

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2022.08.11

一测多评法同时测定不同产地淫羊藿 提取物中的 4 种黄酮类成份

吴蕾

(安徽省兽药饲料监察所,合肥 230091)

[收稿日期] 2022-01-13 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280(2022)08-0080-07 [中图分类号] S859.79

[摘要] 建立一测多评法同时测定淫羊藿提取物中 4 种黄酮类化合物的含量,并验证了该方法的准确性和可行性。采用 C_{18} 色谱柱,乙腈-水为流动相,检测波长 270 nm,建立朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 与内标物淫羊藿苷的相对校正因子,比较分析一测多评法与外标法含量测定结果的差异性。结果显示,6 批不同产地和批号的淫羊藿提取物中 4 种黄酮类成分采用一测多评法与外标法的实测值之间无显著性差异。

[关键词] 一测多评;淫羊藿;天然植物提取物;质量标准

Simultaneous Determination of Four Flavonoids Compounds in *Epimedium* Extract by Quantitative Analysis of Multi-components with A Single-marker

WU Lei

(Anhui Institute of Veterinary Drug and Feed Inspection, Hefei 230091, China)

Abstract: To establish a quantitative analysis method of multi-components by single-marker (QAMS) for determination of 4 flavonoids compounds in *Epimedium* extract and verified the accuracy and feasibility of the method. Using C_{18} chromatographic column, acetonitrile-water as mobile phase, detection wavelength of 270 nm, the relative correlation factors of Epimendin A, Epimendin B, and Epimendin C were calculated and established by HPLC with icariin as internal reference substance, and the difference of content determination results between QAMS method and external standard method was analyzed. The result showed the contents of 4 flavonoids compounds in 6 batches of *Epimedium* extract determined by QAMS method had no significantly difference with external standard method.

Key words: quantitative analysis of multi-components by single-marker (QAMS); *Epimedium* herb; natural plant extract; quality standard

淫羊藿是小檗科淫羊藿属 *Epimedium* Linn. 植物,始载于《神农本草经》,在我国有悠久的药用历

史^[1],具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效,在养殖方面主要以提取物的形式应用以提高动物的生产、繁

殖性能,其在混合型饲料添加剂市场有着广泛的应用。但目前淫羊藿提取物还缺乏统一的质量标准,亟需建立一个统一、全面、客观的淫羊藿提取物质量标准^[2]。淫羊藿含多种药理活性成分如朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷等,这些成份进入体内后协同发挥作用,故其质量控制应综合考虑多种药理活性成分含量的测定,才能更加全面地反映提取物的内在质量。“一测多评法”(Quantitative Analysis of Multi-components with a Single-marker, QAMS)是近年来得到良好应用的中药类复杂成分评价方法,已在《中国药典》中成功应用于多个品种^[3]。QAMS 法通过测定一个易得有效成分而实现中药多成分定性定量,是适合中药特点的多指标质量控制和评价模式^[4-6]。本研究以淫羊藿苷为内标物,建立朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 与淫羊藿苷的相对校正因子(relative correlation factor, RCF),并对 QAMS 法与外标法所得结果进行比较,以验证 QAMS 法的可行性和准确性,旨在为淫羊藿提取物多指标成分质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);D3000 高效液相色谱仪(美国 Thermofisher 公司);Milli-Q 超纯水机(美国 Millipore 公司);SQP 十万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司);KS500 超声波清洗器(宁波科生仪器厂);VD23 减压干燥箱(德国 BINDER);恒温水浴锅(江苏金坛市金城国胜实验仪器厂)。

三批淫羊藿药材购自安徽省亳州康美中药大市场,产地分别为甘肃、吉林、陕西,样品经合肥市食品药品检验中心王玮主任药师鉴定,购自吉林的药材为朝鲜淫羊藿 *Epimedium koreanum* Nakai,购自陕西、甘肃的药材为柔毛淫羊藿 *Epimedium pubescens* Maxim,药材打粉经乙醇回流浓缩减压干燥后分别制备成提取物备用。另三批淫羊藿提取物由四川恒瑞通达生物科技有限公司提供,批号分别为 200303、200302、200401。朝藿定 A(批号 110623-72-8)、朝藿定 B(批号 110623-73-9)、朝藿定 C

