

HPLC法测定盐酸决奈达隆片的含量及其有关物质

仲艳*,傅小勤,李家春,陈保来,林夏,王振中,毕宇安,萧伟*(江苏康缘药业股份有限公司,江苏连云港222001)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)37-3528-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.37.27

摘要 目的:建立测定盐酸决奈达隆片含量及有关物质的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为C₁₈,以甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲溶液(32:50:18)为流动相,流速为1.5 ml/min,检测波长为220 nm,柱温为40 ℃。结果:决奈达隆与各杂质分离度良好,盐酸决奈达隆检测质量浓度线性范围为5.2~103.0 μg/ml($r=0.999\ 9$),低、中、高质量浓度回收率分别为100.4%、100.6%、100.2%,平均回收率为100.4%,RSD=0.8%($n=3$);杂质A、杂质B、主成分、杂质C、杂质D的检测限分别是0.25、0.25、0.5、1.0、1.0 ng。结论:建立的方法专属性好、操作简便,可用于盐酸决奈达隆片含量及其有关物质的测定。

关键词 盐酸决奈达隆片;高效液相色谱法;含量测定;有关物质

Determination of Dronedarone Hydrochloride Tablets and the Related Substances by HPLC

ZHONG Yan, FU Xiao-qin, LI Jia-chun, CHEN Bao-lai, LIN Xia, WANG Zhen-zhong, BI Yu-an, XIAO Wei (Jiangsu KANION Pharmaceutical Co., Ltd., Jiangsu Lianyungang 222001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of Dronedarone hydrochloride tablets and related substances. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on C₁₈ column with mobile phase consisted of methanol-acetonitrile-phosphate buffer solution (32:50:18) at the flow rate of 1.5 ml/min. The detection wavelength was set at 220 nm, and the column temperature was 40 ℃. RESULTS: Dronedarone was well separated from related substance. The linear range of dronedarone hydrochloride were 5.2-103.0 μg/ml ($r=0.999\ 9$). The recovery rates were 100.4%, 100.6% and 100.2% at low, medium and high concentrations, respectively; average recovery was 100.4% (RSD=0.8%, $n=3$). The detection limits of impurity A, impurity B, main component, impurity C and impurity D were 0.25 ng, 0.25 ng, 0.5 ng, 1.0 ng, 1.0 ng. CONCLUSIONS: The method is specific, convenient and suitable for the content determination of Dronedarone hydrochloride tablets and related substances.

KEY WORDS Dronedarone hydrochloride tablets; HPLC; Content determination; Related substances

决奈达隆是一种新的抗心律失常药物,其由法国赛诺菲-安万特公司开发,并于2008年向全球各主要国家提出上市申请,是美国FDA优先审评品种。该药具有与胺碘酮类似的电生理作用,但不含碘,所以不会引起与碘相关的不良反应。在欧洲心脏会议^[1]上, EURIDS (European Trial in AF/AFL Receiving Dronedarone for the Maintenance of Sinus Rhythm) 研究的报道结果也证实了决奈达隆的副作用更小,这是因为该药在改善了胺碘酮的副作用的同时又保持了对心律失常的较好疗效,因此其在控制房颤房扑发作方面很有前途,成为胺碘酮的替代更新药物^[2]。

本品在合成及制剂制备过程中难免引入合成原料、中间体、副产物等杂质^[3-7],因此需要建立合适的方法进行控制。笔者依据2010年版《中国药典》中药品质标准分析方法验证指导原则的相关规定^[8],同时借鉴原料药质量控制标准,通过制备各种降解产物,优化高效液相色谱(HPLC)条件,建立了测定盐酸决奈达隆片含量及有关物质的方法。结果表明建立的方法专属性好,主成分与各杂质均能得到良好的分离,且方法操作简便、快速。

