

炮山甲的HPLC指纹图谱研究^Δ

严 丹^{1*},刘玉杰¹,胡美变¹,肖 禾²,李永川²,吴纯洁^{1,3#}(1.成都中医药大学药学院,成都 611137;2.成都岷江源药业股份有限公司,成都 611000;3.国家中医药管理局中药炮制技术重点实验室,成都 611731)

中图分类号 R283;R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)27-3839-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.27.26

摘 要 目的:建立炮山甲的高效液相色谱(HPLC)指纹图谱。方法:采用HPLC法。色谱柱为Capcell Pak Mg II S5 C₁₈,流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液(梯度洗脱),流速为0.8 mL/min,检测波长为275 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μL。以酪氨酸为参照,测定11批药材的HPLC图谱,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)进行共有峰指认和相似度评价。结果:11批炮山甲药材的HPLC图谱有23个共有峰,相似度均>0.90。经验证,11批药材样品HPLC图谱与对照指纹图谱具有较好的一致性。结论:该研究所建HPLC指纹图谱可为炮山甲的鉴别和质量评价提供参考。

关键词 炮山甲;高效液相色谱法;指纹图谱;质量评价

Study on HPLC Fingerprint of Stir-baked *Manis pentadactyla*

YAN Dan¹, LIU Yujie¹, HU Meibian¹, XIAO He², LI Yongchuan², WU Chunjie^{1,3}(1.College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China; 2.Chengdu Minjiangyuan Pharmaceutical Co., Ltd., Chengdu 611000, China; 3.Key Laboratory of TCM Processing Technology, State Administration of TCM, Chengdu 611731, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish HPLC fingerprint of stir-baked *Manis pentadactyla*. METHODS: HPLC method was conducted. The determination was performed on Capcell Pak Mg II S5 C₁₈ column with mobile phase consisted of acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution (gradient elution) at the flow rate of 0.8 mL/min. The detection wavelength was set at 275 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 10 μL. Using oxyphenylaminopropionic acid as reference, HPLC chromatograms of 11 batches of medicinal materials were determined. *TCM Chromatogram Fingerprint Similarity Evaluation System* (2004 A edition) was used for common peak identification and similarity evaluation. RESULTS: There were 23 common peaks in 11 batches of stir-baked *M. pentadactyla*, with similarity>0.90. After validation, HPLC chromatograms of 11 batches of medicinal materials were in good agreement with control fingerprints. CONCLUSIONS: Established HPLC fingerprint can provide reference for the identification and quality evaluation of stir-baked *M. pentadactyla*.

KEYWORDS Stir-baked *Manis pentadactyla*; HPLC; Fingerprint; Quality evaluation

穿山甲为鲮鲤科动物穿山甲 *Manis pentadactyla* Linnaeus 的鳞甲,为贵细类中药材,其味咸、性微寒,入肝、胃二经,具有通经下乳、消肿排脓、活血消癥、搜风通络的功效^[1]。穿山甲始载于《名医别录》,在历版的《中国药典》中均有收载,可用于经闭癥瘕、痈肿疮毒、乳汁不通、麻木拘挛、关节痹痛等症的治疗。现代药理研究表明,穿山甲具有降低血液黏度,延长凝血时间,升高白细胞等作用^[2-5]。临床上,穿山甲一般经炮制后使用,其中炮山甲是穿山甲常用炮制品。然而,2015年版《中国药典》(一部)中收载的炮山甲仅有鉴别、检查项,且“同药材”,严重影响了炮山甲的质量控制,也不能体现炮制的必要性。因此,对炮山甲进行质量评价研究,建立并完善其质量标准对保障炮山甲质量具有重要意义。

Δ 基金项目:国家中医药行业科研专项项目(No.201207004-6)