(批号 110642-44-9)对照品均购自上海安谱有限公司,HPLC(峰面积归一化法)纯度 98%;淫羊藿苷(批号 110737-201516),购自中国兽医药品监察所,纯度 94.2%。乙腈、甲醇(色谱纯,赛默飞世尔科技有限公司),其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 方法原理 QAMS 法是指在多指标质量评价时,以药材中某一典型组分(有对照品供应者)为内标,建立该组分与其他组分之间的 RCF,通过 RCF 计算其他组分的含量^[7]。计算公式为: $f_{km} = f_k / f_m = W_k \times A_m / W_m \times A_k$, A_k 为内标物(k)峰面积, W_k 为内标物(k)浓度, A_m 为其他组分(m)峰面积, W_m 为其他组分(m)浓度。

2.2 方法学考察

2.2.1 色谱条件 eclipse Plus C₁₈ 柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(25:75),柱温 25 °C;流速 1.0 mL/min,检测波长为 270 nm,理论板数按淫羊藿苷计应 ≥5000,色谱图见图 1、图 2。

2.2.2 对照品溶液的制备 取朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷对照品适量,精密称定,加甲醇分别配置成浓度为 1 mg/mL 的储备液。精密吸取以上储备液各 25 μL、50 μL、100 μL、200 μL、400 μL 至 10 mL 量瓶中,甲醇定容,分别配置成 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 μg/mL 的混和线性标准溶液,保存于 4 °C 冰箱中,备用,有效期 1 个月。

2.2.3 供试品溶液的制备 取淫羊藿提取物(过 80 目筛)0.1 g,精密称定,至具塞锥形瓶中,加入 50 mL 50% 乙醇溶液,称定重量,超声 30 min (140 W,频率 40 kHz),放冷后再称重,以 50% 乙醇补足重量,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,即得。

2.2.4 线性关系考察 分别精密吸取上述混合线性标准溶液 10 μL,注入高效液相色谱仪,按上述色谱条件测定,记录峰面积。以进样量对峰面积积分值进行回归处理,分别得朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷的标准曲线,见表 1,各标准曲线在线性范围内线性良好。

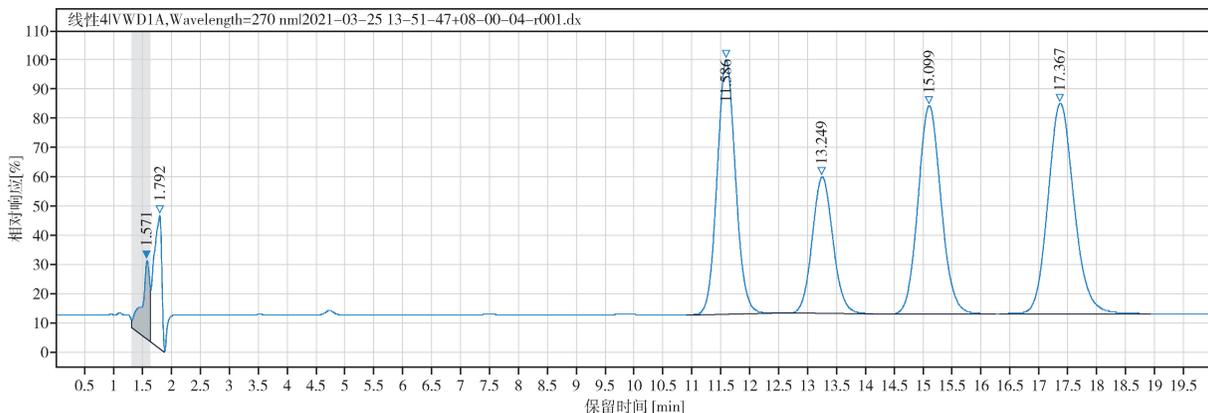


图 1 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷对照品色谱图

Fig 1 HPLC chromatograms of Epimedinin A, Epimedinin B, Epimedinin C and Icaritin