* 工程师。研究方向:药物分析。E-mail: zy521-521@126.com

通信作者:高级工程师,博士。研究方向:中药新剂型的研究与开发。电话:0518-85521956。E-mail: wzhzh-nj@tom.com

1 材料

1.1 仪器

1100型HPLC仪、二极管阵列检测器(DAD)(美国Agilent公司);BP211D电子天平、PB-10 pH计(德国Sartorius公司);超纯水机(美国Millipore公司);KQ-250DB超声仪(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸决奈达隆对照品(批号:101201-1,纯度:99.8%)、盐酸决奈达隆片(批号:110401、110402、110403,规格:每片400 mg)均由江苏康缘药业股份有限公司提供;杂质A(批号:110101,纯度:98.0%)、杂质B(批号:110101,纯度:98.0%)、杂质C(批号:101001,纯度:98.0%)、杂质D(批号:100901,纯度:98.0%)均由上海医药工业研究院提供;甲醇、乙腈为色谱纯,其他试剂均为市售分析纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:C₁₈(150 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲溶液(取磷酸二氢钾0.136 g,加200 ml水溶解,用氢氧化钠试液调节pH至7.5,加水至1 000 ml)(32:50:18),流速:1.5 ml/min;柱温:40 ℃;检测波长:220 nm;进样量:10 μl。

2.2 有关物质测定方法

2.2.1 可能引入的杂质。根据合成路线,本品有关物质为成品中可能存在的合成原料、中间体、副产物等杂质,有可能存在的4个杂质见表1。

表1 盐酸决奈达隆片中可能存在的杂质

Tab 1 The probable impurities in Dronedarone hydrochloride tablets

名称	结构式	化学名	引入方式
杂质A		2-甲基-3-[4-(3-(2,2-正丁基氨基丙氧基)苯甲酰基)-5-甲磺酰胺基苯并咪唑]盐酸盐	原料中带入去丙基杂质,随着后续反应产生的杂质
杂质B		2-正丙基-3-[4-(3-(2,2-正丁基氨基丙氧基)苯甲酰基)-5-甲磺酰胺基苯并咪唑]盐酸盐	原料中带入去甲基杂质,随着后续反应产生的杂质
杂质C		2-正丁基-3-[4-(3-(2,2-正丁基氨基丙氧基)苯甲酰基)-5-二甲磺酰胺基苯并咪唑]盐酸盐	甲磺酰化反应的副产物
杂质D		5-氨基-3-[4-(3-(2,2-正丁基氨基丙氧基)苯甲酰基)-2-正丁基苯并咪唑]二草酸盐	中间体

2.2.2 空白干扰试验。精密称取批号为110401的盐酸决奈达隆片细粉适量,加流动相超声溶解并定量稀释制成每1 ml中含盐酸决奈达隆1 mg的溶液作为供试品溶液。按处方称取空白辅料约30 mg,置于50 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀作为空白溶液。分别精密量取供试品溶液、空白溶液各10 μl注入色谱仪检测,记录色谱图,结果表明空白溶液对本品检查无干扰,详见图1A、图1B。

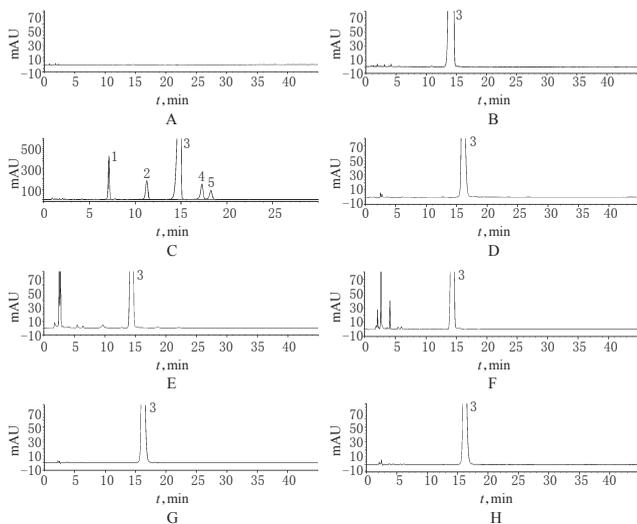


图1 高效液相色谱图

A. 空白溶液; B. 供试品溶液; C. 试验溶液; D. 酸破坏样品; E. 碱破坏样品; F. 氧化破坏样品; G. 高温破坏样品; H. 光照破坏样品; 1. 杂质A; 2. 杂质B; 3. 决奈达隆; 4. 杂质C; 5. 杂质D

Fig 1 HPLC chromatograms

A. blank solution; B. test sample solution; C. test solution; D. samples destroyed by acid; E. samples destroyed by alkali; F. samples destroyed by oxidation; G. samples destroyed by high temperature; H. samples destroyed by high light; 1. impurity A; 2. impurity B; 3. dronedarone; 4. impurity C; 5. impurity D