* 硕士研究生。研究方向:中药炮制与制剂。E-mail: 478357452@qq.com

通信作者:研究员,博士生导师,博士。研究方向:中药炮制与制剂。电话:028-61801001。E-mail: wcj-one@263.net

中药指纹图谱是建立在中药化学成分系统研究基础上的一种综合的、量化的鉴定手段,能全面反映中药多组分复杂体系,并能综合反映和有效控制中药的质量,以指纹图谱作为中药质量评价和质量控制已成为国际共识^[6-8]。而作为动物药的炮山甲,目前尚未建立有效控制质量的指纹图谱。本课题组采用高效液相色谱法(HPLC)建立炮山甲指纹图谱,以期完善炮山甲的质量评价和质量标准提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

1260 型 HPLC 仪,包括二极管阵列检测器(美国 Agilent 公司);BP211D 型十万分之一电子分析天平(德国 Sartorius 公司);DZKW-4 型电子恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);AS10200AT 型超声波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.2 试剂

酪氨酸对照品(成都植标化纯生物技术有限公司,批号:150204,纯度:>98%);乙腈、甲醇均为色谱纯,其

余试剂均为分析纯,水为纯化水。

1.3 药材

11批炮山甲药材均由成都岷江源药业有限公司提供(见表1),经成都中医药大学药学院李敏教授鉴定为真品。

表1 炮山甲药材来源

Tab 1 Source of stir-baked <i>M. pentadactyla</i>			
编号	产地	批号	来源
S1	广西田东	160802	四川省林业厅封存库存
S2	广西田东	160718	四川省林业厅封存库存
S3	广西靖西	160701	四川省林业厅封存库存
S4	广西百色	160604	四川省林业厅封存库存
S5	云南思茅	160518	四川省林业厅封存库存
S6	云南永平	160502	四川省林业厅封存库存
S7	云南大姚	160416	四川省林业厅封存库存
S8	贵州榕江	160401	四川省林业厅封存库存
S9	贵州印江	160302	四川省林业厅封存库存
S10	四川攀枝花	151218	四川省林业厅封存库存
S11	云南普洱	151106	四川省林业厅封存库存

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:Capcell Pak Mg II S5 C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-0.1%磷酸溶液(B),梯度洗脱(0~20 min,98% B;20~40 min,98%→78% B;40~60 min,78%→72% B;60~65 min,72%→98% B);流速:0.8 mL/min;检测波长:275 nm;柱温:30 ℃;进样量:10 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 取酪氨酸对照品5 mg,精密称定,置于5 mL量瓶中,加水溶解并定容,摇匀,即得。

2.2.2 供试品溶液 取药材样品粉末(过80目筛)约2.0 g,精密称定,置于锥形瓶中,加10倍量水回流提取1 h,滤过,残渣再加5倍量水回流提取1 h,合并滤液,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 精密度试验 取“2.2.2”项下供试品溶液适量,按“2.1”项下色谱条件连续进样测定6次,以酪氨酸的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,23个共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD<3.0%(n=6),表明本方法精密度良好。

2.3.2 稳定性试验 取“2.2.2”项下供试品溶液(编号:S1)适量,分别于室温下放置0、2、4、8、12、24 h时按“2.1”项下色谱条件进样测定,以酪氨酸的保留时间和峰面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,23个共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD<3.0%(n=6),表明供试品溶液室温放置24 h内基本稳定。

2.3.3 重复性试验 精密称取同一批样品(编号:S1)适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,以酪氨酸的保留时间和峰

面积为参照,记录各共有峰相对保留时间和相对峰面积。结果,23个共有峰相对保留时间和相对峰面积的RSD<3.0%(n=6),表明本方法重复性良好。

2.4 指纹图谱的生成及共有峰相关分析

2.4.1 HPLC指纹图谱的生成 取11批药材样品各适量,按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.1”项下色谱条件进样测定,采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)对11批药材样品的HPLC图谱进行分析,得HPLC指纹图谱,详见图1、图2。