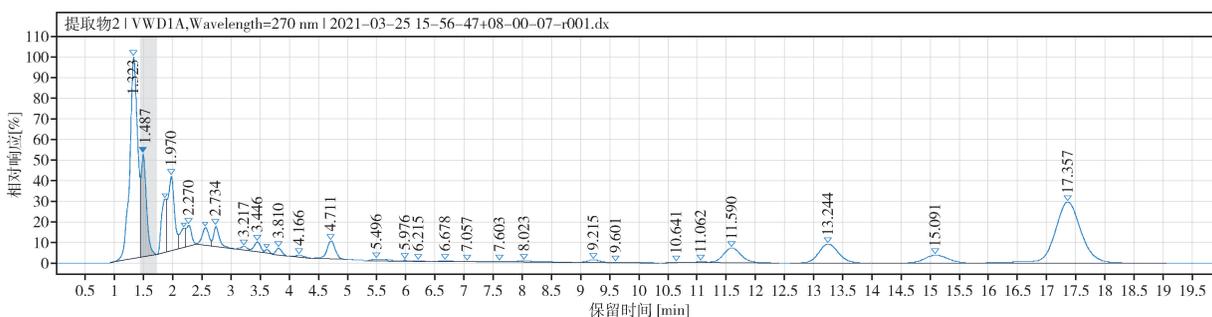


图 2 淫羊藿提取物样品色谱图

Fig 2 HPLC chromatograms of *Epimedidium* extract

表 1 淫羊藿提取物中 4 种黄酮类成分的标准曲线

Tab 1 The regression equations and linear ranges of 4 chemical reference substances in *Epimedidium* extract

成分	方程	线性范围/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	相关系数
朝藿定 A	$Y = 15.432X - 4.0885$	2.9 ~ 46.40	0.9992
朝藿定 B	$Y = 18.555X - 2.634$	2.50 ~ 40.56	1.0000
朝藿定 C	$Y = 15.441X + 2.709$	2.985 ~ 47.76	0.9997
淫羊藿苷	$Y = 19.163X - 17.657$	2.95 ~ 47.20	0.9991

2.2.5 精密度试验 精密吸取同一供试品溶液(四川恒通,批号 200302)10 μL 连续进样 6 次,记录朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷的峰面积,得出日内精密度分别为 2.3%、2.0%、2.4% 和 1.5%,连续进样 3 d,每天 6 次,记录峰面积,以上 4 种指标成分日间精密度分别为 2.3%、2.2%、2.0%、1.6%。

2.2.6 供试品溶液稳定性试验 取同一供试品溶

液(四川恒通,批号 200302),分别于配置后 0、2、4、8、12、24 h 注入高效液相色谱仪,依法测定,记录峰面积,得朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷稳定性的 *RSD* 分别为 2.0%、1.9%、2.5%、1.5%,表明处理后的样品在 24 h 内稳定。

2.2.7 重复性试验 按上述供试品溶液制备方法,分别称取同一批淫羊藿提取物(四川恒通,批号 200302)约 0.1 g,共 6 份,分别进行测定,测得朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷的平均含量分别为 3.88、8.05、6.18、14.01 mg/g, *RSD* 分别为 2.1%、2.1%、2.2%、1.1%。

2.2.8 回收率试验 采取加样回收率法(按 1:1 加入),取同一批已知含量的淫羊藿提取物(四川恒通,批号 200302)约 0.1 g 共 6 份,精密称定,分别精密加入一定量的 2.2.2 项下混合对照品溶液,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,精密吸取上述供

试品溶液 10 μL , 依法测定, 计算回收率, 朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷的加样回收率分别为 93.6%、95.5%、100.1%、92.4%, *RSD* 分别为 2.2%、1.8%、2.2%、2.1%。

2.3 校正因子的测定及考察

2.3.1 校正因子的测定 取 2.2.2 项下浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 对照品混合溶液, 分别进样 10 μL , 测定朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷的峰面积, 按照 2.1 项下方法分别计算朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 与内参物淫羊藿苷间的 RCF, 结果见表 2。

表 2 相对校正因子的测定

Tab 2 Results of the RCFs tests

序号	f 朝藿定 A/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 B/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 C/ 淫羊藿苷
1	0.886	0.882	0.961
2	0.828	0.883	0.962
3	0.893	0.870	0.943
4	0.850	0.901	0.963
5	0.891	0.824	0.914
6	0.855	0.851	0.963
7	0.888	0.864	0.937
<i>RSD</i> /%	2.9	2.9	2.0

2.3.2 校正因子的重复性试验 按照 2.2.2 项下方法, 配制混合对照品溶液, 平行 4 份, 分别进样 10 μL , 分别计算朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C 与内参物淫羊藿苷间的 RCF。表 3 结果显示, *RSD* \leq 3.0%, 表明 RCF 重复性良好。