2.2.3 决奈达隆与有关物质的分离效能。分别精密称取杂质A、B、C、D各约10 mg,同置于10 ml量瓶中,加流动相溶解并稀释至刻度,摇匀作为混合杂质溶液。精密称取批号为

110401的盐酸决奈达隆片细粉适量,置于20 ml量瓶中;精密加入混合杂质溶液2 ml,再加流动相超声溶解并定量稀释制成每1 ml中含盐酸决奈达隆和杂质A、B、C、D分别为1.0、100.2、100.8、100.4、99.9 μg的混合溶液,作为试验溶液。精密量取10 μl注入色谱仪检测,记录色谱图,见图1C。

由图1可见,杂质A、杂质B、决奈达隆、杂质C、杂质D的保留时间分别是7.172、11.425、14.972、17.324、18.309 min,表明决奈达隆峰与各杂质的分离度良好,各杂质间的分离度均大于1.5,拖尾因子均小于1.1。

2.2.4 强降解试验。精密称取批号为110401的盐酸决奈达隆片细粉适量,置于50 ml量瓶中,分别加1 mol/L 盐酸溶液5 ml,在水浴(98 ℃)中加热10 h,用氢氧化钠调节pH值至中性,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为酸破坏样品;加1 mol/L 氢氧化钠溶液5 ml,在水浴(98 ℃)中加热1 h,用盐酸调节pH值至中性,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为碱破坏样品;加10%过氧化氢溶液5 ml,在水浴(98 ℃)下加热30 min,冷却,用流动相稀释至刻度,摇匀,作为氧化破坏样品;加流动相溶解并稀释至刻度,在强光(4 500 lx)下照射5 d,作为光照破坏样品;精密称取在105 ℃下加热12 h的同批号的盐酸决奈达隆片细粉适量,加流动相溶解制成每1 ml含盐酸决奈达隆1 mg的溶液,作为高温破坏样品。取空白辅料,按上述强降解条件同法操作。分别精密量取10 μl上述破坏后溶液注入色谱仪检测,记录色谱图,见图1(空白辅料降解图略)。

图1结果表明,样品在碱及氧化条件下破坏明显,在酸、高温、光照条件下破坏不明显。在该色谱条件下,决奈达隆峰与杂质峰均分离良好,空白辅料不干扰决奈达隆的检查。表明该方法的专属性良好,适宜进行有关物质检查。

2.2.5 稳定性试验。精密称取批号为110401的盐酸决奈达隆片细粉适量,置于50 ml量瓶中,加流动相超声溶解并定容至刻度,摇匀制成每1 ml中约含1 mg的溶液作供试品溶液。精密量取该溶液续滤液适量,加流动相稀释成每1 ml中约含盐酸决奈达隆10 μg的溶液作对照溶液。精密取上述溶液各10 μl于一定时间内注入色谱仪,记录峰面积。结果8 h内有关物质含量的RSD为0.1%,表明供试品溶液在室温条件下放置8 h内均稳定。

2.2.6 检测限试验。取“2.2.3”项下试验溶液,加流动相定量稀释至一定质量浓度。精密量取10 μl注入色谱仪,计算信噪比为3:1时的样品质量浓度即为检测限质量浓度,其对应检出量即为检测限。结果杂质A、杂质B、主成分、杂质C、杂质D的检测限分别是0.25、0.25、0.5、1.0、1.0 ng,表明主成分及各杂质的检测限能保证检出需控制的杂质。

2.2.7 方法耐用性试验。在其他条件不变情况下,当分别选择柱温变化±5 ℃、流速变化±0.2 ml/min、流动相比比例变化±5%、缓冲盐溶液的pH值变化±0.5时,考察主成分与杂质的分离情况,以验证方法的耐用性。结果表明,主成分与杂质C、杂质C与杂质D的分离均受到柱温、流速、缓冲盐pH和流动相比比例等影响,但是柱温和流动相比比例对分离度的影响更加明显。因此在样品检查中要控制柱温和流动相比比例^[9]。

