落实《中国药典》2010年版药用辅料增修订任务的通知[S].2008-02-03.
- [2] R.C.罗, P.J.舍斯基, P.J.韦勒.药用辅料手册[M].郑俊民,译.北京:化学工业出版社,2005:343-347.
- [3] 美国药典委员会.美国药典/国家处方集[S].31版.巴尔的摩:港口城市出版社,2007:2 370.
- [4] 日本药局方编辑委员会.日本药局方[S].15版.东京:日本厚生省,2006:741.
- [5] 欧洲药典委员会.欧洲药典[S].6.0版.斯特拉斯堡:欧洲医药质量管理委员会,2007:2 113.
- [6] 英国药典委员会.英国药典[S].2008年版.伦敦:The Stationery Office 出版社,2007:1 114.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2005年版.北京:化学工业出版社,2005:909、附录44-45.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:二部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:1 221、附录48.
- [9] 罗明生,高天惠,宋民宪.中国药用辅料[M].北京:化学工业出版社,2006:712-715.

(收稿日期:2013-08-26 修回日期:2013-10-14)