表 3 相对校正因子重复性试验

Tab 3 Results of RCFs repeatability tests

序号	f 朝藿定 A/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 B/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 C/ 淫羊藿苷
1	0.825	0.840	0.920
2	0.860	0.862	0.914
3	0.877	0.871	0.937
4	0.834	0.893	0.966
<i>RSD</i> /%	2.8	2.5	2.5

2.3.3 校正因子的耐用性考察

2.3.3.1 不同仪器对校正因子的影响 试验中采用 eclipse plus C_{18} (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm) 分别在 Agilent 1260 和 Thermofisher D3000 进样测定, 对淫羊藿类黄酮间的 RCF 进行了测定。表 4 结果显示, 在不同品牌色谱仪上 RCF 无显著性差异, *RSD* \leq 3.0%。

表 4 采用不同仪器测得的相对校正因子

Tab 4 RCFs measured in different instruments

仪器	f 朝藿定 A/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 B/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 C/ 淫羊藿苷
Agilent 1260	0.835	0.825	0.924
	0.843	0.807	0.965
Thermofisher D3000	0.847	0.836	0.947
	0.851	0.849	0.932
<i>RSD</i> /%	0.8	2.1	1.9

2.3.3.2 不同色谱柱对校正因子的影响 试验中在不同高效液相色谱仪 (Agilent 1260、Thermofisher D3000) 上, 分别试验 2 种不同品牌的色谱柱 eclipse plus C_{18} (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm) 和 Symmetry C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm), 对 4 种淫羊藿类黄酮间 RCF 进行了测定。结果显示, RCF 无显著性差异, *RSD* \leq 3.0% (表 5 和表 6)。

表 5 采用不同色谱柱测得的相对校正因子 - Agilent 1260

Tab 5 RCFs measured in different chromatographic columns - Agilent 1260

色谱柱	f 朝藿定 A/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 B/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 C/ 淫羊藿苷
eclipse plus C_{18} (4.6 mm \times 150 mm, 5 μm)	0.819	0.871	0.923
	0.856	0.862	0.915
	0.834	0.824	0.936
	0.858	0.841	0.947
<i>RSD</i> /%	2.2	2.5	1.5

表 6 采用不同色谱柱测得的相对校正

因子 - Thermofisher D3000

Tab 6 RCFs measured in different chromatographic columns - Thermofisher D3000

色谱柱	f 朝藿定 A/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 B/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 C/ 淫羊藿苷
Symmetry C ₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)	0.840	0.834	0.930
	0.855	0.840	0.917
	0.824	0.867	0.952
	0.846	0.826	0.914
RSD/%	1.5	2.1	1.9

2.3.3.3 不同柱温对校正因子的影响 采用 Agilent 1260 高效液相色谱系统和 eclipse plus C₁₈ 色谱柱, 分别在不同柱温(25、30、35 °C) 条件下对 4 种淫羊藿黄酮间的 RCF 进行测定。表 7 结果显示, RCF 无显著性差异, $RSD \leq 3.0\%$ 。

表 7 采用不同柱温测得的相对校正因子

Tab 7 RCFs measured at different temperatures

柱温/°C	f 朝藿定 A/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 B/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 C/ 淫羊藿苷
25	0.807	0.816	0.923
	0.826	0.809	0.917
30	0.854	0.827	0.965
	0.847	0.830	0.934
35	0.852	0.831	0.924
	0.831	0.864	0.918
RSD/%	2.2	2.2	1.9

2.3.3.4 不同流速对校正因子的影响 采用 Agilent 1260 高效液相色谱系统和 eclipse plus C₁₈ 色谱柱, 分别在不同流速(0.9、1.0、1.1 mL/min) 条件下对 4 种淫羊藿黄酮间的 RCF 进行了测定。表 8 结果显示, RCF 无显著性差异, $RSD \leq 3.0\%$ 。

2.3.3.5 校正因子的确定 在上述色谱条件下, 分别测定不同进样体积时, 按照 2.1 项下的方法, 以淫羊藿苷(Icarrin, 简称 I) 为内标, 计算朝藿定 A (Epimedin A, 简称 A)、朝藿定 B (Epimedin B, 简称 B)、朝藿定 C (Epimedin C, 简称 C) 的 RCF 分别为