2.3 含量测定方法学考察

2.3.1 线性关系试验。精密称取盐酸决奈达隆对照品适量,加流动相溶解,配制成质量浓度为5.2、10.3、20.6、41.2、82.4、103.0 μg/ml的系列对照品溶液。依法测定,并以峰面积(A)对

浓度(*c*)进行线性回归,得到方程: $A=36.158c-15.649$ ($r=0.9999$)。结果表明,盐酸决奈达隆检测质量浓度线性范围为5.2~103.0 μg/ml。

2.3.2 精密度试验。取“2.3.1”项下质量浓度为41.2 μg/ml的对照品溶液,连续测定6次。记录峰面积,计算RSD=0.2% ($n=6$),结果表明本测定方法的进样精密度较好。

2.3.3 稳定性和重复性试验。精密称取批号为110401的盐酸决奈达隆片细粉适量,加流动相溶解并定量稀释制成浓度为50 μg/ml的溶液,滤过,作为供试品溶液。分别于室温放置0、1、2、4、6、8 h后测定,记录峰面积,计算RSD=0.5% ($n=6$),结果表明供试品溶液在室温条件下放置8 h内均稳定。另取同一批样品,精密称定,共6份,测定,计算RSD=0.5% ($n=6$),结果表明本测定方法的重复性较好。

2.3.4 中间精密度试验。在同一实验室,由3名试验人员在3台不同的仪器上,取批号为110401的盐酸决奈达隆片,记录该批样品含量测定结果,计算RSD=0.2% ($n=3$)。表明由不同试验人员在不同时间和不同的色谱仪中分析,含量测定结果均没有明显差别,上述方法可满足盐酸决奈达隆片的定量分析。

2.3.5 回收率试验。根据处方设计,分别按标示量的80%、100%、120%精密称取盐酸决奈达隆对照品各3份,分别加入相同处方量的辅料同置于50 ml量瓶中,加流动相超声溶解后并稀释至刻度,摇匀,过滤;精密取续滤液1 ml,置于20 ml量瓶中,加流动相稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。进样、测定含量并计算回收率。结果低、中、高浓度回收率分别为100.4%、100.6%、100.2%,平均回收率为100.4%,RSD=0.8% ($n=3$),表明本测定方法的回收率考察合格。

2.4 测定结果

2.4.1 3批样品含量测定。取3批样品按“2.2.2”项下方法制备成供试品溶液,另再精密量取对照品溶液,二者各10 μl注入色谱仪,记录色谱图。按外标法以峰面积计算,并将结果与0.938 5(盐酸决奈达隆/决奈达隆相对分子质量比值)相乘,即得。

2.4.2 3批样品有关物质检查。精密称取盐酸决奈达隆片细粉适量(约相当于盐酸决奈达隆50 mg),置于50 ml量瓶中,加流动相超声溶解,并定容至刻度,摇匀,过滤,取续滤液作为供试品溶液。精密量取续滤液适量,加流动相稀释成每1 ml中约含盐酸决奈达隆10 μg的溶液作为对照溶液。精密量取对照溶液10 μl注入色谱仪中,调节检测灵敏度,使主成分色谱峰的峰高为满量程的20%~25%。再精密量取上述溶液各10 μl,分别注入色谱仪,记录色谱图至主峰保留时间的3倍。

3批样品的主成分及有关物质含量结果均符合自拟标准,详见表2。

表2 3批样品含量及有关物质测定结果(%)

Tab 2 Content determination of 3 batches of samples and related substances (%)

指标	批号		
	110401	110402	110403
主成分含量	100.2	99.8	101.4
有关物质含量	0.27	0.27	0.27
单个杂质含量	0.08	0.08	0.08

3 讨论

3.1 检测波长的选择

精密称取批号为110401的盐酸决奈达隆片与杂质A、B、

C、D适量,分别用流动相稀释制成一定质量浓度的溶液,并用DAD扫描其光谱图。结果,主成分在波长214 nm和290 nm处有最大吸收,杂质A、B、C、D均在220 nm及290 nm波长有较大吸收。综合考虑,选择220 nm作为检测波长。