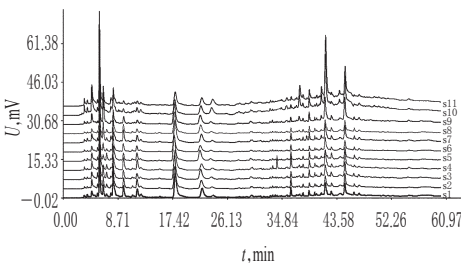


图1 11批药材样品HPLC叠加指纹图谱

Fig 1 HPLC superposed fingerprints of 11 batches of samples

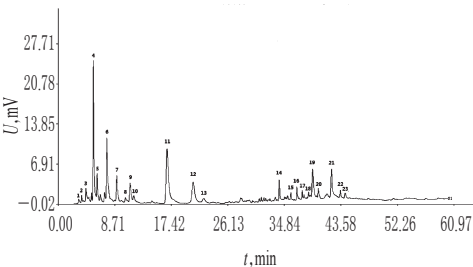


图2 药材样品HPLC对照指纹图谱

Fig 2 HPLC control fingerprints of samples

2.4.2 相似度分析 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)对11批药材样品的HPLC图谱进行比较分析。结果表明,11批药材样品相似度均>0.90(见表2);经验证,11批药材样品HPLC图谱与对照指纹图谱具有较好的一致性。

表2 11批药材样品相似度评价结果

Tab 2 Similarity evaluation of 11 batches of samples			
编号	相似度	编号	相似度
S1	0.942	S7	0.918
S2	0.932	S8	0.943
S3	0.932	S9	0.905
S4	0.900	S10	0.901
S5	0.951	S11	0.939
S6	0.953	对照图谱	1.000

2.4.3 共有峰相关数据分析 采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统》(2004 A版)对11批药材样品的HPLC图谱进行比较分析。11批药材样品共有23个共有峰,通过对照品HPLC色谱确定9号峰为酪氨酸。以9号峰为参照峰,计算其他特征峰相对于9号峰的相对保留时间和相对峰面积,详见表3、表4。

3 讨论

表3 11批药材样品HPLC图谱共有峰的相对保留时间
Tab 3 Relative retention time of common peaks for HPLC chromatograms of 11 batches of samples

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1	0.285	0.287	0.286	0.286	0.287	0.287	0.286	0.287	0.285	0.286	0.285
2	0.325	0.327	0.326	0.326	0.327	0.327	0.326	0.326	0.325	0.326	0.326
3	0.385	0.387	0.387	0.387	0.388	0.387	0.387	0.387	0.385	0.386	0.386
4	0.489	0.492	0.490	0.491	0.491	0.491	0.490	0.491	0.490	0.491	0.488
5	0.541	0.542	0.540	0.540	0.542	0.542	0.541	0.542	0.542	0.543	0.540
6	0.676	0.677	0.676	0.673	0.678	0.676	0.676	0.676	0.675	0.677	0.676
7	0.814	0.818	0.816	0.814	0.818	0.816	0.815	0.815	0.815	0.815	0.815
8	0.934	0.939	0.935	0.935	0.936	0.936	0.935	0.936	0.934	0.936	0.933
9	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
10	1.049	1.049	1.048	1.050	1.048	1.047	1.049	1.048	1.048	1.049	1.047
11	1.512	1.512	1.508	1.511	1.505	1.507	1.512	1.510	1.499	1.510	1.511
12	1.873	1.872	1.863	1.869	1.855	1.863	1.870	1.863	1.849	1.866	1.870
13	2.019	2.016	2.007	2.015	1.999	2.008	2.016	2.007	1.991	2.012	2.018
14	3.069	3.086	3.089	3.077	3.090	3.094	3.082	3.086	3.070	3.085	3.076
15	3.231	3.250	3.254	3.240	3.255	3.260	3.246	3.251	3.235	3.248	3.237
16	3.313	3.337	3.336	3.325	3.340	3.346	3.329	3.336	3.319	3.334	3.321
17	3.388	3.412	3.412	3.400	3.416	3.421	3.405	3.411	3.394	3.409	3.397
18	3.476	3.497	3.499	3.486	3.502	3.507	3.491	3.497	3.481	3.497	3.485
19	3.533	3.552	3.555	3.540	3.555	3.561	3.546	3.551	3.534	3.551	3.541
20	3.611	3.637	3.634	3.625	3.640	3.645	3.628	3.634	3.617	3.633	3.619
21	3.795	3.818	3.820	3.805	3.823	3.828	3.812	3.817	3.799	3.818	3.804
22	3.918	3.945	3.939	3.932	3.950	3.956	3.938	3.945	3.925	3.944	3.926
23	3.986	4.011	4.008	3.996	4.017	4.023	4.006	4.013	3.992	4.011	3.993