表 8 采用不同流速测得的相对校正因子

Tab 8 RCFs measured at different flow rates

流速/ (mL · min ⁻¹)	f 朝藿定 A/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 B/ 淫羊藿苷	f 朝藿定 C/ 淫羊藿苷
0.9	0.889	0.855	0.924
	0.847	0.827	0.950
1.0	0.854	0.814	0.917
	0.863	0.833	0.928
1.1	0.819	0.824	0.917
	0.837	0.850	0.934
RSD/%	2.8	1.9	1.3

0.831、0.820、0.918。

2.4 待测组分数谱峰的定位 本文采用相对保留值(待测成分与内标调整保留时间之比)作为定位标准, 并在不同品牌高效液相色谱系统和不同色谱柱下对此参数进行考察, 见表 9, 各成分的相对保留值波动较小, $RSD \leq 3.0\%$, 表明利用相对保留值进行峰的定位是可行的。

2.5 淫羊藿提取物含量测定 QAMS 法与外标法的结果比较 分别称取淫羊藿提取物(过 80 目筛)约 0.1 g ($n=4$), 精密称定, 按 2.2.3 项下方法制备各供试品溶液, 精密吸取各供试品溶液 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 依法测定。采用外标法和 QAMS 法计算自提及市售的淫羊藿提取物中朝藿定 A、朝藿定 B、朝藿定 C、淫羊藿苷含量, 见表 10。外标法测定的含量值与 QAMS 法测定的含量值经 t 检验比较, $P > 0.05$, 表明这两种方法测得结果无显著性差异, 由此说明 QAMS 法可用于淫羊藿提取物的多成分质量评价研究。

3 讨论与结论

本试验初期分别以 50% 甲醇、50% 乙醇、70% 甲醇、70% 乙醇 4 种提取溶剂进行超声提取, 发现以 50% 乙醇提取 30 min 具有相对较高的提取率。另外通过查阅文献, 分别以乙腈-水、乙腈-0.02% 磷酸溶液、乙腈-0.05% 磷酸溶液等为流动相, 比较其峰型、基线、分离度等, 发现乙腈-水作为流动相既简便又可满足分离需求, 故根据结果分析, 确定了色谱条件。

表 9 不同仪器和色谱柱下测得的相对保留值

Tab 9 Relative retention values measured in different instruments and columns

仪器	色谱柱/mm	柱温/℃	出峰时间/min				相对保留值		
			A	B	C	I	A	B	C
Agilent 1260	150	25	7.999	9.085	10.222	12.140	0.66	0.75	0.84
	150	30	8.476	9.621	10.827	12.739	0.67	0.76	0.85
	250	25	11.340	12.934	14.508	17.552	0.65	0.74	0.83
	250	30	13.411	15.832	17.307	20.516	0.65	0.77	0.84
ThermoFisher D3000	150	25	7.493	8.327	9.367	10.733	0.69	0.77	0.87
	150	30	7.453	8.280	9.320	10.590	0.70	0.78	0.88
	250	25	11.810	13.450	15.077	18.163	0.65	0.74	0.83
	250	30	11.737	13.363	15.010	17.907	0.66	0.75	0.84

表 10 不同方法所测得的黄酮类物质含量 (n = 2)

Tab 10 Positioning results of the 4 analytes measured by QAMS and ESM methods

样品	A		B		C		I
	外标法	QAMS 法	外标法	QAMS 法	外标法	QAMS 法	外标法
	mg/g		mg/g		mg/g		mg/g
自提 1(吉林)	8.72	9.65	10.55	10.87	4.83	5.50	43.92
自提 2(甘肃)	8.02	9.80	18.00	20.33	28.39	36.46	48.26
自提 3(陕西)	12.56	12.03	27.16	24.22	46.02	46.87	57.97
四川恒通(批号 200302)	3.88	3.94	8.05	7.40	8.86	9.10	27.14
四川恒通(批号 200303)	4.02	3.56	8.42	8.18	6.18	6.23	14.01
四川恒通(批号 200401)	5.21	5.69	7.46	8.34	7.98	8.23	23.67

本试验还分别考察了不同色谱柱、不同仪器下各待测组分色谱峰的保留时间及相对保留时间,结果显示各保留时间差异显著,但其与内标物的相对保留时间波动较小。因此采用相对保留时间法进行淫羊藿药材中各待测组分色谱峰的定位。