3.2 色谱柱及理论板数

通过对4个厂家的5根色谱柱进行考察,分别是色谱柱1: Agilent Eclipse XDB-C₁₈(150 mm×4.6 mm)、色谱柱2: DION-EX Acclaim 120(150 mm×4.6 mm)、色谱柱3: Phenomenex Luna(150 mm×4.6 mm)、色谱柱4: Global Chromatography SP-120-3-ODS-①(150 mm×4.6 mm)、色谱柱5: Global Chromatography SP-120-3-ODS-②(150 mm×4.6 mm)。结果显示有4根色谱柱的分离度均符合规定,只有3号色谱柱对杂质C和D的分离度不合格,所以该色谱条件适应于多数色谱柱,重现性良好。又因使用色谱柱2考察时,杂质A峰形差,所以杂质A的理论板数定为不小于3 000,杂质B、决奈达隆、杂质C、杂质D的理论板数均定为不小于4 000。

3.3 流动相

笔者在前期试验中采用甲醇-水或乙腈-水为流动相时,主成分峰形差,因此加入磷酸盐以改善峰形。流动相中加入乙腈作为有机改性剂时,主成分峰形良好,但主成分与杂质C的分离度较差;加入甲醇作为有机改性剂时,主成分峰形拖尾,但主成分与杂质C的分离度明显改善。综合考虑选用乙腈和甲醇混合剂,结果既改善了主成分的峰形,同时主成分与杂质C的分离度也明显改善。最终确定流动相为甲醇-乙腈-磷酸盐缓冲溶液(32:50:18)。

3.4 缓冲液pH值及浓度

笔者在前期试验中缓冲液选择不同pH值进行测试,结果主成分与杂质C的分离度随着pH的升高,逐渐增加;在pH 7.5时,主成分与各杂质之间的分离较好,考虑到色谱柱的pH耐受性(2.0~8.0),因此选择pH为7.5。因流动相中的乙腈及甲醇量较大,随着时间增长,流动相会出现盐析的问题,造成仪器的损坏,所以缓冲溶液中磷酸盐的浓度定为0.001 mol/L。

3.5 柱温

笔者在前期试验中选择不同柱温进行测试,结果,主成分与杂质C的分离度随着柱温的升高,逐渐增加;在柱温40 ℃时,主成分与各杂质之间的分离较好,考虑到柱温过高易对色谱柱造成损坏,因此选择柱温为40 ℃。

3.6 盐酸决奈达隆片强降解试验物料平衡

在强降解试验中,酸、碱、氧化、高温、光照强降解试验的样品物料平衡均为95%~105% [物料平衡=总杂质(%) + 百分含量(%);百分含量=(破坏后样品峰面积×未破坏样品称样量)/(未破坏样品峰面积×被破坏样品称样量)×100%;总杂质含量=100% - 主峰的纯度(%)],提示本品在上述条件下物料平衡好,表明在该条件下可以准确地测定药品的有关物质,详见表3。

表3 样品破坏试验物料平衡结果

Tab 3 Material balance of destruction test of samples			
样品	百分含量, %	总杂质含量, %	物料平衡, %
未破坏	100	0.2	100.0
酸破坏	99.3	0.4	99.7
碱破坏	96.0	5.9	101.9
氧化破坏	97.9	4.2	102.1
高温破坏	99.8	0.4	100.2
强光破坏	99.0	0.5	99.5

RP-HPLC法测定复方氨酚那敏颗粒中3种成分的含量

蒋婷*,袁明勇,郑玲利,訾铁营*(成都医学院第一附属医院,成都 610500)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)37-3531-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.37.28

摘要 目的:建立同时测定复方氨酚那敏颗粒中对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏的含量测定方法。方法:采用反相高效液相色谱法。色谱柱为Alltech C₁₈,流动相A为0.05 mol/L磷酸二氢钾溶液(pH 3.0),流动相B为甲醇-水(90:10),梯度洗脱,流速为1.0 ml/min,检测波长为210 nm,柱温为30 ℃。结果:对乙酰氨基酚、咖啡因、马来酸氯苯那敏的检测质量浓度线性范围分别为50~175、2.5~15、5~40 μg/ml($r \geq 0.999 8$),平均回收率分别为100.24%、99.89%、100.85%(RSD=0.78%、1.0%、1.1%, $n=9$)。结论:建立的方法简便易行、准确度高,可同时测定复方氨酚那敏颗粒中3种成分的含量。