表4 11批药材样品HPLC图谱共有峰的相对峰面积
Tab 4 Relative peak areas of common peaks for HPLC chromatograms of 11 batches of samples

峰号	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1	0.219	0.111	0.189	0.232	0.116	0.269	0.233	0.168	0.355	0.808	0.981
2	0.258	0.163	0.288	0.123	0.250	0.178	0.428	0.220	0.503	0.632	0.743
3	0.676	0.767	1.420	0.704	0.866	0.854	1.140	1.144	2.096	3.082	3.514
4	3.938	2.991	5.808	4.399	2.924	3.237	6.373	2.322	5.728	4.837	9.190
5	1.046	0.842	1.607	0.405	0.612	1.076	1.914	0.812	5.516	2.169	2.588
6	2.941	2.327	3.563	2.173	3.470	3.169	3.186	3.976	3.414	2.696	3.465
7	1.291	1.070	1.383	1.122	0.909	1.293	1.660	1.771	1.786	0.984	1.116
8	0.270	0.279	0.342	0.192	0.239	0.273	0.312	0.388	0.299	0.436	0.507
9	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
10	0.618	0.490	0.724	0.479	0.412	0.471	0.817	0.634	0.680	1.486	1.351
11	4.616	3.221	6.138	2.858	5.105	5.216	5.005	7.449	8.334	3.765	4.683
12	2.055	1.729	3.357	1.170	2.603	2.320	2.151	3.356	4.190	2.352	2.657
13	0.567	0.469	1.023	0.442	0.663	0.695	0.616	0.951	1.515	2.290	2.527
14	0.751	0.879	0.947	1.059	0.826	0.717	0.723	0.741	1.340	0.982	1.015
15	0.328	0.419	0.837	0.506	0.427	0.383	0.494	0.637	1.497	2.073	1.456
16	0.507	0.533	1.265	0.772	0.691	0.601	0.861	0.971	2.434	2.052	2.283
17	0.356	0.545	1.072	0.658	0.555	0.470	0.548	0.851	1.795	0.746	0.747
18	0.360	0.430	0.928	0.472	0.439	0.415	0.639	0.624	1.739	2.924	2.362
19	1.895	1.867	3.433	2.385	1.307	2.866	2.853	3.462	8.726	8.671	13.091
20	0.664	0.796	1.693	0.849	0.944	0.775	0.928	1.251	3.020	2.429	1.445
21	2.361	2.720	4.868	3.022	1.979	2.591	3.597	3.243	10.684	6.659	9.011
22	0.490	0.735	1.260	0.622	0.719	0.610	0.835	0.953	2.415	1.812	1.748
23	0.603	0.775	1.424	0.808	0.656	0.672	0.826	1.065	3.149	3.579	3.535

3.1 药材样品的代表性

穿山甲已被列为我国二级保护动物,就《关于加强赛加羚羊、穿山甲、稀有蛇类资源保护和规范其产品入

药管理的通知》,要求停止野外猎捕活动,核查原料库存并限定使用范围,实行产品标识制度^[9]。本课题组所用样品均来自四川省林业厅核查封存库存的生山甲片,由药材公司炮制加工而成,炮制操作过程规范,能保证试验所用药材样品的质量。生山甲片的采集来自全国不同产地,包括广西、云南、贵州和四川等,因此所用药材样品具有代表性。

3.2 提取溶剂和方法的考察

本研究对样品提取溶剂(水、甲醇、乙醇、50%乙醇)进行考察,结果发现以水为提取溶剂时,色谱峰个数较多、且峰面积大,故选择水作为提取溶剂。此外,笔者对超声提取法和加热回流提取法进行了比较,发现加热回流的提取效率高,因此选择加热回流提取法进行样品提取。