中药成分的多样性和整体作用机理,决定了单一成分不能全面反映中药材的质量。以《中国药典》为代表的中药质量标准已经确立了“从单指标向多指标、从指标性成分向药效成分控制”的发展方向^[8-9]。QAMS 法可以实现通过测定一种成分的含量达到多指标控制的目的,能够一定程度上解决中药对照品供应紧缺、价格昂贵等问题。在《中国药典》中,QAMS 法已成功应用于丹参、生姜等药材,是目前中药质量控制和评价模式新的发展趋势之一^[3]。淫羊藿含多种活性成分,仅依据淫羊藿苷

对其进行质量评价,无法真实评价其内在质量,且淫羊藿经历提取过程转换成提取物后,不同厂家提取工艺、水平不同将极大的影响提取物的质量及药理活性,故其质量评价需要一个多指标综合性评价方式。本试验通过一系列方法学考察证明了 QAMS 法能够综合反映淫羊藿提取物的整体质量且不提高分析成本,验证了 QAMS 法在淫羊藿提取物质量控制中的可行性和适应性,为此类中药的质量控制及质量标准的制订提供了参考方法。

参考文献:

[1] 彭玉德,黄文华,郭宝林,等.淫羊藿提取物的质量研究[J].中国中药杂志,2007,23(81):1858-1861.
 Peng Y D, Huang W H, Guo B L, et al. Study on quality of *Epimedium* extract [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2007, 23(81): 1858 - 1861.

- [2] 陈自强, 韦春蕾, 喻子薇, 等. 基于国内外药典记载的植物提取物研究现状与思考[J]. 中药材, 2021, 44(9): 2247-2251.
Chen Z Q, Wei C L, Yu Z W, *et al.* Research status and thinking of plant extracts based on chinese and foreign pharmacopoeia [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2021, 44(9): 2247-2251.
- [3] 中国药典一部[S]. 2020.
Chinese Pharmacopoeia Part I[S]. 2020.
- [4] 秦伟瀚, 刘翔, 张军, 等. 不同产地 15 个品种淫羊藿的质量评价[J]. 中成药, 2017, 39(9): 1889-1895.
Qin W H, Liu X, Zhang J, *et al.* Quality evaluation of fifteen varieties of *Epimedium folium* from different growing areas [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2017, 39(9): 1889-1895.
- [5] 郭立强, 李熙, 刘谦, 等. 一测多评法比较不同产地甘草中 6 种有效成分含量[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(24): 3051-3055.
Guo L Q, Li X, Liu Q, *et al.* Simultaneous quantitative analysis of six active ingredients in *Glycyrrhizae Radix Et Rhizoma* from different habitats by QAMS[J]. Chin J Mod Appl Pharm, 2019, 36(24): 3051-3055.
- [6] 牛晓静, 鲁静, 孙广科, 等. 淫羊藿总黄酮提取物的 HPLC 指纹图谱建立及其中 8 种成分的含量测定[J]. 中国药房, 2018, 29(24): 3376-3380.
Niu X J, Lu J, Sun G K, *et al.* Establishment of HPLC fingerprints of total flavonoid extract from *Epimedium brevicornu* and content determination of 8 components [J]. China Pharmacy, 2018, 29(24): 3376-3380.
- [7] 王智民, 高慧敏, 付雪涛, 等. 一测多评法中药质量评价模式方法学研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1925-1928.
Wang Z M, Gao H M, Fu X T, *et al.* Methodological study on quality evaluation model of traditional Chinese medicine by QAMS [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2006, 31(23): 1925-1928.
- [8] 许海燕, 何春喜, 罗思旭, 等. 指纹图谱与一测多评法相结合测定积雪草中 5 种三萜类成分[J]. 中国药学杂志, 2021, 56(3): 181-188.
Xu H Y, He C X, Luo S X, *et al.* Determination of five triterpenes in *Centellaie herba* by a combinative method of HPLC fingerprint and quantitative analysis of multi-components by single marker [J]. Chin Pharm J, 2021, 56(3): 181-188.
- [9] 黄远, 董福越, 李楚源, 等. 一测多评法测定板蓝根中 6 种化学成分的含量[J]. 中草药, 2021, 52(3): 845-851.
Huang Y, Dong F Y, Li C Y, *et al.* Simultaneous quantitative determination of 10 chemical constituents in *Radix isatidis* by QAMS method [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(3): 845-851.

(编辑:李文平)