关键词 反相高效液相色谱法;复方氨酚那敏颗粒;对乙酰氨基酚;咖啡因;马来酸氯苯那敏;含量测定;梯度洗脱

Content Determination of 3 Components in Fufang Anfen Namin Granules by RP-HPLC

JIANG Ting, YUAN Ming-yong, ZHENG Ling-li, ZI Tie-ying (The First Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Chengdu 610500, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To develop a method for the content determination of acetaminophen, caffeine and chlorphenamine maleate in Fufang anfen namin granules. METHODS: RP-HPLC method was established. The determination was performed on Alltech C₁₈ column with mobile phase consisted of A by [0.05 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution (pH 3.0)] and B [methanol-water (90:10) by gradient elution] at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was set at 30 ℃, and detection wavelength was set at 210 nm. RESULTS: The linear ranges were 50-175 μg/ml for acetaminophen, 2.5-15 μg/ml for caffeine and 5-40 μg/ml for chlorphenamine maleate ($r \geq 0.999 8$). Average recoveries were 100.24% (RSD=0.78%, $n=9$), 99.89% (RSD=1.0%, $n=9$) and 100.85% (RSD=1.1%, $n=9$). CONCLUSIONS: Established method is simple and accurate, and it can be used for the content determination of 3 components in Fufang anfen namin granules.

KEY WORDS RP-HPLC; Fufang anfen namin granules; Acetaminophen; Caffeine; Chlorphenamine maleate; Content determination; Gradient elution

复方氨酚那敏颗粒为常用的感冒类复方制剂,主要用于缓解感冒引起的症状,成分包括对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏,各组分含量相差较大。含量测定方法目前采用最多的是化学药品地方标准上升国家标准(第三册)中复方氨酚那敏颗粒标准中的方法^[1]。该方法分别采用不同的方法测定3种成分的含量,效率不高;且使用乙醇溶解样品不能较充分地溶解出样品中的马来酸氯苯那敏,因此,该方法重复性也

不好。

由对乙酰氨基酚、咖啡因和马来酸氯苯那敏组成的复方制剂应用十分广泛,用高效液相色谱(HPLC)法同时测定复方制剂中这3种成分的含量已有文献报道。如王波等^[2]通过建立反相(RP)-HPLC法同时测定复方感冒灵片中这3种成分的含量,王润玲等^[3]也通过建立HPLC法测定了复方氨酚那敏缓释片中这3种成分的含量,但都是采用等度洗脱的方法。而复方

3.7 有关物质检查限度

本文采用自身对照法测定有关物质,结果3批样品中各未知杂质的量均在0.1%以下,杂质总量均在0.3%以下。其限度暂定为:除溶剂峰外,单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的1/5(0.2%),各杂质峰面积之和不得大于对照溶液主峰面积(1.0%)。

参考文献

- [1] Singh BN, Connolly SJ, Crijns HJ. *et al.* Dronedronarone for maintenance of sinus rhythm in atrial fibrillation or flutter [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(10):987.
- [2] 贺鹏康,周菁.抗心律失常新药决奈达隆[J].*临床药物治*

*药师,硕士。研究方向:临床药学。E-mail:405445347@qq.com
#通信作者:主任药师。研究方向:医院药学。电话:028-83016913。E-mail:teachz520@163.com

疗杂志,2010,8(2):58.

- [3] 何晓清,吴泰志,张福利,等.盐酸决奈达隆合成路线图解[J].*中国医药工业杂志*,2010,41(2):148.
- [4] Gubin J, Lucchetti J, Inion H, *et al.* Preparation of benzofurans, benzothiophenes, indoles, and indolizines as cardiovascular agents, EP:471609[P].1992-12-19.
- [5] 李素义,钟启星,陈国华,等.盐酸决奈达隆的合成[J].*中国医药工业杂志*,2011,42(3):161.
- [6] 汪玉梅,张勇,胡永亮.盐酸决奈达隆的合成[J].*河北化工*,2012,35(4):12.
- [7] 刘玉丽,汪玉梅,胡永亮,等.决奈达隆有关物质的合成[J].*中国医药工业杂志*,2012,43(7):535.
- [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:附录VD.

(收稿日期:2012-12-06 修回日期:2013-03-07)