3.3 色谱条件的考察

笔者分别考察了甲醇-水-磷酸、乙腈-水-磷酸、乙腈-水3个流动相系统^[10-11],结果表明采用乙腈-水-磷酸为流动相时,各色谱峰的分离度较好、峰形稳定,且基线平稳,因此选用其作为流动相。为了得到质量好的色谱图,笔者对流动相浓度和流速作了进一步试验,发现等度洗脱分离效果不好,易造成峰形堆积,使用梯度洗脱后,可得到较好的色谱。随后,又分别考察了25、30、35℃的柱温对色谱峰的影响,结果表明柱温为30℃时,色谱峰分离度和峰形最好,因此选择30℃柱温进行检测。

3.4 检测波长的选择

以二极管阵列检测器在200~400nm波长处进行扫描,同时比较了230、254、275、283nm不同波长下的色谱图信息。结果显示,在275nm波长处,药材样品色谱峰信息量较多、基线噪音比较低,样品中各成分分离度相对较好。因此,选择275nm为检测波长进行指纹图谱分析。

综上所述,本课题组首次采用HPLC法建立了炮山甲的指纹图谱。结果表明,不同批次炮山甲样品之间相似度较高,相关性较好,可满足中药指纹图谱相似度评价的基本要求。方法学考察结果表明,本研究建立的HPLC指纹图谱方法稳定、可靠、重复性好,可用于炮山甲的质量评价,有利于保障穿山甲药材的质量。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:268.
[2] 于淼,李娜,胡丽娜,等.动物药整理研究:穿山甲[J].吉林中医药,2009,29(6):514-516.
[3] 周宗元,王建,马骁.穿山甲的研究进展[J].中药与临床,2014,5(1):54-62.
[4] 杨熙东.穿山甲的药理作用和临床应用[J].中国社区医师,2012,14(26):194-196.
[5] 李寅超,赵宜红,陈秀英,等.猪蹄甲与穿山甲消痈排脓作用比较的实验研究[J].时珍国医国药,2008,19(6):

HPLC-MS/MS 法同时检测红花药材中 9 种非法染色物^Δ

李婷婷^{1*}, 李 良^{2#}, 刘 莉¹, 曾 桢¹, 孔卫东¹, 刘 芬³, 孙 茜⁴(1.成都市食品药品检验研究院, 成都 610045; 2.武警江西总队医院, 南昌 330006; 3.南昌大学药学院, 南昌 330031; 4.上海市宝山区仁和医院, 上海 200431)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)27-3842-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.27.27

摘 要 目的:建立同时检测红花药材中 9 种非法染色物的方法。方法:采用高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)。色谱条件:色谱柱为 SB-C₁₈, 流动相为 10 mmol/L 甲酸铵-乙腈(梯度洗脱), 流速为 0.2 mL/min, 柱温为 30 ℃, 进样量为 10 μL。质谱条件:离子源为电喷雾离子源, 监测方式为负离子多离子反应监测, 离子喷雾电压为 3 500 V, 干燥气温度为 350 ℃, 干燥气流速为 10 L/min, 碰撞气为高纯氮气, 扫描范围为 m/z 50~1 000。结果:丽春红、酸性红 73、柠檬黄、偶氮玉红、诱惑红、金橙 II、日落黄、赤藓红和金橙 G 检测质量浓度线性范围分别为 5.313 5~531.35 ng/mL($r=0.987\ 0$)、1.312 0~1 312.00 ng/mL($r=0.994\ 8$)、124.480 0~2 824.00 ng/mL($r=0.983\ 2$)、6.300 0~630.00 ng/mL($r=0.964\ 8$)、1.035 8~517.92 ng/mL($r=0.996\ 4$)、0.552 0~1 104.00 ng/mL($r=0.909\ 0$)、5.046 3~2 018.52 ng/mL($r=0.996\ 2$)、5.046 3~2 018.52 ng/mL($r=0.997\ 6$)、1.079 5~2 159.00 ng/mL($r=0.990\ 0$); 定量限分别为 10.418 7、1.131 0、68.401 0、13.695 7、1.670 7、0.238 0、3.973 3、1.064 7、1.285 0 ng/kg, 检测限分别为 3.125 6、0.339 3、20.520 3、4.108 7、0.501 2、0.071 4、1.192 0、0.319 4、0.385 5 ng/kg; 精密度、稳定性、重复性试验的 RSD<3.0%; 回收率为 91.2%~99.1% (RSD 为 0.7%~2.2%, $n=6$)。结论:该方法专属性强、灵敏度高、简便快捷, 适用于红花药材中 9 种非法染色物的同时检测。

关键词 高效液相色谱-串联质谱法; 红花; 丽春红; 酸性红 73; 柠檬黄; 偶氮玉红; 诱惑红; 金橙 II; 日落黄; 赤藓红; 金橙 G

Simultaneous Determination of 9 Illegal Dyes in *Carthamus tinctorius* by HPLC-MS/MS

LI Tingting¹, LI Liang², LIU Li¹, ZENG Zhen¹, KONG Weidong¹, LIU Fen³, SUN Qian⁴(1.Chengdu Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610045, China; 2.Armed Police Jiangxi Corps Hospital, Nanchang 330006, China; 3.College of Pharmacy, Nanchang University, Nanchang 330031, China; 4.Renhe Hospital of Shanghai Baoshan District, Shanghai 200431, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for the determination of 9 illegal dyes in *Carthamus tinctorius*. METHODS: HPLC-MS/MS was adopted. The determination was performed on SB-C₁₈ column with mobile phase consisted of 10 mmol/L ammonium formate-acetonitrile (gradient elution) at the flow rate of 0.2 mL/min. The column temperature was 30 ℃, and the sample size was 10 μL. Mass spectrometry condition: electrospray ion source, negative ion multi-ion reaction monitoring mode, ion spray voltage of 3 500 V, drying gas temperature of 350 ℃, drying gas flow rate of 10 L/min, colliding gas of high pure nitrogen gas, scanning range of m/z 50~1 000. RESULTS: The linear ranges of ponceau, acid red 73, lemon yellow, azorubin, allura red, gold orange II, sunset yellow, pyrosine and golden orange G were 5.313 5~531.35 ng/mL($r=0.987\ 0$), 1.312 0~1 312.00 ng/mL($r=0.994\ 8$), 124.480 0~2 824.00 ng/mL($r=0.983\ 2$), 6.300 0~630.00 ng/mL($r=0.964\ 8$), 1.035 8~517.92 ng/mL($r=0.996\ 4$), 0.552 0~1 104.00 ng/mL($r=0.909\ 0$), 5.046 3~2 018.52 ng/mL($r=0.996\ 2$), 5.046 3~2 018.52 ng/mL($r=0.997\ 6$), 1.079 5~

1430-1432.

[6] 李强,杜思逸,张忠亮,等.中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J].中草药,2013,44(22):3095-3104.

[7] 周玉新.中药指纹图谱研究技术[M].北京:化学工业出版社,2002:5-8.

[8] 刘文,蒋世云.中药指纹图谱研究与应用进展[J].中国药

房,2011,22(19):1819-1822.

[9] 国家林业局,国家卫生部,国家工商总局,等.关于加强赛加羚羊、穿山甲、稀有蛇类资源保护和规范其产品入药管理的通知[J].中国现代中药,2008,10(5):3-4.

[10] 何锦钧,李子鸿,李怀国,等.醋淬穿山甲的炮制工艺研究[J].中国处方药,2006,5(4):64-65.

[11] 吴芝园.四种穿山甲属动物类药材的生药鉴别研究[D].南京:南京中医药大学,2015:58.

Δ 基金项目:江西省卫生计生委中医药科研课题(No.2015A069)
* 主管药师。研究方向:药物含量测定与质量标准。电话:028-85362592
通信作者:主管药师,硕士。研究方向:药物质量标准。E-mail: 278623586@qq.com